2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kentang (S. tuberosum L.)

Tanaman kentang (S. tuberosum L.) merupakan salah satu jenis umbiumbian yang bergizi. Menurut Kementan (2013) kentang merupakan tanaman daerah iklim sedang, subtropika dan di daerah tropika pada ketinggian 800-1800 m dpl. Tanaman kentang sulit untuk berumbi dan umbi yang dihasilkan kecil apabila tumbuh pada dataran rendah <500 m dpl, kecuali pada dataran rendah tersebut mempunyai suhu malam hari dingin (20°C). Begitupun juga apabila ditanam pada ketinggian >2000 m dpl, kentang mengalami keterlambatan dalam pembentukan umbi. Kentang pertama kali ditemukan pada tahun 1794 di daerah Cisarua, Cimahi (Bandung). Tanaman kentang tersebut diduga berasal dari Amerika Serikat, yang dibawa oleh orang Eropa. Kentang Eigenhimer merupakan kentang pertama yang didatangkan ke Indonesia. Pada tahun 1811, kentang telah ditanam secara luas di dataran tinggi Pacet, Lembang Pengalengan (Jawa Barat), Wonosobo, Tawangmangu (Jawa Tengah), Batu, Tengger (Jawa Timur), Aceh, Tanah Karo, Padang Bengkulu, Sumatra Selatan, Minahasa, Bali dan Flores (Setiadi dan Nurulhuda, 2003). Kentang bukan tanaman asli dari Indonesia, akan tetapi konsumsi kentang cenderung meningkat dari tahun ke tahun berkaitan dengan meningkatnya jumlah penduduk dan perubahan pola konsumsi masyarakat.

Menurut Setiadi (2009), kentang memiliki klasifikasi ilmiah dengan Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Subdivisi Angiospermae, Kelas Dicotyledoneae, Ordo Solanales, Famili Solanaceae, Genus *Solanum* dan Spesies *Solanum tuberosum* L. Kentang merupakan salah satu tanaman umbi-umbian yang berumur pendek dan tergolong tanaman semak. Batang kentang berbentuk segi empat dan menjalar. Batang dan daun berwarna hijau kemerahan, ungu atau merah (mengandung antosianin), perbedaan ini dipengaruhi oleh varietas. Batang tanaman kentang memiliki dua tipe di antaranya batang yang tumbuh di atas tanah dan yang tumbuh di bawah tanah. Selain itu, genotipe (varietas) mempengaruhi ukuran dan berat umbi yang dihasilkan serta berkorelasi positif dengan jumlah buku dan jumlah daun. Stolon merupakan jenis batang yang tumbuh di bawah tanah dan mengakhiri pertumbuhannya dengan bertambah besar atau membentuk

umbi (Akhtar *et al.*, 2010). Bagian-bagian dari tanaman kentang terdiri dari daun, batang, akar, bunga dan umbi (Gambar 1).



Gambar 1. Skematis tanaman kentang (*S. tuberosum* L.) (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998)

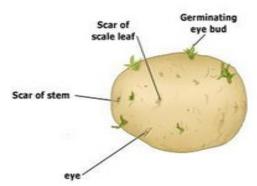
Tanaman kentang memiliki daun yang rimbun dengan helaian daun yang berbentuk bulat lonjong dengan ujung meruncing serta memiliki anak daun primer dan sekunder. Daun kentang tersusun dalam tangkai daun yang saling berhadap hadapan (daun majemuk). Susunan daun kentang terdapat tiga macam di antaranya tertutup, sedang dan terbuka sedangkan bentuk anak daun sempit, sedang dan lebar.

Menurut Setiadi dan Nurulhuda (2003) bahwa sistem perakaran tanaman kentang yaitu tunggang dan serabut yang berwarna keputih-putihan serta berukuran kecil. Akar tunggang dapat menembus lapisan tanah hingga kedalaman 45 cm dan akar serabut umumnya tumbuh dengan menyebar atau menjalar ke samping dan menembus bagian tanah yang dangkal. Kentang yang dihasilkan dari umbi cenderung memiliki akar serabut dengan percabangan halus, agak dangkal dan menyebar, sedangkan tanaman yang tumbuh dari biji membentuk akar tunggang ramping dengan akar lateral yang banyak. Beberapa akar tanaman kentang mempunyai lapisan lignin. Lignifikasi pada jaringan akar kentang terdapat pada varietas Hertha dan Granola yang dapat menghambat resiko tanaman terserang nematoda (Rubatzky dan Yamaguchi, 1995; Fitriyanti *et al.*, 2009).

Tanaman kentang mempunyai bunga berkelamin ganda (hermaprodit) yang mempunyai bakal buah yang berongga dua buah. Bakal buah akan membesar lalu menjadi buah ketika satu minggu setelah penyerbukan. Bunga tanaman kentang

terletak pada ujung batang. Pada beberapa kultivar, sering terjadi gugur bunga yang mengakibatkan buah jarang terbentuk (Rubatzky dan Yamaguchi, 1995). Mahkota bunga berbentuk terompet dengan ujung menyerupai bintang dengan warna yang bervariasi (putih, merah dan biru). Tanaman kentang mempunyai struktur bunga yang terdiri dari daun kelopak, daun mahkota, benang sari (5 buah) dan putik (1 buah). Bunga kentang bersifat protogini, di mana putik lebih cepat masak dari pada tepung sari. Kedudukan putik bervariasi, ada yang lebih rendah, sejajar atau lebih tinggi dari kepala sari (Fitriyanti *et al.*, 2009; Setiadi dan Nurulhuda, 2003)

Umbi kentang mempunyai warna berbeda-beda yang dipengaruhi oleh jenis varietas. Warna umbi meliputi krim, putih, putih-krim, kuning, merah muda, coklat dan ungu. Menurut Setiadi (2009), warna kulit dan daging umbi kentang dapat dibedakan menjadi tiga golongan di antaranya, kulit dan daging umbi berwarna kuning (Eigenheimer, Patrones, Rapan 106, Thung 151C, Granola, Cipanas, Segunung, Cosima), kulit dan daging umbi berwarna putih (Marita, Donata, Radosa, Diamant) dan kulit umbi berwarna merah dengan daging umbi berwarna kuning (Desiree, Arka dan Red Pontiac). Gambar 2 merupakan anatomi dari umbi kentang.



Gambar 2. Anatomi umbi kentang (*S. tuberosum* L.) (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998)

Granola merupakan varietas unggul tanaman kentang dikarenakan produktivitasnya yang mencapai 30-35 t ha⁻¹. Selain itu, Granola memiliki ketahanan terhadap beberapa penyakit kentang dan memiliki umur panen normal 90 hari. Ketahanan kentang Granola tersebut dapat dikarenakan lignifikasi pada akar yang menghambat dan mencegah terinfeksi oleh nematoda (Setiadi, 2009; Fitriyanti *et al.*, 2009). Agria merupakan jenis kentang introduksi dari Belanda

yang memiliki ketahanan terhadap virus PVY, penyakit hawar daun dan umbi serta tahan terhadap serangan nematoda (Setiadi, 2009). Repita merupakan jenis kentang yang dapat beradaptasi dengan baik pada dataran tinggi di atas 1000 m dpl serta memiliki ketahanan terhadap hawar daun.

2.2 Pemuliaan Tanaman Kentang

Tanaman ketang merupakan salah satu komoditas yang mempunyai sifatsifat biologis yang responsif terhadap segala macam metode pemuliaan, baik konvensional, seluler maupun molekuler. Pada pemuliaan tanaman kentang, terdapat hal yang perlu diperhatikan dalam metode pemuliaan menurut Wattimena (2012) di antaranya:

a. Spesies kentang liar dan budidaya sebagai sumber keragaman genetik

Kentang liar dan kentang budidaya memiliki jumlah set kromosom yang sama (x=12), struktur kromosom sama dengan jumlah genom yang berbeda. Tanaman kentang mempunyai genom diploid (2n=2x=24) hingga heksaploid (2n=6x=72).

b. EBN (Endosperm Balance Number)

EBN merupakan rasio dari genom tetua jantan dan betina. Hibridisasi seksual pada tanaman kentang hanya dapat dilakukan dengan kentang yang memiliki jumlah EBN yang sama.

c. Propagasi

Tanaman kentang dapat dilakukan perbanyakan melalui biji dan melalui klonal berupa umbi mini, umbi mikro, stek mikro dan stek mini. Propagul mikro dapat diperoleh melalui kultur jaringan sedangkan propagul mini diperoleh dari rumah kaca.

d. Hibridisasi

Hibridisasi pada tanaman kentang dapat dilakukan secara aseksual melalui fusi protoplas dan seksual. Hibridisasi seksual pada kentang tidak dapat dilakukan pada kentang triploid (2n=3x) dan pentaploid (2n=5x), hal ini dikarenakan keduanya bersifat steril.

e. Sifat totipotensi dan regenerasi

Tanaman kentang mampu diregenerasi dengan cara *in vitro* dari semua jaringan tanaman baik secara langsung maupun melalui kalus.

Menurut Zulkarnain (2009), teknik kultur jaringan menggunakan prinsip totipotensi sel, pengaturan regenerasi akar dan pucuk oleh hormon, organogenesis atau embriogenesis serta kompetensi dan determinasi bahan tanam awal yang dikulturkan secara *in vitro* (eksplan).

f. Sifat transformasi

Metode pemuliaan kentang secara konvensional adalah dengan cara *back cross. Back cross* atau silang balik merupakan persilangan F1 dengan salah satu tetua. Metode persilangan ini dapat memperbaiki varietas-varietas unggul yang ada, akan tetapi masih memiliki kelemahan sifat. Kelemahan sifat yang dimiliki tersebut dapat diperbaiki dengan sifat baik dan dimiliki oleh varietas lain. Terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam silang balik atau *back cross* di antaranya mempunyai *recurrent parent* yang baik. Jika *back cross* dilakukan beberapa kali, maka sifat baik dari *donor parent* akan terakumulasi dengan baik.

Metode pemuliaan kentang secara molekuler berkaitan dengan kemajuan bioteknologi seperti halnya rekayasa genetik, yang mana gen-gen bermanfaat yang berasal dari sumber-sumber yang berbeda yang tidak memiliki kekerabatan sama sekali dapat diisolasi dan dimasukkan dalam tanaman yang akan diperbaiki. Perbaikan tersebut melalui metode transfer genetik tanpa tahap perkawinan yang sering disebut dengan *molecular cloning* atau *recombinant DNA technology*. Perlakuan mutagen secara *in vitro* pada tanaman kentang dapat melalui kimia maupun radiasi (Kleinwechter et al., 2016).

2.3 Kultur *In Vitro* Tanaman

Prinsip dasar dari kultur jaringan berpegangan pada teori sel dari Schwan dan Schleiden pada tahun 1838 yang dikenal dengan teori totipotensi. Teori totipotensi menyatakan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika kondisinya sesuai. Sel-sel merupakan kesatuan biologis terkecil yang mempunyai kemampuan untuk mengadakan berbagai aktivitas hidup, seperti metabolisme, reproduksi, pertumbuhan dan beregenasi (Zulkarnain, 2009).

Prinsip dari kultur jaringan merupakan suatu teknik pertumbuhan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman seperti pucuk muda, batang muda,

daun muda, kotiledon, hipokotil, endosperma, ovari muda, anther, embrio dan yang lainnya. Kultur jaringan dapat berfungsi untuk perbanyakan tanaman dan konservasi. Terdapat pengisolasian atau pemisahan bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan untuk perbanyakan tanaman dari induknya. Eksplan ditumbuhkan dan dikembangkan pada media dengan kondisi steril dan mampu mendorong pertumbuhan eksplan menjadi tanaman sempurna. Media pertumbuhan eksplan memerlukan nutrisi dan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang cukup guna mendukung bagian tanaman yang dikultur menjadi tanaman utuh atau lengkap (Zulkarnain, 2009).

Regenerasi tanaman dalam kultur *in vitro* merupakan respon morfologi tanaman terhadap stimulan yang memicu pembentukan kalus, embrio, organ atau seluruh bagian tanaman (George *et al.*, 2008). Faktor yang mempengaruhi regenerasi tanaman di antaranya sumber eksplan dan jenis eksplan, genotipe tanaman serta formulasi media yang digunakan. Kondisi hormon endogen dan eksogen (ZPT) diduga dapat mempengaruhi regenerasi biakan, dimana ketika taraf auksin lebih tinggi dari pada sitokinin pertumbuhan akar lebih dominan, sebaliknya pertumbuhan tunas dominan apabila taraf sitokinin lebih tinggi dari pada auksin (Roostika *et al.*, 2009; Sahrawat dan Chand, 2001). Pada dasarnya teknik kultur *in vitro* sangat sederhana, di mana suatu sel atau irisan jaringan tanaman yang sering disebut dengan eksplan secara aseptik diletakkan dan dipelihara pada medium padat maupun cair yang sesuai dalam keadaan steril.

Kultur *in vitro* memiliki beberapa komponen-komponen yang mempengaruhi keberhasilan metode kultur *in vitro* di antaranya eksplan kultur *in vitro*, media kultur *in vitro* dan ZPT yang digunakan.

a. Eksplan kultur in vitro

Eksplan merupakan bagian dari tanaman yang digunakan sebagai bahan kultur. Eksplan dapat berupa bagian meristem tanaman, tunas, batang, embrio, hipokotil, biji, rhizome, bulbil, akar atau bagian-bagian lain. Organ tanaman yang sering digunakan sebagai eksplan yaitu tunas pucuk, akar, mata tunas, daun, tunas adventif, tunas ketiak, embrio dan bakal biji (Zulkarnain, 2009). Menurut Wiendi (1992), keberhasilan morfogenesis dalam kultur *in*

vitro sangat dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan seperti jenis eksplan, ukuran eksplan, umur ekplan dan cara mengkulturkannya.

b. Media kultur in vitro

Keberhasilan dalam proses kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh jenis serta komposisi media tanam yang digunakan. Menurut Nurhasanah (2009), selain menyediakan unsur hara makro dan mikro, media tanam juga menyediakan karbohidrat yang umumnya berupa gula sebagai pengganti karbon yang biasanya didapat tanaman dari atmosfer melalui fotosintesis. Media dalam kultur *in vitro* dapat berupa media padat, semi padat dan cair di mana dari beberapa media tersebut dapat mempengaruhi laju pembentukan tunas. Faktor lain yang berpengaruh terhadap keberhasilan suatu kultur *in vitro* adalah pH media. Menurut Pierik (1987), tingkat kemasaman (pH) media harus diatur supaya tidak mengganggu fungsi memberan sel dan pH sitoplasma eksplan. pH media sebaiknya berkisar antar 5-5,6 dan pada pH 6,0 tanaman dapat tumbuh optimal. pH yang terlalu rendah (<4,5) dan terlalu tinggi (>7,0) akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikultur. Media Murashige dan Skoog (MS) sering digunakan dalam perbanyakan *in vitro* pada beberapa tanaman.

c. ZPT

ZPT merupakan suatu persenyawaan organik selain hara, dalam konsentrasi rendah (<1 mM) dapat merangsang, menghambat, atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Moore, 1979). Konsep hormon tanaman merupakan konsep yang mengawali konsep ZPT, di mana hormon tanaman merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang aktif ketika dalam jumlah kecil (<1 mM) disintesis pada bagian tertentu yang umumnya ditranslokasi ke bagian tanaman yang lain yang selanjutnya akan menghasilkan suatu tanggapan secara biokimia, fisiologis dan morfogenesis.

Sitokinin dan auksin merupakan ZPT yang penting dalam metode kultur *in vitro*. Regenerasi kalus umumnya terkait dengan media dasar serta jenis dan konsentrasi ZPT. Sitokinin merupakan turunan dari gugus adenin (6-amino purine). Golongan ini berperan sebagai pengatur pembelahan sel dan morfogenesis. Selain itu sitokinin juga dapat menghambat senesens dan

absisi. Sitokinin juga dapat mengaktivasi sintesis RNA dan menstimulasi aktivitas protein dalam enzim pada jaringan tertentu (Sukmadjaja, 2014). BAP (6-benzilaminopurin) merupakan jenis sitokinin yang berpengaruh terhadap inisiasi tunas karena efektivitasnya yang tinggi. Apabila auksin dikombinasikan dengan sitokinin dapat menginisiasi tunas dan akar, menginduksi proses embriogenesis somatik, dan menstimulasi pertumbuhan kultur tunas (apikal) (Sukmadjaja, 2014). BAP dengan konsentrasi 4 ppm mampu mendorong bertambahnya tunas Anthurium dan pemberian konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin mengakibatkan jumlah daun lebih tinggi dibandingkan dengan hanya menggunakan auksin pada ubi kayu (Yuniastuti et.al., 2010; Khumaida dan Fauzi, 2013). PVP (polivynilpirolidone) merupakan bahan antioksidan yang sering digunakan untuk mengatasi masalah pencoklatan yang diakibatkan oleh oksidasi fenol. Kombinasi BAP dan PVP terbukti mampu meningkatkan perkecambahan biji gaharu dan jumlah tunas (Kosmiatin et.al., 2005).

Keberhasilan induksi tunas dapat dipengaruhi oleh ZPT yang ditambahkan pada media tumbuh. Hal ini dikarenakan ZPT merupakan senyawa organik yang memiliki peran dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. ZPT yang sering digunakan di antaranya auksin (2,4-D, picloram, IAA dan NAA), sitokinin (BAP, kinetin dan adenin sulfat), giberelin dan inhibitor. Tahap perkembangan yang terjadi pada kultur menjadi pertimbangan dalam menentukan konsentrasi ZPT yang digunakan.

2.4 Induksi Mutasi

Mutasi merupakan suatu proses yang mengakibatkan perubahan struktur gen. Mutasi terjadi secara tiba-tiba dan acak pada materi genetik (genom, kromosom, gen) yang bersifat dapat diwariskan dan dapat kembali normal (epigenetik). Alternatif pemuliaan tanaman dapat dilakukan menggunakan teknik induksi mutasi. Induksi mutasi memiliki kontribusi dalam peningkatan keragaman genetik tanaman dengan seleksi terarah akan diperoleh mutan yang diinginkan (Qosim *et al.*, 2007; Lestari, 2012). Berdasarkan faktor penyebabnya, mutasi dapat terjadi secara spontan (mutasi alam) dan buatan (mutasi induksi). Mutasi spontan terjadi dengan sendirinya di alam, akan tetapi proses ini jarang terjadi.

Menurut Crowder (1986) mutasi spontan dapat terjadi karena iradiasi alami yang diakibatkan oleh mineral radioaktif dan sinar kosmik di alam. Mutasi buatan (induksi mutasi) dilakukan dengan sengaja untuk tujuan tertentu. Mutasi buatan dapat dilakukan dengan iradiasi (mutagen fisik) dan menggunakan mutagen kimia. Induksi mutasi melalui kultur *in vitro* efektif digunakan sebagai pemuliaan pada tanaman, baik pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif maupun generatif. Pemuliaan mutasi dengan teknik *in vitro* dapat menghasilkan perubahan morfologi pada tanaman dan peningkatan variabilitas serta sifat kuantitatif tanaman (Indrayanti *et al.*, 2012). Pada tanaman tertentu, induksi mutasi memberikan banyak dampak positif pada perbaikan karakter agronomi penting seperti ukuran tanaman, bentuk bunga, waktu pembungaan, struktur bunga, tekstur bunga dan warna bunga pada tanaman hias. Induksi mutasi dapat menggunakan beberapa mutagen seperti kimia dan fisik. Induksi mutasi memiliki kontribusi dalam peningkatan keragaman genetik pada tanaman jika didukung dengan seleksi terarah akan diperoleh tanaman mutan yang diharapkan.

Keberhasilan dalam induksi mutasi telah banyak dilaporkan pada komoditas buah-buahan seperti jeruk, apel, pir, pisang dan anggur (Maluszynski *et al.*, 1995) dan komoditas pangan seperti padi (Ishak, 2012), sorghum (Surya dan Soeranto, 2006), kedelai serta tanaman hias seperti mawar dan krisan (Hutami *et al.*, 2006; Handayati, 2013). Mutagen fisik dengan sinar gamma banyak digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik. Variasi pada tanaman terutama tanaman pertanian telah bayak dilakukan menggunakan radiasi seperti sinar X, Gamma dan neuron (Lestari, 2012; Zanzibar dan Sudrajat, 2015). Keberhasilan induksi mutasi sangat ditentukan pada bagian tanaman yang digunakan dan dosis iradiasi yang ditentukan. Van Harten (1998) mengemukakan bahwa bagian tanaman sebagai eksplan radiasi harus yang masih mampu menghasilkan tunas dan akar baru (stek belum berakar, potongan daun dan bagian meristematis lainnya).

Van Harten (1998) mengemukakan bahwa radiosensitivitas merupakan tingkat sensitivitas tanaman terhadap iradiasi. Radiosensitivitas menentukan keragaman yang timbul akibat mutasi fisik. Tingkat sensitivitas bahan mutasi dapat diamati berdasarkan respon tanaman pasca-iradiasi baik pada morfologi maupun Lethal dose 50% (LD50). Faktor yang menyebabkan perbedaan

radiosensitivitas ada dua diantaranya faktor biologi (genetik) dan lingkungan (suhu dan kelembaban). Radiosensitivitas adalah alat ukur yang digunakan untuk memberikan gambaran tentang efek iradiasi terhadap objek yang diiradiasi. Penentuan kurva radiosensitivitas dan LD50 sangat perlu dilakukan untuk menentukan dosis yang tepat untuk menghasilkan frekuensi mutasi (persentase yang termutasi) yang diharapkan tinggi (Broertjes dan Van Harten, 1988; Morishita *et al.*, 2003).

2.5 Iradiasi Sinar Gamma

Salah satu induksi mutasi secara fisik adalah menggunakan iradiasi sinar gamma. Menurut Crowder (1986) iradiasi merupakan istilah yang digunakan pada berbagai pancaran, seperti pancaran cahaya, pancaran panas, pancaran radio dan TV serta ultraviolet. Berikut merupakan pengaruh iradiasi sinar gamma pada beberapa tanaman dengan respon yang berbeda-beda (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh dosis iradiasi sinar gamma pada beberapa tanaman

No.	Jenis Tanaman	Dosis sinar gamma	Pengaruh	Pustaka
1.	Suren (Toona sinensis)	5 dan 20 Gy	Meningkatkan perkecambahan benih dan pertumbuhan bibit	Zanzibar, et al. (2008)
2.	Tembesu (Fagraea fragrans)	5 dan 10 Gy	Meningkatkan daya berkecambah dan daya simpan benih	Zanzibar <i>et al.</i> (2015)
3.	Sorgum manis	200-500 Gy	Peningkatan keragaman	Surya dan Soeranto (2006)
4.	Manggis (Garcinia mangostana L.)	>25 Gy	Pertumbuhan terhambat dan sulit berakar	Qosim <i>et al.</i> (2007)
5.	Sedap malam (Polyanthes tuberose L.)	25 Gy	Terjadi kerusakan morfologi dan penurunan tinggi tanaman	Mubarok <i>et al.</i> (2011)
6.	Triticum aestivum L.	100, 200, 300 dan 400 Gy	Benih lebih superior dibandingkan dengan kontrol untuk beberapa karakter.	Sigh dan Balyan (2009)

Sinar gamma merupakan iradiasi elektromagnetik yang mempunyai panjang gelombang lebih pendek dari sinar X. Hal ini berarti sinar gamma menghasilkan radiasi elektromagnetik dengan tingkat energi yang lebih tinggi. Tingkat iradiasi yang dihasilkan mencapai lebih dari 10 MeV, sehingga daya tembusnya pada jaringan mencapai beberapa sentimeter (cm) dan dapat bersifat merusak jaringan yang dilewatinya (Van Harten, 1998). Kerusakan yang terjadi akibat iradiasi sinar gamma dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Efek langsung ditandai dengan terjadinya degradasi enzim yang berperan dalam biosintesis hormon endogen serta terjadinya kerusakan DNA dan kromosom yang kerusakannya akan berbanding lurus dengan peningkatan dosis iradiasi. Efek tidak langsung berupa pengaruh toksik dari radikal bebas H₂O₂ dan OH⁻ yang dihasilkan oleh radiolisis air (Kim et al., 2004; Soeranto, 2003). Air merupakan material yang paling mempengaruhi radiosensitivitas. Hal ini dikarenakan air akan terurai menjadi H₂O⁺ dan e⁻ serta kemudian membentuk radikal bebas. Apabila radikal bebas tersebut bereaksi dengan molekul lain pada jaringan akan mempengaruhi sistem biologi tanaman (Van Harten, 1998). Gray merupakan satuan SI dosis iradiasi. Banyaknya energi yang diserap pada benda atau target disebut satuan dosis radiasi. Satuan Gray sebanding dengan 10² rad (radiation absorbed dose) atau 1 Gy setara dengan 100 rad (Van Harten, 1998). Pada tanaman krisan, semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan maka dapat semakin menghambat pertumbuhan tunas serta pembentukan daun pada dua varietas yang digunakan. Pada tanaman krisan, dosis iradiasi sinar gamma 20 Gy efektif menghasilkan peningkatan keragaman krisan (Maharani dan Khumaida, 2013).

Menurut Aisyah (2006), tingkat radiosensitivitas sangat menentukan keragaman yang timbul akibat mutasi fisik iradiasi. Tingkat sensitivitas diamati berdasarkan respon tanaman pasca-iradiasi, baik dari segi morfologi tanaman, sterilitas ataupun Lethal Dose 50% (LD50). Dosis iradiasi sinar gamma yang optimum untuk menghasilkan mutan umumnya terletak pada LD50 (*Lethal Dose*). LD50 merupakan tingkat dosis iradiasi yang menyebabkan 50% populasi tanaman mengalami kematian. Pemberian iradiasi dengan dosis rendah (500 rad) mampu meningkatkan keragaman serta merangsang terbentuknya tunas, akar dan peningkatan jumlah akar pada tunas *in vitro* gerbera (Prasetyorini, 1991).