



RESPON PERTUMBUHAN PLANLET ANGGREK
Phalaenopsis amabilis L. var. Jawa Candioid
AKIBAT IRADIASI SINAR GAMMA

skripsi

**disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:
Agung Suwarno
4450408035

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2013

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Respon Pertumbuhan Planlet Angrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid Akibat Irradiasi Sinar Gamma” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.



Semarang, Juli 2013

METERAI
TEMPEL
PAJAK MENYERAHKAN BANDELA
TEL
60863ABF597970445
ENAM RIBU RUPIAH
6000 DJP


Agung Suwarno
4450408035

ABSTRAK

Suwarno, A. 2013. Respon Pertumbuhan Planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid Akibat Irradiasi Sinar Gamma. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Noor Aini Habibah, S.Si., M.Si., Dra. Lina Herlina. M. Si.

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keragaman anggrek spesies alam yang sangat besar dan tersebar di seluruh wilayah nusantara. Di antara 5000 spesies anggrek yang ditemukan di wilayah Indonesia, *Phalaenopsis* merupakan salah satu genus yang terkenal akan keindahan dan keragaman coraknya. *Phalaenopsis amabilis* L. merupakan jenis anggrek asli Indonesia yang mempunyai empat warna, bentuk dan aroma yang khas, serta memiliki bunga yang dapat bertahan kurang lebih dua minggu. Pada umumnya, *Phalaenopsis amabilis* L. tidak dikembangbiakkan menggunakan biji secara alamiah tetapi harus menggunakan mikoriza karena biji anggrek tidak mempunyai cadangan makanan. Perbanyak anggrek secara alami menghasilkan persentase perkecambahan yang kurang memenuhi permintaan petani anggrek, hal tersebut dapat ditingkatkan dengan menggunakan metode kultur jaringan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan yaitu 0(kontrol), 10, 20, 30 dan 40 (Gray) dengan 7 ulangan pada setiap perlakuan. Pertumbuhan planlet dapat diketahui dengan parameter pertumbuhan planlet pasca iradiasi, kecepatan munculnya daun, kecepatan munculnya akar, jumlah daun, dan jumlah akar.

Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) menunjukkan bahwa perlakuan yang tidak diiradiasi berbeda signifikan terhadap pertumbuhan planlet pasca iradiasi dan jumlah akar. Hal ini berarti pemberian dosis iradiasi sinar gamma yang semakin tinggi menyebabkan persentase tumbuh planlet dan jumlah akar terhambat. Untuk dosis 10 dan 20 (Gray) berbeda signifikan terhadap parameter jumlah daun. Sedangkan pada dosis 40 Gray berbeda signifikan terhadap kecepatan munculnya daun, Hal ini berarti pemberian iradiasi sinar gamma yang semakin tinggi dapat mempercepat munculnya daun, dan pada dosis 30 Gray berbeda signifikan terhadap kecepatan munculnya akar, hal ini berarti pemberian iradiasi sinar gamma yang semakin tinggi menyebabkan kecepatan munculnya akar semakin cepat.

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap pertumbuhan planlet pasca iradiasi, kecepatan munculnya daun, kecepatan munculnya akar, jumlah daun, dan jumlah akar

Kata Kunci : Planlet Anggrek, media MS, Iradiasi sinar gamma

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

“Respon Pertumbuhan Planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid Akibat Irradiasi Sinar Gamma”

disusun oleh

nama : Agung Suwarno

NIM : 4450408035

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 29 Mei 2013.

Panitia Ujian



Prof. Dr. Wiyanto, M. Si
NIP. 19631012 198803 1 001

Sekretaris

Andin Irsadi, S.Pd M.Si
NIP. 19740310 200003 1 001

Penguji Utama

Drs. Krispinus Kedati Pukan, M.Si.
NIP. 1955073 1198503 1 002

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Noor Aini Habibah, S.Si., M.Si
NIP. 19711107 199802 2 001

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Dra. Lina Herlina, M.Si.
NIP. 19670207 199203 2 001

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Respon Pertumbuhan Planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid Akibat Iradiasi Sinar Gamma”.

Dalam menyusun skripsi penulis menyadari masih banyak kekurangan mengingat keterbatasan waktu dan pengetahuan penulis. Namun dengan segala upaya, bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Kemudian dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberi izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
2. Ketua Jurusan Biologi yang memudahkan jalan penulis dalam menyusun skripsi.
3. Noor Aini Habibah, S.Si., M.Si, dosen pembimbing I atas bimbingan, pengarahan dan dorongannya selama ini.
4. Dra. Lina Herlina M.Si, dosen wali dan pembimbing II untuk dukungan dan perhatiannya.
5. Drs Krispinus Kedati Pukan, M.Si dosen penguji untuk waktu dan kesabaran yang sangat berarti, tanpanya penulisan skripsi ini tidak menjadi lebih baik.
6. Mbak Tika, Mbak Fitri, Mas Solikhin dan segenap pengurus Laboratorium Biologi FMIPA UNNES atas bantuannya.
7. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf pengajar Jurusan Biologi, untuk ilmu yang diberikan pada penulis.
8. Bapak, Ibu, untuk dengan kasih sayang, doa dan dukungannya, juga untuk adikku tersayang Joko.
9. Dwi Rosalina S. yang sudah menemani, memberi semangat, dukungan serta doa untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Bapak Rusmoyo,ibu Ngatmi,Mas Koko, Dik Catur, dan Mbak Ratna yang sudah memberi semangat
11. Teman-teman Bio '08, terima kasih untuk kebersamaan yang indah dan menyenangkan.
12. Teman-teman Botani '08 trimakasih atas bantuannya dalam mengolah data SPSS.

13. Teman-teman pengagum setia ruang kultur yang dingin, Mbak Umi, Mbak Aida, salut atas bantuan dan kerjasamanya.
14. Semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari akan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini, maka segala kritik maupun saran yang bersifat membangun akan penulis terima dengan senang hati.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, Juli 2013

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
ABSTRAK	iii
PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Penegasan Istilah.....	4
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	
A. Tinjauan Pustaka	6
a. Kedudukan Taksonomi dan Anggrek <i>Phalaenopsis</i>	6
b. Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L) var. Jawa Candiochid	8
B. Pertumbuhan	8
C. Murashige and Skoog	10
D. Irradiasi Sinar Gamma	13
E. Efek Fisiologi Mutagen	16
F. Fisiologi Pengakaran	17
G. Hipotesis	18
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Lokasi dan Waktu Penelitian	19
B. Populasi dan Sampel	19
C. Variabel Penelitian	19
D. Rancangan Penelitian	19
E. Bahan dan Alat Penelitian.....	20

F. Prosedur Penelitian.....	21
G. Metode Pengumpulan dan Analisis Data.....	22
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	24
B. Pembahasan.....	29
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	38
B. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rekap pengambilan data hasil penelitian	22
2. Rumus Anava satu jalan menurut Sudjana	23
3. Pertumbuhan planlet Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> pada berbagai perlakuan iradiasi sinar gamma pada media MS	24
4. Ringkasan hasil Uji Anava satu jalan pada parameter pertumbuhan planlet pasca irradiasi	25
5. Ringkasan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pertumbuhan planlet pasca irradiasi pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma	25
6. Ringkasan hasil Uji Anava satu jalan pada parameter jumlah daun	25
7. Ringkasan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah daun planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma	26
8. Ringkasan hasil Uji Anava satu jalan pada parameter jumlah akar	26
9. Ringkasan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah akar planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma	27
10. Ringkasan hasil Uji Anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya daun	27
11. Ringkasan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) kecepatan munculnya daun planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma	28
12. Ringkasan hasil Uji Anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya akar	28
13. Ringkasan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) kecepatan munculnya akar planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma	29

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Morfologi Bunga Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	7
2. Morfologi dan Potongan Melintang Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	8
3. Mekanisme Kerangka Berfikir Penelitian	18
4. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Planlet Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	29



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil pengamatan pada parameter pertumbuhan planlet pasca irradiasi.....	45
2. Hasil pengamatan pada parameter kecepatan munculnya daun.....	45
3. Hasil pengamatan pada parameter kecepatan munculnya akar.....	46
4. Hasil pengamatan pada parameter jumlah daun.....	46
5. Hasil pengamatan pada parameter jumlah akar.	46
6. Perhitungan data Anava satu jalan pada parameter pertumbuhan planlet pasca irradiasi Anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17	47
7. Perhitungan data Anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya daun planlet Anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17	49
8. Perhitungan data Anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya akar Anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17.....	51
9. Perhitungan data Anava satu jalan pada parameter jumlah daun Anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17.....	53
10. Perhitungan data Anava satu jalan pada parameter jumlah akar planlet Anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17	55

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keragaman anggrek spesies alam yang sangat besar dan tersebar di seluruh wilayah nusantara. Di antara 5000 spesies anggrek yang ditemukan di wilayah Indonesia, *Phalaenopsis* merupakan salah satu genus yang terkenal akan keindahan dan keragaman coraknya. Hibrida-hibrida yang dihasilkan dan terkenal di dunia banyak ditemukan memiliki induk yang berasal dari *Phalaenopsis* spesies di Indonesia. Salah satu spesies ialah *Phalaenopsis amabilis* yang berwarna putih seperti kupu-kupu. *Phalaenopsis* tersebut menjadi induk yang sangat penting karena menurunkan berbagai hibrida yang berpotensi komersial yang lebih indah, lebih seragam dan kuntum lebih lebar. Spesies *Phalaenopsis* yang lain seperti *Phalaenopsis amboinensis* dan *Phalaenopsis venosa* sangat potensial menurunkan warna kuning (Yulia 2005).

Produksi *Phalaenopsis* di dunia semakin meningkat dan menjadi komoditi unggulan yang tetap prospektif di tengah kelesuan bisnis tanaman hias. Produksi Anggrek di Indonesia diharapkan dapat meningkat dari 16.166.628 pot pada tahun 2005 menjadi 19.284.219 pot tahun 2010 (Rianawati 2003), sesuai standar mutu yang dipersyaratkan pasar domestik dan internasional. Sebagai salah satu negara yang memiliki sumber genetik anggrek bervariasi, Indonesia memiliki kesempatan yang cukup tinggi untuk lebih memberdayakan sumber daya genetik tersebut. Keberhasilan dalam pemberdayaan sumber genetik akan menjadi kekuatan yang berarti dalam pengembangan anggrek Indonesia khususnya *Phalaenopsis*.

Budidaya *Phalaenopsis* di Indonesia yang ada pada saat ini telah didominasi oleh hibrida - hibrida hasil dari mancanegara. Negara yang memiliki kemampuan teknologi yang cukup terkemuka seperti Taiwan, Thailand, Singapura, Hawaii dan Australia merupakan negara penghasil *Phalaenopsis* terbesar di dunia (Bey *et al.* 2006). Perkembangbiakan *Phalaenopsis amabilis* secara konvensional telah mencapai titik klimaks yang dibuktikan dari adanya kejenuhan produksi dan kejenuhan pasar. Persilangan konvensional yang dilakukan pada tetua-tetua yang berasal dari satu genus sudah tidak memberikan corak baru yang mampu

mendongkrak perdagangan anggrek. Upaya inovasi baru sangat dibutuhkan untuk mendapatkan hibrida-hibrida yang berbeda bentuk dan corak. Persilangan intergenerik perlu dikembangkan untuk mendapatkan bentuk dan corak yang baru.

Anggrek hasil persilangan intergenerik telah diperoleh di berbagai Negara terutama Belanda yang kini merupakan penghasil anggrek intergenerik terbesar di dunia khususnya *Phalaenopsis*. Hasil persilangan intergenerik yang ada di Indonesia masih sangat jarang dijumpai meskipun Indonesia memiliki ribuan jenis anggrek. Hal ini disebabkan karena terbatasnya informasi mengenai karakter spesies alam yang ada. *Phalaenopsis amabilis* L. merupakan jenis anggrek asli Indonesia yang mempunyai empat warna, bentuk dan aroma yang khas, serta memiliki bunga yang dapat bertahan kurang lebih dua minggu. *Phalaenopsis amabilis* L. adalah salah satu spesies anggrek dengan jumlah terbesar yang terdapat di dunia (Bey *et al.* 2006).

Pada umumnya, *Phalaenopsis amabilis* L. tidak dikembangbiakkan menggunakan biji secara alamiah tetapi harus menggunakan mikoriza karena biji anggrek tidak mempunyai cadangan makanan. Perbanyak anggrek secara alami menghasilkan persentase perkecambahan yang kurang memenuhi permintaan petani anggrek, hal tersebut dapat ditingkatkan dengan menggunakan metode kultur jaringan (Khasanah 2011). Metode ini dapat menghasilkan perkecambahan anggrek dalam jumlah banyak dan waktu yang relatif singkat (Gunawan 2007). Kultur jaringan adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, organ, embrio yang dipelihara dan ditumbuhkan pada medium buatan yang steril, agar mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnaen 2009). Perbanyak dengan menggunakan kultur jaringan dapat dilakukan setiap saat tanpa tergantung musim karena dilakukan di ruang tertutup, menghasilkan daya multiplikasi tinggi dari bahan tanaman yang kecil, tanaman yang dihasilkan seragam, dan sehat (Yusnita 2003).

Media yang umum digunakan dalam kultur jaringan yaitu media *Murashige and Skoog* (MS) yang mengandung unsur-unsur hara makro dan mikro yang diperlukan tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Zulkarnaen 2009). Keberhasilan dalam teknologi serta penggunaan metode *in vitro* terutama ditunjang oleh pengetahuan tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan.

Komposisi media yang digunakan tergantung jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenisnya maupun jumlahnya, tergantung tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan. Salah satu medium untuk kultur jaringan tanaman adalah media *Murashige and Skoog* (MS). Selain itu, diperlukan bahan tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain. Selain itu, Keistimewaan media MS adalah kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya yang tinggi (Wetter dan Constabel 1991).

Pada perbanyakan anggrek, dapat dilakukan dengan cara iradiasi untuk memperoleh mutan yang berbeda. Iradiasi adalah penyinaran dengan sinar radioaktif yang dapat menimbulkan mutasi. Pada pemuliaan tanaman, mutasi induksi dengan sinar gamma merupakan cara efektif untuk memperkaya plasma nutfah dan memperbaiki varietas atau beberapa sifat yang diinginkan misalnya warna bunga dan warna daun anggrek (Maluszinski 2000). Hasil penelitian Wardhani *et al.* (2007) melaporkan bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 10 Gray mampu menginduksi keragaman pada morfologi tanaman anggrek *Brachypeza indusiata* (Reichb.f). Wegadara (2008) melaporkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma dosis 30 Gray terhadap tanaman *Anthurium andreanum* memberikan pengaruh yang nyata terhadap karakter vegetatif panjang akar, panjang daun, lebar daun, dan tinggi tanaman. Perlakuan penyinaran dengan menggunakan sinar gamma dapat merangsang pertumbuhan dan keragaman tanaman.

Iradiasi sinar Gamma pada tanaman hias misalnya anggrek dengan dosis 0 – 100 Gray menunjukkan pada dosis iradiasi yang lebih dari 50 Gray menyebabkan pertumbuhan terhambat dan akhirnya mati Suskandari *et al.*, (1999). Iradiasi dari material tanaman sebagai prosedur karantina sudah diteliti pada tanaman hidup dalam pot pada dosis 300 – 650 Gy. Efek kerusakan tanaman akibat iradiasi termasuk diantaranya absisi daun, nekrosis, hilangnya pertumbuhan dan kematian tanaman. Iradiasi pada tanaman hidup (setelah 16 minggu) menyebabkan tanaman berada dalam kondisi buruk dan atau sudah berhenti tumbuh (Anonim, 2010).

Prospek teknologi radiasi sinar Gamma dalam peningkatan mutu benih tanaman hutan untuk mendapatkan variasi genetik dan pemecahan masa dormansi sudah dilakukan penelitian, Sudrajat dan Zanzibar (2009) menyatakan bahwa

peningkatan mutu fisiologis benih tanaman hutan dapat dilakukan dengan radiasi dosis rendah (dibawah 40 Gray). Telah ditetapkan bahwa dosis optimum untuk mengendalikan perkecambahan yang baik pada tanaman hias pada kisaran 0 Gray sampai 50 Gray jika perlakuan dilakukan segera setelah panen pada saat periode dormansi. Dosis tinggi juga dapat mendorong peningkatan kebusukan dan pengaruh lain yang tidak dikehendaki yang merugikan pada iradiasi komersial (Matsuyama and Umeda, 1983).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas permasalahan yang perlu diteliti yaitu: Bagaimana pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid?

C. Penegasan Istilah

Dalam penelitian ini ada beberapa batasan istilah yang digunakan untuk menghindari salah pengertian, perlu diberikan penegasan yaitu:

1. Anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid

Anggrek bulan adalah anggrek *monopodial* yang membutuhkan banyak sinar matahari tetapi memerlukan juga peredah yang agak lembab. Dalam penelitian ini menggunakan planlet anggrek yang berumur 2 bulan hasil budidaya tanaman hias anggrek di Candiochid di Jalan Dr. Wahidin – Candi Persil No. 23 Semarang.

2. Pertumbuhan

Pertumbuhan adalah proses penambahan ukuran secara kuantitatif dan bersifat irreversible. Hal ini ditandai dengan planlet anggrek menunjukkan jumlah planlet anggrek yang tumbuh, waktu muncul daun, waktu muncul akar, jumlah daun, dan jumlah akar.

3. Media Murashige and Skoog (MS)

Media *Murashige and Skoog* (MS) adalah media yang digunakan dalam kultur jaringan. Media *Murashige and Skoog* (MS) mengandung unsur-unsur hara makro dan unsur-unsur hara mikro untuk pertumbuhan dan perkembangan planlet.

4. Iradiasi Sinar Gamma

Irradiasi adalah penyinaran dengan sinar radioaktif yang dapat menimbulkan mutasi. Iradiasi sinar gamma yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan dosis 0 Gy, 10 Gy, 20 Gy, 30 Gy, dan 40 Gy.

D. Tujuan Penelitian

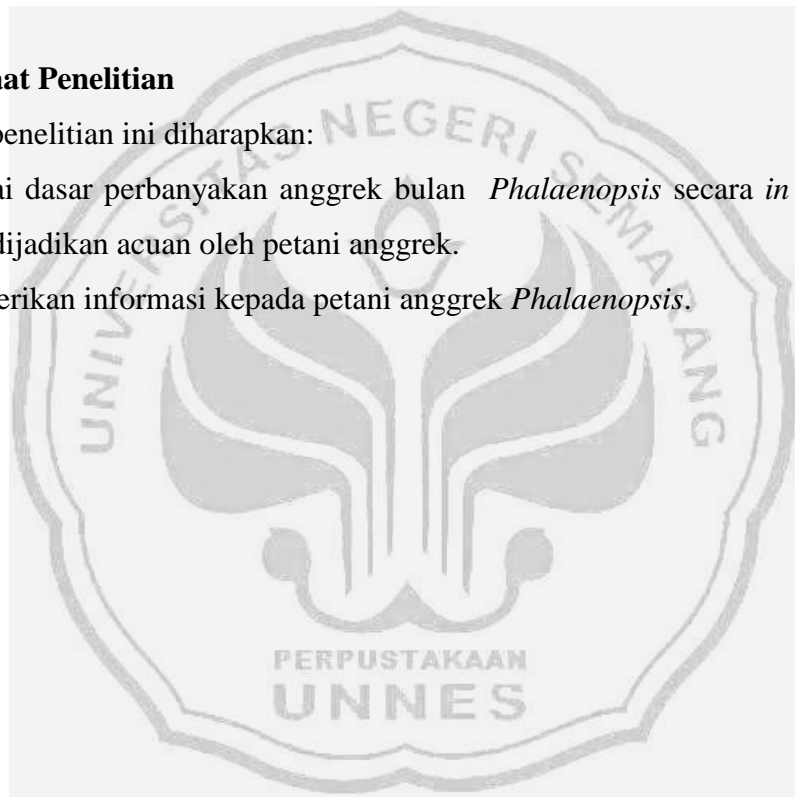
Tujuan dari penelitian ini untuk :

Mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid.

E. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan:

1. Sebagai dasar perbanyakan anggrek bulan *Phalaenopsis* secara *in vitro* yang dapat dijadikan acuan oleh petani anggrek.
2. Memberikan informasi kepada petani anggrek *Phalaenopsis*.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

A. Tinjauan Pustaka

a. Kedudukan Taksonomi anggrek *Phalaenopsis* L. var. Jawa Candiochid.

Menurut Rukmana (2000) dan Amilah 2006, kedudukan anggrek bulan dalam taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Orchidales
Famili	: Orchidaceae
Genus	: <i>Phalaenopsis</i>
Spesies	: <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L) var. Jawa Candiochid

Anggrek bulan termasuk anggrek epifit, akarnya menempel pada batang atau dahan tanaman lain. Pada akar ini terdapat jaringan velamen yang berongga berfungsi memudahkan akar menyerap air hujan yang jatuh pada pohon inang. Pertumbuhan anggrek bulan termasuk dalam pola pertumbuhan monopodial yaitu meninggi pada satu titik tumbuh dan hanya terdiri dari satu batang utama. Batangnya sangat pendek hampir tidak nampak, daun berbentuk ellipsis memanjang, dan bagian ujung agak melebar. Bunga tersusun dalam rangkaian berbentuk tandan, bercabang dan pada tiap tandan terdapat maksimal 25 kuntum. Buah anggrek bulan merupakan buah lantera atau capsular yang memiliki 6 rusuk. Dalam satu buah anggrek terdapat ratusan bahkan jutaan biji (Iswanto, 2001).

Anggrek *phalaenopsis* mempunyai batang pokok yang selalu tampak dominan/ jelas dari cabangnya (monopodial). Anggrek *monopodial* adalah anggrek yang pertumbuhan batangnya lurus ke atas pada suatu batang tanpa batas (Iswanto 2001). Daun dari tipis sampai tebal berdaging (sekulen), melekat pada

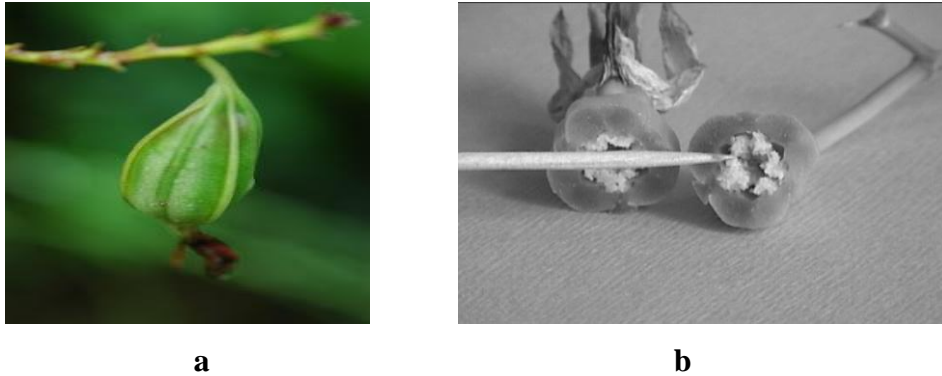
batang dengan kedudukan tiap helai buku, dan berhadapan, artinya tiap buku terdapat dua helai daun yang berhadapan (Gunawan 2007).

Bunga anggrek terdiri dari lima bagian utama, yaitu sepal, petal, stamen (benang sari), pistil (putik), dan ovari (bakal buah). Pelindung bunga terluar pada saat bunga masih kuncup adalah sepala. Anggrek mempunyai tiga helai sepal. Selain sepala, anggrek juga mempunyai tiga helai petala yang posisinya membentuk segitiga. Dua helai petala yang berada diatas membentuk sudut 120° dengan lembar ketiga yang lebih besar disebut labelum atau bibir.



Gambar 1 Morfologi Bunga Anggrek Phalaenopsis (Gunawan 2007)

Benang sari dan tangkai kepala putik menjadi satu membentuk suatu struktur yang disebut *column* (Inggris) atau *gynostemium* (Latin). Jadi *gynostemium (column)* sebenarnya merupakan alat kelamin betina dan jantan yang telah menjadi satu (Gunawan 2007). Buah anggrek merupakan buah kotak. Jika telah masak, buah akan pecah menjadi enam celah(tiga buah katup kecil dan tiga buah katup lebar). Bulu-bulu halus berada diantara biji yang satu dengan biji yang lainnya, kemudian akan lepas apabila sudah masak dengan cara mendesak agar biji keluar. Dengan perantara angin biji akan keluar dan mengalami penyebaran. Jumlah biji banyak dan kecil, tapi hanya sedikit yang tumbuh.sebagian lainnya akan mati. Anggekk Dendrobium memiliki cirri – cirri fase awal dari pembentukan bunga secara *in vitro* (Sheela et al. 2006).



Gambar 2 (a) Morfologi Buah Anggrek *Phalaenopsis* dan (b) Potongan melintang buah anggrek dengan biji seperti tepung putih (Gunawan 2007)

b. Anggrek *Phalaenopsis amabilis* (L) var. Jawa Candiochid

Anggrek Bulan ini tumbuh di tanah atau termasuk anggrek *terrestrial*. Ciri morfologinya antara lain memiliki umbi semu/kormus (*cormus*) berbentuk bulat telur, tertanam di bawah tanah. Setiap buku dan ujung kormusnya akan muncul tunas, setiap batang terdapat 4-7 daun. Daunnya berbentuk lancet memanjang dengan ujung yang meruncing, permukaan daun agak berlipatan (*plicate*), ukuran daunnya kurang lebih 100 cm x 6 cm. ua yang telah lanjut akan menghasilkan keturunan yang lebih variatif (Kartikaningrum *et al.* 2007). Anggrek bulan ini memiliki tangkai bunga *fluorescent* yang dapat mencapai 1 m atau lebih, dengan jumlah bunga sekitar 2-3 kuntum yang mekar serentak sementara yang lainnya masih kuncup. Bunga yang membuka penuh berdiameter 3 – 4 cm. Warna bunga bervariasi dari ungu terang, *pink* hingga putih. Kelopak bunga berbentuk lancet yang melebar di pangkalnya, berukuran 2 cm x 1.5 cm. Bibir bunga berbentuk spatula, runcing di pangkal dan melebar di ujungnya. Tipe yang berbunga ungu memiliki variasi warna kuning di pangkal bibirnya yang bertitik-titik merah (Puspaningtyas *et al.* 2003).

B. Pertumbuhan

Pertumbuhan adalah proses penambahan ukuran secara kuantitatif dan bersifat irreversibel. Pertumbuhan dengan teknik *in vitro* ditandai dengan waktu munculnya daun dan akar. Umumnya, eksplan yang berasal dari tanaman juvenil mempunyai kemampuan membentuk tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan yang berasal dari tanaman dewasa (Yusnita 2003).

Pertumbuhan tunas optimum sangat bergantung pada cahaya, karena cahaya merupakan sumber energi bagi proses fotosintesis tanaman yang

selanjutnya berpengaruh terhadap proses pertumbuhan organ-organ tanaman (Mangoendidjojo 2003). Pada kondisi *in vitro*, pertumbuhan tunas dihasilkan pada kelembaban yang tinggi dan intensitas cahaya yang rendah. Hal ini dapat menyebabkan berkurangnya lapisan kutikula pada daun. Pada beberapa tanaman, stomata daun yang dihasilkan secara *in vitro* tidak dapat menutup penuh (George *et al.* 2008).

1. Syarat Tumbuh Anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid

Pertumbuhan anggrek *phalaeonopsis* selalu ternaungi oleh ranting atau dahan pohon. Karena ternaungi, cahaya matahari yang dibutuhkan anggrek *phalaeonopsis* tidak terlalu tinggi hanya 20 – 25 %. Apabila cahaya yang didapat anggrek lebih besar dari 25%, akan timbul kerusakan pada sebagian atau seluruh jaringan tanaman (Iswanto 2001). Biasanya anggrek – anggrek hasil budidaya memerlukan suhu maksimal 29°C dan suhu minimal 15°C. Anggrek memerlukan kelembapan nisbi (*ratio humidity*) cukup tinggi, yakni 60– 85% (Iswanto 2001). Menurut Widiastoety (2004), media tumbuh digunakan sebagai tempat melekatnya akar atau tempat berdirinya tanaman. Selain itu, media tumbuh juga berperan menyiapkan air dan hara, serta menjaga kelembaban. Ada beberapa syarat media tumbuh yang baik yaitu tahan lama, tidak menjadi sumber penyakit, aerasi dan drainase baik, mampu mengikat dan menyimpan air dan hara dengan baik, serta mudah diperoleh. Ditambahkan oleh Setiawan (2003), bahwa suhu udara yang dingin (di bawah 18°C) biasanya akan memicu pembungaan *Phalaeonopsis* dewasa dan lokasi perawatan *Phalaeonopsis* yang tepat berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan pembungaannya.

Menurut Rukmana (2000), anggrek bulan *Phalaeonopsis* membutuhkan intensitas cahaya matahari berkisar antara 15% – 30%. Menurut Gunawan (2007), anggrek bulan *Phalaeonopsis* memerlukan keteduhan dengan intensitas cahaya matahari sekitar 10%–40 %. Berdasarkan kebutuhan suhu, *Phalaeonopsis* termasuk anggrek tipe hangat yaitu anggrek yang hidup pada daerah yang tidak terlalu dingin dan tidak terlalu panas. Suhu malam hari yang diperlukan antara 21⁰C – 24⁰C dan siang hari antara 24⁰C – 29⁰C (Sarwono 2002). Sedangkan menurut Rukmana (2000), suhu udara yang ideal berkisar antara 15⁰C – 35⁰C, namun suhu optimal bagi pertumbuhan adalah 21⁰C. Ketinggian tempat yang ideal untuk

tanaman anggrek *Phalaenopsis* adalah dari dataran rendah sampai dataran tinggi atau sekitar 50 m – 1000 m dpl. Kelembaban udara yang ideal bagi tanaman anggrek *Phalaenopsis* berkisar antara 65 – 70 % (Rukmana 2000).

Menurut Sulistianingsih (2006), sinar gamma yang diberikan pada biji anggrek berpengaruh pada kecepatan tumbuh protokorm, persentase pertumbuhan protokorm, panjang akar, panjang daun dan menghasilkan mutan. Pemberian radiasi dosis 20 Gray kemudian diiradiasi diulang dengan dosis yang sama yaitu 20 Gray menyebabkan menghambat pertumbuhan planlet. Secara morfologi radiasi 20 dan 25 Gy menunjukkan perubahan pada bentuk akar dan daun pada plantet yang dihasilkan. Akar lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan lain, sedangkan daun mengalami perubahan bentuk.

C. Media Murashige and Skoog (MS).

Menurut Yusnita (2003) komponen media kultur yang lengkap adalah aquades, hara-hara makro dan mikro, gula sebagai sumber energi, vitamin, asam amino, bahan organik lain, zat pengatur tumbuh, suplemen berupa bahan-bahan alami dan agar sebagai pematat media. Unsur hara makro berfungsi sebagai proses menyeimbangkan konsentrasi ion, stabilitas makromolekul, stabilitas koloida, Sedangkan hara mikro biasanya menjalankan fungsi katalitik dan dibutuhkan oleh tumbuhan dalam jumlah sedikit (Taiz 2005).

Berbagai komposisi medium standar telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman antara lain komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1956), Gamborg dkk. B5 (1976), Linsmaier dan Skoog (LS) (1965), Murashige dan Skoog (1962) serta *woody plant medium* (Lloyd dan Mc Cown 1980). Tanaman anggrek biasanya menggunakan media VW, MS dan Knudson. D.

Komponen-komponen yang terdapat dalam media MS meliputi:

1. Nitrogen

Nitrogen merupakan unsur penting bagi pertumbuhan tanaman terutama pada fase vegetatif. Pada fase tersebut terjadi tiga proses penting, yaitu pembelahan sel, perpanjangan sel dan tahap pertama diferensiasi sel yang berhubungan dengan perkembangan akar, daun dan batang (Harjadi 1996). Fungsi nitrogen dalam tanaman adalah sebagai komponen molekul klorofil, unsur

protein, asam amino, komponen enzim, berpengaruh terhadap penggunaan karbohidrat dan merangsang penyerapan nutrisi yang lain (Tisdale *et al* 1985, diacu dalam Aristian 2010).

2. Fosfat

Menurut Bakri (2002) fosfor berfungsi dalam pembelahan sel, perkembangan akar, membantu mempercepat kematangan tanaman dengan mengurangi kelebihan penggunaan N. Unsur P selalu diserap tanaman sebagai $H_2PO_4^-$ dan HPO_4^{2-} , dan disintesis untuk asam nukleat didalam inti sel. Prasetyawan (2003) menyatakan Ion HPO_4^{2-} diserap pada laju penyerapan yang hampir 10 kali lebih cepat daripada laju penyerapan ion $H_2PO_4^-$. Penyerapan ion fosfat tahap pertama diubah menjadi "*phytic acid*".

Kemudian ion fosfat diubah menjadi fosfatida. Penyerapan ion fosfat mengakibatkan terjadinya asam nuklein, sedangkan penyusun asam nuklein adalah gula, basa, dan fosfat. Gula yang penting adalah ribose dan deoksiribosa, ribose terdapat pada RNA sedangkan deoksiribosa pada DNA.

3. Kalium

Kalium merupakan satu-satunya kation monovalen yang essensial bagi tanaman. Kalium berperan sebagai aktivator enzim, translokasi hasil asimilasi dan pembentukan protein serta tepung (karbohidrat). Kalium dalam jumlah yang cukup akan menjamin ketegaran tanaman dan merangsang pertumbuhan akar. Kalium cenderung meniadakan pengaruh buruk nitrogen serta dapat mempengaruhi kematangan yang dipercepat oleh fosfor (Soepardi 1983, diacu dalam Aristian 2010).

Menurut Irawati (2003) fungsi ion K kebalikan dengan Ca, ion K bekerja menggelembungkan sedangkan ion Ca menyusutkan. Menurut Noggle dan Friitz (1979) dalam Yuniar (2000) K diasimilasi melalui pembentukan ikatan elektrostastik yang relatif lemah dengan anion organik yang terdapat dalam sel tumbuhan seperti ion malat. Pemupukan K pada tanah padat dapat meningkatkan berat akar dan menambah luas permukaan akar.

4. Belerang atau sulfur

Belerang atau sulfur dibutuhkan tanaman dalam pembentukan asam amino sistin, sistein dan metionin. Disamping itu belerang atau sulfur merupakan

bagian dari biotin, thiamin, ko-enzim A dan glutathionin. Diperkirakan 90% belerang atau sulfur dalam tanaman ditemukan dalam bentuk asam amino, yang salah satu fungsi utamanya adalah penyusun protein yaitu dalam pembentukan ikatan disulfida antara rantai-rantai peptida (Tisdale *et al* 1990). Belerang merupakan bagian (*constituent*) dari hasil metabolisme senyawa-senyawa kompleks. Belerang juga berfungsi sebagai aktivator, kofaktor atau regulator enzim dan berperan dalam proses fisiologi tanaman. Selain fungsi yang dikemukakan di atas, peranan belerang dalam pertumbuhan dan metabolisme tanaman diantaranya: merupakan bagian penting dari ferodoksin, suatu kompleks Fe dan belerang yang terdapat dalam kloroplas dan terlibat dalam reaksi oksidoreduksi dengan transfer elektron serta dalam reduksi nitrat dalam proses fotosintesis.

5. Kalsium (Ca)

Kalsium (Ca) diserap dalam bentuk ion Ca^{+} , kalsium dibutuhkan pada saat pembentukan dinding primitif, Ca mempengaruhi hidrasi pada system misel air yaitu pada benang-benang makro molekul protein misel, dengan berpengaruhnya Ca pada hidrasi dengan sendirinya resorpsi terhadap nutrisi terpengaruhi.

6. Magnesium

Magnesium (Mg) diserap tanaman dalam bentuk ion Mg^{2+} , kemudian ion tersebut diserap menjadi klorofil. Magnesium adalah aktivator yang berperan dalam transportasi energi beberapa enzim di dalam tanaman. Unsur ini sangat dominan keberadaannya di daun, terutama untuk ketersediaan klorofil. Jadi kecukupan magnesium sangat diperlukan untuk memperlancar proses fotosintesis. Unsur itu juga merupakan komponen inti pembentukan klorofil dan enzim di berbagai proses sintesis protein.

7. Besi

Besi (Fe) diserap tanaman dalam bentuk ion Fe^{2+} . Fe esensial bagi sintesa sel, bakteri tertentu mempunyai kemampuan dalam mengoksidasi garam-garam besi menjadi senyawa besi. Besi merupakan bagian dari sisi katalisis banyak enzim yang melakukan reaksi reduksi-oksidasi, ferro atau ferrit merupakan bagian

dari heamin, dari sitokrom yang terdapat pada semua sel. Besi ditemukan dalam bentuk flavoprotein dan ferrodoksin.

8. Baron (B) dan Molybdenum (Mo)

Boron memiliki kaitan erat dengan proses pembentukan, pembelahan dan diferensiasi, dan pembagian tugas sel. Hal ini terkait dengan perannya dalam sintesis RNA, bahan dasar pembentukan sel. Boron diangkut dari akar ke tajuk tanaman melalui pembuluh xylem. Molybdenum diserap dalam bentuk ion molybdate (MoO_4^{2-}). Molybdenum bertugas sebagai pembawa elektron untuk mengubah nitrat menjadi enzim. Unsur ini juga berperan dalam fiksasi nitrogen.

9. Mangan (Mn) dan Klor (Cl)

Mangan diserap tanaman dalam bentuk ion Mn^{2+} , Mn berperan dalam kemampuan katalisis dalam tanaman atau merupakan enzim aktivator dalam siklus krebs, sedangkan klor diserap dalam bentuk Cl^- , Cl dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang kecil. Cl berfungsi meningkatkan berat kering dari tanaman (Irawati 2003).

D. Iradiasi Sinar Gamma

Mutasi adalah perubahan genetik pada sejumlah gen atau susunan kromosom maupun gen tunggal. Secara molekuler, mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida yang menyebabkan terjadinya perubahan pada protein yang dihasilkan. Induksi mutasi merupakan salah satu metode yang efektif untuk meningkatkan keragaman tanaman (Wulan 2007). Mutasi gen terjadi sebagai akibat perubahan dalam gen dan timbul secara spontan. Mutasi pada tanaman dapat menyebabkan perubahan pada bagian-bagian tanaman baik bentuk maupun warna juga perubahan pada sifat lainnya. Tanaman hasil mutasi dinamakan mutan, sedangkan generasinya dinyatakan dengan M_1 , M_2 (M = Mutan) dan seterusnya. Tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, generasinya dinyatakan dengan mutan vegetatif₁ (MV_1), mutan vegetatif₂ (MV_2), dan seterusnya. Mutasi dibagi menjadi dua yaitu mutasi kromosom dan mutasi gen. Dosis iradiasi yang digunakan untuk menginduksi keragaman sangat menentukan keberhasilan terbentuknya tanaman mutan. Dosis iradiasi yang dipakai untuk mendapatkan tanaman mutan dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu jenis

tanaman yang digunakan, fase tumbuh tanaman saat iradiasi, ukuran bahan tanaman, dan tingkat ketebalan bahan yang akan diiradiasi.

Iradiasi sinar gamma 10 Gray dapat mempengaruhi 3 macam keragaman morfologi tanaman Anggrek yaitu batang pendek, warna daun hijau kekuningan dan ukuran daun lebih kecil. Iradiasi sinar gamma 20 Gray dapat mempengaruhi 4 keragaman morfologi tanaman Anggrek yaitu batang pendek, lingkaran batang kecil, warna daun hijau kehitaman dan ukuran daun lebih kecil (Astuti 2007).

Pada penelitian Suskandari *et al.*, (1999) Irradiasi sinar gamma mengakibatkan penurunan daya hidup tanaman, tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun dan peningkatan/ penurunan jumlah bunga pita dan bunga tabung serta abnormalitas bunga. Perubahan bentuk dan warna bunga terdeteksi pada tanaman yang diiradiasi dengan sinar gamma diatas 15 Gray. Natawijaya *et al.*, (2009) dalam penelitian menjelaskan bahwa iradiasi tunggal pada dosis 10-50 Gray dapat memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan Anggrek.

Mutasi gen dapat terjadi dua arah, yaitu dari dominan ke resesif atau sebaliknya. Mutasi genom dapat menyebabkan perubahan banyak gen. Namun, menurut Herawati (2000) mutasi berdasarkan perubahan yang terjadi dapat digolongkan menjadi mutasi gen dan mutasi kromosom. Mutasi gen adalah perubahan yang sangat kecil terjadi di dalam struktur molekuler dari gen, yang dibagi menjadi dua yaitu pergantian pasangan basa dan perubahan kerangkanya. Mutasi kromosom adalah perubahan struktur yang meliputi penambahan, kehilangan atau penempatan kembali segmen kromosom.

Menurut Kurniati (2004), Iradiasi Sinar Gamma berpengaruh terhadap keragaman Genetik *Phalaenopsis hinamatsuri* x *doritaenopsis* Modern Beauty dan *Phalaenopsis amabilis* "Formosa" x *Phalaenopsis taipei gold* "GS". Hal ini ditandai dengan semakin tinggi dosis penyinaran maka semakin tinggi macam keragamannya. Menurut Poespodarsono (1991) mutagen dikelompokkan menjadi tiga, yaitu 1) mutagen fisik iradiasi seperti sinar X, sinar α , sinar β , sinar γ , 2) mutagen fisik non-radiasi, seperti sinar UV, serta 3) mutagen kimia seperti EMS (ethylene methane sulfonate), NMU (nitrosomethyl urea), NTG (nitrosoguanidine), dan sebagainya. Mutasi fisik non-radiasi berdaya tembus rendah, sehingga umumnya digunakan untuk mutasi mikroorganisme.

Mutasi yang banyak dilakukan dari ketiga mutagen adalah yang diaplikasikan pada tanaman hias. Radiasi pada tanaman hias dilakukan untuk mendapatkan sifat baru yang belum dimiliki oleh induk tanaman. Sumber radiasi yang digunakan antara lain sinar gamma, sinar neutron, sinar beta dan sinar X. Sulistianingsih (2009) melaporkan bahwa keragaman morfologi daun semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya dosis iradiasi. Keragaman komponen varian fenotip dan genotip menunjukkan terbesar terjadi di dalam populasi dibanding antar populasi.

Penggunaan sinar gamma untuk menginduksi keragaman pada tanaman hias telah digunakan oleh banyak peneliti antara lain pada tanaman Anggrek (Arunyanart & Soontronyatara 2002), dan Chrysanthemum (Mandal *et al.* 2000). Pengujian berbagai dosis iradiasi dilakukan untuk mengetahui radiosensitivitas suatu jaringan perlu dilakukan untuk mengetahui seberapa besar sensitivitas jaringan tanaman yang diuji terhadap dosis iradiasi yang diberikan. Penentuan dosis iradiasi yang tepat perlu dilakukan untuk mendapatkan varian yang lebih banyak.

Pada beberapa studi mutagenesis, faktor kunci di dalam melakukan iradiasi ialah dosis, yang merupakan jumlah energi iradiasi yang diabsorpsi oleh materi. Unit pengukuran dosis iradiasi ialah Gray (Gy). 1 Gy setara dengan absorpsi 1 Joule energi per kilogram produk yang diradiasi, yang setara dengan 100 rad. Dosis iradiasi dibagi dalam tiga cakupan kategori: tinggi (> 10 kGy), medium (1-10 kGy), dan rendah (< 1 kGy). Dosis yang tinggi digunakan untuk sterilisasi produk makanan, dan untuk biji sebesar 60-700 Gy. Pada tanaman kentang yang diperbanyak secara mikro, dosis optimal untuk bertahan hidup ialah 20 Gy (Ahloowalia & Maluszynski 2001).

Secara visual tingkat sensitivitas ini dapat diamati dari respon yang diberikan tanaman, baik dari morfologi tanaman, sterilitas, maupun dosis letal 50 (LD50). LD50 ialah dosis yang menyebabkan kematian 50% dari populasi yang diradiasi (Omar *et al.* 2008). Dari banyak penelitian mutasi induksi, telah diketahui bahwa umumnya mutasi yang diinginkan terletak pada kisaran LD50 atau sedikit di bawahnya. Pada kasus tertentu, misalnya pada perlakuan kalus digunakan dosis yang besarnya sekitar LD30.

Faktor yang mempengaruhi tingkat sensitivitas tanaman terhadap iradiasi, secara fisik bentuk morfologi tanaman, kesukulenan material dapat mempengaruhi ketahanan fisik sel saat menerima iradiasi sinar gamma. Hal ini berhubungan dengan faktor biologis lainnya seperti faktor genetika, dan juga faktor lingkungan seperti oksigen, kadar air, penyimpanan pasca iradiasi dan suhu (Ashraf *et al.* 2003).

E. Efek Fisiologi Mutagen

Pemuliaan mutasi melalui mutagenesis memberikan dampak secara sitologis maupun fisiologis karena mutasi dapat terjadi pada tingkat sel maupun tingkat jaringan (Ashraf *et al.* 2003). Kerusakan fisiologi yang disebabkan oleh mutagen, perlakuan mutagenik menyebabkan tingkat kematian organisme yang rendah, biasanya frekuensi mutasinya tinggi, kerusakan yang ditimbulkan merupakan kerusakan ekstrakromosomal. Sebaliknya, bila tingkat lethalitas tinggi, frekuensi mutasinya rendah dapat dikategorikan kerusakan kromosomal (Wi *et al.* 2007).

Kerusakan fisiologis pada sejumlah sel di jaringan meristem apikal dapat terjadi pada lapisan terluar, yaitu epidermis (L1) yang menutupi semua jaringan misalnya daun, batang, petal bunga dan sebagainya. Jaringan di bawahnya yang terdiri atas beberapa lapis sel di dalam batang dan sebagian besar sel-sel yang berada pada daun disebut lapisan sub-epidermis (L2), selanjutnya L3 merupakan sebagian besar jaringan internal batang dan sejumlah sel di sekitar jaringan pembuluh daun (Lineberger 2007).

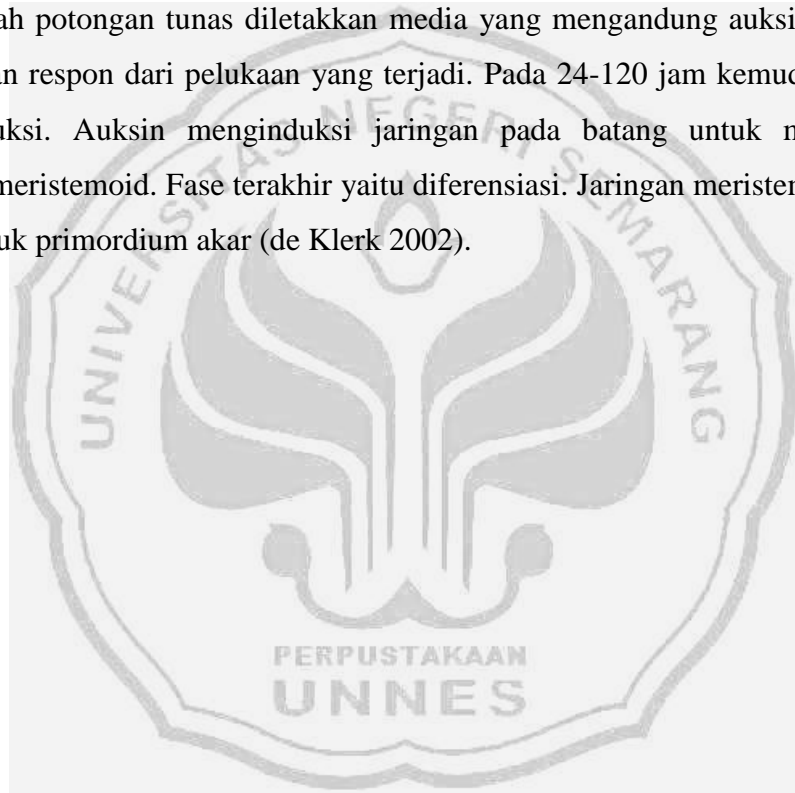
Apabila mutasi non-lethal terjadi pada sel yang aktif membelah, seperti sel meristem tersebut, maka biasanya akan diperoleh keturunan sel-sel yang bermutasi dan sel sel yang tidak bermutasi tergantung pada dimensi mutasi. Dimensi mutasi yang terjadi pada jaringan ini tergantung pada posisi sel yang bermutasi. Melalui mutasi induksi, genotip yang diinginkan tidak dapat segera dikenali karena terbentuknya chimera pada meristem yang multiseluler. Fenomena pada tanaman termutasi ini dikatakan chimera apabila sel yang tumbuh tersebut menunjukkan lebih dari satu genotip dalam satu jaringan tanaman. Seperti misalnya tanaman variegata, sel-sel ini berasal dari jaringan meristem apikal yang

beberapa selnya tidak mampu mensintesis khlorofil sehingga daun tidak berwarna hijau (Cammareri *et al.* 2002).

F. Fisiologi Pengakaran

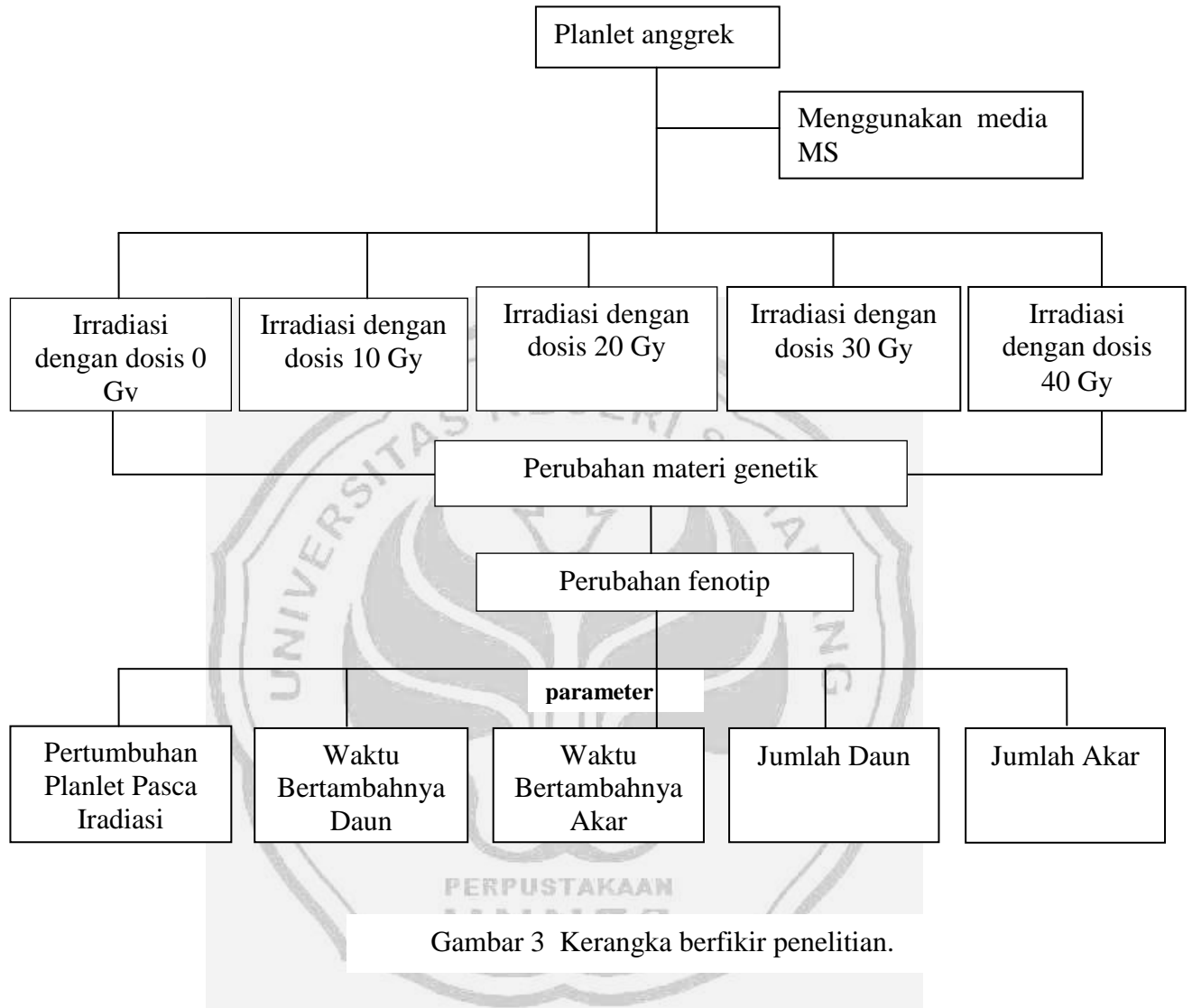
Pembentukan akar merupakan salah satu tahap yang penting dalam dalam kultur *in vitro*. Perkembangan pengetahuan tentang fisiologi pengakaran dan hasil penelitian menunjukkan bahwa auksin berpengaruh terhadap pembentukan akar adventif (de Klerk 2002).

Proses pembentukan akar adventif terdiri dari tiga proses yaitu dedifferensiasi, induksi dan differensiasi. Proses dedifferensiasi terjadi pada 0-24 jam setelah potongan tunas diletakkan media yang mengandung auksin. Fase ini merupakan respon dari pelukaan yang terjadi. Pada 24-120 jam kemudian terjadi fase induksi. Auksin menginduksi jaringan pada batang untuk membentuk jaringan meristemoid. Fase terakhir yaitu diferensiasi. Jaringan meristemoid mulai membentuk primordium akar (de Klerk 2002).



Kerangka Berpikir

Kerangka berpikir dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3 Kerangka berfikir penelitian.

G. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut: Iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. Var. Jawa Candiochid.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang dan Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PATIR-BATAN) Jakarta. Pengambilan data dilaksanakan pada bulan Mei 2011 – Mei 2012.

B. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan adalah planlet anggrek *amabilis* L. var. Jawa Candiochid, Sampel yang digunakan adalah planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid yang berumur 2 bulan.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas yang digunakan adalah iradiasi sinar gamma dengan dosis (Gray) 0, 10, 20, 30 dan 40.
2. Variabel Terikat yang digunakan adalah pertumbuhan anggrek *Phalaenopsis*, dengan parameter:
 - a. Pertumbuhan planlet pasca irradiasi
 - b. Kecepatan munculnya daun.
 - c. Kecepatan munculnya akar.
 - d. Jumlah daun.
 - e. Jumlah akar.
3. Variabel Kendali yang digunakan pH media MS yang digunakan yaitu 6, suhu ruang tanam dan ruang inkubasi 24⁰C, cahaya 1000 lux atau setara dengan 1 lampu TL 40 Watt.

D. Rancangan Percobaan

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan dengan 7 ulangan pada setiap perlakuan. Adapun unit penelitian yaitu satu botol kultur

dengan 3 planlet setiap botol. Total botol yang diperlukan untuk perbanyakan sejumlah $5 \times 7 = 35$ botol.

Adapun denah pengacakan perlakuan sebagai berikut:

I ₁ (1)	I ₃ (5)	I ₂ (1)	I ₀ (5)	I ₄ (6)
I ₂ (6)	I ₄ (3)	I ₃ (4)	I ₄ (4)	I ₄ (7)
I ₃ (6)	I ₁ (5)	I ₀ (1)	I ₀ (2)	I ₁ (4)
I ₃ (1)	I ₀ (6)	I ₂ (4)	I ₁ (2)	I ₄ (2)
I ₁ (6)	I ₀ (4)	I ₂ (2)	I ₀ (3)	I ₂ (7)
I ₂ (3)	I ₃ (4)	I ₃ (2)	I ₁ (3)	I ₀ (7)
I ₃ (7)	I ₄ (1)	I ₄ (5)	I ₁ (7)	I ₂ (5)

Keterangan :

- I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tidak diiradiasi).
 I₁ = Irradiasi dengan dosis 10 Gray.
 I₂ = Irradiasi dengan dosis 20 Gray.
 I₃ = Irradiasi dengan dosis 30 Gray.
 I₄ = Irradiasi dengan dosis 40 Gray.
 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) = Ulangan.

E. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan yang digunakan adalah 105 planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. Var. Jawa Candiochid yang berumur dua bulan, 1 L akuades, media *Murashige and Skoog* (MS) yang mengandung unsur-unsur hara makro (N, P, K, Ca, Mg, dan Na) dan unsur-unsur hara mikro (B, Co, Mn, I, Fe, Zn, dan Cu), indikator pH, gula pasir 30 g/L, dan agar 7 g/L.
2. Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow* (LAF) sebagai meja kerja steril yang dilengkapi dengan UV, *blower* dan Neon, 1 buah autoclaf, 1 buah timbangan analitik, alat gelas, terdiri dari 1 buah erlenmeyer, 1 buah gelas

ukur, 9 buah pipet dan 2 buah spatula, alat diseksi yang terdiri dari 1 buah pinset, 1 buah *scalpel*, dan mata pisau, 1 buah pembakar spiritus, 35 botol kultur.

F. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan media *Murashige and Skoog* (MS)

Gula pasir sebanyak 30 gram dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 ml. Kemudian menambahkan larutan stok NH_4NO_3 , KNO_3 , CaCl_2 , MgSO_4 , KH_2PO_4 , larutan stok mikronutrien, larutan stok vitamin dan myoinositol ke dalam gelas piala masing-masing sebanyak 10 ml/L, kemudian mengukur indikator pH larutan hingga 6, setelah itu menambahkan aquades hingga volume mencapai 1 liter dan mengaduknya hingga homogen. Larutan media dalam gelas piala ditambah dengan agar sebanyak 7 g/l dan dimasak hingga mendidih. Sambil dipanaskan larutan terus diaduk agar homogen. Setelah mendidih, media dituang ke dalam botol-botol steril yang telah diberi label perlakuan dan ditutup rapat. Media yang telah dituang dalam botol disterilisasi pada suhu 121°C dengan tekanan 20 psi selama 20 menit.

2. Penanaman dan inkubasi planlet.

Planlet hasil kultur dipindah ke media MS di dalam LAF. Setiap botol terdiri atas 3 planlet anggrek, kemudian planlet diinkubasi pada suhu $24\text{-}26^\circ\text{C}$ dengan cahaya lampu TL 40 watt. Inkubasi dilakukan selama tiga bulan dengan subkultur setiap bulan. Sub kultur dilakukan tiap satu bulan sekali, karena dalam jangka waktu tersebut diperkirakan media mulai kehabisan nutrisi.

3. Iradiasi planlet.

Planlet anggrek yang sudah ditanam, kemudian dilakukan iradiasi dengan dosis (Gray) 0, 10, 20, 30, dan 40 masing – masing selama 15 menit.

4. Sub kultur planlet pada media MS

Sub kultur dilakukan tiap satu bulan sekali, karena dalam jangka waktu tersebut diperkirakan media mulai kehabisan nutrisi. Sub kultur juga dilakukan apabila:

- a. Planlet kekurangan sumber hara dalam media.
- b. Planlet terancam kontaminasi oleh kontaminan yang berada di sekitarnya (dalam satu botol).

G. Metode Pengumpulan dan Analisis Data

Data berupa pertumbuhan plantlet anggrek, pengambilan data dihitung pada akhir penelitian selama 12 bulan. Dengan parameter sebagai berikut:

- Pertumbuhan plantlet pasca iradiasi, di mulai dua minggu setelah irradiasi sampai akhir pengambilan data selama 12 bulan.
- Kecepatan munculnya daun, diperoleh dari kecepatan munculnya daun pada setiap plantlet yang diamati dua minggu sekali selama 12 bulan.
- Kecepatan munculnya akar, diperoleh dari kecepatan munculnya akar pada setiap plantlet yang diamati dua minggu sekali selama 12 bulan.
- Jumlah daun, daun diperoleh pada setiap plantlet yang diamati dua minggu sekali selama 12 bulan.
- Jumlah akar, akar diperoleh pada setiap plantlet yang diamati dua minggu sekali selama 12 bulan.

Tabel 1 Rekap pengambilan data hasil penelitian.

Perlakuan	Ulangan							Total Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	
0 Gy								
10 Gy								
20 Gy								
30 Gy								
40 Gy								

Data yang sudah dianalisis menggunakan uji Analisis Varians (ANAVA) satu jalan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 17, pada arah probabilitas 0,05. Jika hasil uji Anava signifikan, maka akan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan tingkat kepercayaan 95 % untuk melihat pengaruh tiap kelompok perlakuan .

Tabel 2 . Rumus Anava satu jalan Menurut Sudjana (2005).

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel
Perlakuan					5%
Galat					1%
Total					

Keterangan :

- dB : derajat kebebasan
 KT : kuadrat tengah
 $t(1-1/2\alpha)$: treatment
 JK : jumlah kuadrat
 F : nilai frekuensi
 r : replikasi atau ulangan

1. Faktor koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum \sum x)^2}{N}$$

2. Jumlah Kuadrat

$$JKT = \sum \sum x_{ij}^2 - FK$$

$$JKP = \sum \frac{(\sum x_i)^2}{r} - FK$$

3. Kuadrat Tengah (KT)

$$KTP = \frac{JKP}{db}$$

$$KTG = \frac{JKG}{db}$$

4. F hitung

$$F_{hit} = \frac{KTP}{KTG}$$

Selanjutnya untuk dapat menolak atau menerima hipotesis, maka F hitung yang telah diketahui harus dikonsultasikan dengan membandingkan nilai F hitung dengan F tabel, sehingga kesimpulan yang dapat diambil adalah :

1. Bila $F_h > F_t$ = Signifikan → H_0 ditolak, H_a diterima.
2. Bila $F_h < F_t$ = tidak Signifikan → H_0 diterima, H_a ditolak

BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Hasil penelitian pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* dengan pemberian berbagai iradiasi sinar gamma pada media MS dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 3 Pertumbuhan planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada berbagai perlakuan iradiasi sinar gamma pada media MS

Perlakuan	Parameter				
	Rerata Pertumbuhan Pasca Iradiasi (%)	Rerata Kecepatan Munculnya Daun (hari)	Rerata Kecepatan Munculnya Akar (hari)	Rerata Jumlah Daun (helai)	Rerata Jumlah Akar (helai)
I ₀	100,00	2,85	2,42	5,14	4,28
I ₁	76,19	3,00	1,71	5,42	2,14
I ₂	80,95	2,85	1,71	7,00	2,14
I ₃	71,42	2,14	1,00	3,00	1,42
I ₄	57,14	1,57	1,00	3,42	1,00

Keterangan :

- I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tidak diirradiasi)
- I₁ = Irradiasi dengan dosis 10 Gray
- I₂ = Irradiasi dengan dosis 20 Gray
- I₃ = Irradiasi dengan dosis 30 Gray
- I₄ = Irradiasi dengan dosis 40 Gray

Berdasarkan data pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa pertumbuhan planlet pasca iradiasi, kecepatan munculnya daun, kecepatan munculnya akar, jumlah daun, dan jumlah akar planlet anggrek bervariasi pada berbagai perlakuan dosis iradiasi sinar gamma. Untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan planlet pasca iradiasi, kecepatan munculnya daun, kecepatan munculnya akar, jumlah daun, dan jumlah akar, maka data diuji dengan ANAVA satu jalan.

Tabel 4 Ringkasan hasil uji anava satu jalan pada parameter pertumbuhan planlet pasca iradiasi

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	6,114	1,529	4,013*	2,69	4,02
Galat	30	11,429	0,381			
Total	34	17,543				

Keterangan: * Signifikan

Berdasarkan hasil anava pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa iradiasi sinar gamma berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan planlet pasca iradiasi dalam taraf kepercayaan 95%, sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

Tabel 5 Ringkasan hasil uji beda nyata terkecil (BNT) pertumbuhan planlet pasca iradiasi pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma

Dosis	Rerata Pertumbuhan Planlet Pasca Iradiasi (%)
0 Gray	100,00 ^a
10 Gray	76,19 ^b
20 Gray	80,95 ^{ab}
30 Gray	71,42 ^b
40 Gray	57,14 ^b

Data hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran

Angka yang dibuktikan oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda signifikan pada uji beda nyata terkecil (BNT) $\alpha = 0,05$

Pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa pertumbuhan planlet yang tidak diiradiasi sinar gamma mengakibatkan rerata pertumbuhan planlet paling tinggi yakni 100,00%, berbeda signifikan dengan rerata pada dosis iradiasi 20 Gray yakni 80,95%. Rerata pertumbuhan planlet pasca iradiasi pada dosis iradiasi 10, 30, dan 40 (Gray) yakni 76,19%, 71,42%, dan 57,14%, berbeda signifikan dengan rerata pada dosis iradiasi 20 Gray dan planlet yang tidak diiradiasi.

Tabel 6 Ringkasan hasil uji anava satu jalan pada parameter jumlah daun

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	73,314	18,329	6,228**	2,69	4,02
Galat	30	88,286	2,943			
Total	34	161,600				

Keterangan: ** Sangat Signifikan

Berdasarkan hasil anava pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa iradiasi sinar gamma berpengaruh sangat signifikan terhadap jumlah daun dalam taraf kepercayaan 95% maupun 99%, sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

Tabel 7 Ringkasan hasil uji beda nyata terkecil (BNT) jumlah daun planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma

Dosis	Rerata Jumlah Daun (helai)
0 Gray	5,14 ^{ab}
10 Gray	5,42 ^{ab}
20 Gray	7,00 ^a
30 Gray	3,00 ^b
40 Gray	3,42 ^b

Data hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran

Angka yang dibuktikan oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda signifikan pada uji beda nyata terkecil (BNT) $\alpha = 0,05$

Pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 20 Gray dapat memacu rerata jumlah daun paling optimal yakni sebesar 7,00 helai, berbeda signifikan dengan rerata dosis iradiasi 0 (tidak diiradiasi), 10, 30, 40 (Gray) yakni 5,42 helai, 5,14 helai, 3,00 helai, dan 3,42 helai.

Tabel 8 Ringkasan hasil uji anava satu jalan pada parameter jumlah akar

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	42,457	10,614	8,443**	2,69	4,02
Galat	30	37,714	1,257			
Total	34	80,171				

Keterangan:

** Sangat Signifikan

Berdasarkan hasil anava pada Tabel 8 dapat dilihat bahwa iradiasi sinar gamma berpengaruh sangat signifikan terhadap jumlah akar dalam taraf kepercayaan 95% maupun 99%, sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

Tabel 9 Ringkasan hasil uji beda nyata terkecil (BNT) jumlah akar planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma

Dosis	Rerata Jumlah Akar (helai)
0 Gray	4,28 ^a
10 Gray	2,14 ^b
20 Gray	2,14 ^b
30 Gray	1,41 ^b
40 Gray	1,00 ^b

Data hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran

Angka yang dibuktikan oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda signifikan pada uji beda nyata terkecil (BNT) $\alpha = 0,05$

Pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa pemberian perlakuan yang tidak diiradiasi sinar gamma dapat memacu rerata jumlah akar paling optimal yakni sebesar 4,28 helai, berbeda signifikan dengan rerata pada iradiasi dengan dosis 10, 20, 30, dan 40 (Gray) yakni 2,14 helai, 2,14 helai, 1,41 helai, dan 1,00 helai.

Tabel 10 Ringkasan hasil uji anava satu jalan pada paramter kecepatan munculnya daun

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	6,000	1,500	3,580*	2,69	4,02
Galat	30	12,571	0,419			
Total	34	18,571				

Keterangan:

* Signifikan

Berdasarkan hasil anava pada Tabel 10 dapat dilihat bahwa iradiasi sinar gamma berpengaruh signifikan terhadap kecepatan munculnya daun dalam taraf kepercayaan 95%, sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

Tabel 11 Ringkasan hasil uji beda nyata terkecil (BNT) kecepatan munculnya daun planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma

Dosis	Rerata Kecepatan Munculnya Daun (hari)
0 Gray	2,85 ^{ab}
10 Gray	3,00 ^a
20 Gray	2,85 ^{ab}
30 Gray	2,14 ^b
40 Gray	1,57 ^b

Data hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran

Angka yang dibuktikan oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda signifikan pada uji beda nyata terkecil (BNT) $\alpha = 0,05$

Pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 40 Gray dapat memacu kecepatan munculnya daun paling optimal yakni 1,57 hari, berbeda signifikan dengan rerata pada iradiasi sinar gamma dengan dosis 0 (tidak diiradiasi), 10, 20, dan 30 (Gray) yakni 2,85 hari, 3,00 hari, 2,85 hari dan 2,14 hari.

Tabel 12 Ringkasan hasil uji anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya akar

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	9,829	2,457	8,323**	2,69	4,02
Galat	30	8,857	0,295			
Total	34	18,686				

Keterangan :

** Sangat Signifikan

Berdasarkan hasil anava pada Tabel 12 dapat dilihat bahwa iradiasi sinar gamma berpengaruh sangat signifikan terhadap kecepatan munculnya akar dalam taraf kepercayaan 95% maupun 99%, sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

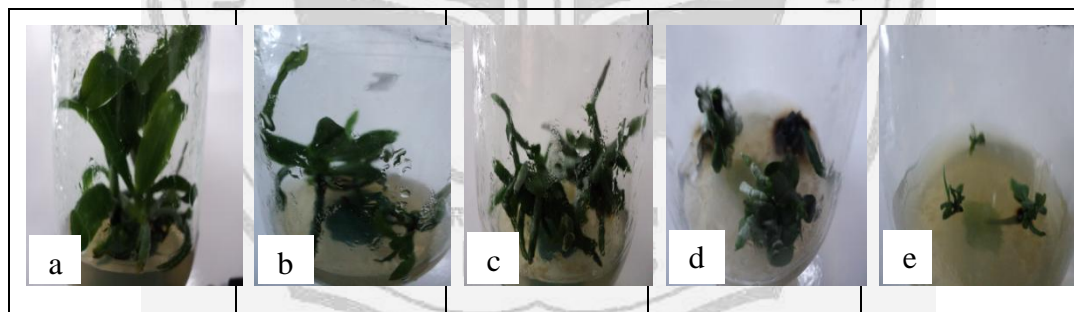
Tabel 13 Ringkasan hasil uji beda nyata terkecil (BNT) kecepatan munculnya akar planlet pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma

Dosis	Rerata Kecepatan Munculya Akar (hari)
0 Gray	2,42 ^a
10 Gray	1,71 ^{ab}
20 Gray	1,71 ^{ab}
30 Gray	1,00 ^b
40 Gray	1,00 ^b

Data hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran

Angka yang dibuktikan oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda signifikan pada uji beda nyata terkecil (BNT) $\alpha = 0,05$

Pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 30 dan 40 (Gray) dapat memacu rerata kecepatan munculnya akar yakni sebesar 1,00 hari, berbeda signifikan dengan rerata iradiasi sinar gamma pada dosis 0 (tidak diiradiasi), 10, dan 20 (Gray) yakni 2,42 hari, 1,71 hari, dan 1,71 hari.



Gambar 4 Hasil pengamatan pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. dari berbagai dosis iradiasi sinar gamma 0 gray (tidak diiradiasi) (a), 10 gray (b), 20 gray (c), 30 gray (d), dan 40 gray (e).

B. Pembahasan

1. Pertumbuhan Planlet Pasca Irradiasi

Hasil analisis anava diketahui bahwa pemberian dosis iradiasi sinar gamma berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan planlet pasca iradiasi. Hal ini berarti iradiasi sinar gamma dapat menghambat pertumbuhan planlet. Iradiasi adalah penyinaran dengan radioaktif yang menimbulkan mutasi. Pemberian

iradiasi sinar gamma menyebabkan tanaman menjadi chimera (sel yang tumbuh tersebut menunjukkan lebih dari satu genotip dalam satu jaringan tanaman) dan merusak fisiologis seperti tingkat kematian organisme yang rendah. Pemberian iradiasi sinar gamma dengan dosis yang tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan planlet menjadi terhambat. Hasil penelitian Wandhani *et al.*(2007) bahwa sinar gamma berpengaruh terhadap pertumbuhan anggrek *Brachyepiza indusiata* dengan dosis 0 Gray yang paling optimal, hal ini ditandai dengan semakin tinggi dosis yang diberikan semakin tinggi planlet anggrek yang tidak tumbuh.

Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) menunjukkan bahwa pertumbuhan planlet pasca iradiasi yang paling optimal diperoleh pada perlakuan yang tidak diberi iradiasi sinar gamma dengan nilai rerata 100,00%, Sedangkan pertumbuhan planlet yang cukup rendah yaitu pada dosis 40 Gray dengan nilai rerata 57,14%. Hal ini berarti semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin rendah tingkat pertumbuhan planlet. Pada pemberian perlakuan dosis yang berbeda ditemukan variasi pertumbuhan planlet yang berbeda (Tabel 3) tetapi menurut penelitian (Trenggono *et al* 2008) bahwa dosis yang paling optimal terhadap pertumbuhan planlet anggrek yaitu dosis 10 Gray.

Pertumbuhan planlet baru sangat penting untuk memperbanyak planlet yang tumbuh terutama planlet mutan hasil iradiasi. Ada faktor yang mempengaruhi pertumbuhan planlet setelah diiradiasi, antara lain tingkat kerusakan sel- selnya yang baru dan terus berkembang membentuk massa sel yang selanjutnya selain itu media pendukung pertumbuhan planlet harus sesuai dengan kebutuhan planlet anggrek, sehingga mampu memenuhi kebutuhan planlet untuk tumbuh dan berkembang. Media tumbuh harus mengandung nutrisi dan zat pengatur tumbuh dengan komposisi yang sesuai dengan kebutuhan eksplan yang ditanam (Herison *et al.* 2008).

Berdasarkan hasil penelitian bahwa pertumbuhan planlet yang paling optimal dengan dosis 0 Gray(tidak diiradiasi). Hal ini berarti iradiasi sinar gamma menghambat pertumbuhan planlet anggrek, sehingga semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan maka semakin kecil tingkat pertumbuhan planlet. Pada parameter pertumbuhan planlet pasca iradiasi sebaiknya untuk mendapatkan pertumbuhan

planlet yang optimal yaitu dengan cara tidak diberi perlakuan atau tidak diiradiasi sinar gamma.

Menurut Boertjes dan Van Harten (1988), setelah perlakuan iradiasi terjadi pengaruh yang dibedakan menjadi kerusakan fisiologis (utama) dan kerusakan genetik (mutasi). Boertjes dan Van Harten (1988) menyatakan bahwa kerusakan fisiologis biasanya tidak diturunkan dan biasanya hanya terjadi pada generasi pertama dari populasi tanaman yang diiradiasi mutan 1 (M1). Pengamatan terhadap persentase planlet yang hidup hasil iradiasi sinar gamma untuk menentukan nilai LD50 dilakukan pada umur dua bulan. LD50 adalah dosis yang menyebabkan kematian 50% dari populasi yang diiradiasi. Tabel 3 menunjukkan besarnya nilai LD50 dari berbagai dosis. Terhadap perbedaan tingkat radiosensitivitas setiap planlet terhadap dosis yang diaplikasikan, yang terlihat dari perbedaan nilai LD50 berbagai dosis yang diteliti.

Aisyah et al. (2009) melaporkan bahwa LD50 untuk stek pucuk anyelir yang diiradiasi dengan sinar gamma berkisar antara 49-72 Gray. Mutasi fisik dengan iradiasi sinar gamma telah mampu menciptakan 106 mutan dari 5 nomor anyelir. Anyelir genotipe 10.8 merupakan genotipe yang paling tidak sensitif terhadap sinar gamma sedangkan genotipe 24.15 merupakan genotipe yang paling sensitif terhadap sinar gamma. Anyelir genotipe 24.1 merupakan genotipe yang paling banyak membentuk mutan. Generasi M1 V2 merupakan generasi yang paling banyak mengekspresikan karakter mutan yang paling stabil dibandingkan dengan genotipe lainnya. Perlakuan iradiasi sinar gamma telah mampu menghasilkan mutan-mutan yang secara kualitatif, warna dan bentuk petalnya stabil sampai generasi ketiga. Sebaiknya seleksi dilakukan pada tanaman M1 V3, karena umumnya mutan yang dihasilkan sudah stabil.

Sinar gamma adalah mutagen fisik yang sering dilakukan untuk menimbulkan mutasi khususnya pada tanaman hias. Materi tanam diiradiasi tidak terbatas pada biji, tapi dapat juga berupa stek maupun kalus dengan tujuan meningkatkan keragaman dan memperbaiki karakter tanaman. Peningkatan dosis iradiasi sinar gamma cenderung menghambat pertumbuhan sel-sel pada planlet, hal tersebut dirangsang oleh adanya kerusakan pada sel meristem yang sangat

radio sensitif. Pengaruh buruk Iradiasi adalah terjadinya penghambatan pada pembelahan dan penambahan jumlah sel (Charbaji dan Nabulsi 1999).

Donini *et.al* (1990) menyatakan bahwa dosis sinar gamma yang lebih tinggi menyebabkan kerusakan sel dan mengalami kerusakan fisiologi. Dalam hal ini berkurangnya jumlah atau kerusakan khlorofil yang terdapat dalam protokorm karena iradiasi sinar gamma, mengakibatkan wama hijau menjadi hijau muda. Makin tinggi dosis radiasi, wama hijau protokorm makin menguning dan memutih. Setelah 4 bulan perlakuan, pada dosis 40 Gray menghasilkan warna hijau.

2. Jumlah Daun

Hasil analisis anava menunjukkan bahwa iradiasi sinar gamma berpengaruh sangat signifikan terhadap jumlah daun. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian iradiasi sinar gamma dapat merangsang banyaknya jumlah daun yang tumbuh. Hasil uji lanjut BNT menunjukkan bahwa dosis 0(tidak diiradiasi), 10, dan 20 (Gray) berbeda signifikan terhadap jumlah daun. Dosis yang tidak berbeda signifikan terhadap iradiasi sinar gamma yaitu dosis 30 Gray dan 40 Gray. Hal ini berarti penyinaran sinar gamma berpengaruh terhadap pertumbuhan jumlah daun. Menurut penelitian wardhani (2007) menyatakan bahwa jumlah daun yang paling banyak terdapat pada dosis 10 gray, yaitu sebanyak 1.16 helai, namun tidak berbeda nyata dengan kontrol (1,47 helai).

Berdasarkan hasil penelitian bahwa dosis 30 Gray sudah berpengaruh terhadap parameter jumlah daun. Hal ini berarti dosis 30 Gray yang optimal karena mulai dari dosis 30 Gray jumlah daunnya banyak yang tumbuh.

Jumlah daun pada planlet yang terbentuk menunjukkan bahwa pada perlakuan 20 gray memberikan jumlah daun optimal. Iradiasi tidak merubah banyak karakter sesuai dengan pendapat Harten (1998) menyatakan keutamaan penggunaan mutasi adalah perubahan yang dihasilkan hanya terjadi pada karakter spesifik dan tidak mempengaruhi karakter yang lain.

Perlakuan dosis iradiasi sinar gamma tertentu dapat menyebabkan terjadinya stimulasi dari biosintesis beberapa asam amino seperti lysine, phenilalanine (Antonov *et al.*, 1989), yang memodifikasi beberapa aktivitas enzim seperti polyphenol oxidase, catalase dan pyrooxidase yang menyebabkan daun

bertambah banyak dan lebar (Lage dan Esquibel, 1997). Selain itu juga akan meningkatkan proses biokimia sehingga dapat meningkatkan pengambilan mineral serta fotosintesis. Menurut Al Safadi *et al.* (2000) penggunaan iradiasi sinar gamma dosis rendah dapat menstimulasi dan meningkatkan differensiasi sel.

Pengamatan daun sangat penting sebagai acuan apakah pertumbuhan dan perkembangan tanaman berlangsung dengan baik, karena daun merupakan salah satu organ penting tanaman sebagai tempat fotosintesis dan juga sebagai perkembangan lebih lanjut dari tunas yang telah tumbuh pada eksplan. Tanda paling awal akan adanya perkembangan daun menurut Salisbury dan Ross (1992) adalah pembelahan sel terluar yang diikuti dengan pertumbuhan sel anak yang menyebabkan timbulnya tonjolan yaitu primordia daun. Pertumbuhan daun merupakan proses diferensiasi tunas. Dalam penelitian Natawijaya *et al.*, (2009) menyatakan bahwa Iradiasi sinar gamma berpengaruh sangat nyata menghambat pertumbuhan jumlah daun planlet *Gloxia*.

Dalam pembentukan daun ada faktor utama yang berperan yaitu nitrogen, karena unsure N pada tanaman berfungsi dalam pembentukan daun dan akar. Dalam medium kultur jaringan, nitrogen diperoleh dari nitrit, garam ammonium, dan asam amino. Nitrit merupakan unsur penting dalam pertumbuhan planlet. Nitrogen merupakan unsur penting bagi pertumbuhan planlet terutama pada fase vegetatif. Pada fase tersebut terjadi tiga proses penting, yaitu pembelahan sel, perpanjangan sel, dan tahap pertama diferensial sel yang berhubungan dengan perkembangan akar, daun, dan batang. Dalam penelitian ini menggunakan medium MS dengan perlakuan iradiasi sinar gamma, dimana sinar gamma dapat menghambat pertumbuhan daun.

Kerusakan fisiologis dapat berupa kematian sel, terhambatnya pembelahan sel, peningkatan frekuensi pembentukan jaringan dan perubahan pada kapasitas bereproduksi. Selain itu juga dapat menyebabkan mutasi, sehingga daun berukuran lebih kecil dari yang tidak diberi perlakuan (Bakri 2002). Iradiasi sinar Gamma dosis tinggi dapat mengganggu sintesa protein, keseimbangan hormon, pertukaran gas pada daun, pertukaran air dan aktifitas enzim (Hammed *et al.*, 2008) dalam (Borzouei *et al.*, 2010).

3. Jumlah Akar

Hasil analisis anava menunjukkan bahwa pemberian iradiasi sinar gamma berpengaruh sangat signifikan terhadap jumlah akar planlet anggrek. Hasil uji BNT pada jumlah akar didapatkan bahwa semakin tinggi dosis iradiasi sinar gamma yang diberikan maka semakin sedikit jumlah akar yang tumbuh. Hal ini berarti pemberian iradiasi sinar gamma menghambat jumlah akar planlet. Karena planlet anggrek yang diiradiasi sinar gamma dengan dosis yang tinggi pembelahan selnya terhambat sehingga jumlah akar yang tumbuh sedikit.

Pemberian perlakuan dengan dosis yang semakin tinggi tidak berbeda signifikan terhadap jumlah akar, Secara umum hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi sinar gamma cenderung menghambat pertumbuhan jumlah akar sehingga jumlah akar yang tumbuh sedikit. Hasil penelitian Krisnaningtyas (2003) menunjukkan bahwa dosis 10 gray merupakan dosis yang paling optimal untuk merangsang inisiasi akar, jumlah akar, dan panjang akar pada tanaman *Dianthus caryophyllus* L.

Kerusakan fisiologinya adalah terhambatnya pembelahan sel pada akar, sehingga jumlah akar yang tumbuh sedikit akibat terkena sinar gamma. Iradiasi sinar gamma yang diberikan perlakuan pada jaringan generatif tanaman akan menyebabkan terjadinya perubahan yang menyeluruh, walaupun kemungkinan perubahan itu akan dapat kembali lagi karena setelah peristiwa mutasi induksi akan terjadi chimera Aisyah *et al.* (2009)

Penampilan mutan yang terjadi menyerupai tanaman normal dapat disebabkan karena sel mampu bertahan hidup sehingga karakter tanaman normal akan kembali muncul. Sebaliknya bila sel mutan dapat bertahan maka sel normal akan hilang dan penampilan tanaman akan mengikuti sifat yang dibawa oleh sel mutan tersebut (Wulan 2007).

Beberapa elektron yang dilepas mampu menghasilkan energi yang cukup untuk mengionisasi partikel mereka sendiri. Proses ionisasi menghasilkan radikal ion positif dan elektron bebas. Elektron akan terjebak di dalam lingkungan polar di dalam sistem biologi yang banyak mengandung air, sehingga cukup waktu bagi ion radikal yang labil dan aktif untuk bereaksi dengan molekul lain atau masuk ke dalam susunan jaringan yang lebih dalam. Elektron bebas dapat mempolarisasikan

sejumlah molekul air menjadi elektron berair. Radikal bebas yang terbentuk dalam larutan lambat laun akan menggabung sehingga membentuk produk yang stabil. Adanya molekul oksigen (satu biradikal) akan bereaksi dengan radikal bebas yang terbentuk karena radiasi, menjadi radikal peroksida. Ini berarti bahwa adanya oksigen akan mengubah dan memperbanyak produk sistem iradiasi (Van Harten 2002).

4. Kecepatan Munculnya Daun

Hasil perhitungan uji anava menunjukkan iradiasi sinar gamma berpengaruh signifikan terhadap waktu bertambahnya daun. Hal ini berarti sinar gamma dapat menyebabkan waktu bertambahnya daun semakin cepat sehingga Irradiasi sinar gamma dapat membantu pembelahan sel pada waktu munculnya daun semakin cepat. Hasil penelitian Sulistianingsih (2009) bahwa keragaman morfologi daun, kecepatan tumbuhnya daun, dan kecepatan tumbuhnya akar semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya dosis iradiasi.

Hasil uji lanjut BNT didapatkan hasil bahwa dosis 30 Gray berbeda signifikan terhadap waktu muncul daun, sehingga pemberian iradiasi sinar gamma yang semakin tinggi menyebabkan waktu munculnya daun semakin cepat. Iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap kecepatan waktu munculnya daun. Dalam hal ini iradiasi dapat membantu merangsang pertumbuhan munculnya daun. Pertumbuhan bakal daun (primordium daun) tumbuh menjadi lebih tinggi dan berbentuk tonjolan seperti kerucut yang disebut sumbu daun (Hidayat 1995).

Awal pembentukan bakal daun adalah pembelahan periklinal di daerah sis lateral (periferal) ujung batang, agak di bawah daerah distal meristem apeks. Lokasi pembelahan sel ditentukan oleh filotaksis tumbuhan yang bersangkutan. Waktu munculnya daun juga dapat dipengaruhi oleh pencahayaan yang kurang maksimal, kelembaban, dan suhu lingkungan, hal tersebut dapat menyebabkan proses waktu munculnya daun menjadi kurang maksimal. Akibat dari mutasi sinar gamma dengan dosis yang digunakan didapatkan tanaman anggrek yang mutan yang dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu dari dominan ke resesif atau sebaliknya (Hidayat 1995).

Keragaman yang timbul akibat mutasi fisik iradiasi, sangat tergantung pada tingkat radiosensitivitas. Studi mengenai radiosensitivitas biasanya

mengarah pada pemahaman terhadap mekanisme aksi dari ionisasi radiasi. Studi semacam ini sangat bermanfaat untuk menginduksi keragaman genetik, yang menyebabkan terjadinya aberasi kromosom, kerusakan fisik dan sterilitas, dan pada saat yang sama dapat dikontrol untuk memproduksi mutasi yang diinginkan (Van Harten 1988).

Kerusakan fisiologi pada waktu bertambahnya daun yaitu bentuk ujung terbagi menjadi bentuk membulat, stomata yang terdapat pada permukaan daun merupakan peubah pada morfologi. Stomata adalah celah dalam epidermis yang dibatasi oleh dua sel penutup berbentuk ginjal yang disebut sel penjaga yang berfungsi tempat masuknya CO₂ dan air melalui daun, sedangkan sel yang berbeda bentuknya disebut sel tetangga. sel epidermis yang mengelilingi sel penutup dapat digunakan sebagai identifikasi dari tipe stomata (Lage dan Esquibel, 1997) (Lage dan Esquibel, 1997).

5. Kecepatan Munculnya Akar

Hasil anava menunjukkan bahwa sinar gamma berpengaruh signifikan terhadap bertambahnya akar. Untuk melihat perbedaan perlakuan maka perhitungan dilanjutkan dengan menggunakan uji BNT. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa bahwa dosis 30 Gray berbeda signifikan terhadap waktu muncul akar, sehingga pemberian iradiasi sinar gamma yang semakin tinggi menyebabkan waktu munculnya akar semakin cepat. Pemberian dosis iradiasi sinar gamma dengan dosis kurang dari 30 Gray tidak berbeda signifikan terhadap waktu penambahan munculnya akar. Hasil penelitian Sulistianingsih (2009) bahwa keragaman morfologi bentuk daun, kecepatan tumbuhnya daun dan kecepatan tumbuhnya akar semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya dosis iradiasi.

Kecepatan waktu munculnya akar ditentukan oleh respon awal planlet terhadap media MS dengan perlakuan iradiasi sinar gamma yang diberikan. kadar media MS yang diberikan seimbang dan dosis iradiasi sinar gamma yang diberikan berbeda diduga sebagai pemicu lebih awalnya planlet munculnya akar. Hal ini menunjukkan bahwa dalam upaya pertumbuhan planlet, planlet menghendaki perlakuan dengan dosis 40 gray sebagai paling awal tumbuh

munculnya akar terhadap planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* (Wagendra 2008).

Iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap munculnya akar, hal ini diakibatkan pertumbuhan akar terhambat dan hasilnya kurang optimal. Disini anggrek mempunyai akar adventif terdiri dari tiga proses yaitu dedifferensiasi, induksi dan differensiasi. Proses dedifferensiasi terjadi pada 0-24 jam setelah potongan tunas diletakkan media yang mengandung auksin (Hidayat 1995).

Secara fisiologi akibat mutagen akan terjadi perubahan pada DNA baik terhadap gen tunggal, terhadap sejumlah gen atau terhadap susunan kromosom. Secara molekuler, dapat dikatakan bahwa mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida DNA kromosom, yang mengakibatkan terjadinya perubahan pada protein yang dihasilkan sehingga proses terbentuknya akar semakin cepat dengan tingginya iradiasi sinar gamma.

Brock (1979) menyatakan, untuk meningkatkan frekuensi kejadian mutasi alami, dilakukan mutasi buatan atau mutasi induksi (*induced mutation*) dengan menggunakan mutagen. Mutagen adalah wahana yang digunakan untuk menciptakan mutasi buatan. Menurut Alatas (2006) bahwa kerusakan pada DNA sebagai akibat radiasi dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur molekul gula atau basa, putusannya ikatan hidrogen antar basa, hilangnya gula atau basa dan lainnya yang menghasilkan DNA dengan struktur yang berbeda yang dikenal dengan mutasi. Mutasi gen dapat bersifat non letal, sub letal atau letal. Gen letal dominan adalah gen yang menyebabkan kematian sebelum individu mencapai usia reproduktif.

BAB V

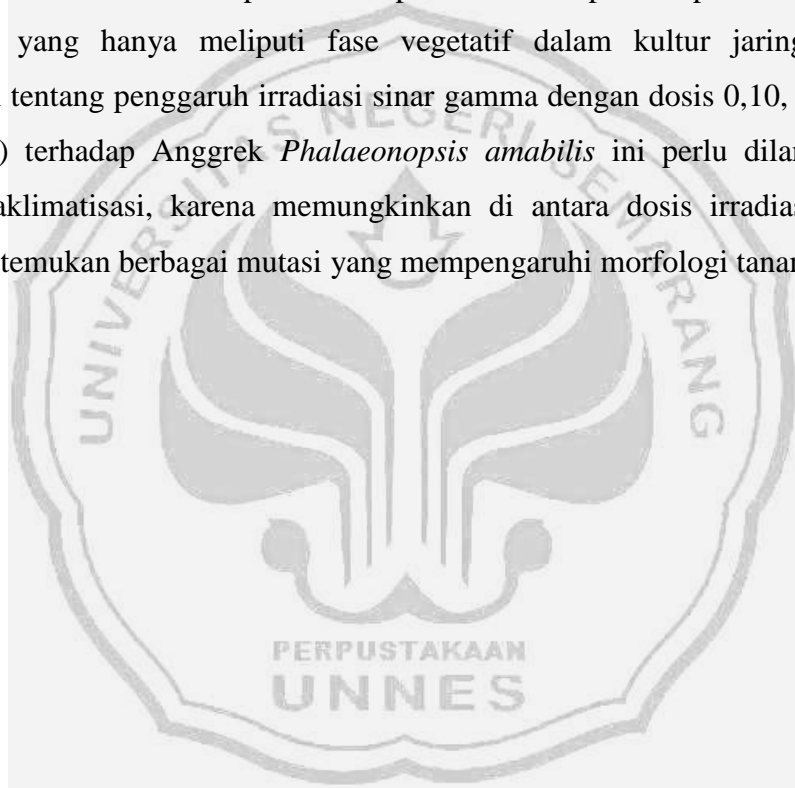
SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian perlakuan iradiasi sinar gamma berpengaruh signifikan pada semua parameter yaitu pertumbuhan planlet pasca iradiasi, kecepatan munculnya daun, kecepatan munculnya akar, jumlah daun, dan pada parameter jumlah akar .

B. Saran

Penelitian ini merupakan tahap awal dari proses pemuliaan mutasi Anggrek, yang hanya meliputi fase vegetatif dalam kultur jaringan. Hasil penelitian tentang pengaruh iradiasi sinar gamma dengan dosis 0,10, 20, 30 dan 40 (Gray) terhadap Anggrek *Phalaeonopsis amabilis* ini perlu dilanjutkan ke tahapan aklimatisasi, karena memungkinkan di antara dosis iradiasi tersebut banyak ditemukan berbagai mutasi yang mempengaruhi morfologi tanaman.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahloowalia BS & Maluszynski M. 2001. Induced Mutations-A new Paradigm in Plant Breeding. *Journal Euphytica* 118: 167–173.
- Aisyah SI, Aswidinnor H, & Saefuddin A. 2009. Induksi mutasi stek pucuk Anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.) melalui iradiasi sinar gamma. *J. Agron. Indonesia* 37(1):62-70.
- Alatas. Z 2006. Efek pewarisan akibat radiasi pengion. PTKMR BATAN. Buletin ALARA Vol. 8. No. 2, 2006.
- Al Safadi, B, N. MirAli, & M.T.E. Arabi. 2000. Improvement of garlic (*Allium sativum* L.) resistance to white rot and storability using gamma irradiation unduced mutation. *J. Amer Soc. Hort. Sci.* 121: 599603.
- Amilah, Astuti, & Yuni. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada Media Vacin And Went (VW) Terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L). *BULLETIN Penelitian* No.09 .hal: 1-20.
- Anonim. 2010. Atomic Energy and Food Preservation. Departemen Of Atomic energy Mumbai.
- Antonov M P. Veliclov, T.S.Tsonev & M. Angelov. 1989. Effect of gamma and laser irradiation on maize seeds and plants. ESNA,XXth Annual meeting, ageningen. The Netherlands p.44.
- Aristian A K. 2010. Pertumbuhan dan Produksi tanaman Jarak (*Jatropha curcas* L) Pada Berbagai Taraf Dosis Pemukan Nitrogen dan Kalium (*skripsi*). Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Arunyanart S. & Soontronyatara S. 2002. Mutation Induction by γ and X-ray Irradiation in Tissue Cultured Lotus. *Journal Plant Cell Tissue Organ Cult* 70: 119– 122, 2002.
- Ashraf M, Cheema AA, Rhasid M, & Qamar Z. 2003. Effects of Gamma rays on M1 Generation in Basmati Rice. *Pak J Bot* 35 (5): 791-795.
- Astuti Y. 2007. *Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma terhadap Morphologi Anggrek*. [http://www.research.mercubuana.ac.id/proceeding Pengaruh irradiasi Sinar Gamma.pdf](http://www.research.mercubuana.ac.id/proceeding/Pengaruh_irradiasi_Sinar_Gamma.pdf). Diakses pada 6 Mei 2013, pk. 11.55 WIB.
- Bey Y, Syafii W & Sutrisna. 2006. Pengaruh Giberelin(GA3) dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Biji Bulan (*Phaleopsis amabilis* BL) Secara In Vitro. *Journal Biogenesis* 2(2):41-46.

- Borzouei A., Kafi M., Khazaei H., Naseriyan B. & Majdabadi A. 2010. Effect of gamma radiation on germination and physiological aspect of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling. *SPak. J. Bot.*, 42(4): 2281-2290, 2010.
- Brock RD. 1979. Mutation of Plant Breeding for Seed Protein Improvement. p. 43 - 45. In. *Seed Protein Improvement in Cereals and Grain Legumes*. Proc. Symp. IAEA/FAO/GSF, Neuherberg, BRD. IAEA, Vienna.
- Cammareri 2002. Induction of Variability in Chimeric *Aster Cordifolius* 'White Elegans' Through Somaclonal Variation. *Journal Euphytica* 128: 19-25
- Charbaji & I. Nabulsi. 1999. Effect of Low Doses of Gamma Irradiation on *In Vitro* Growth of Grapevine. *Journal Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 57:129-132.
- Crowder LV. 1986. *Genetika Tumbuhan (terjemahan)*. Yogyakarta: Gadjah Mada Press: 499.
- De Klerk GJ. 2002. Rooting of Microcutting: Theory and Practice. *In Vitro Cell. Journal Dev. Biol.-Plant* 38: 415-422
- Djaafarer R. 2002. *Phalaenopsis Spesies: Jenis dan Potensi untuk Silangan*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Donini, B., Mannindo, P., Ancora, G. & Sonnino, Mutation breeding programmes for the genetic improvement on vegetatively propagated plants in Italy (IAEM-SM 311/152), Italy (1990) 238.
- George EF, Hall MA & Klerk GJ. 2008. *Plant Propagation By Tissue Culture 3 rd Edition*. Spring : Netherlands.
- Gunawan LW. 2007. *Budidaya Anggrek*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Herawati T & R Setiamiharja. 2000. *Diktat Kuliah Pemuliaan Tanaman Lanjutan*. Bandung: Universitas Padjajaran: 95
- Herison C, Rustikawati, Sutjahjo SH, & Aisyah SI. 2008. Induksi Mutasi melalui Iradiasi Sinar Gamma terhadap Benih untuk Meningkatkan Keragaman Populasi Dasar Anggrek *Phalaenopsis ambilis* L. *J. Akta Angrosia* 11 (1):57-61
- Iswanto, H. 2001. *Anggrek Phalaenopsis*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Kartikaningrum S, Sulyo Y, Hayati NQ, Suryanah, & Bety YA. 2007. Keragaman Karakter Kualitatif Hasil Persilangan Anggrek *Spathoglottis*. *J Hort.* Edisi Khusus (2): 138-147.
- Khasanah U. 2011. Pemanfaatan Pupuk Daun, Air Kelapa, dan Bubur Pisang Sebagai Kombinasi Medium Kultur Jaringan Untuk Mengoptimalkan Planlet Anggrek *Dendrobium kelemense* (Skripsi). 2011. Semarang Universitas Negeri Semarang.

- Kurniati, R. 2004. Induksi Keragaman Genetik *Phalaenopsis Hinamatsuri* x *Doritaenopsis Modern Beauty* dan *Phalaenopsis Ambilis* "Formosa" x *Phalaenopsis Taipei Gold* "GS" dengan Menggunakan Iradiasi Sinar Gamma. Tesis, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 54hal.
- Lage L.S.C & M.A. Esquibel. 1997. Grot simulation produced by methylene blue treatment in seet potato. *Plant Cell Tis. Org. Cult.* 48:7781.
- Linberger RD. 2007. *Origin, Developmental Propagation of Chimeras.* <http://www.aggiehorticulture.tamu.edu/tisscult/chimeras/s.html>. 28/03/2008
- Maluszinski M, Nichterlen K, Zanten L, Van Ahloo, & Walia BS. 2000. Officially Released Mutant Varietas. *The FAO/IAEA data base.* Mutation Breeding review 12.
- Mandal AK, Chakrabarty AD, & Datta SK. 2000. Application of *In Vitro* Techniques in Mutation Breeding of Chrysanthemum. *Jurnal Plant Cell Tissue Organ Cult* 60: 33–38.
- Mangoendjojo W. 2003. *Dasar – Dasar Pemuliaan Tanaman.* Yogyakarta : Kanisius.
- Matsuyama A., & Umeda K. 1983. Sprout inhibition in tubers and bulbs. Preservation of Food by Ionizing Radiation. Josepson ES, Peterson MS Editor. CRC Press. Florida.
- Natawijaya, A., Afiyata, A., & Ritonga, A.W.2009. Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma terhadap Keragaman Planlet Tanaman Gloxinia. *Skripsi.* Jurusan Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman. Agronomi dan Holtikultura. IPB.Bogor.
- Nurbuwati. 2005. Pengaruh Radiasi Plasma Lucutan Pijar terhadap Pertumbuhan Biji Sawi pada Tekanan Atmosfer. *Skripsi Fisika UNDIP Semarang.*
- Omar SR, Ahmed OH, Saamin S, & Majid NMA. 2008. Gamma Radiosensitivity Study on Chili (*Capsicum annum*). *Am J Appl Sci* 5 (2): 67-70.
- Osmand A & Widiastuti I. 1991. *Anggrek Dendrobium sp.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Puspaningtyas DM., Mursidawati S, Sutrisno, & Asikin J. 2003. *Anggrek Alam di Kawasan Konservasi Pulau Jawa.* LIPI Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor. *Buletin Kebun Raya Indonesia.* Bogor
- Rianawati, S. 2003. Studi Pembentukan PLB, Regenerasi dan Transformasi pada Anggrek *Dendrobium sp* Menggunakan *Agrobacterium Tumefaciens*. Tesis, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 61hal.
- Rukmana, R. 2000. *Budidaya Anggrek Bulan.* Yogyakarta: Kanisius.

- Sarwono B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Sastrapradja S, Irawati & RE Nasution. 1977. Evaluasi dan Pemanfaatan Anggrek-Anggrek Alam Indonesia. *Buletin Kebun Raya*. III (1): 17-20.
- Sheela VL, Sarada S, & Anta S. 2006. Development of Protocorm-like Bodies and Shoot *Dendrobium* CV. Sonia Following Gamma Radiation. *J. Tropical Agric*. 44 (1): 86-87.
- Soedjono, S. 2003. Aplikasi Mutasi Induksi dan Variasi Somaklonal dalam Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. 22(2) : 70-78.
- Soeranto, H. 2003. *Peran Iptek Nuklir dalam Pemuliaan Tanaman untuk Mendukung Industry Pertanian*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Lestari S S. 1985. *Mengenal dan Bertanam Anggrek*. C.V. Aneka Ilmu. Semarang. pp. 124.
- Sudrajat D.J., & Zanzibar M. 2009. Prospek teknologi radiasi sinar gamma dalam peningkatan mutu benih tanaman hutan. *Info Benih* Vol. 13 No. 1 Juni 2009: 158-163.
- Sudjana. 2005. *Metoda Statistika*. Bandung: Tarsito.
- Sulistianingsih .R, Mangoendidjojo .W, Purwanto. A & Semiarti. E. 2006. Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma Pada Pertumbuhan Planlet Anggrek Bulan *Phalaenopsis amabilis* (L.)Bl. *Jurnal Pertanian*. Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta.
- Sulistianingsih R. 2009. Penentuan Keragaman Genetik Anggrek Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Hasil Iridiasi Sinar Gamma Co-60 dengan Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). (*Laporan Akhir Kegiatan Hibah Penelitian untuk Mahasiswa Program Doktor*). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Suskandri K., S. Soertini, & S. Rianawati. 1999. Mutasi Induksi Sinar Gamma pada Anggrek *Vanda Genta* Bandung. Zuriat. *Jurnal Penelitian Indonesia* 10 (1): 27-34.
- Taiz Lincon & Eduardo Zeiger. 2005. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc. Publishers : Sunderland, Massachusetts
- Tisdale S L, W L. Nelson & J. D. Beaton. 1990. *Soil Fertility and Fertilizers*. MacMillan Publishing Company. New York.
- Van Harten A. M. 1998. *Mutation Breeding, Theory and Practical Applications*. Cambridge University Press. Cambridge. 353 p.

- . 2002. Mutation breeding of vegetatively propagated ornamentals. In A vainstein (ed). *Breeding for Ornamentals: classical and Molecular Approaches*. Kluwer Academic Press., Boston
- Wardhani MUD, DM Puspitaningtyas, & D Dinarti. 2007. Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Variasi Pertumbuhan Anggrek *Brachypeza indusiata* (Reichb.f) Garay Secara *In Vitro*. *Buletin Kebun Raya Indonesia*. Vol 30 (2): 53-59
- Welsh JR. 1991. *Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman (terjemahan)*. Edisi ke-2. Jakarta: Erlangga: 223.
- Wetter ,L.R & F.Constabel, 1991, *Metode Kultur Jaringan Tanaman*, diterjemahkan oleh Mathilda B.Widianto Penerbit ITB,Bandung.
- Wi. 2007. Effects of Gamma Irradiation on Morphological Changes and Biological Responses in Plant. *Journal Micron* 38: 553-564
- Widiastoety. 2004. *Bertanam Anggrek*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Wulan, M. T. 2007. Peningkatan Keragaman Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* Linn.) Melalui Induksi Iradiasi Sinar Gamma. *Skripsi*. Departemen Budidaya Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB.Bogor.
- Yulia N. D. 2005. Karakter Anatomi Daun dan Morfologi *Phalaenopsis* dan Kekerabatannya di Indonesia. Tesis, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 38hal.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia.
- Zulkarnaen. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.

LAMPIRAN



Lampiran 1 Hasil pengamatan pada parameter pertumbuhan planlet pasca irradiasi

Tabel hasil Pertumbuhan planlet pasca irradiasi Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap berbagai dosis iradiasi sinar gamma pada media MS

Perlakuan	Ulangan						
	1	2	3	4	5	6	7
I ₀	3	3	3	3	3	3	3
I ₁	3	3	2	2	3	2	1
I ₂	2	3	3	2	3	2	2
I ₃	1	2	2	3	3	2	2
I ₄	3	2	2	1	1	1	2

Keterangan :

I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tidak diirradiasi)

I₁ = Irradiasi dengan dosis 10 Gray

I₂ = Irradiasi dengan dosis 20 Gray

I₃ = Irradiasi dengan dosis 30 Gray

I₄ = Irradiasi dengan dosis 40 Gray

Lampiran 2 Hasil pengamatan pada parameter kecepatan munculnya daun

Tabel hasil kecepatan munculnya daun planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap berbagai dosis iradiasi sinar gamma pada media MS

Perlakuan	Ulangan						
	1	2	3	4	5	6	7
I ₀	3	3	3	3	3	2	3
I ₁	3	3	3	3	3	3	3
I ₂	3	3	3	2	3	3	3
I ₃	1	2	3	3	2	3	1
I ₄	3	2	2	1	1	1	2

Keterangan :

I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tanpa diirradiasi)

I₁ = Irradiasi dengan dosis 10 Gray

I₂ = Irradiasi dengan dosis 20 Gray

I₃ = Irradiasi dengan dosis 30 Gray

I₄ = Irradiasi dengan dosis 40 Gray

Lampiran 3 Hasil pengamatan pada parameter kecepatan munculnya akar

Tabel hasil kecepatan munculnya akar planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap berbagai dosis iradiasi sinar gamma pada media MS

Perlakuan	Ulangan						
	1	2	3	4	5	6	7
I ₀	3	3	2	3	3	1	2
I ₁	2	1	2	2	2	2	1
I ₂	1	3	2	2	1	2	1
I ₃	1	1	1	1	1	1	1
I ₄	1	1	1	1	1	1	1

Keterangan :

I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tidak diiradiasi)

I₁ = Irradiasi dengan dosis 10 Gray

I₂ = Irradiasi dengan dosis 20 Gray

I₃ = Irradiasi dengan dosis 30 Gray

I₄ = Irradiasi dengan dosis 40 Gray

Lampiran 4 Hasil pengamatan pada parameter jumlah daun

Tabel hasil jumlah daun planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap berbagai dosis iradiasi sinar gamma pada media MS

Perlakuan	Ulangan						
	1	2	3	4	5	6	7
I ₀	7	4	6	6	3	6	4
I ₁	7	7	7	3	3	3	8
I ₂	6	7	6	8	8	8	6
I ₃	1	2	3	6	4	4	1
I ₄	7	4	3	2	3	3	2

Keterangan :

I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tidak diiradiasi)

I₁ = Irradiasi dengan dosis 10 Gray

I₂ = Irradiasi dengan dosis 20 Gray

I₃ = Irradiasi dengan dosis 30 Gray

I₄ = Irradiasi dengan dosis 40 Gray

Lampiran 5 Hasil pengamatan pada parameter jumlah akar

Tabel hasil jumlah akar planlet Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap berbagai dosis iradiasi sinar gamma pada media MS

Perlakuan	Ulangan						
	1	2	3	4	5	6	7
I ₀	4	7	5	4	1	5	4
I ₁	3	3	1	2	4	1	1
I ₂	3	3	2	1	3	2	1
I ₃	1	3	2	1	1	1	1
I ₄	1	1	1	1	1	1	1

Keterangan :

I₀ = Irradiasi dengan dosis 0 Gray (tidak diiradiasi)

- I_1 = Irradiasi dengan dosis 10 Gray
 I_2 = Irradiasi dengan dosis 20 Gray
 I_3 = Irradiasi dengan dosis 30 Gray
 I_4 = Irradiasi dengan dosis 40 Gray

Lampiran 6 Tabel perhitungan data anava satu jalan pada parameter pertumbuhan planlet pasca irradiasi Anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17

Descriptives

Tumbuh

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	3.00	.000	.000	3.00	3.00	3	3
10	7	2.29	.756	.286	1.59	2.98	1	3
20	7	2.43	.535	.202	1.93	2.92	2	3
30	7	2.14	.690	.261	1.50	2.78	1	3
40	7	1.71	.756	.286	1.02	2.41	1	3
Total	35	2.31	.718	.121	2.07	2.56	1	3

Test of Homogeneity of Variances

Tumbuh

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.798	4	30	.004

ANOVA

Tumbuh	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.114	4	1.529	4.013	.010
Within Groups	11.429	30	.381		
Total	17.543	34			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

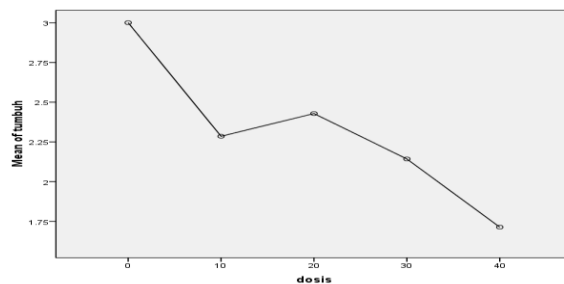
Tumbuh

LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	10	.714 [*]	.330	.038	.04	1.39
	20	.571	.330	.094	-.10	1.25
	30	.857 [*]	.330	.014	.18	1.53
	40	1.286 [*]	.330	.001	.61	1.96
10	0	-.714 [*]	.330	.038	-1.39	-.04
	20	-.143	.330	.668	-.82	.53
	30	.143	.330	.668	-.53	.82
	40	.571	.330	.094	-.10	1.25
20	0	-.571	.330	.094	-1.25	.10
	10	.143	.330	.668	-.53	.82
	30	.286	.330	.393	-.39	.96
	40	.714 [*]	.330	.038	.04	1.39
30	0	-.857 [*]	.330	.014	-1.53	-.18
	10	-.143	.330	.668	-.82	.53
	20	-.286	.330	.393	-.96	.39
	40	.429	.330	.204	-.25	1.10
40	0	-1.286 [*]	.330	.001	-1.96	-.61
	10	-.571	.330	.094	-1.25	.10
	20	-.714 [*]	.330	.038	-1.39	-.04
	30	-.429	.330	.204	-1.10	.25

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Mean Plots



Lampiran 7 Tabel perhitungan data anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya daun planlet anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17

Descriptives

Munculdaun

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	2.86	.378	.143	2.51	3.21	2	3
10	7	3.00	.000	.000	3.00	3.00	3	3
20	7	2.86	.378	.143	2.51	3.21	2	3
30	7	2.14	.900	.340	1.31	2.97	1	3
40	7	2.00	1.000	.378	1.08	2.92	1	3
Total	35	2.57	.739	.125	2.32	2.83	1	3

Test of Homogeneity of Variances

Munculdaun

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.859	4	30	.000

ANOVA

Munculdaun

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.000	4	1.500	3.580	.017
Within Groups	12.571	30	.419		
Total	18.571	34			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

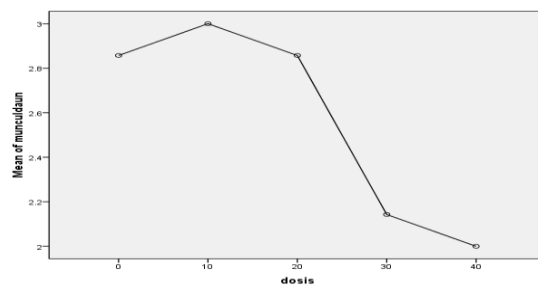
Munculdaun

LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	10	-.143	.346	.683	-.85	.56
	20	.000	.346	1.000	-.71	.71
	30	.714 [*]	.346	.048	.01	1.42
	40	.857 [*]	.346	.019	.15	1.56
10	0	.143	.346	.683	-.56	.85
	20	.143	.346	.683	-.56	.85
	30	.857 [*]	.346	.019	.15	1.56
	40	1.000 [*]	.346	.007	.29	1.71
20	0	.000	.346	1.000	-.71	.71
	10	-.143	.346	.683	-.85	.56
	30	.714 [*]	.346	.048	.01	1.42
	40	.857 [*]	.346	.019	.15	1.56
30	0	-.714 [*]	.346	.048	-1.42	.00
	10	-.857 [*]	.346	.019	-1.56	-.15
	20	-.714 [*]	.346	.048	-1.42	.00
	40	.143	.346	.683	-.56	.85
40	0	-.857 [*]	.346	.019	-1.56	-.15
	10	-1.000 [*]	.346	.007	-1.71	-.29
	20	-.857 [*]	.346	.019	-1.56	-.15
	30	-.143	.346	.683	-.85	.56

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Mean Plots



Lampiran 8 Tabel perhitungan data anava satu jalan pada parameter kecepatan munculnya akar anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17

Descriptives

Munculakar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0	7		
10	7	1.57	.535	.202	1.08	2.07	1	2
20	7	1.71	.756	.286	1.02	2.41	1	3
30	7	1.00	.000	.000	1.00	1.00	1	1
40	7	1.00	.000	.000	1.00	1.00	1	1
Total	35	1.54	.741	.125	1.29	1.80	1	3

Test of Homogeneity of Variances

Munculakar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
14.230	4	30	.000

ANOVA

munculakar	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.829	4	2.457	8.323	.000
Within Groups	8.857	30	.295		
Total	18.686	34			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

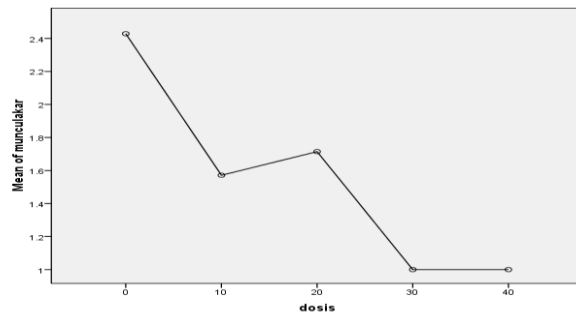
munculakar

LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	10	.857*	.290	.006	.26	1.45
	20	.714*	.290	.020	.12	1.31
	30	1.429*	.290	.000	.84	2.02
	40	1.429*	.290	.000	.84	2.02
10	0	-.857*	.290	.006	-1.45	-.26
	20	-.143	.290	.626	-.74	.45
	30	.571	.290	.058	-.02	1.16
	40	.571	.290	.058	-.02	1.16
20	0	-.714*	.290	.020	-1.31	-.12
	10	.143	.290	.626	-.45	.74
	30	.714*	.290	.020	.12	1.31
	40	.714*	.290	.020	.12	1.31
30	0	-1.429*	.290	.000	-2.02	-.84
	10	-.571	.290	.058	-1.16	.02
	20	-.714*	.290	.020	-1.31	-.12
	40	.000	.290	1.000	-.59	.59
40	0	-1.429*	.290	.000	-2.02	-.84
	10	-.571	.290	.058	-1.16	.02
	20	-.714*	.290	.020	-1.31	-.12
	30	.000	.290	1.000	-.59	.59

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Mean Plots



Lampiran 9 Tabel perhitungan data anava satu jalan pada parameter jumlah daun anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17

Descriptives

Jumlahdaun

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	5.14	1.464	.553	3.79	6.50	3	7
10	7	5.43	2.299	.869	3.30	7.55	3	8
20	7	7.00	1.000	.378	6.08	7.92	6	8
30	7	3.00	1.826	.690	1.31	4.69	1	6
40	7	3.43	1.718	.649	1.84	5.02	2	7
Total	35	4.80	2.180	.369	4.05	5.55	1	8

Test of Homogeneity of Variances

Jumlahdaun

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.454	4	30	.067

ANOVA

jumlahdaun	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73.314	4	18.329	6.228	.001
Within Groups	88.286	30	2.943		
Total	161.600	34			

Post Hoc Test

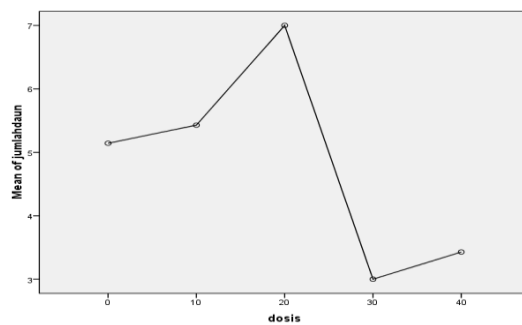
Multiple Comparisons

jumlahdaun
LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	10	-.286	.917	.758	-2.16	1.59
	20	-1.857	.917	.052	-3.73	.02
	30	2.143*	.917	.026	.27	4.02
	40	1.714	.917	.071	-.16	3.59
10	0	.286	.917	.758	-1.59	2.16
	20	-1.571	.917	.097	-3.44	.30
	30	2.429*	.917	.013	.56	4.30
	40	2.000*	.917	.037	.13	3.87
20	0	1.857	.917	.052	-.02	3.73
	10	1.571	.917	.097	-.30	3.44
	30	4.000*	.917	.000	2.13	5.87
	40	3.571*	.917	.001	1.70	5.44
30	0	-2.143*	.917	.026	-4.02	-.27
	10	-2.429*	.917	.013	-4.30	-.56
	20	-4.000*	.917	.000	-5.87	-2.13
	40	-.429	.917	.644	-2.30	1.44
40	0	-1.714	.917	.071	-3.59	.16
	10	-2.000*	.917	.037	-3.87	-.13
	20	-3.571*	.917	.001	-5.44	-1.70
	30	.429	.917	.644	-1.44	2.30

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Mean Plots



Lampiran 10 Tabel perhitungan data anava satu jalan pada parameter jumlah akar planlet anggrek pada berbagai dosis perlakuan dengan SPSS 17

Descriptives

Jumlahakar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0	7		
10	7	2.14	1.215	.459	1.02	3.27	1	4
20	7	2.14	.900	.340	1.31	2.97	1	3
30	7	1.43	.787	.297	.70	2.16	1	3
40	7	1.14	.378	.143	.79	1.49	1	2
Total	35	2.23	1.536	.260	1.70	2.76	1	7

Test of Homogeneity of Variances

Jumlahakar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.036	4	30	.114

ANOVA

jumlahakar	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.457	4	10.614	8.443	.000
Within Groups	37.714	30	1.257		
Total	80.171	34			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

jumlahakar
LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	10	2.143*	.599	.001	.92	3.37
	20	2.143*	.599	.001	.92	3.37
	30	2.857*	.599	.000	1.63	4.08
	40	3.143*	.599	.000	1.92	4.37
10	0	-2.143*	.599	.001	-3.37	-.92
	20	.000	.599	1.000	-1.22	1.22
	30	.714	.599	.243	-.51	1.94
	40	1.000	.599	.106	-.22	2.22
20	0	-2.143*	.599	.001	-3.37	-.92
	10	.000	.599	1.000	-1.22	1.22
	30	.714	.599	.243	-.51	1.94
	40	1.000	.599	.106	-.22	2.22
30	0	-2.857*	.599	.000	-4.08	-1.63
	10	-.714	.599	.243	-1.94	.51
	20	-.714	.599	.243	-1.94	.51
	40	.286	.599	.637	-.94	1.51
40	0	-3.143*	.599	.000	-4.37	-1.92
	10	-1.000	.599	.106	-2.22	.22
	20	-1.000	.599	.106	-2.22	.22
	30	-.286	.599	.637	-1.51	.94

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Mean Plots

