

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.)

Bawang merah merupakan tanaman *Spermatophyta* dan berumbi, berbiji tunggal dengan sistem perakaran serabut. Klasifikasi tanaman bawang merah (Gopalakrishna, 2007) :

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Sub – divisio : *Angiospermae*
Ordo : *Liliales (Liliaflorae)*
Famili : *Liliaceae*
Genus : *Allium*
Species : *Allium ascalonicum* L.

Bawang merah dalam genus *Allium* mempunyai lebih dari 600 - 750 spesies dan terdapat 7 kelompok yang sering dibudidayakan, yaitu *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Allium ampeloprasum* L., *Allium fistulosum* L., *Allium schoenoprasum* L., *Allium chinese* G Don, dan *Allium tuberosum* Rotter ex Sprengel. Beberapa *Allium* menjadi gulma invasif, namun sebagian besar dapat dikonsumsi dan beberapa spesies *Allium* dibudidayakan sebagai tanaman pangan penting (Block, 2010). Budidaya bawang merah di dataran rendah memiliki umur panen antara 60-80 hari setelah tanam (hst), sedangkan di dataran tinggi memiliki umur panen 90-110 hst. Umur panen bawang merah dipengaruhi oleh varietas

yang digunakan, apakah varietas umur dalam atau umur genjah. Bawang merah varietas brebes sesuai namanya merupakan varietas lokal asal Brebes dan dapat dipanen pada umur 60 hari setelah tanam. Produksi Bima Brebes mampu mencapai 10 ton/ha umbi kering dan 22% susut bobot umbi dari umbi panen basah. Varietas lokal asal Brebes ini resisten terhadap penyakit busuk umbi (*Botrytis alli*) dan peka terhadap busuk daun (*Phytophthora porri*) sehingga cocok ditanam di dataran rendah (Putrasamedja dan Suwandi, 1996), namun berdasarkan penelitian Ambarwati dan Yudoyono (2003) bawang merah varietas Bima Brebes beradaptasi jelek pada semua lingkungan uji yaitu dua lokasi tanam pasir pantai dan sawah pada musim hujan dan kemarau.

Karakteristik varietas Bima Brebes yaitu tinggi tanaman 25 – 44 cm, jumlah anakan 7 – 12 umbi per rumpun. Daun berbentuk silindris, berlubang, berwarna hijau dan jumlah daun berkisar 14 – 50 helai. Bentuk bunga menyerupai payung, berwarna putih, buah per tangkai berkisar 60 – 100. Bawang merah varietas ini berasal dari daerah lokal Brebes dan agak sukar berbunga. Umbi berbentuk silindris, lonjong, bercincin kecil pada leher cakram yang merupakan batang pokok tidak sempurna dan berwarna merah muda (Putrasamedja dan Suwandi, 1996). Pemupukan terdiri dari pupuk organik dan pupuk anorganik. Pupuk organik yang dianjurkan untuk budidaya bawang merah adalah pupuk kandang ayam dengan dosis 6 ton/ha. Dosis pupuk anorganik yang dianjurkan adalah sebagai berikut : N sebanyak 200 kg/ha, KCl 200 kg/ha, SP-36 250 kg/ha. Dosis pupuk organik yang digunakan yaitu pupuk kandang ayam 6 t/ha. Pupuk P dan pupuk kandang ayam diaplikasikan 2-3 hari sebelum tanam dengan cara diaduk

secara merata dengan tanah. Pemupukan susulan I berupa pupuk N dan K dilakukan pada umur 10 – 15 hari setelah tanam dan susulan ke II pada umur 30 sesudah tanam, masing-masing $\frac{1}{2}$ dosis (Sumarni dan Hidayat, 2015).

2.2. Induksi Mutasi

Mutasi merupakan perubahan pada materi genetik dan menyebabkan perubahan ekspresi. Perubahan dalam struktur gen baik yang terjadi secara buatan maupun spontan dengan menggunakan agensia fisik atau kimia (Jusuf, 2001). Mutasi gen dapat memunculkan fenotipe mutan yang berbeda dengan fenotipe tetua. Mutasi dapat terjadi secara alamiah di alam, namun peluang kejadiannya sangat kecil sekitar 10^{-6} (Duncan dkk., 2005). Mutasi yang terjadi secara alami di alam bersifat dapat diwariskan sehingga dapat membentuk dasar keragaman dan menjadi bahan baku dalam proses evolusi dan seleksi (Nasir, 2001).

Mutasi yang dilakukan secara induksi terdapat proses lanjutan berupa perbanyakan dari hasil mutasi, seleksi mutasi yang solid dan stabil, serta pengujian lapang dan pelepasan varietas (Syukur dkk., 2015). Upaya untuk meningkatkan keragaman dengan cara induksi mutasi menyebabkan perubahan ekspresi dalam bahan genetik (RNA atau DNA), baik di tingkat urutan gen (mutasi titik) serta di tingkat kromosom. Mutasi dapat digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik sehingga memungkinkan bagi pemulia tanaman membuat seleksi sesuai dengan genotip yang diinginkan (Griffiths dkk., 2005).

Mutasi induksi dapat dilakukan dengan menggunakan mutagen bersifat kimia, fisik dan biologis. Bahan kimia yang dapat dijadikan untuk merangsang

terjadinya mutasi antara lain EMS (*ethylene methane sulfonate*), NMU (*nitrosomethyl urea*), NTG (*nitrosoguanidine*), EES (*etiletan sulfonat*), dan HA (*hidroksilamin*). Mutagen fisik yang dapat digunakan untuk merangsang mutasi antara lain sinar X, sinar ultraviolet, sinar neutron maupun sinar gamma. Sedangkan bahan biologis yang merupakan mutagen mutakhir digunakan yaitu elemen loncat (Jusuf, 2001).

Beberapa hal yang penting dalam kegiatan mutasi pada tanaman vegetatif adalah bagian tanaman yang akan dimutasi karena dapat menentukan keberhasilan dan posisi sel yang dimutasi. Perlakuan induksi mutasi biasanya menggunakan sinar gamma pada dosis 20 – 80 Gy untuk kondisi *in vivo* dan 8 – 35 Gy pada kondisi *in vitro*, sedangkan untuk biji maka dosisnya lebih tinggi (Syukur dkk., 2015). Dosis iradiasi yang digunakan tergantung pada sensitivitas dari spesies dan bagian tanaman. Sensitivitas bergantung pada volume inti (DNA yang lebih besar lebih sensitif), jumlah kromosom (kromosom lebih sedikit dengan volume inti tertentu, lebih sensitif dari tanaman dengan kromosom yang lebih banyak), dan tingkat ploidi (lebih tinggi, kurang sensitif) (Broertjes dan Harten, 1988). Tanaman bawang budidaya kebanyakan bersifat diploid dengan jumlah kromosom dasar delapan ($x=8$), sehingga $2n = 16$ (Suminah dkk., 2002). Jumlah kromosom yang sedikit diharapkan dapat menginduksi keragaman genetik pada tanaman bawang merah.

Dosis iradiasi yang efektif pada benih umumnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan bagian tanaman lainnya. Semakin banyak molekul air dan kadar oksigen dalam materi yang diradiasi, maka akan semakin banyak radikal

bebas yang terbentuk sehingga tanaman menjadi lebih sensitif (Herison dkk., 2008). Mutan yang diperoleh umumnya berada pada atau sedikit dibawah LD₅₀ (*Lethal Dose* 50). LD₅₀ merupakan dosis yang menyebabkan 50% kematian dari populasi tanaman. Nilai LD₅₀ digunakan sebagai parameter untuk mengetahui respon tanaman terhadap paparan radiasi atau untuk mengukur tingkat sensitivitas suatu jaringan terhadap radiasi (Banerji dan Datta, 1992). Iradiasi yang dilakukan pada kisaran dosis yang menyebabkan 50% kematian dengan pertimbangan bahwa kerusakan fisiologis berimbang dengan perubahan genetik yang diperoleh (Sudrajat dan Zanzibar, 2009). Peningkatan jumlah kematian tanaman disebabkan oleh sinar gamma pada perkecambahan mungkin mempengaruhi aktifitas RNA atau sintesis protein yang berperan dalam tahap awal perkecambahan setelah bibit diiradiasi (Pellegrini dkk., 2000). Kisaran dosis LD₅₀ berguna untuk memprediksi konsentrasi atau dosis yang sesuai untuk menginduksi mutasi atau dosis yang sesuai untuk membentuk keragaman (Abdulah dkk., 2009).

Keragaman dapat terjadi pada tingkat spesies yang disebabkan oleh faktor genetik dan lingkungan (Hartati dan Darsana, 2015). Nilai keragaman yang dihasilkan cukup rendah (< 50%) disebabkan oleh genotipe berasal dari spesies yang sama dan dibudidayakan secara vegetatif (Sari, 2016). Salah satu cara untuk mengetahui hubungan kekerabatan dan jarak genetik masing-masing genotipe koleksi adalah dengan melakukan karakterisasi morfologi (Widowati, 2016). Karakter kuantitatif merupakan karakter yang tidak dapat dibedakan secara sederhana. Karakter kuantitatif harus diukur dengan alat ukur tertentu yang

hasilnya bersifat kuantitatif. Hal ini dikarenakan karakter kuantitatif dikendalikan oleh banyak gen (Syahrudin, 2012).

2.3. Iradiasi Sinar Gamma

Hasil penelitian Sinambela dkk. (2015) menunjukkan bahwa bawang merah varietas lokal Samosir dengan dosis 3 Gy meningkatkan rata-rata bobot dan diameter per umbi, dosis 1 Gy sampel 4 dan 23 serta dosis 2 Gy sampel 25 berpotensi memiliki karakter agronomi yang baik. Dosis iradiasi 12 Gy tanaman mampu bertahan hidup sampai 7 MST dan 3 MST untuk dosis 14 Gy. Penelitian Batubara dkk. (2015) menghasilkan bawang merah varietas lokal Samosir pada dosis 1 Gy sampel 18 memperoleh bobot segar umbi terbesar 54,9 g dibandingkan dosis 1 Gy lainnya yang rata-rata memiliki bobot 20 g, sedangkan penelitian Sutarto dkk. (2004) pada bawang putih varietas lumbu hijau dosis iradiasi 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 Gy diperoleh hasil bahwa penyinaran dosis 6 Gy merupakan dosis yang menguntungkan untuk memperoleh mutan bawang putih yang dapat beradaptasi di dataran rendah. Penelitian Pellegrini dkk., (2000) menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma menunjukkan dapat mempengaruhi perubahan Persentase perkecambahan *Atropa belladonna* L.

Perlakuan radiasi mempengaruhi kandungan klorofil bawang putih. Dosis iradiasi 6 Gy merupakan dosis yang meningkatkan kandungan klorofil, sedangkan dosis 8 – 10 Gy mengakibatkan pembentukan klorofil terhambat sehingga menurunkan kandungan klorofil. Kandungan klorofil dosis 6 Gy yaitu 8,31 mg/l, sedangkan dosis 8 Gy 7,94 mg/l dan 10 Gy 7,24 mg/l (Sutarto dkk., 2004).

Penelitian Lestari dkk. (2011) dengan metode penyinaran iradiasi sinar gamma pada tanaman lidah buaya 4 dosis yaitu 0 krad, 5 krad, 7,5 krad dan 10 krad menurunkan ukuran panjang stomata, jumlah, indeks, kerapatan stomata yang terjadi secara acak dibandingkan perlakuan kontrol. Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan bahwa radiasi pengion pengaruhnya berbeda-beda terhadap anatomi, morfologi, dan biokimia tanaman berdasarkan dosis yang digunakan. Iradiasi sinar gamma pada dosis rendah relatif memiliki efek positif pada pertumbuhan tanaman dan toleransi terhadap stres abiotik (Zhang dkk., 2016).

Semakin besar terhambatnya pertumbuhan tanaman disebabkan semakin tinggi dosis mutagen yang digunakan. Gangguan fisiologis merupakan akibat mutagen sehingga pertumbuhan tanaman terhambat (Sari dkk., 2012). Semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan pada bawang merah, semakin tajam penurunan panjang tanaman (Batubara dkk., 2015). Penyebab menurunnya jumlah daun, panjang daun, lebar daun, tinggi tanaman dan jumlah cabang yaitu terjadi kerusakan seluler pada meristem tanaman yang merupakan lokasi sintesis auksin (Widiastuti dkk., 2010).

Mutasi banyak terjadi pada bagian meristem seperti tunas karena bagian tersebut adalah bagian yang sedang aktif membelah (Aisyah, 2006). Sinar gamma termasuk radiasi pengion dan berinteraksi pada atom atau molekul untuk menghasilkan radikal bebas dalam sel. Radikal ini dapat merusak atau memodifikasi komponen penting dari sel tanaman dan telah dilaporkan mempengaruhi morfologi, anatomi, fisiologi tanaman yang terjadi secara berbeda

pada tingkat iradiasi. Hal inilah yang menyebabkan perubahan struktur tumbuhan dan metabolisme tanaman (Rahimi dan Bahrani, 2011).

Diplontic selection ke arah *recovery* atau perbaikan fungsi dari sistem enzim yang terganggu merupakan kondisi yang terjadi apabila sel-sel mutan kalah bersaing dengan sel-sel normal di sekitarnya sehingga pada perkembangan selanjutnya jaringan tanaman kembali tumbuh secara normal. Sebaliknya apabila sel-sel normal kalah bersaing dengan sel-sel mutan, maka tanaman akan tumbuh menjadi mutan sampai pada generasi berikutnya (Aisyah, 2006). Pertumbuhan tanaman terganggu dikarenakan oleh adanya kerusakan selular pada meristem yang menghasilkan organ tanaman. Kerusakan pada meristem mengakibatkan menurunnya *Indole Acetic Acid* (IAA) karena menghambat kerja enzim *indole acetadehyde dehidrogenase* (Handayati dkk., 2001). Penghambatan sintesis auksin dan penyimpangan kromosom berkaitan dengan penurunan karakter vegetatif tanaman (Girija dan Dhavanel, 2009).

Penurunan karakter vegetatif tanaman merupakan pengaruh dari iradiasi yang bersifat acak dan tidak dapat diramalkan. Pengaruh iradiasi yang bersifat acak tersebut yakni dapat bersifat positif dengan sifat karakter yang baik sesuai karakter yang diinginkan dan bersifat negatif karena muncul karakter yang tidak diharapkan. Sifat-sifat tersebut kemudian menghasilkan berbagai keragaman fenotipik (Kadir dkk., 2007). Efek dari iradiasi sinar gamma tidak tetap tetapi interaktif dan tergantung pada faktor lingkungan (Kim dkk., 2005

2.4. Klorofil Daun

Iradiasi sinar gamma menginduksi berbagai karakter fisiologi dan laju biosintesis pada tanaman. Iradiasi pada tanaman dengan dosis tinggi mengganggu keseimbangan hormon, pertukaran gas pada daun, pertukaran air dan aktivitas enzimatis (Hameed dkk., 2008). Efek yang ditimbulkan termasuk akumulasi senyawa fenol, laju fotosintesis, modulasi dari susunan antioksidan, perubahan struktur sel tanaman dan metabolisme seperti pembesaran membran tilakoid (Wi dkk., 2007).

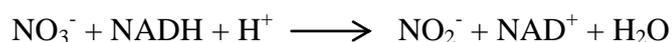
Kloroplas merupakan plastida yang mengandung pigmen hijau yang disebut klorofil (Lakitan, 2000). Klorofil adalah sebagian besar pigmen yang ditemukan dalam membran tilakoid kloroplas. Klorofil terdiri dari dua macam yaitu klorofil a dan klorofil b. Warna klorofil a hijau kebiruan, sedangkan warna klorofil b hijau kekuningan. Struktur klorofil terdiri dari empat cincin pirol yang menghasilkan warna hijau dan ekor fitol ($C_{20}H_{39}$) yang hidrofobik (Salisbury dan Ross, 1995). Protein kloroplas yang terdapat dalam plastida dikode oleh genom inti lebih dari 90% sehingga kloroplas membutuhkan koordinasi ekspresi dari genom inti dan kloroplas (Sugimoto dkk., 2004).

Klorofil hampir tidak sensitif pada iradiasi dosis rendah, namun responsif pada iradiasi dosis tinggi. Karotenoid lebih sensitif dan lebih responsif terhadap iradiasi sinar gamma dibandingkan dengan klorofil. Radiasi menyebabkan perubahan kandungan karotenoid sehingga bersifat reversibel dan sementara (Kim dkk., 2005). Iradiasi sinar gamma yang mengganggu sintesa klorofil dapat mengakibatkan defisiensi warna daun, pada tanaman terganggunya sintesa klorofil

menghasilkan mutan albino (Aisyah dkk., 2009). Rendahnya kandungan klorofil pada tanaman akibat iradiasi sinar gamma menyebabkan reduksi pada klorofil. Reduksi yang terjadi lebih ke arah merusak biosintesis klorofil (Kiong dkk., 2008). Mutasi yang menyebabkan kerusakan klorofil banyak digunakan untuk memperhitungkan efektivitas perlakuan mutagenik (Nasir, 2001). Mutasi klorofil tidak memiliki nilai ekonomi dan terkadang bersifat letal, namun studi tentang klorofil digunakan untuk mengidentifikasi batas dosis mutagen, meningkatkan variabilitas genetik dan jumlah mutan berguna pada generasi bersegregasi (Bhat dkk., 2007).

2.5. Aktivitas Nitrat Reduktase (ANR)

Reduksi nitrat terjadi dalam dua reaksi yang berbeda yang dikatalisis oleh enzim yang berlainan. Salah satu reaksinya yaitu nitrat direduksi menjadi nitrit dikatalisis oleh nitrat reduktase (NR), enzim yang mengikat dua elektron dari NADH, atau pada beberapa spesies dari NADPH. Hasilnya berupa nitrit (NO_2^-), NAD^+ (atau NADP^+), dan H_2O . Reaksi ini terjadi dalam sitosol di luar setiap organela. NR terdiri dari dua subunit rantai polipeptida yang kembar dan disandi oleh gen inti sel. Aktivitas NR sering mempengaruhi laju sintesis protein dalam tumbuhan yang menyerap NO_3^- sebagai sumber nitrogen utama (Salisbury dan Ross, 1995) :



Aktivitas NR dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah laju sintesis dan laju perombakan oleh enzim penghancur-protein. Aktivitas NR

dimungkinkan disintesis dan dirombak terus menerus sehingga proses ini mengendalikan aktivitas dengan mengatur berapa banyak NR yang dimiliki sebuah sel. Aktivitas NR juga dipengaruhi oleh penghambat dan penggiat di dalam sel. Tingkat sitosol jelas meningkatkan aktivitas NR sebagian besar karena sintesis enzim yang lebih cepat. Hal ini adalah kasus induksi enzim oleh bahan kimia tertentu (Salisbury dan Ross, 1995). Semakin besar aktivitas enzim pada tanaman, makin cepat laju reaksi. Makin cepat laju reaksi, makin banyak produk yang terbentuk. Adanya hubungan yang berbanding lurus tersebut dapat mendukung tanaman untuk meningkatkan produktivitasnya. Jika terjadi kenaikan pada aktivitas nitrat reduktase, maka produk yang dihasilkan juga akan naik seiring kenaikan laju reaksinya (Komariah dkk., 2007). Aktivitas metabolisme adalah jalur biokimiawi yang dikontrol oleh enzim sebagai ekspresi gen. Ekspresi gen dapat mempengaruhi adaptasi fisiologis tanaman sehingga pertumbuhan tanaman berbeda-beda. Mutasi dapat menimbulkan kelainan pengaturan, ekspresi, dan penyimpangan gen penyandi protein yang berpengaruh pada fungsi vital (Yuwono, 2002). Aktivitas nitrat reduktase tidak terdeteksi pada tanaman mutan arabidopsis yang diinduksi oleh mutagen kimia 2,5 mM $\text{NH}_4\text{-succinate}$, 2,5 mM NH_4NO_3 , dan 5 mM KNO_3 dan tidak dapat menggunakan nitrat sebagai satu-satunya sumber nitrogen (Wang dkk., 2017).

2.6. Heritabilitas

Heritabilitas merupakan perbandingan antara besaran ragam genotipe dengan besaran total ragam fenotipe dari suatu karakter. Nilai heritabilitas

dikatakan rendah apabila kurang dari 20%, cukup tinggi pada 20 – 50%, tinggi pada lebih dari 50%. Akan tetapi, nilai tersebut sangat bergantung pada populasi yang dimiliki oleh pemulia dan tujuan yang ingin dicapai. Karakter yang memiliki heritabilitas yang rendah sebaiknya dilakukan seleksi pada generasi selanjutnya agar gen-gen aditifnya sudah terfiksasi (Syukur dkk., 2015). Nilai heritabilitas merupakan komponen genetik yang menunjukkan seberapa besar suatu sifat diturunkan kepada turunannya. Nilai rendah hingga medium menunjukkan bahwa tingginya pengaruh faktor lingkungan jika dibandingkan dengan faktor genetiknya. Nilai heritabilitas sangat bermanfaat dalam proses seleksi. Seleksi akan efektif apabila suatu populasi memiliki nilai heritabilitas yang tinggi (Nura, 2015). Keberhasilan seleksi sangat ditentukan oleh adanya keragaman yang dikendalikan oleh faktor genetik (Roy, 2000).