



TEKNIK PEMULIAAN MUTASI

PADA TANAMAN KEDELAI

Dr. Nilahayati, S.P., M.Si

Teknik Pemuliaan Mutasi pada Tanaman Kedelai

Diterbitkan Oleh:



**SEFA MEDIA
UTAMA**

CV. SEFA MEDIA UTAMA

2025

Teknik Pemuliaan Mutasi pada Tanaman Kedelai

Penulis : Dr. Nilahayati, S.P., M.Si

Hak Cipta © 2025 pada Penulis

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun baik secara elektronik maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam atau dengan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit dan penulis

Penerbit:

SEFA MEDIA UTAMA

Jl. Sriwijaya No 34. Kota Semarang

<http://sefamediautama.id/> Telp. 085260363550

Cetakan I: Juli 2025

ISBN: 978-634-96170-8-6

IKAPI: 033/DIA/2023

Halaman. 195

Ukuran 16,8 x 23 cm

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL.....	ii
DAFTAR GAMBAR	iii

BAB 1 PENDAHULUAN

BAB 2 PEMULIAAN MUTASI

2.1. Induksi Mutasi dengan Iradiasi Gamma.....	11
2.2. Induksi Mutasi dengan EMS.....	18
2.3. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Varietas Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3	21

BAB 3 TEKNIK MUTASI DENGAN IRADIASI GAMMA PADA KEDELAI

3.1. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Kipas Putih dengan Iradiasi Gamma pada Generasi M1	23
3.3. Keragaman Karakter Agronomi Generasi M2 Hasil Iradiasi Sinar Gamma.....	26
3.3. Seleksi Genotipe Generasi M3 untuk Karakter Agronomi dan Berdaya Hasil Tinggi.....	28
3.4. Seleksi Genotipe Generasi M4 untuk Karakter Agronomi, Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi.....	29
3.5. Seleksi Pedigri Generasi M5 untuk Karakter Agronomi, Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi.....	30
3.6. Keragaman Agronomi dan Molekuler Galur- Galur Mutan Putatif Kedelai Generasi M6 Hasil Iradiasi Sinar Gamma.....	31

BAB 4 PENGARUH MUTAGEN IRADIASI GAMMA PADA KEDELAI

- 4.1. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Kipas Putih dengan Iradiasi Gamma pada Generasi Pertama (M1)..... 44
- 4.2. Keragaman Karakter Agronomi Generasi M2 Hasil Iradiasi Sinar Gamma 53
- 4.3. Seleksi Genotipe Generasi M3 untuk Karakter Agronomi dan Berdaya Hasil Tinggi.....66
- 4.4. Seleksi Pedigree Genotipe Mutan M4 terhadap Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi75
- 4.5. Seleksi Pedigree Genotipe Mutan M5 terhadap Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi 81
- 4.6. Keragaman Agronomi dan Molekuler Mutan- Mutan Putatif Kedelai Hasil Iradiasi Sinar Gamma pada Generasi M6.....100

BAB 5 TEKNIK MUTASI DENGAN ETHYL METHANE SULFONATE PADA KEDELAI

- 5.1. Penentuan Lethal Dose 50 (LD 50) Mutagen EMS pada Kedelai Gepak Kuning120
- 5.2. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 dengan Mutagen EMS pada Generasi M1..... 121
- 5.3. Keragaman Karakter Morfologi dan Agronomi Generasi M2 Hasil Induksi Mutagen EMS pada Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3..... 125

BAB 6 PENGARUH MUTAGEN EMS PADA KEDELAI

- 6.1. Penentuan Lethal Dose 50 Benih Kedelai Varietas Gepak Kuning pada Pemberian Berbagai Konsentrasi Mutagen Ethyl Methane Sulfonate..127

6.2. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 Menggunakan Mutagen EMS pada Generasi M1	133
6.3. Keragaman Morfologi dan Agronomi Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 Menggunakan Mutagen EMS pada Generasi M2	149
BAB 7 PENUTUP	
DAFTAR PUSTAKA	178

DAFTAR TABEL

Table 1. Model Sidik Ragam dan Nilai Kuadrat Tengah	35
Table 2. Persentase perkecambahan dan persentase tanaman yang bertahan hidup akibat iradiasi gamma.....	46
Table 3. Pengaruh iradiasi gamma terhadap karakter agronomi varietas kipas putih hasil iradiasi gamma.....	47
Table 4 2. Nilai rata-rata karakter agronomi populasi M2 kedelai kipas putih hasil iradiasi gamma	54
Table 5.3. Keragaman genetik dan heritabilitas karakter agronomi generasi M2 pada berbagai dosis iradiasi gamma.....	56
Table 6 4. Nilai rata-rata karakter agronomi populasi M3 hasil iradiasi gamma varietas kipas putih.....	67
Table 7. Komponen ragam dan karagaman karakter agronomi generasi M3 hasil iradiasi gamma pada kedelai kipas putih.....	70
Table 8. Diferensial seleksi akibat seleksi genotipe kedelai kipas putih hasil iradiasi gamma generasi M3.....	72
Table 9. Nilai rata-rata karakter agronomi 233 galur mutan putatif generasi M4, varietas kipas putih, kipas merah dan anjasmoro	76
Table 10. Pendugaan ragam, koefisien keragaman genetik dan heritabilitas karakter agronomi populasi M4 hasil iradiasi gamma pada varietas kipas putih.....	77
Table 11. Nilai rata-rata karakter agronomi 118 galur mutan putatif generasi M4 terpilih, varietas kipas putih, kipas merah dan anjasmoro.....	78
Table 12. Hasil seleksi mutan-mutan potensial yang memiliki karakter umur genjah pada generasi M4.....	79

Table 13. Hasil seleksi mutan-mutan potensial yang berdaya hasil tinggi pada generasi M4.....	80
Table 14. Nilai rata-rata karakter agronomi populasi dasar generasi M5, galur mutan hasil seleksi dan tetua kipas putih ..	81
Table 15. Keragaan karakter agronomi 33 galur mutan putatif hasil seleksi generasi M5	82
Table 16. Rekapitulasi hasil analisis ragam beberapa karakter agronomi genotipe mutan M6 dengan dua varietas pembandingan	101
Table 17. Pengaruh beberapa genotipe kedelai terhadap karakter tinggi tanaman	102
Table 18. Pengaruh beberapa genotipr kedelai terhadap karakter umur berbunga, umur panen dan jumlah cabang	104
Table 19. Pengaruh beberapa genotipe kedelai terhadap karakter jumlah polong bernas, jumlah polong hampa dan bobot 100 biji	107
Table 20. Pengaruh beberapa genotipe kedelai terhadap karakter bobot biji/tanaman, bobot biji/plot dan produksi...	110
Table 21. Nilai ragam genetik, ragam fenotipe, heritabilitas beberapa genotipe mutan generasi M6 dan varietas pembandingan	111
Table 22. Lokus hasil amplifikasi polimorfik antara genotipe tetua, pembandingan dan enam genotipe mutan kedelai hasil iradiasi gamma.....	118
Table 23. . Persentase perkecambahan benih kedelai gepak kuning pada berbagai konsentrasi EMS.....	128

Table 24. Rata-rata karakter agronomi kedelai gepak kuning akibat pemberian mutagen EMS pada generasi M2 154

Table 25. Rekapitulasi analisis uji t pengaruh EMS terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai galur M.1.1.3 pada generasi M2166

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Perbandingan pertumbuhan kedelai kipas putih hasil iradiasi gamma umur 1 MST pada generasi M1.....	45
Gambar 2. Pertumbuhan kedelai kipas putih 0 gray (kontrol) dibandingkan dengan dosis 300 Gy umur 4 MST.....	46
Gambar 3. Keragaman morfologi kedelai kipas putih akibat iradiasi gamma pada generasi M1. a. Daun mengkerut, b & c mutan klorofil, e. Daun tetrafoliate f. Daun pentafoliate, g, h, i dan j. Bentuk daun abnormal, k. Rasim bunga tidak berkembang...	51
Gambar 4. Tanaman berpolong satu (200 Gy); b&c. Tanaman steril (300 Gy)	52
Gambar 5. Mutan klorofil : a. Daun normal b. Light green mutant, c. Xantha d.Waxy e. Variegated leaf	61
Gambar 6. Mutan bentuk daun (leaflet mutant) : a. Normal leaf b. Unifoliate c. Bifoliate d. Tetrafoliate e. Pentafoliate f. Narrow-rugose leaf	63
Gambar 7. Mutan Steril : a & b. Full sterility c. Undeveloped rasim flower.....	64
Gambar 8. Perbandingan ukuran biji antara Mutan putatif M.1.1.3, Kipas Putih dan Anjasmoro.....	85
Gambar 9. Perbandingan penampilan Kipas Putih, Anjasmoro dan Mutan M.1.1.3 pada umur 6 MST	87
Gambar 10. Tanaman normal dan steril pada generasi M6 a. Tanaman normal b.Tanaman full sterility.....	113
Gambar 11. Mutan bentuk daun pada generasi M6. a. Daun Normal, b&c. Daun Pentafoliate	114
Gambar 12. Pola pita DNA hasil analisis RAPD menggunakan Primer RAPD 2.....	116
Gambar 13. Penampilan pola pita hasil analisis RAPD dengan menggunakan Primer RAPD 3	116
Gambar 14. Pola pita DNA hasil analisis RAPD dengan menggunakan Primer RAPD 4	117

Gambar 15. Pola pita DNA hasil analisis RAPD dengan menggunakan Primer RAPD 5	118
Gambar 16. Hasil analisis hubungan kekerabatan antara 8 genotipe kedelai dengan menggunakan program NTSys.....	120
Gambar 17. Tinggi bibit kedelai Gepak Kuning akibat perlakuan EMS pada hari ke-7 dan hari ke-14 setelah tanam	130
Gambar 18. Grafik konsentrasi EMS (%) terhadap tinggi bibit (cm) kedelai Gepak Kuning.....	131
Gambar 19. Pengaruh etil metana sulfonat terhadap persen perkecambahan dan garis grafik yang sesuai untuk memperkirakan LD50 pada kedelai Gepak Kuning yang diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi etil metana sulfonat	132
Gambar 20. Tanaman kontrol (Gambar 1a dan 1c). Tanaman yang mengalami perubahan morfologi bentuk cabang dan rasim bunga tidak berkembang (Gambar 1b dan 1d)	136
Gambar 21. (a) Tanaman kedelai Galur M.1.1.3 tanpa pemberian mutagen EMS, (b). tanaman kimera pada populasi galur M.1.1.3 akibat perlakuan EMS.....	137
Gambar 22. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata tinggi tanaman kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	139
Gambar 23. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata jumlah cabang kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	141
Gambar 24. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata umur berbunga kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	143

Gambar 25. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata umur panen kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	145
Gambar 26. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata umur jumlah polong kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	146
Gambar 27. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata bobot 100 biji kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	147
Gambar 28. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata bobot biji/tanaman kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.....	148
Gambar 29. Tanaman (kontrol), (b) dan (c) tanaman yang diberikan perlakuan EMS	151
Gambar 30. (a) Daun normal (b) daun tetrafoliate,(c) Daun Pentafoliate, (d) dan (e) Bentuk daun abnormal.....	153
Gambar 31. Persentase perkecambahan populasi kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian mutagen EMS pada generasi M ₂	161
Gambar 32. Perubahan warna daun : a. Daun normal b. Mutan klorofil.....	163
Gambar 33. Mutan bentuk daun (Leaflet mutant) : a. Normal leaf b.Tetrafoliate c. Pentafoliate.....	164
Gambar 34. Rasim Bunga Tidak Berkembang Pada Beberapa Tanaman.....	165

BAB 1

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan tanaman yang sangat penting bagi masyarakat di Indonesia. Peningkatan produksi kedelai dalam negeri mutlak dilakukan untuk mempertahankan kedaulatan pangan. Berbagai usaha dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi kedelai nasional baik dengan perluasan areal tanam, perbaikan teknik budidaya maupun penggunaan varietas unggul. Perakitan varietas unggul dapat dilakukan dengan teknik pemuliaan tanaman untuk mendapatkan keragaman genetik. Berbagai metode pemuliaan tanaman baik konvensional maupun bioteknologi sudah tersedia saat ini. Salah satu teknik pemuliaan yang sangat populer adalah pemuliaan mutasi.

Van Harten (1998) menyatakan bahwa pemuliaan mutasi dapat meningkatkan sifat yang diinginkan yang tidak terdapat pada plasma nutfah dari spesies dan juga dapat menimbulkan keragaman pada varietas yang sudah ada. Induksi mutagenesis adalah metode yang efektif untuk meningkatkan keragaman genetik dalam waktu yang singkat dan cara yang cepat untuk menghasilkan variasi untuk mengembangkan varietas baru. Bhosale dan Hallale (2011) menambahkan bahwa mutagen dapat menyebabkan perubahan genetik pada organisme, mematahkan *linkage* dan menghasilkan sifat-sifat baru yang

lebih menjanjikan untuk meningkatkan tanaman budidaya. Mutagenesis telah digunakan secara luas sebagai metode yang potensial untuk meningkatkan variabilitas dalam memperbaiki sifat-sifat tanaman

Pemuliaan mutasi pada tanaman budidaya memainkan peranan kunci pada tanaman yang menyerbuk sendiri dengan keragaman genetik yang terbatas. Sekarang ini telah banyak peneliti yang mengembangkan tanaman dengan teknik pemuliaan mutasi diantaranya pada tanaman wijen (Sharma, 1993), *cowpea* (Dhanavel *et al.*, 2008), *black gram* (Thilagavathi dan Mullainathan, 2009) dan kedelai (Padmavathi *et al.*, 1992 dan Pavadai *et al.*, 2010). Telah banyak galur mutan yang sudah diidentifikasi dalam program pemuliaan mutasi kedelai berdasarkan karakteristik morfologi (Rahman *et. al.*1994; Hanafiah *et. al.* 2010).

Pemuliaan tanaman mutasi diyakini sangat ampuh untuk memperoleh keragaman genetik dalam waktu yang singkat dan cara yang cepat untuk menghasilkan variasi untuk mengembangkan varietas baru. Van Harten (1998) menyatakan bahwa pemuliaan mutasi dapat meningkatkan sifat yang diinginkan yang tidak terdapat pada plasma nutfah dari spesies dan juga dapat menimbulkan keragaman pada varietas yang sudah ada.

Pemuliaan mutasi dapat menggunakan berbagai mutagen baik mutagen fisik maupun kimia. Mutagen fisik dapat menggunakan radiasi sinar gamma. Induksi mutasi dengan sinar

gamma adalah teknik yang umum digunakan untuk mendapatkan keragaman genetik pada tanaman budidaya khususnya kedelai. Beberapa peneliti sebelumnya telah menggunakan sinar gamma pada berbagai genotipe kedelai. diantaranya pada kedelai galur VX04-6828 untuk perbaikan penampilan dan komposisi kimia biji (Nobre et al, 2019), kedelai varietas Detam 3 untuk lahan salin (Ghosypea et al, 2018) dan induksi keragaman genetik kedelai genotipe PGRI-15, KY EXOTIC, NARC-, AJMERI-2, AJMER-I (Hussain et al, 2020).

Efektifitas perbaikan genetik untuk sifat-sifat yang diinginkan pada program pemuliaan tanaman mutasi sangat ditentukan oleh dosis , tingkat radiosensivitas tanaman yang diradiasi dan kondisi tanaman saat diradiasi. Dosis iradiasi merupakan hal yang paling penting untuk menginduksi variasi genetik yang dapat menghasilkan mutan yang positif. Hasil penelitian sebelumnya pada kedelai menunjukkan bahwa dosis iradiasi gamma pada 200 Gy secara efektif dapat meningkatkan keragaman genetik pada tanaman (Mudibu *et.al.*, 2012). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Hanafiah *et. al.* (2010) bahwa pada varietas Argomulyo keragaman yang tinggi pada generasi M₂ kedelai diperoleh pada iradiasi sinar gamma dengan dosis 200 Gy. Hasil penelitian Mudibu *et. al.* (2011) menggunakan marker ISSR menunjukkan tingkat lokus polimorfis meningkat secara signifikan lebih dari 10% pada saat perlakuan gamma 200 Gy dibanding dengan kontrol. Dosis iradiasi sinar gamma yang direkomendasikan oleh IAEA (*International Atomic Energy*

Agency) untuk tanaman kedelai adalah 200 Gy, yang berguna untuk memperbaiki karakter kuantitatif tanaman. Dosis iradiasi ini berbeda untuk tiap kultivar dan varietas kedelai yang ada (Srisombun *et. al.*, 2009).

Arwin *et. al.* (2012) menggunakan materi induk kedelai varietas lokal Tidar yang diradiasi dengan dosis 200 Gy. Selanjutnya dilakukan seleksi mutan genjah mulai dari generasi M₂, dan galur terpilih dimurnikan sampai homogen. Hasil uji daya hasil pendahuluan dan uji daya hasil lanjutan diperoleh 2 galur mutan yang menunjukkan perbedaan yang nyata pada produktivitas. Galur Q-298 dan 4-Psj memiliki umur panen 66 dan 68 hari dengan produktivitas tinggi (rata-rata 2.41 dan 2.42 ton/ha). Sekarang kedua galur tersebut telah dilepas sebagai varietas unggul kedelai baru dengan nama Gamasugen 1 dan Gamasugen 2.

Mutagen kimia juga sangat ampuh dan banyak digunakan untuk merakit keragaman genetik tanaman. Menurut Soeranto (2003), mutagen kimia dapat berasal dari senyawa kimia yang memiliki gugus alkil, seperti *ethyl methanesulfonate* (EMS), *diethyl sulfate* (DES), *methylmetane sulfonate* (MMS), *hydroxylamine* dan sodium azida. Mutagen kimia EMS merupakan senyawa kimia yang paling banyak digunakan dalam penelitian induksi mutasi.

Beberapa peneliti sebelumnya telah berhasil merakit keragaman genetik dengan menggunakan mutagen EMS pada berbagai tanaman budidaya diantaranya padi (Talebi *et al.*,

2012), barley (Sharamo et al, 2021) dan kembang kol (Ke et al, 2019). Satpute & Fultambkar (2012) menggunakan EMS dan sinar gamma pada kedelai varietas MAUS-71 and JS-335. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa efektifitas dan efisiensi mutagen semakin berkurang dengan meningkatnya konsentrasi/dosis mutagen. EMS terbukti lebih efektif menginduksi mutasi pada kedua varietas yang diteliti sedangkan sinar gamma terbukti lebih efisien. Espina et al (2018) telah menggunakan EMS untuk mendapatkan mutasi DNA pada populasi mutan kedelai. Mereka memperoleh berbagai variasi fenotipik pada mutan kedelai diantaranya mutan dengan kandungan *oleic acid*, minyak, protein dan sukrosa tinggi serta kandungan linolenic dan asam linolenic yang rendah.

Dalam tulisan buku ini akan disampaikan teknik pemuliaan mutasi dengan menggunakan mutagen fisika yaitu iradiasi sinar gamma pada kedelai kipas putih. Selanjutnya juga akan disampaikan tentang teknik pemuliaan mutasi dengan menggunakan mutagen kimia EMS pada kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3.

Pemuliaan mutasi dengan iradiasi sinar gamma pada kedelai kipas putih dilakukan untuk mendapatkan galur kedelai dengan umur yang lebih genjah dan berdaya hasil tinggi. Pada tahun 1996 varietas unggul kedelai yang dominan di sentra produksi kedelai di Provinsi Aceh adalah varietas Kipas Putih. Varietas ini banyak ditanami oleh petani karena varietas ini sudah beradaptasi dengan baik di daerah setempat, memiliki

percabangan yang banyak (bentuk cabang yang khas menyerupai kipas), berpenampilan jagur dan agak tahan terhadap penyakit karat. Namun saat ini varietas ini sudah mulai ditinggalkan petani disebabkan karena produksi Kipas Putih yang rendah dan umur panen yang lama. Menurut Balitkabi (2009), produksi Kipas Putih adalah 1.69 ton/hektar dan umur panen yaitu 90 HST. Krisdina (2013) menyatakan bahwa varietas kedelai yang dominan ditanam petani di Provinsi Aceh saat ini adalah varietas Anjasmoro, hanya sebagian kecil petani yang menanam Kipas Merah, Kipas Putih, dan Wilis.

Perbaikan genetik terhadap kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 dengan mutagen kimia EMS dilakukan untuk mendapatkan galur-galur kedelai dengan ukuran biji yang lebih besar. Menurut Balitkabi (2015), varietas gepak kuning sudah dilepas sebagai varietas unggul nasional pada tahun 2008. Gepak Kuning memiliki keunggulan dapat beradaptasi baik di lahan sawah dan tegal baik, memiliki umur yang genjah (umur polong masak 73 HST) dan agak tahan terhadap hama ulat grayak, *Aphis* sp dan penggulung daun. Namun varietas ini memiliki kekurangan diantaranya produksinya rendah (2,86 ton/ha) dan ukuran biji kecil (8,25 g/100 biji). Selanjutnya, Nilahayati et al (2022) memperoleh Galur M.1.1.3 dari induksi sinar gamma kedelai lokal aceh Kipas Putih. Nilahayati et al (2022) menambahkan bahwa dari hasil analisis molekuler Galur M.1.1.3 ini secara genetik sudah berbeda dibanding tetuanya Kipas Putih. Kelebihan Galur M.1.1.3 adalah memiliki daya hasil yang

tinggi mencapai 3,5 ton/ha, dibanding tetuanya Kipas Putih yang produksinya sangat rendah yaitu hanya 1,69 ton/ha. Sayangnya, galur ini juga memiliki kekurangan yaitu ukuran biji yang kecil (hanya 9-11 g/100 biji).

Petani lebih menyukai varietas-varietas kedelai yang berumur lebih genjah, berbiji besar dan berproduksi tinggi. Oleh karena itu, induksi mutasi dengan menggunakan iradiasi sinar gamma pada kedelai kipas putih dan induksi mutasi dengan menggunakan EMS pada varietas Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 diharapkan akan dapat meningkatkan keragaman genetik, yang dengan proses seleksi pada generasi selanjutnya dapat menghasilkan tanaman dengan penampilan dan sifat-sifat yang lebih baik (lebih unggul) dari tetuanya, diantaranya memiliki ukuran biji besar dan berdaya hasil tinggi.

BAB 2

PEMULIAAN MUTASI

Perbaikan sifat genetik dan agronomik tanaman dapat dilakukan melalui pemuliaan. Secara konvensional, perbaikan sifat dapat dilakukan persilangan antar spesies, varietas, genera atau kerabat yang memiliki sifat yang diinginkan. Persilangan dapat diterapkan pada tanaman berbunga, berbuah, berbiji dan berkembang untuk melanjutkan keturunannya. Untuk tanaman yang tidak bisa diperbaiki melalui persilangan, perbaikan sifat di upayakan dengan cara yang lain, di antaranya mutasi induksi yang di sebut juga mutasi buatan atau imbas. Mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tiba-tiba, acak, dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (*heritable*) (Balitbiogen, 2011).

Dalam bidang pemuliaan tanaman teknik mutasi dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotip tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki. Soeranto (2003) menyatakan bahwa mutasi induksi dapat dilakukan pada tanaman dengan perlakuan bahan mutagen tertentu terhadap organ reproduksi tanaman seperti biji, stek batang, serbuk sari, akar rizome, kalus dan sebagainya.

Ada dua jenis bahan mutagen, yaitu mutagen kimia dan mutagen fisika. Mutagen kimia pada umumnya berasal dari senyawa kimia yang memiliki gugus alkil, seperti etil metan sulfonat (EMS), dietil sulfat (DES), metil metan sulfonat (MMS), hidroksil amina, dan *nitrousacid*. Mutagen fisika merupakan radiasi energi nuklir, seperti iradiasi sinar gama. Peran utama teknologi nuklir dalam pemuliaan tanaman terkait dengan kemampuannya dalam menginduksi mutasi pada materi genetik. Kemampuan tersebut dimungkinkan karena nuklir memiliki energi cukup tinggi untuk menimbulkan perubahan pada struktur atau komposisi materi genetik tanaman. Perubahan tersebut terjadi secara mendadak, acak, dan diwariskan pada generasi berikutnya.

Secara relatif, proses mutasi dapat menimbulkan perubahan pada sifat-sifat genetik tanaman baik kearah positif maupun negatif, dan kemungkinan mutasi yang terjadi dapat juga kembali normal (*recovery*). Mutasi yang terjadi ke arah sifat positif dan terwariskan ke generasi berikutnya merupakan mutasi yang dikehendaki oleh pemulia tanaman pada umumnya (Soeranto, 2003).

Pada tingkat tertentu, mutasi dapat menimbulkan keragaman genetik yang berguna dalam pemuliaan tanaman, tetapi perubahan genetik itu bukanlah disebabkan oleh perubahan rekombinasi. Berbeda dengan pemuliaan melalui persilangan, pemuliaan mutasi dapat digunakan untuk memperoleh varietas unggul dengan memperbaiki beberapa

sifat yang diinginkan, tanpa mengubah sebagian besar sifat baiknya. Mutasi iradiasi pada tanaman dapat menimbulkan abnormalitas. Hal ini menandakan telah terjadi perubahan pada tingkat genom, kromosom, dan DNA sehingga proses fisiologis pada tanaman menjadi tidak normal dan menghasilkan variasi-variasi genetik baru. Abnormalitas atau bahkan kematian pada populasi mutan (M_1) merupakan akibat dari terbentuknya radikal bebas seperti H_0 , yaitu ion yang bersifat sangat labil dalam proses reaksi sehingga mengakibatkan perubahan (mutasi) pada tingkat DNA, sel ataupun jaringan. Mutasi yang diharapkan adalah yang dapat menimbulkan keragaman pada sifat yang akan diseleksi sehingga sifat atau karakter yang lebih baik dapat diseleksi, sementara karakter yang baik pada tanaman/ varietas asal tetap dipertahankan (Balitbiogen, 2011)

Mutasi dapat dibedakan atas, mutasi genom, mutasi kromosom dan mutasi gen. Mutasi genom dapat diakibatkan oleh perubahan jumlah set kromosom baik penambahan maupun pengurangan jumlah set kromosom. Poliploidi pada tanaman mencerminkan adanya penambahan satu set kromosom atau lebih. Mutasi kromosom terdiri atas perubahan jumlah dan struktur kromosom (Wattimena 1992). Perubahan jumlah kromosom dapat dibedakan menjadi euploidi dan aneuploidi (Suzuki *et. al.*, 1993). Mutasi kromosom dapat terjadi akibat pecahnya benang kromosom, meliputi empat kelompok yaitu translokasi (*translocations*), inversi (*inversion*), duplikasi (*duplication*), defesien (*deficiens*). (Soeranto, 2003). Mutasi gen

terjadi karena perubahan pada struktur primer dari DNA. Mutasi gen dapat terjadi karena substitusi, tambahan ataupun hilangnya satu atau lebih basa-basa di dalam sebuah molekul DNA (Van Harten, 1998). Smith dan Wood (1991) mendefinisikan mutasi gen adalah perubahan sekuen nukleotida pada gen yang menghasilkan perubahan asam amino dan produk protein mutan. Mutasi gen juga didefinisikan sebagai perubahan satu bentuk alel menjadi bentuk alel lainnya. Perubahan tersebut terjadi dalam satu gen pada satu lokus kromosom atau disebut juga mutasi titik (Suzuki *et al.*, 1993). Mutasi gen digolongkan ke dalam dua kategori, yaitu *microlesions* dan *macrolesions*, yang dicirikan oleh adanya perubahan basa pada DNA (Van Harten, 1998). Menurut Suzuki *et al.* (1993) ada empat tipe perubahan basa (1) transisi, yaitu penggantian satu basa purin dengan satu purin atau penggantian satu basa pirimidin dengan pirimidin, (2) transversi, yaitu penggantian satu basa pirimidin oleh basa purin atau sebaliknya, (3) delesi, yaitu pasangan basa tertentu menghilang sehingga terjadi susunan nucleotida yang berbeda (4) dan inversi pasangan basa, yaitu terjadi perubahan orientasi susunan pasangan basa. DNA sangat sensitif terhadap radiasi, sehingga radiasi sinar gamma dapat menyebabkan perubahan DNA pada makhluk hidup (Van Harten, 1998).

2.1. Induksi Mutasi dengan Iradiasi Gamma

Radiasi adalah pancaran energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel, atau gelombang elektromagnetik (foton) dari suatu sumber energi. Radiasi

energi tinggi adalah bentuk-bentuk energi yang melepaskan tenaga dalam jumlah yang besar dan kadang-kadang disebut juga radiasi ionisasi, karena ion-ion dihasilkan dalam bahan yang dapat ditembus oleh energi tersebut. Radiasi dapat menginduksi terjadinya mutasi karena sel yang teradiasi akan dibebani oleh tenaga kinetik yang tinggi, sehingga dapat mempengaruhi atau mengubah reaksi kimia sel tanaman yang pada akhirnya dapat menyebabkan terjadinya perubahan susunan kromosom tanaman (Poespodarsono, 1988). Radiasi memiliki beberapa tipe, yaitu radiasi sinar X, radiasi sinar gamma, dan radiasi sinar ultra violet. Radiasi sinar gamma dipancarkan dari isotop radio aktif, panjang gelombangnya lebih pendek dari sinar X, dan daya tembusnya adalah yang paling kuat. Hidayat (2004) mengatakan bahwa sinar gamma merupakan bentuk sinar yang paling kuat dari bentuk radiasi yang diketahui, kekuatannya hampir 1 miliar kali lebih berenergi dibandingkan radiasi sinar X.

Sinar gamma adalah salah satu mutagen fisik yang sering digunakan dalam teknik mutagenesis tanaman. Sinar radioaktif jika mengenai jaringan tanaman akan menimbulkan ionisasi molekul air, kemudian akan mengoksidasi gula dalam DNA sehingga rangkaian nukleotidanya akan putus. Tetapi ada pula radiasi yang langsung menyebabkan basa nukleotida menjadi lepas, rusak, atau berubah susunan molekulnya, sehingga menghambat replikasi dan transkripsinya serta mengakibatkan tidak dihasilkannya asam amino karena tidak terbaca pada

waktu translasi. Radiasi juga dapat mengakibatkan terjadinya perubahan dalam komposisi basa dan juga putusnya rantai DNA. Dinyatakan juga bahwa efek radiasi terhadap basa lebih penting dan berperan secara langsung dalam proses mutasi gen, seperti terjadinya substitusi, penambahan atau hilangnya basa dalam molekul DNA. Radiasi juga dapat menginduksi perubahan struktur kromosom, yaitu terjadinya pematangan kromosom. Pada dosis rendah dapat menyebabkan terjadinya delesi, dan semakin tinggi dosisnya akan terjadi duplikasi, inversi, atau translokasi kromosom (Devi dan Sastra, 2006).

Radiasi sinar gamma adalah suatu teknologi alternatif yang banyak sekali manfaatnya, di bidang pertanian khususnya pemuliaan mutasi kedelai karena dapat memperbanyak keragaman genetik, dapat memecahkan gen linkage dan dapat memperbaiki satu atau dua sifat. Pengaruh radiasi pada generasi M_1 biasanya terjadi kerusakan fisik selanjutnya pada generasi M_2 terjadi segregasi atau keragaman genetik, seleksi dan *screening test* diarahkan pada sifat yang kita inginkan misalnya umur genjah, selanjutnya pada generasi M_3 ditanam kembali secara pedigree satu galur satu baris, pada generasi M_4 biasanya tanaman sudah mulai stabil.

Kegiatan pemuliaan mutasi dengan bantuan nuklir (iradiasi sinar gamma) sudah dilakukan secara intensif di negara-negara lain dan telah menghasilkan sekitar 1.585 varietas unggul mutan, 64% diantaranya berasal dari mutasi dengan iradiasi sinar gamma. Di Indonesia, yaitu di Badan

Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi telah dimulai sejak tahun 1972. Sampai saat ini, kegiatan pemuliaan mutasi di BATAN telah menghasilkan 22 varietas unggul tanaman yang terdiri atas 15 padi, 5 kedelai, 1 kacang hijau, dan 1 kapas (Balitbiogen, 2011).

Pemuliaan mutasi dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai mutagen baik mutagen kimia maupun fisika. Mutagen kimia dapat diaplikasikan dengan frekuensi mutasi yang tinggi dapat diperoleh namun perlakuan dengan mutagen kimia dapat sangat beracun dan berpotensi karsinogenik (terutama dari grup *alkylating agent*). Penggunaan mutagen fisika telah banyak digunakan untuk menginduksi keragaman genetik tanaman salah satunya dengan teknik iradiasi sinar gamma. Penggunaan teknik iradiasi dalam pemuliaan tanaman mempunyai peluang keberhasilan yang cukup besar serta membutuhkan waktu yang tidak terlalu lama. Iradiasi mampu menembus biji tanaman sampai ke DNA. Perubahan DNA karena iradiasi berakibat pada perubahan sifat tanaman yang diekspresikan pada level fenotipe keturunannya. Fenomena ini digunakan untuk memperbaiki sifat tanaman untuk memperoleh biji tanaman dengan keunggulan tertentu, misalnya tahan hama, tahan kering, umur genjah dan berdaya hasil tinggi.

Untuk mendukung program pemerintah di dalam peningkatan produksi kedelai maka dilakukan perluasan areal tanam ke lahan sawah pada pola tanam padi-padi-kedelai dan padi-padi-padi-kedelai, dan ke lahan kering pada pola tanam

padi-kedelai dan padi-palawija lain. Pada pola tanam tersebut curah hujan sudah rendah sehingga sering terancam kekeringan. Waktu yang tersedia untuk pertanaman kedelai relatif singkat yaitu < 80 hari sehingga sangat diperlukan varietas berumur genjah (< 75 hari), toleran kekeringan dan berdaya hasil tinggi. Sampai saat ini varietas unggul kedelai yang memiliki sifat-sifat tersebut jumlahnya masih terbatas. Oleh sebab itu program pemuliaan untuk perbaikan varietas kedelai yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi masih perlu dilakukan (Asadi, 2013).

Berbagai hasil penelitian pemuliaan mutasi pada kedelai diluar negeri telah banyak dilaporkan. Di India, melalui pemuliaan mutasi, telah dilepas sebanyak 72 varietas baru kacang-kacangan, tujuh di antaranya adalah varietas unggul mutan kedelai. Cina juga telah berhasil menggunakan teknik mutasi dalam pemuliaan kedelai untuk sifat hasil tinggi, kualitas biji baik, tahan hama, penyakit, toleran kekeringan dan salinitas. Varietas mutan unggul Henong dan Tiefeng yang dilepas telah berhasil dikembangkan dengan luasan lebih dari 400 ha (Kharkwal dan Shu, 2009). Iradiasi sinar gamma dan mutasi kimia dengan larutan EMS dapat memperbaiki umur kedelai varietas Pusa-16 dan PK-1042 menjadi lebih genjah (Mudasir dan Tyogi, 2010). Melalui iradiasi sinar gamma pada benih 10 populasi (F5 dan kultivar) kedelai, sejumlah galur M_3 dan M_4 memiliki umur 15-20 hari lebih genjah dibandingkan dengan pembandingnya (M_0) (Wang *et al.*, 2001).

Seoritae adalah varietas kedelai hitam sangat terkenal di Korea. Kedelai hitam digunakan sebagai campuran untuk memasak beras. Namun, varietas Seoritae tersebut memiliki beberapa sifat-sifat buruk seperti umur berbunga dan masak yang lambat. Untuk memperbaiki sifat-sifat buruk tersebut benih varietas Seoritae diiradiasi menggunakan sinar gama 250 Gy pada tahun 1994. Setelah melalui berbagai tahapan seleksi pada tahun 2005 telah berhasil dilepas varietas unggul kedelai baru yang diberi nama Josaengseori. Varietas ini memiliki karakteristik yang berbeda dengan varietas asalnya, yaitu seperti ukuran butiran yang lebih kecil, umur berbunga 57 hari (10 hari lebih genjah dibandingkan dengan varietas Seoritae), umur masak 130 hari (34 hari lebih genjah dari umur Seoritae), dan memberikan hasil biji 2,4 kali lebih tinggi dibandingkan dengan varietas Seoritae (Song *et al.*, 2010). Sebanyak 41 varietas kedelai baru diperoleh melalui seleksi mutan yang berasal dari mutagen kimia dan mutagen fisik. Sembilan belas dari varietas tersebut di antaranya masak lebih awal 3-30 hari dibandingkan dengan genotipe asal (Maluszynski *et al.*, 1991). Hasil penelitian di Brazil seperti dilaporkan oleh Neto and Alves (1997) bahwa dari seleksi 15.000 galur M₃ kedelai hasil iradiasi benih varietas Parana dengan sinar gamma pada dosis 22 krad diperoleh 2 galur M₄ yang memiliki umur 10 hari lebih genjah dibandingkan dengan varietas cek Parana. Mutan tersebut memiliki hasil lebih tinggi yang didukung oleh karakter

agronomis seperti jumlah polong lebih banyak dan penampilan biji lebih baik.

Kegiatan pemuliaan tanaman melalui teknik mutasi di Badan Tenaga Nuklir Nasional (Batran), dimulai sejak tahun 1972 dan sampai saat ini telah menghasilkan enam varietas kedelai unggul hasil iradiasi yaitu Muria, Tengger, Meratus, Rajabasa, Mitani, Mutiara 1. Di antara ke-6 varietas unggul kedelai asal pemuliaan mutasi tersebut baru dua varietas, yaitu Tengger dan Meratus yang umurnya tergolong genjah (<80 hari). Kedua varietas ini dilepas pada tahun 1991 dan 1998, namun penyebarannya tidak luas. Oleh sebab itu untuk masa datang perbaikan varietas kedelai untuk umur genjah dengan produktivitas tinggi melalui pemuliaan mutasi masih terus diperlukan.

Arwin *et. al.* (2012) menggunakan materi induk kedelai varietas lokal Tidar, kemudian diradiasi dengan dosis 200 Gy. Selanjutnya dilakukan seleksi mutan genjah mulai dari generasi M₂, dan galur terpilih dimurnikan sampai generasi M₇ atau sampai homogen. Hasil uji daya hasil pendahuluan dan uji daya hasil lanjutan diperoleh 2 galur mutan yang menunjukkan perbedaan yang nyata pada produktivitas. Galur Q-298 dan 4-Psj memiliki umur panen 66 dan 68 hari dengan produktivitas tinggi (rata-rata 2.41 dan 2.42 ton/ha). Sekarang kedua galur tersebut telah dilepas sebagai varietas unggul kedelai baru dengan nama Gamasugen 1 dan Gamasugen 2.

Penelitian pemuliaan mutasi kedelai untuk umur genjah dan toleran kekeringan di BB Biogen telah dimulai sejak tahun 2009. Ada dua metode pemuliaan mutasi yang digunakan, yaitu mutasi menggunakan mutagen fisik dengan cara mengiradiasi benih dan mutagen kimia. Induksi mutasi dengan iradiasi pada kalus embrio zigotik menggunakan dosis lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan biji. Iradiasi kalus embrio zigotik menggunakan dosis 400 rad, sementara jika menggunakan biji dosis anjuran lebih tinggi, yaitu 25 krad atau 2500 rad (Asadi, 2013).

Hartini (2008) melakukan penelitian untuk memperoleh berbagai macam mutan termasuk mutan $G\alpha$ pada kedelai kultivar Slamet dan Lumut yang diinduksi dengan iradiasi sinar gamma. Gen $G\alpha$ di duga berperan dalam sistem toleransi Aluminium pada kedua kultivar tersebut. Untuk mendapatkan mutan dilakukan skrining dengan menanam kedelai dua generasi tanaman. Hasil penelitian menunjukkan adanya bermacam-macam pada M_1 antara lain mutan warna biji, mutan warna bunga, mutan biji besar, mutan jumlah anak daun dan mutan pendek. Selanjutnya mutan yang memiliki stomata menutup dianalisis ekspresi gennya dengan RT-PCR. Terdapat mutan yang berasal dari kultivar Slamet dosis iradiasi 0,3 kGy. Tanaman kontrol menghasilkan pita dengan ukuran 1380 bp sedangkan tanaman mutan tidak menghasilkan pita tersebut. Tidak munculnya pita pada mutan menunjukkan bahwa gen $G\alpha$ tidak diekspresikan karena telah mengalami mutasi.

2.2. Induksi Mutasi dengan EMS

Induksi mutasi dapat diterapkan untuk memperoleh variasi baru yang bertujuan untuk perbaikan sifat genetik tanaman. Perbaikan sifat genetik suatu tanaman dapat dilakukan dengan cara konvensional maupun buatan. Mutasi secara buatan biasanya memakai suatu mutagen. Terdapat dua jenis mutagen yang digunakan, yaitu mutagen fisika dan kimia. Mutagen fisika yang biasa digunakan adalah sinar gamma (Soedjono, 2003).

Pada tumbuhan, mutagen kimia yang biasa digunakan adalah *ethyl methanesulfonate* (EMS), *diethyl sulfate* (DES), *methyl methanesulfonate* (MMS), *hydroxylamine*, *sodium azida* dan sebagainya. Senyawa-senyawa tersebut menyebabkan mutasi titik (Soeranto, 2003). Senyawa lainnya seperti kolkisin, orizalin dan kafein menyebabkan mutasi kromosom yaitu bertambahnya set.

Dibandingkan dengan mutagen lain, EMS merupakan senyawa kimia yang paling banyak digunakan sebagai mutagen kimia dan terbukti efektif dapat menyebabkan mutasi titik pada berbagai tanaman selain murah dan mudah diperoleh jika dibandingkan dengan senyawa kimia lainnya. *Ethyl methanesulfonate* merupakan senyawa kimia yang dapat menyebabkan mutasi pada tingkat DNA dengan mengubah basa-basa DNA. EMS memiliki rumus kimia $C_3H_8SO_3$. Sambrook dan Russel (2001) menambahkan bahwa mutagen kimia EMS merupakan salah satu zat kimia yang termasuk dalam golongan agen alkilasi yang dapat menyebabkan mutasi titik. EMS akan

mengikatkan gugus etilnya pada DNA guanin (G) pada posisi 7-N dan 6-O yang akan membentuk gugus O6-etilguanin. Terjadinya etilasi ini menyebabkan kesalahan pemasangan basa ketika replikasi, sehingga menyebabkan mutasi acak pada rantai DNA.

Penggunaan EMS untuk menginduksi mutasi pada tanaman budidaya sudah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya diantaranya pada tanaman barley (Sharamo et al, 2021), cabe (Arisha et al, 2015), *marigold* (Lenawaty et.al, 2022), *tepari bean* (Thangwana et al, 2021) dan soybean (Sagel, et.al 2019). Hasil penelitian mereka menunjukkan bahwa variabilitas genetik yang disebabkan oleh mutagenesis menggunakan EMS memberikan lebih banyak peluang untuk membawa keragaman dalam susunan genetik untuk perbaikan sifat-sifat yang diinginkan pada tanaman budidaya.

Girija & Dhanavel (2013) menambahkan bahwa mutagen kimia EMS telah terbukti lebih efektif dan efisien daripada mutasi fisika iradiasi sinar gamma pada tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp). Hossain et. al (2021) mendapatkan tinggi tanaman padi meningkat pada konsentrasi EMS yang rendah (1 and 2%) dengan lama perendaman 6 sampai 12 jam dibanding tanaman control. Peningkatan konsentrasi menyebabkan menurunkan tinggi tanaman dibanding control dan tanaman yang diberi perlakuan pada konsentrasi rendah. Lukmaningtyas (2014) memperoleh mutan kedelai dengan jumlah polong, bobot polong, jumlah biji, bobot biji dan bobot 100 biji yang meningkat pada konsentrasi 20 mM EMS dengan

lama perendaman 10 jam. Savitri & Fauziah (2019) menyatakan bahwa pemberian mutagen EMS 1% dengan lama perendaman 8 jam pada kedelai menghasilkan perubahan besar pada sequence gen GmDREB2 dan perubahan pada asam amino. Hasil penelitian Fikriah (2016) menunjukkan terdapat pengaruh lama perendaman dan konsentrasi EMS terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kedelai varietas Grobogan. Kombinasi terbaik terdapat pada konsentrasi 0,03% dengan lama perendaman 4 jam.

2.3. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Varietas Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3

Dalam merakit varietas unggul baru maka hal yang sangat penting adalah menginduksi keragaman genetik. Pemuliaan tanaman dengan metode mutasi diyakini sangat ampuh untuk memperoleh keragaman genetik dalam waktu yang singkat dan cara yang cepat untuk menghasilkan variasi untuk mengembangkan varietas baru. Van Harten (1998) menyatakan bahwa pemuliaan mutasi dapat meningkatkan sifat yang diinginkan yang tidak terdapat pada plasma nutfah dari spesies dan juga dapat menimbulkan keragaman pada varietas yang sudah ada.

Induksi mutasi varietas Gepak Kuning sudah pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya dengan menggunakan iradiasi sinar gamma. Hasil penelitian menunjukkan varietas Gepak Kuning mempunyai radiosensitivitas paling rendah atau paling tidak peka

terhadap iradiasi sinar gamma dibandingkan dengan varietas lainnya (Indriani et al, 2012). Pemuliaan mutasi dengan menggunakan EMS pada varietas Gepak Kuning belum pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan mutagen ini agar diperoleh keragaman genetik baru pada varietas Gepak Kuning.

Galur M.1.1.3 adalah galur kedelai yang dihasilkan dari pemuliaan mutasi dengan iradiasi sinar gamma kedelai Kipas Putih. Galur ini memiliki umur panen yang lebih genjah dan daya hasil yang lebih tinggi dari tetuanya Kipas Putih. Namun sayangnya, kekurangan dari galur ini adalah memiliki ukuran biji yang kecil (10 g/100 biji).

Oleh karena itu, dilakukan induksi keragaman untuk memperbaiki sifat genetik kedua genotype kedelai tersebut. Kebaruan dan keunikan dari penelitian ini adalah akan diperoleh informasi tentang LD50 kedelai Gepak Kuning yang berguna bagi penelitian yang berbasis mutagen kimia pada kedelai serta didapatkan perubahan karakter morfologi dan agronomi pada kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 pada generasi M₁ dan M₂. Mutan generasi M₂ ini dapat dikembangkan dan dipergunakan sebagai sumber keragaman genetik baru/material dalam pemuliaan tanaman lebih lanjut untuk mendapatkan varietas kedelai baru yang lebih baik dari sebelumnya.

BAB 3

TEKNIK MUTASI DENGAN IRADIASI GAMMA PADA KEDELAI

3.1. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Kipas Putih dengan Iradiasi Gamma pada Generasi M₁

3.1.1 Tempat Iradiasi benih

Perlakuan radiasi benih dilaksanakan di bagian Pair Badan Tenaga Atom Nasional (Batan) Pasar Jumat, Jakarta. Penanaman generasi M₁ lapangan dilaksanakan di desa Reuleut Timu Kecamatan Muara Batu Aceh Utara dengan ketinggian tempat 8 m dpl.

Dosis iradiasi yang digunakan adalah empat taraf dosis irradiasi yaitu 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy dan 300 Gy. Benih kedelai Kipas Putih diradiasi dengan empat taraf dosis (0 Gy, 100 Gy, 200 Gy dan 300 Gy) sehingga membentuk 4 populasi. Pada setiap perlakuan diiradiasi 200 benih kemudian segera di tanam pada generasi M₁.

Persiapan Lahan

Areal pertanaman yang akan digunakan dibersihkan dari gulma yang tumbuh di areal tersebut. Kemudian dibuat 4 petak percobaan dengan ukuran masing-masing 2.20 m x 1.80 m. Dibuat parit drainase dengan jarak antar petak 50 cm.

Pengolahan tanah dilakukan secara manual dan dilakukan 2 minggu sebelum penanaman.

Penanaman Benih

Benih kedelai yang sudah diiradiasi segera ditanam di lapangan. Sebanyak 200 benih (M_1) pada masing-masing perlakuan dosis ditanam dengan jarak tanam $40 \times 20 \text{ cm}^2$ dan satu biji per lubang tanam.

Pemupukan

Pemupukan tanaman dilakukan sesuai dengan dosis anjuran kebutuhan pupuk kedelai yaitu 50 kg Urea/ha, 200 kg SP-36 /ha dan 100 kg KCl/ha. Pemberian pupuk dilakukan sehari sebelum penanaman.

Pemeliharaan Tanaman

Penyiraman dilakukan sesuai dengan kondisi di lapangan. Penyiraman dilakukan pada pagi atau sore hari. Apabila terjadi hujan maka tanaman tidak disiram. Penyiangan\gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang ada di plot, untuk menghindari persaingan dalam mendapatkan unsur hara dari dalam tanah. Penyiangan dilakukan sesuai dengan kondisi lapangan. Agar tanaman tidak mudah rebah dan berdiri tegak serta kokoh, pembumbunan dilakukan dengan cara membuat gundukan tanah disekeliling tanaman. Pembumbunan dilakukan pada saat tanaman berumur 2 MST.

Panen

Pemanenan dilakukan dengan cara mencabut batang tanaman tersebut dengan tangan. Adapun kriteria panennya adalah sebagian besar daun telah menguning dan gugur, kulit polong sudah berwarna kuning kecoklatan.

Pengamatan

Karakter-karakter yang diamati pada M₁ meliputi:

1. Tinggi tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dari pangkal batang sampai titik tumbuh dengan menggunakan meteran. Pengamatan tinggi tanaman dilakukan pada saat panen.

2. Umur berbunga (HST)

Umur berbunga dihitung saat bunga pertama sudah muncul dalam satu tanaman pada setiap plot percobaan.

3. Jumlah polong bernas per tanaman (polong)

Jumlah polong per tanaman dapat diketahui dengan menghitung semua polong berisi yang terbentuk pada setiap tanaman. Perhitungan dilakukan pada saat panen.

4. Jumlah biji pertanaman (biji)

Perhitungan dilakukan pada saat panen. Untuk mengetahui jumlah biji pada tiap tanaman dilakukan dengan membuka/mengupas tiap polong lalu dihitung semua biji yang ada pada polong tersebut.

5. Bobot biji kering per tanaman (g)

Pengamatan ini dilakukan setelah biji kedelai dikeringkan dengan kadar air 14%, pengeringan dilakukan dengan cara

menjemur biji dibawah sinar matahari selama 3 hari, kemudian biji per tanaman ditimbang.

6. Umur panen (HST)

Pengamatan umur panen dihitung ketika tanaman telah mencapai warna polong matang 95% yang ditandai dengan warna kecoklatan pada polong.

Analisis Data

Data dianalisis dengan menghitung rata-rata dari setiap karakter kuantitatif yang diamati. Uji t dilakukan untuk menguji perbedaan diantara perlakuan kontrol dengan perlakuan dosis iradiasi.

3.2. Keragaman Karakter Agronomi Generasi M₂ Hasil

Iradiasi Sinar Gamma

3.2.1 Pelaksanaan Pengujian

Pada generasi M₁, tiap tanaman pada masing-masing dosis perlakuan dipanen dan di ambil 10 polong per tanaman untuk di tanam sebagai generasi M₂. Benih-benih (M₂) pada masing-masing perlakuan dosis ditanam dengan jarak tanam 40 x 20 cm² dan satu biji per lubang tanam. Pengolahan tanah sampai siap tanam dilakukan dua minggu sebelum tanam. Tanaman diberi pupuk dasar dengan dosis 50 kg/ha Urea, 200 kg/ha SP₃₆ dan 100 kg/ha KCl. Pemeliharaan tanaman dilakukan secara manual dan kimiawi sesuai dengan kondisi tanaman di lapangan.

Pengamatan diamati meliputi beberapa peubah yaitu :
 (1). Tinggi tanaman; (2). Jumlah cabang primer produktif per tanaman; (3). Jumlah polong bernas per tanaman; (4). Jumlah polong hampa per tanaman; (5). Bobot biji per tanaman (6). Bobot 100 biji (7) Umur berbunga dan (8) Umur panen.

Analisis Data

Analisis data dimulai dengan menghitung rata-rata setiap karakter yang diamati lalu nilai rata-rata masing-masing populasi diuji dengan menggunakan uji t. Analisis data juga dilakukan untuk penghitungan ragam fenotip dan lingkungan dan serta pendugaan ragam genotip, heritabilitas, dan nilai koefisien keragaman genetik untuk masing-masing populasi sesuai dengan dosis iradiasi.

Keragaman genetik pada generasi kedua dihitung dengan rumus :

$$\sigma^2 = \frac{(\sum x^2) - [(\sum x)^2 / n]}{n - 1}$$

$$\sigma^2 M_2 = \sigma^2 p$$

$$\sigma^2 p = \sigma^2 g + \sigma^2 e$$

$$\sigma^2 g = \sigma^2 p - \sigma^2 e = \sigma^2 M_2 - \sigma^2 M_0$$

σ^2 = ragam

n = jumlah populasi

$\sigma^2 p$ = ragam fenotipik

$\sigma^2 g$ = ragam genotipik

$\sigma^2 e$ = ragam lingkungan

σ^2M_2 = ragam populasi M_2

σ^2M_0 = ragam populasi M_0

Nilai heritabilitas dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2} \times 100\%$$

$$\sigma^2p = \sigma^2g + \sigma^2e$$

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

dimana :

h^2 = heritabilitas

σ^2g = ragam genotipe

σ^2p = ragam fenotipe

σ^2e = ragam lingkungan

Kriteria heritabilitas :

$h^2 > 0,5$ = nilai heritabilitas tinggi

$h^2 = 0,2$ sampai $0,5$ = nilai heritabilitas sedang

$h^2 < 0,2$ = nilai heritabilitas rendah

3.3. Seleksi Genotipe Generasi M_3 untuk Karakter Agronomi dan Berdaya Hasil Tinggi

Pada generasi M_2 , tiap tanaman pada masing-masing dosis perlakuan dipanen 3 polong per tanaman dan seluruh bijinya ditanam sebagai generasi M_3 . Benih M_3 pada masing-masing perlakuan dosis ditanam dengan jarak tanam 40 cm x 20 cm. Semua teknis budidaya seperti pemupukan, penyiraman,

penyiangan dan pengendalian hama penyakit dilakukan selama periode pertumbuhan tanaman. Seleksi tanaman terpilih dilakukan berdasarkan penampilan morfologi, umur panen yang genjah dan berdaya hasil tinggi.

Pengamatan dilakukan terhadap karakter tinggi tanaman, jumlah cabang pertanaman, jumlah polong pertanaman, bobot biji/tanaman, umur berbunga dan umur panen. Analisis data dilakukan dengan menghitung rata-rata setiap karakter yang diamati, lalu nilai rata-rata masing-masing populasi diuji dengan menggunakan uji t. Analisis data dilanjutkan dengan penghitungan ragam fenotipe dan lingkungan serta pendugaan ragam genotipe, heritabilitas dan nilai koefisien keragaman genetik dari mutan potensial yang terpilih untuk masing-masing populasi sesuai dengan dosis iradiasi.

3.4. Seleksi Genotipe Generasi M₄ untuk Karakter

Agronomi, Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi

Benih yang ditanam pada generasi M₄ adalah hasil seleksi dari generasi M₃. Penelitian ini menggunakan rancangan *augmented*, dimana perlakuan kontrol ditanam di dalam petakan bersama dengan benih mutan hasil seleksi. Benih hasil seleksi yang berasal dari satu tanaman terpilih M₃ ditanam per baris. Tanaman kontrol yang ditanam adalah Kipas Putih, Kipas Merah, dan Anjasmoro yang diulang sebanyak 3 kali. Pada populasi M₄ dilakukan seleksi berdasarkan penampilan morfologi, tanaman yang berumur yang genjah dan bobot biji per tanaman yang tinggi sehingga diperoleh sejumlah galur M₄ hasil seleksi.

Pengamatan dilakukan terhadap karakter tinggi tanaman, jumlah cabang pertanaman, jumlah polong pertanaman, jumlah biji pertanaman, bobot biji/tanaman, umur berbunga dan umur panen. Analisis data dilakukan dengan analisis ragam fenotipe dan lingkungan serta pendugaan ragam genotipe, heritabilitas dan nilai koefisien keragaman genetik.

3.5. Seleksi Pedigri Generasi M₅ untuk Karakter Agronomi, Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi

Benih yang ditanam pada generasi M₅ adalah hasil seleksi dari generasi M₄. Penelitian ini menggunakan rancangan *augmented*, dimana perlakuan kontrol ditanam di dalam petakan bersama dengan benih mutan hasil seleksi. Benih hasil seleksi yang berasal dari satu tanaman terpilih M₄ ditanam per baris. Tanaman kontrol yang ditanam adalah Kipas Putih, Kipas Merah dan anjasmoro yang diulang sebanyak 4 kali. Pada populasi M₅ dilakukan seleksi berdasarkan penampilan morfologi, tanaman yang berumur yang genjah dan bobot biji per tanaman yang tinggi sehingga diperoleh sejumlah galur M₅ hasil seleksi.

Pengamatan dilakukan terhadap karakter tinggi tanaman, jumlah cabang pertanaman, jumlah polong pertanaman, jumlah biji pertanaman, bobot biji/tanaman, bobot 100 biji, umur berbunga dan umur panen. Analisis data dilakukan dengan analisis ragam fenotipe dan lingkungan serta pendugaan ragam genotipe, heritabilitas dan nilai koefisien keragaman genetik.

3.6. Keragaman Agronomi dan Molekuler Galur-Galur Mutan Putatif Kedelai Generasi M₆ Hasil Iradiasi Sinar Gamma

3.6.1. Keragaman Agronomi Mutan-mutan putatif kedelai generasi M₆ hasil iradiasi sinar Gamma

Penanaman di lapangan dilaksanakan di Desa Paloh Lada, Kecamatan Dewantara, Kabupaten Aceh Utara dengan ketinggian 11 m dpl. Bahan tanaman yang digunakan adalah 8 genotipe kedelai yaitu varietas Kipas Putih (tetua), varietas Anjasmoro (pembanding), Galur M.1.1.3, Galur M.5.2.1, Galur M.5.2.3, Galur M.1.1.8, Galur M.1.1.9 dan Galur M.1.1.17. Sarana produksi pertanian yang digunakan yaitu pupuk Urea 50 kg/ha, SP-36 150 kg/ha, KCl 100 kg/ha, pupuk kandang 3 ton/ha, Decis 25 EC dan Dithane-M45.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) non faktorial. Genotipe yang diuji ada 8 yaitu Varietas Kipas Putih, Varietas Anjasmoro, Galur M.1.1.3, Galur M.5.2.1, Galur M.5.2.3, Galur M.1.1.8, Galur M.1.1.9 dan Galur M.1.1.17.

Menurut Steel and Torrie (1993) model rancangan yang sesuai adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

$$(i = 1, 2, 3 \text{ dan } j = 1, 2, 3, 4)$$

Keterangan :

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada blok ke i dan genotipe ke j

μ = rata-rata umum.

α_i = pengaruh blok ke- i .

β_j = pengaruh genotipe ke-j

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada blok ke-i dan genotype ke-j.

3.1.1. Pelaksanaan Pengujian

Persiapan Lahan

Areal pertanaman yang akan digunakan dibersihkan dari gulma yang tumbuh di areal tersebut. Kemudian dibuat plot percobaan dengan ukuran 2 m x 1.5 m. Dibuat parit drainase dengan jarak antar plot dan antar ulangan 50 cm.

Penanaman Benih

Penanaman benih dilakukan dengan membuat lubang tanam di plot dengan kedalaman 2 cm dan jarak tanam 40 cm x 20 cm, kemudian dimasukkan 2 benih per lubang tanam.

Pemupukan

Pemupukan dilakukan sesuai dengan dosis anjuran kebutuhan pupuk kedelai yaitu 50 kg Urea/ha, 200 kg SP-36 /ha dan 100 kg KCl/ha dan pupuk kandang. Pemberian pupuk SP-36 dan KCl dan pupuk kandang dilakukan 2 minggu sebelum tanam sedangkan pupuk Urea dilakukan pada saat penanaman.

Pemeliharaan Tanaman

Penyiraman dilakukan sesuai dengan kondisi di lapangan. Penyiraman dilakukan pada pagi atau sore hari. Apabila terjadi hujan maka tanaman tidak disiram. Penyiangan gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang ada di plot untuk menghindari persaingan dalam mendapatkan unsur hara dari dalam tanah. Penyiangan dilakukan sesuai

dengan kondisi lapangan. Agar tanaman tidak mudah rebah dan berdiri tegak serta kokoh maka dilakukan pembumbunan. Pembumbunan dilakukan dengan cara membuat gundukan tanah disekeliling tanaman pada saat tanaman berumur 2 MST.

Panen

Pemanenan dilakukan dengan cara mencabut batang tanaman tersebut dengan tangan. Adapun kriteria panennya adalah sebagian besar daun telah menguning dan gugur, kulit polong sudah berwarna kuning kecoklatan sebanyak 95% dari populasi percobaan. Seleksi dilakukan dengan intensitas seleksi 10% dan seleksi tanaman terpilih dilakukan berdasarkan penampilan morfologi, umur panen yang genjah dan berdaya hasil tinggi.

Pengamatan

Karakter tanaman yang diamati pada penelitian ini meliputi:

1. Tinggi tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman dengan menggunakan meteran. Pengamatan tinggi tanaman dilakukan pada menjelang panen.

2. Jumlah cabang primer produktif (cabang)

Pengamatan jumlah cabang dilakukan pada saat menjelang panen. Cabang yang diamati adalah cabang produktif yang menghasilkan polong pada setiap tanaman.

3. Umur berbunga (HST)

Umur berbunga dihitung saat bunga pertama sudah muncul dalam satu tanaman pada setiap populasi percobaan.

4. Jumlah polong bernas per tanaman (polong)

Jumlah polong per tanaman dapat diketahui dengan menghitung semua polong berisi yang terbentuk pada setiap tanaman. Perhitungan dilakukan pada saat panen.

5. Jumlah biji pertanaman (biji)

Perhitungan dilakukan pada saat panen. Untuk mengetahui jumlah biji pada tiap tanaman dilakukan dengan membuka/mengupas tiap polong lalu dihitung semua biji yang ada pada polong tersebut.

6. Bobot biji kering per tanaman (g)

Pengamatan ini dilakukan setelah biji kedelai dikeringkan dengan kadar air 14%, pengeringan dilakukan dengan cara menjemur biji dibawah sinar matahari selama 2 hari, kemudian biji per tanaman ditimbang.

7. Bobot 100 biji per tanaman (g)

Pengamatan ini dilakukan setelah biji kedelai dikeringkan dengan kadar air 14%, pengeringan dilakukan dengan cara penjemuran biji dibawah sinar matahari selama 3 hari kemudian dihitung bobot 100 biji dari setiap tanaman dan kemudian ditimbang dengan timbangan analitik.

8. Umur panen (HST)

Pengamatan umur panen dihitung ketika tanaman telah mencapai warna polong matang 95% yang ditandai dengan warna kecoklatan pada polong.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan analisis sidik ragam. Apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Analisis data dilanjutkan dengan penghitungan ragam fenotipe dan lingkungan serta pendugaan ragam genotipe, heritabilitas dan nilai koefisien keragaman genetik varietas yang di uji pada lokasi penelitian lapangan.

Keragaman genetik dihitung setelah terlebih dahulu menghitung varians fenotipe (σ^2P) dan varians genotipe (σ^2G). Untuk menghitung varians fenotipe (σ^2P) dan varians genotipe (σ^2G) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Model Sidik Ragam dan Nilai Kuadrat Tengah

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	JK	KT	Estimasi (Kuadrat Tengah)
Blok	(b-1)	JKB	KT _B	$\sigma^2e + g \sigma^2r$
Genotipe	(g-1)	JKP	KT	$\sigma^2e + r \sigma^2g$
Error	(b-1) (g-1)	JKE	KTE	σ^2e
Total	gb-1	JKT		

Dari hasil analisis varians genotipe dan varians antar genotype didapat Koefisien Varians Genotipe (KVG) dan Koefisien Varians Fenotipe (KVP) dengan menggunakan rumus:

$$KVG = \sqrt{\frac{\sigma^2g}{\bar{X}}} \times 100\% \qquad \sigma^2g = \frac{KTG-KTE}{r}$$

$$KVP = \sqrt{\frac{\sigma^2p}{\bar{X}}} \times 100\% \qquad \sigma^2e = KTE$$

$$\sigma^2_p = \sigma^2_g + \sigma^2_e \quad \text{Dimana } \bar{X} = \text{rata-rata populasi}$$

Murdaningsih *et. al.*, (1990) mengatakan bahwa Koefisien Varians Genotipe (KVG) yang telah diperoleh dari keseluruhan sifat agronomi dan hasil dapat diklasifikasikan rendah, sedang, tinggi dan sangat tinggi.

Kriteria rendah	< 25%	dari KVG yang terbesar
Kriteria sedang	≥ 25%– ≤ 50%	dari KVG yang terbesar
Kriteria tinggi	≥ 50%– ≤ 75%	dari KVG yang terbesar
Kriteria sangat tinggi	≥ 75%	dari KVG yang terbesar

Untuk menentukan luas sempitnya variasi genetik suatu karakter yang mempunyai koefisien variasi genetik relatif yang rendah dan sedang digolongkan sebagai karakter yang bervariabilitas sempit, sedangkan koefisien variasi genetik tinggi dan sangat tinggi digolongkan sebagai karakter yang bervariabilitas sedang.

Nilai heritabilitas dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2} \times 100\%$$

$$\sigma^2_P = \sigma^2_g + \sigma^2_e$$

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma^2_e}$$

Dimana :

h^2 = heritabilitas

σ^2_g = ragam genotipe

σ^2p = ragam fenotipe

σ^2e = ragam lingkungan

3.6.2. Analisis keragaman molekuler galur mutan putative kedelai generasi M₆ dengan penanda RAPD

Analisis keragaman molekuler dengan penanda RAPD dilaksanakan di Laboratorium Pengujian Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu), Solok, Sumatera Barat dari bulan Oktober sampai November 2021

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun muda tanaman umur 2 minggu setelah tanam kedelai galur mutan putative (Galur M.1.1.3, Galur M.5.2.1, Galur M.5.2.3, Galur M.1.1.8, Galur M.1.1.9 dan Galur M.1.1.17), Varietas Kipas Putih dan Varietas Anjasmoro. Primer yang digunakan adalah RAPD 2, RAPD 3, RAPD 4 dan RAPD 5.

Analisis Molekuler dengan Penanda RAPD

A. Ekstraksi DNA daun dengan menggunakan buffer ekstraksi berbahan dasar CTAB

1. Sebanyak 100-120 mg daun digerus sampai halus dalam nitrogen cair*.
2. Contoh yang telah halus kemudian dimasukkan ke tube 1,5 mL baru yang berisi 1 mL buffer ekstraksi yang dipanaskan dalam water bath 65 °C.

3. Tube berisi contoh kemudian diinkubasi di dalam water bath pada suhu 65 °C.
4. Ditambahkan 500 µl chloroform; isoamyl-alcohol (24:1) ke dalam tabung dan dikocok menggunakan vortex sampai larut. Kemudian tube berisi contoh disentrifus pada 12,000 rpm selama 10 menit.
5. Cairan bagian atas kemudian dipindah ke dalam tabung baru dan ditambah CIA (24:1) sebanyak 600-800 µl, kemudian disentrifus pada 12,000 rpm selama 10 menit. Langkah ini diulang sampai lapisan antara dua fase cair tidak nampak (5-7x).
6. Supernatan yang sudah bersih kemudian dipindahkan ke tabung baru dan ditambahkan 500 µl iso-propanol dingin, kemudian dilarutkan dengan cara membolak-balik tube secara perlahan.
7. Tabung berisi larutan kemudian disimpan pada suhu -20 °C minimal 30 menit, kemudian disentrifus pada kecepatan 12,000 rpm selama 10 menit.
8. Kemudian cairan dibuang dengan cara menumpahkan dengan hati-hati dan meletakkan tabung secara terbalik di atas kertas tisu untuk mengeringkan pellet DNA.
9. Ditambahkan dan dilarutkan secara berturut-turut 200 µl bufer TE, 20 µl 3 M sodium acetate pH 5.2, dan 500 µl ethanol absolut ke tabung berisi pellet DNA. Campuran dilarutkan dengan cara dithawing

(disentil-sentil), selanjutnya disimpan pada suhu -20 °C selama 30 menit.

10. Sentrifus tube berisi larutan pada kecepatan 12,000 rpm selama 10 menit. Bagian cairan kemudian dibuang dan pellet DNA di bagian bawah tabung dikeringkan dengan cara di vacuum selama 10 menit atau dibiarkan di udara terbuka sampai cukup kering.
11. Setelah pellet kering, tambahkan 70 % ethanol sebanyak 500 µl untuk mencuci DNA dan dinding tabung. Pellet DNA dikeringkan lagi dengan cara seperti langkah 11.
12. Ditambahkan 100 µl buffer TE ke dalam tabung untuk melarutkan pellet DNA, dan siap untuk diuji kualitas dan kuantitasnya.

Catatan:

* *Apabila tidak menggunakan nitrogen cair, daun dapat digerus sampai halus bersama 1-1,5 ml bufer ekstraksi.*

B. Kuantifikasi DNA menggunakan elektroforesis

DNA dikuantifikasi menggunakan elektroforesis pada agarose gel 0.8%.

Prosesnya sebagai berikut:

- a. Sebanyak 2 µl stok DNA dicampur dengan 8 µl air suling dan 2 µl loading bufer.

- b. Contoh dicampurkan, kemudian dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel di dalam elektroforesis chamber yang telah diisi buffer TBE 0,5x.
- c. Sebagai pembanding, digunakan λ DNA ladder dan diletakkan pada sumur pertama dan/atau terakhir.
- d. Hubungkan aliran listrik dari power supply dengan tegangan 70V selama 30 menit, atau sampai DNA migrasi/bergerak lebih kurang 4-5 cm.

C. Pewarnaan dan visualisasi hasil

- a. Setelah proses elektroforesis, gel direndam dalam larutan Ethidium bromida (40 μ l 1% et.br/1 liter air) selama 10 menit.
- b. Direndam dalam air suling selama 20 menit.
- c. Setelah itu gel diletakkan di atas u.v. transiluminator dan siap untuk diambil gambarnya.
- d. Kualitas DNA ditunjukkan dengan tingkat kejelasan/kebersihan gambar pita DNA.
- e. Kuantitas DNA ditentukan dengan membuat perbandingan antara ketebalan pita DNA contoh dengan pita standard λ DNA ladder.

Prosedur RAPD-PCR

- A. Amplifikasi DNA genom
 - a. Pembuatan master larutan (master mix) sebanyak 25 μ l terdiri atas :
 - 9 μ l, air suling
 - 2.5 μ l, 10 pM primer

- 1.0 μ l, 50 ng genomic DNA
 - 12.5 μ l Green Go Tag Master Mix
- b. Masing-masing tube PCR berisi contoh (master mix) diletakkan di dalam mesin PCR dan proses amplifikasi di program sbb:
- Jumlah total siklus 45
 - Pemanasan pendahuluan pada 94 °C selama 2 menit.
 - Pemanasan untuk denaturasi pada 94 °C selama 1 menit
 - Proses annealing pada suhu 36 °C selama 1 menit
 - Proses pemanjangan pada suhu 72 °C selama 2 menit
 - Pada siklus terakhir ditambah waktu pemanjangan pada suhu 72 °C selama 10 menit.

B. Electrophoresis

Setelah proses PCR selesai, kemudian lakukan electrophoresis untuk melihat hasil amplifikasi DNA genom, sebagai berikut:

- a. Campuran contoh dibuat masing-masing sebanyak 7 μ l, terdiri atas;
- 5 μ l amplikon, dan
 - 2 μ l bufer loading gel.

- b. Dimasukkan campuran contoh ke dalam sumur-sumur gel 2% di dalam alat electrophoresis yang diisi dengan 0,5x buffer TBE,
 - c. Isikan satu sumur dengan 1Kb DNA marker sebagai skala.
 - d. Electrophoresis dijalankan dengan daya 50 volts selama 30 menit.
- C. Staining/pewarnaan pita DNA dan visualisasi hasil
- a. Setelah proses elektroforesis, gel direndam dalam larutan Ethidium bromida (40 µl 1% et.br/1 liter air) selama 10 menit.
 - b. Kemudian direndam dalam air suling selama 20 menit.
 - c. Setelah itu gel diekspose di atas gel doc dan siap untuk diambil gambarnya dan siap untuk diskor.

Interpretasi Hasil

Data genotipik yang diperoleh dari pemotretan gel hasil RAPD adalah berupa pola pita DNA dengan ukuran tertentu. Ukuran potongan DNA genom dilakukan dengan membandingkan dengan berat molekul standar 1 kb DNA ladder. Perbedaan antar tanaman ditunjukkan oleh jumlah pita dan jarak migrasinya. Apabila tidak terdapat perbedaan antara pola pita DNA tanaman berarti tidak terdapat variasi genetik dan apabila sebaliknya berarti terdapat variasi genetik. Penilaian (skoring) dilakukan terhadap pita-pita yang jelas dan tajam secara konsisten. Pita-pita yang dimiliki pita yang terlihat tegas diberi skor 1 (present) dan jika tidak diberi skor 0 (absent).

Analisis kluster dilakukan dengan program Ntsys-pc (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis*) versi 2.1 (Rohlf, 2000). Analisis ini menggunakan metoda SAHN (*Sequential, Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering*). Matrik kesamaan/ketidak-samaan genotipik dihitung berdasarkan koefisien Jaccard dengan metoda UPGMA (Unweighted Pair Group Methode Arithmetic) fungsi Similarity Qualitatif (SIMQUAL) atau metode lainnya.

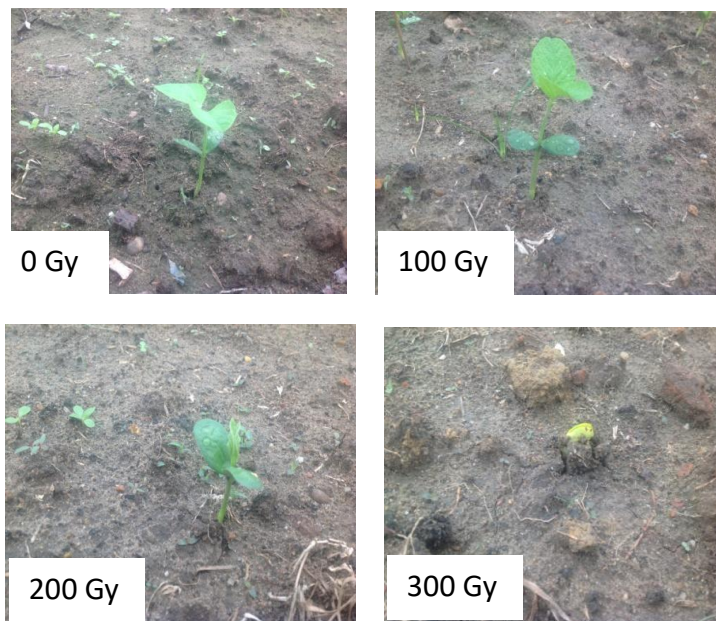
Pengelompokan memperlihatkan hubungan kesamaan antar setiap individu kedelai berupa dendogram kesamaan genetik. Jarak genetik adalah selisish nilai persentase kesamaan terhadap nilai 100%. Dari dendogram dapat disimpulkan seberapa jauh perubahan tanaman hasil radiasi jika dibandingkan dengan tanaman kontrol.

BAB 4

PENGARUH MUTAGEN IRADIASI GAMMA PADA KEDELAI

4.1. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Kipas Putih dengan Iradiasi Gamma pada Generasi Pertama (M_1)

Hasil pengamatan pada satu minggu setelah tanam (1 MST) menunjukkan bahwa pada tanaman kontrol (0 Gray) terlihat pertumbuhan daun kotiledon dan daun plumula telah membuka secara sempurna. Tanaman dengan dosis iradiasi 100 Gy menunjukkan perkembangan daun kotiledon yang sempurna, daun plumula sudah muncul namun belum terbuka secara sempurna. Populasi tanaman dosis iradiasi 200 Gy baru menunjukkan pertumbuhan daun kotiledon yang sudah membuka sempurna namun daun plumulanya belum muncul. Tanaman dengan dosis 300 Gy terlihat daun kotiledon banyak yang belum membuka secara sempurna dan daun plumulanya belum muncul.



Gambar 1. Perbandingan pertumbuhan kedelai kipas putih hasil iradiasi gamma umur 1 MST pada generasi M1

Hasil pengamatan pada generasi M₁ menunjukkan bahwa terjadi penurunan terhadap persentase perkecambahan dan persentase tanaman yang dapat bertahan hidup dengan semakin meningkatnya dosis iradiasi jika dibandingkan dengan kontrol. Pada dosis 300 Gy persentase perkecambahan sebesar 78% (156 tanaman yang berkecambah dari 200 benih yang ditanam) namun persentase tanaman yang dapat bertahan hidup hanya 15% (hanya 30 tanaman yang dapat bertahan hidup) (Tabel 2). Pada populasi 200 dan 300 Gy kebanyakan tanaman hanya mampu berkecambah sampai mengeluarkan daun kotiledon saja, tidak terjadi pertumbuhan pada tahap selanjutnya. Setelah berumur 1 bulan banyak tanaman yang mengalami kematian (Gambar 3).

Tabel 2. Persentase perkecambahan dan persentase tanaman yang bertahan hidup akibat iradiasi gamma

Dosis (Gray)	% Perkecambahan (1 MST)	% Bertahan hidup (4 MST)
0	85,5 (171 tanaman)	87,5 (175 tanaman)
100	60 (120 tanaman)	70 (140 tanaman)
200	67 (134 tanaman)	50 (100 tanaman)
300	78 (156 tanaman)	15 (30 tanaman)



Gambar 2. Pertumbuhan kedelai kipas putih 0 gray (kontrol) dibandingkan dengan dosis 300 Gy umur 4 MST

Hasil yang sama juga telah dilaporkan pada tanaman padi (Ramesh *et al.*, 2002), Cowpea (Gnanamurthy *et al.*, 2012) dan kedelai (Pavadai *et al.*, 2010). Hasil penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian Jagajantham *et al.*, (2012) yang melakukan penelitian terhadap pengaruh iradiasi gamma pada

tanaman Bhendi. Hasil penelitian mereka menunjukkan terjadinya penurunan terhadap persentase perkecambahan dan jumlah tanaman yang bertahan hidup pada tanaman yang diberi perlakuan iradiasi gamma dibanding dengan tanaman kontrol.

Perlakuan iradiasi sinar gamma secara nyata mengurangi tinggi tanaman (Tabel 3). Berdasarkan hasil uji t terhadap karakter tinggi tanaman pada saat panen menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tinggi tanaman yang sangat nyata antara tanaman kontrol (0 Gy) dengan 100 Gy, 0 Gy dengan 200 Gy dan 0 Gy dengan 300 Gy. Tanaman tertinggi pada saat panen terdapat pada tanaman kontrol yaitu 86,3 cm, yang diikuti oleh 100 Gy dan 200 Gy yang berturut-turut mempunyai tinggi tanaman 79,1 dan 51,7 cm. Tinggi tanaman yang terendah terdapat pada perlakuan dosis iradiasi 300 Gy dengan tinggi tanaman hanya 40,1 cm. Hasil penelitian Pepol dan Pepo (1989) juga menunjukkan bahwa secara umum perlakuan mutagen menyebabkan terjadinya pengurangan tinggi tanaman dibanding kontrol pada kedelai

Tabel 1. Pengaruh iradiasi gamma terhadap karakter agronomi varietas kipas putih hasil iradiasi gamma

No	Karakter	Dosis Iradiasi			
		0 Gy	100 Gy	200 Gy	300 Gy
1.	Tinggi Tanaman	86,3±1	79,1**±	51,7**±1	40,1**±1
		4,3	15,7	3,4	3,4
2.	Jumlah Polong Bernas	213,7±	174**	63,8**±7	20**±42,
		77,0	±69,2	5,1	5

3.	Jumlah Biji	364±29	266**±15	80,4**±9,5	19,9**±14
4.	Bobot Biji per Tanaman	41,5±1,1	30,4**±12,7	10**±11,7	2,70**±5,95
5.	Umur Berbunga	41,10±1,37	43,23**±2,25	54,42**±6,64	58,33**±5,80
6.	Umur Panen	89,52±1,51	97,05**±4,04	120,96**±8,06	131,22**±6,67

Keterangan : * = berbeda nyata dengan populasi kontrol (0 Gy) pada taraf 5% berdasarkan uji t;

** = berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol (0 Gy) pada taraf 1% berdasarkan uji t.

Hasil uji t terhadap rata-rata karakter hasil yaitu jumlah polong, jumlah biji dan bobot biji per tanaman juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antara kontrol dengan perlakuan berbagai dosis iradiasi. Jumlah polong Kipas Putih tanpa iradiasi (kontrol) memiliki jumlah polong per tanaman yang paling banyak yaitu 213 polong per tanaman, yang berbeda sangat nyata dengan 174 polong (100 Gy), 63,8 polong (200 Gy) dan 20 polong (300 Gy). Jumlah biji per tanaman yang paling banyak terdapat pada kontrol yaitu 364 biji per tanaman yang berbeda sangat nyata dengan semua perlakuan dosis iradiasi berturut-turut mempunyai jumlah biji 266, 80,4 dan 19,9 biji per tanaman. Demikian juga untuk karakter bobot biji per tanaman, dimana populasi tanaman kontrol mempunyai bobot biji per tanaman tertinggi yaitu 41,5

g/tanaman, sedangkan populasi tanaman dengan perlakuan dosis iradiasi berturut-turut mempunyai bobot biji 30,4 g, 10 g dan 2,7 g/tanaman.

Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Girija dan Danavel (2013) pada tanaman cowpea yang menyatakan bahwa semua karakter kuantitatif secara proporsional semakin menurun dengan meningkatnya dosis iradiasi sinar gamma pada tanaman cowpea. Penurunan jumlah polong, jumlah biji dan bobot biji per tanaman pada perlakuan iradiasi diduga karena terhambatnya aktivitas enzim, perubahan aktivitas enzim dan *toxicity* dari mutagen. Hal ini menyebabkan terganggunya proses fisiologi dan biokimia dalam perkembangan tanaman sebagaimana dilaporkan oleh Larik (1975) dalam Girija dan Danavel (2013).

Pada generasi M₁, semua karakter kuantitatif yang diamati mengalami penurunan tetapi umur berbunga dan umur panen menjadi bertambah pada tanaman yang diberi perlakuan mutagen dibanding dengan kontrol. Hasil uji t terhadap karakter umur berbunga dan umur panen menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata antara tanaman kontrol dengan perlakuan dosis iradiasi. Nilahayati *et al.* (2015) menyatakan bahwa perlakuan dosis iradiasi sinar gamma pada generasi M₁ menyebabkan terjadinya keterlambatan pembungaan dan umur panen menjadi lebih lama pada kedelai.

Tabel 2 memperlihatkan bahwa tanaman kontrol sudah mulai berbunga pada umur 40,1 HST sedangkan pada perlakuan

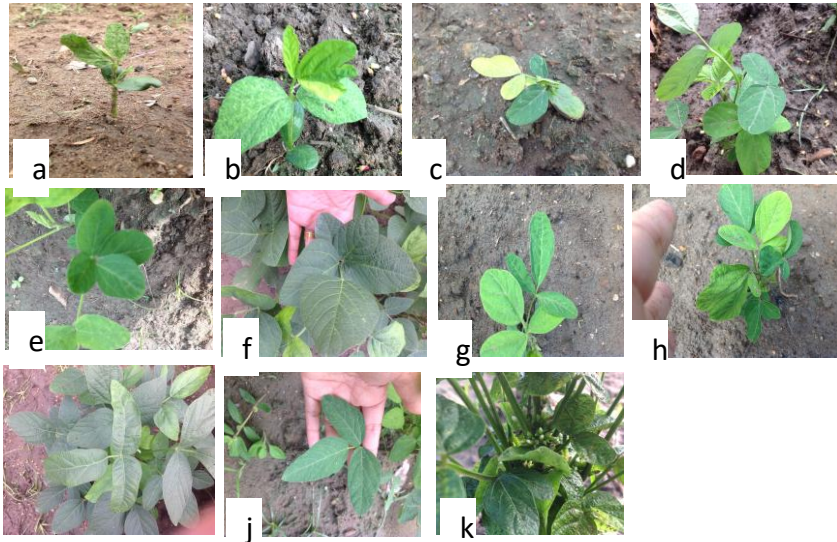
dosis iradiasi tanaman baru berbunga pada umur 43,23 HST (100 Gy), 54,42 HST (200 Gy) dan 58,33 HST (300 Gy). Keterlambatan pembungaan yang paling lama terdapat pada dosis yang paling tinggi yaitu 300 Gy dimana tanaman menjadi lebih lambat berbunga 18,23 hari dibanding dengan kontrol.

Umur panen pada tanaman dengan perlakuan iradiasi juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan tanaman kontrol. Umur panen semakin lama dengan semakin meningkatnya dosis iradiasi. Tanaman kontrol sudah dapat dipanen pada umur 89,52 HST, selanjutnya berturut-turut 97,05 HST (100 Gy), 120,96 (200 Gy) dan 131,22 (300 Gy). Keterlambatan umur panen yang paling lama terdapat pada dosis 300 Gy dimana tanaman menjadi lebih lambat 41,7 hari dibanding kontrol.

Hal ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Girija dan Danavel (2013) yang menyatakan bahwa sinar gamma memperlambat umur berbunga pada tanaman cowpea 1-4 hari pada dosis 40 kR. Umur berbunga paling cepat terdapat pada kontrol (34,78 hari) sedangkan paling lambat terdapat pada dosis iradiasi yang paling tinggi 40 kR (49,32 hari). Hasil yang sama juga telah ditemukan pada kedelai oleh Pavadai dan Dhanavel (2005).

Pada penanaman generasi pertama terdapat keragaman morfologi khususnya abnormalitas pada daun yang merupakan salah satu indikator efektifitas perlakuan mutagen. Pada seluruh perlakuan iradiasi terdapat variasi morfologi daun seperti

bifoliate, quadrifoliate, pentafoliate, daun keriting (*fused leaflets*). Selain itu juga terdapat daun kimera, tanaman dengan rasim bunga yang tidak berkembang (Gambar 3), tanaman yg berpolong satu dan tanaman steril (Gambar 4).



Gambar 3. Keragaman morfologi kedelai kipas putih akibat iradiasi gamma pada generasi M₁. a. Daun mengkerut, b & c mutan klorofil, e. Daun tetrafoliate f. Daun pentafoliate, g, h, i dan j. Bentuk daun abnormal, k. Rasim bunga tidak berkembang

Hanafiah *et.al.* (2010) menemukan beberapa perubahan morfologi pada generasi M₁ kedelai Argomulyo akibat iradiasi sinar gamma. Perubahan morfologi yang ditemukan diantaranya perubahan bentuk daun dari oval menjadi memanjang, terdapat daun *unifoliate* dan *bifoliate* pada satu tanaman, rasim bunga tidak berkembang, warna daun yang masih hijau walaupun polong sudah masak dan perubahan warna bunga.



Gambar 4. Tanaman berpolong satu (200 Gy); b&c. Tanaman steril (300 Gy)

Pada generasi M_1 ini tidak ditemukan adanya mutasi pada warna bunga akibat perlakuan iradiasi sinar gamma. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Hanafiah *et. al.* (2010) yang mendapatkan adanya individu tanaman kedelai Argomulyo hasil iradiasi sinar gamma yang memiliki perubahan warna bunga dari ungu menjadi putih pada generasi M_1 . Selanjutnya hasil penelitian Hanafiah *et. al.* (2017) pada tanaman rosella yang diradiasi dengan sinar gamma juga mendapatkan perubahan warna bunga pada beberapa individu tanaman pada populasi 150, 300, 450 dan 600 Gy. Warna bunga rosella yang normal berwarna merah muda dengan warna merah gelap di bagian dalam bunga. Terjadi perubahan warna mahkota bunga menjadi merah, putih dan putih kekuningan. Peningkatan dosis iradiasi dapat mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada mahkota bunga rosella. Perbedaan hasil ini diduga karena adanya perbedaan sensitifitas dari masing-masing kultvar dan spesies tanaman.

Menurut Ismachin (1988) efektifitas iradiasi yang diberikan pada tanaman dipengaruhi oleh kepekaan terhadap

iradiasi. Selain itu terjadinya mutasi sangat tergantung kepada terkena tidaknya gen yang mengendalikan fungsi tertentu yang dalam hal ini mengendalikan warna bunga. Yusuf (2001) menambahkan bahwa perubahan warna dapat terjadi karena mutasi gen telah menyebabkan terjadinya perubahan proses metabolisme produksi pigmen warna bunga tersebut.

Penanaman pada generasi pertama (M_1) dapat disimpulkan bahwa pemberian iradiasi sinar gamma terhadap varietas Kipas Putih mempengaruhi semua karakter agronomi yang diamati. Nilai rata-rata tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per tanaman dan bobot biji per tanaman semakin menurun dengan meningkatnya dosis iradiasi sinar gamma. Sebaliknya, karakter umur berbunga dan umur panen menjadi semakin meningkat dibanding dengan tanaman kontrol.

4.2. Keragaman Karakter Agronomi Generasi M_2 Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Perlakuan iradiasi sinar gamma pada generasi M_2 menghasilkan populasi dengan nilai rata-rata yang berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol pada karakter tinggi tanaman, jumlah cabang, jumlah polong bernas, jumlah polong hampa, bobot biji per tanaman dan umur berbunga namun pada karakter umur panen tidak berbeda nyata dengan populasi tanaman kontrol.

Perubahan nilai rata-rata pada karakter tinggi tanaman terdapat pada populasi hasil iradiasi 100 gray sedangkan pada dosis 200 Gy dan 300 Gy karakter tinggi tanaman tidak berbeda

nyata dengan kontrol. Tinggi tanaman pada dosis 100 Gy menjadi lebih rendah dibanding tinggi tanaman populasi kontrol dengan tinggi tanaman 83,2 cm sedangkan populasi kontrol memiliki tinggi tanaman 86,5 cm

Tabel 2. Nilai rata-rata karakter agronomi populasi M2 kedelai kipas putih hasil iradiasi gamma

No	Karakter	Dosis Iradiasi			
		P 0 Gy	P 100 Gy	P 200 Gy	P 300 Gy
1.	Tinggi Tanaman	86,5±1	83,2**±1	87,1±1	87,70±
		1,2	1,0	1,4	9,18
2.	Jumlah Cabang	5,14±1	5,49**±1	5,98**±	5,27±1,
		,38	,64	1,49	55
3.	Jumlah Polong Bernas	176,2±	190,1	284**±	261**±
		68,1	±78,6	107	88,7
4.	Bobot Biji per Tanaman	40,9±1	42,8±17,	65,2**±	56**±1
		3,2	7	25,6	9,0
5.	Umur Berbunga	40,29±	39,58**±	38,98**	39,37**
		2,06	2,09	±2,29	±1,30
6.	Umur Panen	90,23±	90,10±3,	90,34±	89,07±
		3,23	29	3,34	3,11

Keterangan : * = berbeda nyata dengan populasi kontrol (0 Gy) pada taraf 5% berdasarkan uji t;

** = berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol (0 Gy) pada taraf 1% berdasarkan uji t.

Hal ini sesuai dengan hasil Dhumal dan Bolbhat (2012) yang mendapatkan bahwa iradiasi sinar gamma secara efektif mengurangi tinggi tanaman Horsegram pada generasi M₂. Pengurangan tinggi maksimum terdapat pada cv. Dapoli Kulthi-1 pada dosis 100 Gy. Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan penelitian Mudibu *et. al.* (2012) yang menunjukkan bahwa karakter tinggi tanaman tidak berbeda nyata dibanding kontrol pada generasi M₂ kecuali pada varietas kedelai Kitoko pada dosis 200 Gy dan 400 Gy yang menunjukkan penurunan tinggi tanaman sampai 13–14% dibanding kontrol. Perbedaan hasil ini di duga karena perbedaan material genetik dan kondisi lingkungan.

Perubahan nilai rata-rata karakter jumlah cabang terdapat pada populasi iradiasi 100 Gy dan 200 Gy sedangkan dosis 300 Gy tidak berbeda nyata dengan populasi tanaman kontrol. Jumlah cabang populasi 100 Gy dan 200 Gy lebih banyak dibanding tanaman kontrol dengan jumlah cabang masing-masing 5,49 cabang dan 5,98 cabang sedangkan populasi tanaman kontrol hanya memiliki 5,14 cabang per tanaman.

Perubahan nilai rata-rata karakter jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman terdapat pada dosis 200 Gy dan 300 Gy sedangkan pada dosis 100 Gy tidak berbeda nyata. Jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman pada dosis 200 Gy dan 300 Gy menjadi lebih banyak dibanding tanaman kontrol yang masing-masing memiliki 284 polong per tanaman dengan bobot biji 65,2 gram dan 261 polong dengan bobot biji 56 g per

tanaman. Nilai rata-rata jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman lebih tinggi pada populasi iradiasi 200 Gy. Hal ini menunjukkan bahwa pada populasi tersebut terdapat sejumlah besar individu dengan jumlah polong dan bobot biji per tanaman yang tinggi.

Hal ini sejalan dengan hasil Mudibu *et. al.* (2012) yang juga mendapatkan bahwa sejumlah mutan menunjukkan peningkatan yang nyata terhadap jumlah polong dan jumlah biji per tanaman. Jumlah polong terbanyak terdapat pada varietas TGX814-49D yang di iradiasi dengan sinar gamma pada dosis 200 Gy dengan jumlah polong 464 polong pada M₂ dibandingkan dengan kontrol yang rata-rata jumlah polong hanya 67 polong per tanaman.

Perubahan nilai rata-rata karakter umur berbunga terdapat pada semua dosis iradiasi dibanding dengan tanaman kontrol. Umur berbunga menjadi lebih pendek dibanding tanaman kontrol berturut-turut adalah 39,58, 38,98 dan 39,37 HST sedangkan populasi tanaman kontrol memiliki umur berbunga 40,29 HST. Umur berbunga yang paling pendek yaitu 38,98 hari terdapat pada dosis 200 Gy.

Tabel 3. Keragaman genetik dan heritabilitas karakter agronomi generasi M₂ pada berbagai dosis iradiasi gamma

No	Karakter	Dosis Iradiasi			
		P 0 Gy	P 100 Gy	P 200 Gy	P 300 Gy
1.	Tinggi Tanaman	86,50	83,20	87,10	87,7

	σ^2p (ragam fenotipe)	126,19	120,49	130,95	84,28
	σ^2g (ragam genotipe)		5,99	4,46	42,20
	h^2 (heritabilitas)		0,04	0,03	0,50
	KKG (Koefisien keragaman genetik (%))		2,94	2,42	7,40
	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit
2.	Jumlah Cabang	5,14	5,49	5,98	5,26
	σ^2p	1,8	2,67	2,21	2,40
	σ^2g		0,87	0,41	0,60
	h^2		0,32	0,18	0,25
	KKG		17,05	15,65	17,78
	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit
3.	Jumlah polong bernas	176,11	190,12	283,67	261,40
	σ^2p	464338	6176,96	11490,78	87863,67
	σ^2g		1533,62	6846,93	3219,85
	h^2		0,24	0,59	0,40
	KKG		20,59	29,16	21,70
	Kriteria KKG		Sedang	Luas	Luas
4.	Bobot biji per tanaman	40,91	42,83	65,19	56,02
	σ^2p	174,94	314,48	654,85	366,26
	σ^2g		139,54	479,90	191,320
	h^2		0,44	0,73	0,52
	KKG		27,57	33,60	24,69
	Kriteria KKG		Luas	Luas	Luas
5.	Umur berbunga	40,28	39,58	38,98	39,36
	σ^2p	4,25	4,35	5,22	1,686
	σ^2g		0,09	0,96	2,57
	h^2		0,02	0,18	0,52
	KKG		0,77	2,52	4,07

	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit
6.	Umur panen	90,23	90,10	90,34	89,06
	σ^2p	10,4	10,52	11,16	9,65
	σ^2g		0,38	0,73	0,78
	h^2		0,03	0,06	0,08
	KKG		2,71	0,94	7,29
	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit

Tabel 5 menunjukkan nilai keragaman genetik (KKG) berkisar antara 0,07 – 33,60 dengan kriteria sempit sampai luas. Karakter yang memiliki nilai KKG yang sedang sampai luas adalah jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman pada semua dosis iradiasi. Karakter lainnya mempunyai nilai KKG yang sempit.

Nilai heritabilitas dalam arti luas berkisar antara 0,02 – 0,73 (heritabilitas rendah sampai tinggi). Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa terdapat 4 karakter pengamatan yang mempunyai nilai heritabilitas tinggi yaitu tinggi tanaman 300 Gy (0,50), jumlah polong bernas 200 Gy (0,59), bobot biji per tanaman 200 Gy (0,73), 300 Gy (0,52) dan umur berbunga 300 Gy (0,52). Karakter yang memiliki nilai heritabilitas sedang adalah jumlah cabang 100 Gy (0,32), 300 Gy (0,25), jumlah polong bernas 300 Gy (0,40) dan bobot biji per tanaman 100 Gy (0,44).

Nilai heritabilitas yang tinggi pada karakter tinggi tanaman, jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dan umur berbunga menunjukkan bahwa peranan genetik lebih besar pada penampilan fenotipnya dibandingkan dengan lingkungan. Seleksi untuk perbaikan terhadap karakter-karakter

tersebut dapat dilakukan pada generasi selanjutnya. Rahim *et.al.* (2010) mengatakan bahwa karakter tinggi tanaman walaupun nilai heritabilitasnya tinggi namun tidak berkorelasi positif dengan hasil sehingga tidak disarankan untuk dijadikan sebagai kriteria seleksi. Karakter polong hampa juga berkorelasi negatif dengan hasil. Jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dan umur berbunga memiliki nilai heritabilitas yang tinggi berturut-turut 0,59, 0,73 dan 0,52. Menurut Hakim (2008) seleksi untuk memperoleh genotipe kacang hijau berumur genjah relatif lebih mudah karena memiliki nilai duga heritabilitas yang tinggi.

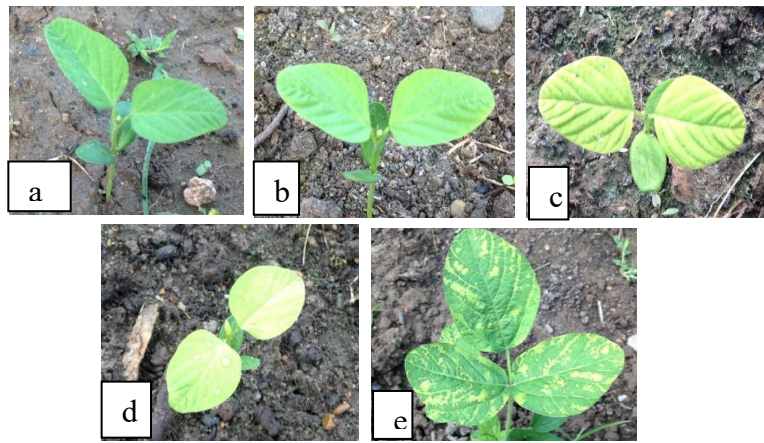
Khalil (2011) menambahkan respon seleksi untuk karakter umur berbunga berbeda untuk tiap lokasi, sehingga seleksi untuk karakter tersebut disarankan dilakukan pada lokasi yang memberikan nilai duga heritabilitas yang tinggi. Sementara untuk perbaikan hasil, karakter jumlah polong dan bobot biji per tanaman dapat dijadikan sebagai kriteria seleksi. Menurut Rao *et.al.* (2006), jumlah polong per tanaman memiliki nilai duga heritabilitas yang tinggi dan secara langsung berpengaruh terhadap hasil.

Surya dan Hoeman (2009) menyatakan bahwa keberhasilan program pemuliaan sangat tergantung pada keragaman genetik dari karakter yang diwariskan dan kemampuan memilah genotipe unggul dalam proses seleksi. Dalam setiap program pemuliaan tanaman, evaluasi dan seleksi merupakan kegiatan utama setelah diperoleh keragaman

genetik yang tinggi. Seleksi merupakan proses memisahkan individu tanaman yang memiliki karakter-karakter tertentu. Efektif dan tidaknya seleksi tanaman yang berdaya hasil tinggi dari sekelompok populasi tergantung dari seberapa jauh keragaman hasil yang disebabkan faktor genetik yang nantinya diwariskan kepada keturunannya dan seberapa jauh pula keragaman yang disebabkan oleh lingkungan tumbuh tanaman (Makmur 1992).

Pada generasi M₂ terdapat berbagai keragaman morfologi yang terdapat pada populasi hasil iradiasi sinar gamma. Tipe mutan yang paling banyak terdapat pada generasi ini adalah mutan tipe daun, mutan warna daun dan mutan steril.

Mutasi klorofil merupakan salah satu indikator dalam mengevaluasi pengaruh perlakuan mutagen. Berbagai tanaman yang diradiasi dengan sinar gamma telah banyak dilaporkan terjadi mutasi klorofil ini diantaranya pada tanaman Black gram (Bhosale and Hallale, 2011). Frekuensi mutasi klorofil pada generasi M₁ dan M₂ adalah indek yang paling tepat untuk mengevaluasi pengaruh genetik dari perlakuan mutasi. Mutasi klorofil menunjukkan indikasi yang paling sesuai untuk menilai pengaruh genetik dari perlakuan mutasi (Dhasaratan, 2014). Walaupun mutasi klorofil tidak mempunyai nilai berharga disebabkan karena letal secara alami namun untuk studi sangat berguna yang dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi dosis mutagen yang dapat meningkatkan variabilitas genetik (Kolar *et.al.*, 2011).



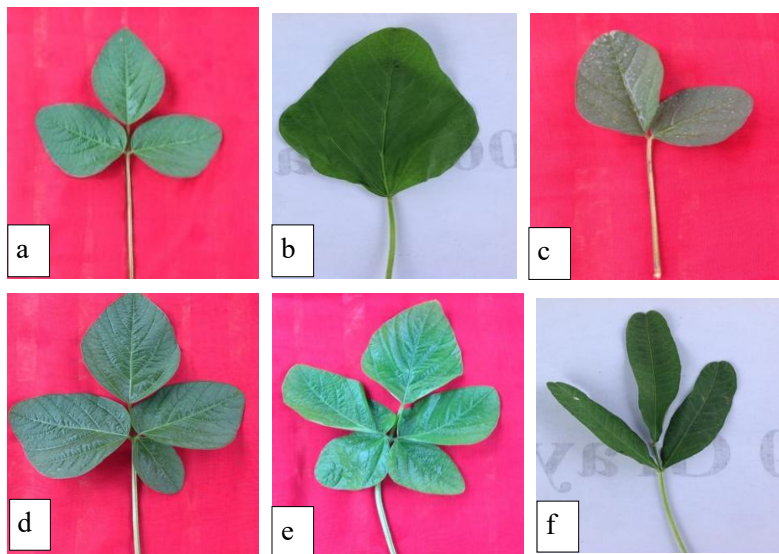
Gambar 5. Mutan klorofil : a. Daun normal b. *Light green mutant*, c. *Xantha* d. *Waxy* e. *Variegated leaf*

Spektrum mutasi klorofil yang luas ditemukan pada populasi yang diberi perlakuan mutagen pada penanaman generasi M₂. Chlorophyll macro mutation seperti *waxy*, *xantha*, *viridis* dan daun variegata ditemukan pada populasi yang diberi perlakuan mutagen. Tidak ditemukan mutasi pada tanaman kontrol. Dari berbagai tipe mutan klorofil, tipe mutan klorofil yang paling banyak dijumpai pada penelitian ini adalah tipe *xantha*. Hasil yang sama juga telah dilaporkan oleh Misra *et. al.* (2013) pada greengram (*Vigna radiata* L). Varietas Sujata dan TARM-1 diberi perlakuan iradiasi gamma dengan dosis (20, 30, 40, 50 and 60 kR). *Chlorophyll macro-mutations* seperti *chlorina*, *xantha*, *albina*, *viridis* dan *sectorial* ditemukan pada populasi yang diberi perlakuan mutagen pada kedua varietas yang di uji. Dari sekian banyak mutasi klorofil yang ditemukan, *chlorina* merupakan yang paling banyak ditemukan (2.15 persen pada

dan 2.28 persen pada TARM-1). Selanjutnya Bhosle and Kothekar (2013) juga mendapatkan beberapa tipe mutan klorofil pada *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. yang diberi perlakuan iradisiasi sinar gamma. Mereka mendapatkan 3 tipe mutan klorofil seperti *xantha*, *chlorina* dan *viridis*. Mutan *xantha* menunjukkan warna daun kuning cerah (*bright yellow colour*). Pada beberapa mutan warnanya agak sedikit terang. Viabilitas dari mutan ini sangat kurang (2-3 hari). Mutan *Chlorina* menunjukkan warna daun yang hijau kekuningan (*yellowish green colour*). Beberapa diantaranya ada yang berubah daunnya menjadi tipe daun hijau normal. Tipe mutan *viridis* menunjukkan penampilan warna daun hijau terang (*light green*). Warna daun ini secara bertahap berubah kembali menjadi warna hijau yang normal selama masa pertumbuhan tanaman. Hanya beberapa dari mutan klorofil seperti *chlorina* dan *viridis* yang dapat melanjutkan pertumbuhannya sampai memasuki masa panen.

Berbagai tipe mutasi morfologi seperti *unifoliate*, *bifoliate*, *quadrifoliate*, *pentafoliate*, *narrow rugose leaflet*, *wrinkled leaf*, *undeveloped rasim flower*, *half sterility* dan *full sterility* banyak terdapat pada populasi yang diberi perlakuan iradiasi sinar gamma. Diantara berbagai tipe mutasi morfologi yang paling banyak terdapat adalah *leaflet mutant quadrifoliate*. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Mishra *et.al.*, (2013) pada *Greengram*. Mereka mendapatkan beberapa tipe mutasi morfologi seperti *unifoliate*, *bifoliate*, *quadrifoliate*, *pentafoliate*,

tanaman tinggi, tanaman pendek, berbunga cepat, lambat berbunga, berpolong banyak, serrated leaf dan modified inflorescence yang ditemukan pada populasi yang diberi perlakuan mutagen pada kedua varietas yang di uji. Diantara beberapa tipe mutan morfologi yang diamati, tipe quadrifoliate adalah yang paling banyak terdapat pada varietas Sujata dan tipe tanaman dengan banyak polong (*more poded type plants*) pada varietas TARM-1.

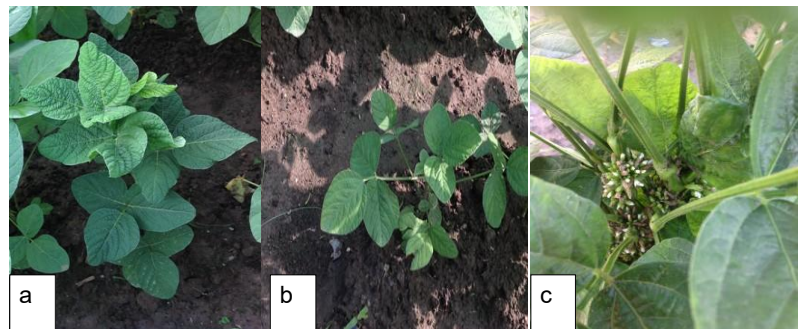


Gambar 6. Mutan bentuk daun (*leaflet mutant*) : a. *Normal leaf* b. *Unifoliate* c. *Bifoliate* d. *Tetrafoliate* e. *Pentafoliate* f. *Narrow-rugose leaf*

Variasi morfologi khususnya *leaflet mutant* yang menunjukkan abnormalitas pada daun merupakan indikator efektifnya mutagen yang diberikan. Daun *bifoliate*, *tetrafoliate*, *pentafoliate* dan *narrow rugose leaf* menunjukkan pertumbuhan yang normal dan dapat menghasilkan polong dan biji, sedangkan

daun unifoliate dan *wrinkled leaf* menunjukkan pertumbuhan vegetatif saja dan pada akhirnya menjadi tanaman steril. Mutan leaflet yang sama juga ditemukan oleh Bhosale dan Hallale (2011) pada generasi M₂ pada tanaman *Blackgram* hasil iradiasi sinar gamma.

Pada penanaman generasi M₂, jenis mutan steril yang paling banyak ditemui adalah *full sterility* mutant. Hal ini sejalan dengan penemuan Karthika dan Laksmi (2006), bahwa diantara sejumlah mutan yang diamati pada tanaman kedelai, terlihat bahwa mutan steril merupakan tipe yang paling dominan (complete sterile 7,02%, partial sterile 3,24%) diikuti oleh *stunted growth mutant* (1,89%) pada varietas kedelai CO1 dan CO2 yang diradiasi dengan sinar gamma. Mutasi menginduksi sterilitas pada kedelai disebabkan oleh degenerasi sel generatif pollen pada Meosis II yang menghasilkan viabilitas pollen yang rendah (Bione *et.al.*, 2002).



Gambar 7. Mutan Steril : a & b. *Full sterility* c. *Undeveloped rasim flower*

Tanaman *full sterility* menunjukkan pertumbuhan vegetatif yang normal namun tidak berhasil mengeluarkan

bunga apalagi polong dan biji. Sebelum mencapai umur panen tanaman ini menunjukkan daun yang menguning dan lama kelamaan daun menjadi rontok. Tanaman *full sterile* banyak ditemukan pada dosis 200 Gy pada generasi M₂ ini. Tanaman *partial sterility* memiliki jumlah daun dan jumlah cabang yang lebih sedikit. Tanaman ini dapat berbunga dan mampu menghasilkan polong dan berbiji. Goose dan Palmer (1987) dalam Karthika dan Lakshmi (2006) melaporkan bahwa *partial sterility* pada kedelai ditandai dengan pengurangan jumlah biji per polong sebagai dampak dari aborsi embrio yang sangat awal.

Tipe mutan rasim bunga yang tidak berkembang merupakan tipe kedua terbanyak dari mutan steril pada penelitian generasi M₂ ini. Dosis 200 Gy merupakan dosis iradiasi yang paling banyak menghasilkan mutan dengan rasim bunga yang tidak berkembang. Hal yang sama juga terjadi pada generasi M₁ kedelai Kipas Putih yang diiradiasi dengan sinar gamma, dimana rasim bunga tidak berkembang juga paling banyak ditemukan pada dosis ini. Tanaman *undeveloped rasim flower* mampu menghasilkan bunga namun bunganya tidak bisa mekar, memiliki batang yang besar dengan penampilan yang jagur, pada bagian buku menggelembung dan daunnya selalu hijau walaupun sudah memasuki umur panen.

Pada penanaman generasi kedua (M₂) dapat disimpulkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma menghasilkan populasi dengan nilai rata-rata yang berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol pada karakter tinggi tanaman, jumlah cabang,

jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dan umur berbunga namun pada karakter umur panen tidak berbeda nyata dengan populasi tanaman kontrol. Populasi hasil iradiasi sinar gamma dosis 200 Gy terlihat mempunyai kisaran nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kisaran nilai pada populasi iradiasi lainnya untuk karakter jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman.

4.3. Seleksi Genotipe Generasi M₃ untuk Karakter Agronomi dan Berdaya Hasil Tinggi

Pada penanaman generasi M₃ menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma menghasilkan populasi dengan nilai rata-rata yang berbeda sangat nyata dengan kontrol kecuali pada karakter jumlah cabang dosis 300 Gy, jumlah polong bernas 200 Gy dan 300 Gy, bobot biji per tanaman 200 Gy dan umur panen 200 Gy. Secara umum nilai rata-rata karakter agronomi yang rendah terdapat pada populasi dosis 100 Gy pada semua karakter yang diamati kecuali umur berbunga dan umur panen.

Karakter tinggi tanaman dan jumlah cabang pada tanaman dengan perlakuan iradiasi berbeda sangat nyata dengan tanaman kontrol pada semua dosis iradiasi kecuali dosis 300 Gy pada karakter jumlah cabang. Tinggi tanaman pada populasi iradiasi secara umum lebih rendah dibanding tanaman kontrol. Tanaman yang paling rendah terdapat pada dosis 200 Gy (66,48 cm) sedangkan kontrol (72,70 cm).

Tabel 4. Nilai rata-rata karakter agronomi populasi M3 hasil iradiasi gamma varietas kipas putih

No	Karakter	Dosis Iradiasi			
		P 0 Gy	P 100 Gy	P 200 Gy	P 300 Gy
1.	Tinggi Tanaman	72,70± 9,79	68,2** ±10,0	66,48** ± 9,66	67,45 **±7,84
2.	Jumlah Cabang	5,46± 1,62	5,06 ±1,43	6,14** ± 1,68	5,46 tn ± 1,22
3.	Jumlah Polong Bernas	236,71 ±71,6	187,0** ± 67,7	253 tn ± 108	218,0 tn ± 65,7
4.	Bobot Biji/Tanaman	51,3 ± 16,2	41,3** ± 14,3	52,7 tn ± 23,3	44,4** ± 14,5
5.	Umur Berbunga	40,20± 0,65	39,13** ± 0,884	39,29** ± 1,18	39,67** ± 0,93
6.	Umur Panen	89,99± 0,08	89,00** ± 2,30	90,01tn ± 3,63	88,98** ±2,27

Keterangan : * = berbeda nyata dengan populasi kontrol (0 Gy) pada taraf 5% berdasarkan uji t;

** = berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol (0

Gy) pada taraf 1% berdasarkan uji t

Sadashiv dan Kondiram (2012) menyatakan bahwa semua dosis mutagen sangat efektif dalam menginduksi keragaman genetik tinggi tanaman pada generasi M₃ tanaman

horsegram. Perlakuan iradiasi sinar gamma mengakibatkan pengurangan tinggi tanaman yang sangat nyata. Tanaman paling tinggi 49.85 cm terdapat pada populasi 300 Gy. Tanaman paling rendah dengan tinggi 44.57 cm terdapat pada populasi 200 Gy. Rata-rata tinggi tanaman kontrol adalah 50.99 cm. Pengurangan tinggi tanaman pada generasi M_3 juga didapatkan oleh penelitian lain diantaranya Khan *et al.* (2004); Gaikawad *et al.* (2005) and Sihombing *et al.* (2016).

Karakter polong bernas mempunyai nilai rata-rata yang berbeda sangat nyata dengan populasi tanaman kontrol pada dosis 100 Gy, sedangkan pada dosis 200 Gy dan 300 Gy tidak berbeda nyata. Jumlah polong bernas paling rendah terdapat pada dosis 100 Gy (187 polong/tanaman), sedangkan jumlah polong bernas paling tinggi terdapat pada dosis 200 (253 polong/tanaman) walaupun tidak berbeda nyata dengan jumlah polong tanaman kontrol (241,5 polong).

Pavadai (2015) mendapatkan bahwa pada generasi M_2 dan M_3 kedelai varietas Co-1 yang diberi perlakuan dengan dosis iradiasi sinar gamma 10 KR, 20 KR, 30, KR, 40 KR, 50 KR dan 60 KR menunjukkan semua karakter yang diamati meningkat pada dosis iradiasi yang optimum. Mutan yang paling baik terdapat pada dosis 50 KR.

Karakter bobot biji per tanaman populasi iradiasi mempunyai nilai rata-rata yang berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol kecuali pada dosis 200 Gy. Bobot biji per tanaman pada dosis iradiasi menjadi lebih rendah dibanding

kontrol kecuali populasi dosis 200 Gy. Bobot biji per tanaman paling tinggi terdapat pada dosis 200 Gy (52,7 g) yang tidak berbeda nyata dengan kontrol (51,9 g), sedangkan yang paling rendah terdapat pada dosis 100 Gy (41,3 g).

Karakter umur berbunga dan umur panen populasi dosis iradiasi mempunyai nilai rata-rata yang berbeda sangat nyata dengan populasi kontrol kecuali umur panen dosis 200 Gy. Umur berbunga paling genjah terdapat pada dosis 100 Gy (39,13 HST), sedangkan umur panen paling cepat terdapat pada dosis 300 Gy (88,98 HST).

Mutan putatif yang berumur genjah menunjukkan waktu berbunga yang lebih cepat yang berkisar antara 37 - 41 HST pada populasi 100 Gy, dibandingkan dengan kontrol dengan durasi umur berbunga berkisar antara 39 - 43 HST. Tipe mutan seperti ini sebelumnya telah diperoleh pada tanaman horsegram. Mutan ini sangat diperlukan untuk mengurangi umur panen tanaman. Varietas yang berumur genjah pada tanaman horsegram memainkan peranan yang sangat penting untuk menghindari kekeringan dan stres terhadap kekurangan air pada lahan tadah hujan (Dhumal and Bolbhat, 2012). Khan dan Tyagi (2013) juga melaporkan terdapat mutan kedelai yang berumur genjah akibat iradiasi sinar gamma. Mutan yang berumur genjah ini menunjukkan pertumbuhan yang normal dengan kemampuan produksi yang cepat.

Pada generasi M₃ diperoleh nilai keragaman genetik yang berkisar dari 2,43-32,06 dengan kriteria sempit sampai luas

(Tabel 7). Nilai KKG yang tinggi diperoleh pada karakter jumlah polong bernas (32,06) dan bobot biji per tanaman (31,91) pada populasi 200 Gy, kriteria KKG sedang terdapat pada jumlah cabang 100 Gy () dan 300 Gy (), jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman 100 dan 200 Gy, sedangkan karakter lain seperti tinggi tanaman, jumlah cabang 200 Gy, umur berbunga dan umur panen mempunyai kriteria KKG yang sempit.

Tabel 5. Komponen ragam dan karagaman karakter agronomi generasi M3 hasil iradiasi gamma pada kedelai kipas putih

No	Karakter	P 0 Gy	Dosis Iradiasi		
			P 100 Gy	P 200 Gy	P 300 Gy
1.	Tinggi Tanaman	77,70	68,20	66,47	67,44
	σ^2p (ragam fenotipe)	95,88	100,19	93,27	61,40
	σ^2g (ragam genotipe)		4,31	2,61	34,47
	h^2 (heritabilitas)		0,04	0,02	0,56
	KKG (koefisien keragaman genetik)		3,04	2,43	8,70
	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit
2.	Jumlah cabang	5,46	5,05	6,14	5,44
	σ^2p	2,62	2,03	2,80	1,51
	σ^2g		0,58	0,18	1,10
	h^2		0,28	0,06	0,72
	KKG		15,06	7,06	19,29
	Kriteria KKG		Sedang	Sempit	Sedang
3.	Jumlah polong bernas	241,47	186,97	253,37	218,60

	σ^2p	5126,45	4577,76	11726,55	4372,24
	σ^2g		548,75	6600,09	754,21
	h^2		0,11	0,56	0,17
	KKG		12,52	32,06	12,56
	Kriteria KKG		Sedang	Luas	Sedang
4.	Bobot biji per tanaman	51,88	41,32	52,71	44,47g
	σ^2p	260,93	203,97	544,08	213,19
	σ^2g		56,96	283,14	47,74
	h^2		0,27	0,52	0,22
	KKG		18,26	31,91	15,53
	Kriteria KKG		Sedang	Luas	Sedang
5.	Umur berbunga	40,20	39,13	39,28	39,67g
	σ^2p	0,42	0,78	1,38	0,89
	σ^2g		0,35	0,96	0,46
	h^2		0,45	0,69	0,52
	KKG		2,50	2,49	2,47
	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit
6.	Umur panen	89,97	88,99	90,00	89,01
	σ^2p	0,05	5,26	13,17	5,17
	σ^2g		5,21	13,11	5,12
	h^2		0,88	0,89	0,88
	KKG		4,06	4,02	4,06
	Kriteria KKG		Sempit	Sempit	Sempit

Nilai heritabilitas dalam arti luas yang tinggi terdapat pada karakter tinggi tanaman 300 Gy (0,56), jumlah cabang 300 Gy (0,72), jumlah polong bernas (0,56) dan bobot biji per tanaman (0,52) dosis 200 Gy, umur berbunga 200 dan 300 Gy

(0,69 dan 0,52) serta umur panen semua dosis (0,88, 0,89 dan 0,88). Dosis iradiasi 200 Gy memiliki nilai heritabilitas yang tinggi kecuali pada karakter tinggi tanaman dan jumlah cabang. Populasi 100 Gy memiliki nilai heritabilitas yang rendah sampai sedang pada semua karakter yang diamati kecuali umur panen. Populasi 300 Gy memiliki nilai heritabilitas yang tinggi pada semua karakter yang diamati kecuali jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman.

Karakter yang memiliki keragaman genetik dengan heritabilitas yang tinggi adalah jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman pada populasi 200 Gy, sedangkan karakter umur berbunga dan umur panen memiliki nilai heritabilitas yang tinggi namun nilai CGV yang rendah. Yuniarti *et al.* (2010) menyatakan bahwa tingginya nilai koefisien genetik pada umumnya diikuti dengan nilai heritabilitas dan ragam genetik yang tinggi, sehingga hal ini dapat dimanfaatkan untuk dilakukannya seleksi. Hasil ini menunjukkan bahwa umur panen dan umur berbunga memiliki keragaman genetik yang rendah namun menunjukkan nilai heritabilitas yang tergolong tinggi.

Tabel 6. Diferensial seleksi akibat seleksi genotipe kedelai kipas putih hasil iradiasi gamma genetasi M3

No	Karakter	P 0 Gy	Dosis Iradiasi		
			P 100 Gy	P 200 Gy	P 300 Gy
1.	Umur berbunga				

Populasi Kipas	40,20		
Putih			
Populasi dasar	39,13	39,29	39,61
Genotipe terpilih	37,90	37,77	38,68
Diffrensial seleksi	1,23	1,52	0,93
2. Bobot biji per tanaman			
Populasi Kipas	51,83		
Putih			
Populasi dasar	41,3	52,7	44,4
Genotipe terpilih	61,94	77,22	61,28
Diffrensial seleksi	20,64	24,52	16,88

Nur *et. al.* (2012) dan Natawijaya (2012) menyatakan bahwa karakter umur panen merupakan salah satu karakter yang memiliki nilai heritabilitas tinggi sehingga karakter ini dapat dijadikan sebagai karakter seleksi pada generasi awal dalam proses perakitan varietas.

Pada generasi M₃ ini dilakukan seleksi individu untuk mendapatkan genotipe yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. Karakter yang digunakan sebagai kriteria seleksi adalah umur berbunga dan bobot biji per tanaman dengan intensitas seleksi 10%. Setelah dilakukan seleksi terhadap tanaman terbaik pada generasi ini diperoleh perbaikan nilai rata-rata umur berbunga dan bobot biji per tanaman dari tiga populasi iradiasi sinar gamma yang dilakukan.

Tabel 8 menunjukkan bahwa hasil seleksi terhadap karakter umur berbunga pada populasi M₃ menghasilkan perbaikan nilai rata-rata genotipe tertinggi pada populasi iradiasi 200 Gy dengan nilai rata-rata 37,77 HST dari nilai rata-rata populasi dasar 39,29 dan lebih tinggi dibanding populasi kontrol dengan nilai rata-rata 40,20 HST. Hasil seleksi terhadap karakter umur berbunga yang tinggi juga terdapat pada populasi 100 Gy dengan nilai rata-rata 37,90 HST.

Seleksi terhadap karakter bobot biji/tanaman pada populasi M₃ juga menghasilkan nilai rata-rata genotipe terpilih tertinggi pada populasi iradiasi 200 Gy dengan nilai rata-rata 77,22 g dengan nilai rata-rata populasi dasar 52,79 g dan lebih tinggi dibanding populasi Kipas Putih yang bobot bijinya hanya 51,88 g per tanaman. Hanafiah *et. al.* (2015) melakukan seleksi terhadap karakter jumlah polong bernas dari populasi M₃ kedelai Anjasmoro hasil iradiasi sinar gamma pada kondisi optimum. Rata-rata genotipe terpilih tertinggi terdapat pada populasi hasil iradiasi 150 Gy dengan nilai rata-rata 77,6 dari nilai rata-rata populasi dasar 45,2 dan lebih tinggi dibandingkan populasi Argomulyo yang hanya 38,6. Hasil seleksi jumlah polong bernas yang tinggi juga diperoleh dari populasi 200 Gy dengan nilai rata-rata genotipe terpilih mencapai 76,8.

.Penanaman pada generasi ketiga (M₃) dapat disimpulkan bahwa iradiasi sinar gamma mempengaruhi tinggi tanaman, umur berbunga, umur panen, jumlah polong dan bobot biji per tanaman. Secara umum nilai rata-rata karakter agronomi yang

rendah terdapat pada populasi dosis 100 Gy pada semua karakter yang diamati kecuali umur berbunga dan umur panen yang menjadi lebih genjah dibanding kontrol. Berdasarkan kriteria seleksi umur berbunga dan bobot biji per tanaman maka dilakukan seleksi genotipe pada generasi M₃. Hasil seleksi didapatkan bahwa terdapat 233 galur mutan putatif yang akan dilanjutkan pada seleksi pedigree generasi M₄ pada penelitian yang akan datang

4.4. Seleksi Pedigree Genotipe Mutan M₄ terhadap Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi

Populasi generasi M₄ terdiri dari 233 galur mutan terpilih hasil seleksi genotipe terpilih pada generasi M₃ dari tiga populasi iradiasi sinar gamma. Nilai rata-rata keragaan karakter agronomi yang diamati pada mutan putatif menunjukkan adanya perbaikan nilai rata-rata pada karakter jumlah polong, bobot biji per tanaman dan umur panen dibandingkan dengan varietas asalnya kedelai Kipas Putih walaupun tidak menunjukkan nilai perbedaan yang nyata.

Hal ini sejalan dengan Hanafiah (2012) yang melakukan seleksi pada generasi M₄ terhadap 291 galur putatif mutan. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perbaikan nilai rata-rata karakter agronomi pada galur putatif mutan dibandingkan dengan varietas asal Argomulyo. Nilai rata-rata karakter agronomi pada galur mutan masih belum melebihi nilai rata-rata karakter pada varietas pembanding Anjasmoro, Ceneng dan Tanggamus.

Tabel 7. Nilai rata-rata karakter agronomi 233 galur mutan putatif generasi M4, varietas kipas putih, kipas merah dan anjasmoro

No	Karakter	Genotipe			
		Galur mutan	Kipas Putih	Kipas Merah	Anjasmoro
1.	Tinggi Tanaman	44,32±7,	43,60±	43±3,7	49,60±
		62	6,39	0	9,80
2.	Jumlah Polong Bernas	135,0±5	120,5±	114,5±	67,7±1
		2,3	55,5	53,9	0,90
3.	Bobot Biji per Tanaman	29,0±10,	26,12±	29,99±	24,35±
		8	7,38	2,99	1,05
4.	Umur Berbunga	41,82±1,	41,86±	42,07±	37,33
		39	0,5	1,17	±0,57
5.	Umur Panen	90,87±3,	91,33±	91,33±	85,60±
		09	2,31	1,15	1,04

Keterangan : * = berbeda nyata dengan populasi Kipas Putih pada taraf 5% berdasarkan uji t;

** = berbeda sangat nyata dengan populasi Kipas Putih pada taraf 1% berdasarkan uji t.

Pada varietas pembanding Kipas Merah yang mewakili varietas yang berdaya hasil tinggi tidak menunjukkan terjadinya penurunan nilai karakter agronomi dibanding keragaan mutan kecuali terhadap karakter jumlah polong bernas. Pada varietas pembanding Anjasmoro yang mewakili varietas yang berbiji besar dan produksi tinggi terdapat perbedaan pada nilai rata-

rata karakter agronomi kecuali tinggi tanaman dibanding nilai rata-rata karakter mutan putatif. Varietas Anjasmoro memiliki nilai rata-rata karakter jumlah polong dan bobot biji yang lebih rendah dari mutan namun memiliki umur berbunga dan umur panen yang lebih cepat dan genjah dibanding galur mutan.

Tabel 8. Pendugaan ragam, koefisien keragaman genetik dan heritabilitas karakter agronomi populasi M4 hasil iradiasi gamma pada varietas kipas putih

Karakter Agronomi	Parameter Genetik				
	σ^2p	σ^2g	σ^2e	h^2	KKG (%)
1. Tinggi Tanaman	58	7,80	50,20	0,13	6,2 sempit
2. Umur berbunga	1,93	1,38	0,54	0,72	2,6 sempit
3. Umur Panen	9,2	3,40	12,92	0,36	3,7 sempit
4. Jumlah Polong	2736,2	1411,02	1325,23	0,52	27,3 luas
5. Bobot Biji per tanaman	116,21	94,71	21,51	0,81	32,8 luas

Keterangan : σ^2p = ragam fenotip; σ^2g = ragam genotip; σ^2e = ragam lingkungan; h^2 = heritabilitas; KKG = koefisien keragaman genetik

Karakter umur berbunga, jumlah polong dan bobot biji per tanaman memiliki nilai duga heritabilitas yang tinggi dan koefisien keragaman genetik yang luas kecuali untuk umur berbunga yang memiliki nilai keragaman genetik yang rendah (Tabel 10). Nilai duga heritabilitas yang tinggi menunjukkan bahwa karakter-karakter tersebut dikendalikan oleh faktor

genetik dibandingkan oleh faktor lingkungan, serta karakter-karakter tersebut dikendalikan oleh gen-gen yang bersifat aditif.

Pada generasi M₄ dilakukan seleksi berdasarkan karakter umur berbunga dan bobot biji per tanaman sehingga diperoleh 118 nomor galur putatif mutan. Hasil seleksi menunjukkan terdapat perbaikan nilai rata-rata pada karakter jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dibandingkan varietas asal Kipas Putih, Kipas Merah dan Anjasmoro. Sedangkan karakter umur berbunga galur mutan terjadi peningkatan dibanding Kipas Putih dan Kipas Merah sedangkan Nilai rata-rata karakter umur berbunga dan umur panen dari galur putatif mutan masih berada dibawah nilai rata-rata varietas pembanding Anjasmoro. (Tabel 11).

Tabel 9. Nilai rata-rata karakter agronomi 118 galur mutan putatif generasi M₄ terpilih, varietas kipas putih, kipas merah dan anjasmoro

No.	Karakter	Genotipe			
		Galur mutan	Kipas Putih	Kipas Merah	Anjasmoro
1.	Tinggi Tanaman	54,12±7,7	43,60±	43±3,	49,60 ±9,80
2.	Jumlah Polong Bernas	218,1*±7	120,5±	114,5 ±53,9	67,7± 10,90
3.	Bobot Biji per Tanaman	46,6*±14,	26,12±	29,99 ±2,99	24,35 ±1,05

4.	Umur	40,36*±1,	41,86±	42,07	37,33
	Berbunga	28	0,5	±1,17	±0,57
5.	Umur Panen	88,86±3,3	91,33±	91,33	85,60
		0	2,31	±1,15	±1,04

Keterangan : * = berbeda nyata dengan populasi Kipas Putih pada taraf 5% berdasarkan uji t;

Tabel 12 dan 13 menunjukkan bahwa terdapat 6 genotipe mutan M4 yang memiliki umur berbunga dan umur panen yang lebih cepat dibanding dengan tetuanya Kipas Putih. Genotipe tersebut memiliki bobot biji per tanaman yang lebih rendah di banding kontrolnya kecuali genotipe M-1.1.8. Selanjutnya juga terdapat beberapa genotipe yang memiliki perbedaan umur berbunga hanya 1-2 hari saja namun memiliki bobot biji per tanaman yang melebihi tetuanya.

Tabel 10. Hasil seleksi mutan-mutan potensial yang memiliki karakter umur genjah pada generasi M4

No	Genotipe	Karakter Agronomi				
		1	2	3	4	5
1	M. 1.1.3	36	83	57	95	20,32
2	M. 5.2.1	36	80	56	144	25
3	M. 1.1.8	36	80	43	196	35,18
4	M. 5.2.3	36	80	56	140	22,68
5	M. 1.1.9	36	83	43	155	20
6	M. 5.2.2	37	80	40	45	6,95
7	M. 1.1.7	37	90	56	231	54,65
7	M. 7.1.17	38	87	60	312	46,97
8	M. 7.1.4	39	87	63	300	68,64
9	M. 2.2.2	39	87	53	250	47,8
10	M.7.1.8	39	87	48	254	51,4
11	M.1.1.10	39	87	63	330	57,42
12	M.7.1.7	38	87	47	280	57,83
13	M.5.2.4	39	87	64	224	42,1
14	Kipas Putih	41,86	91,33	43,60	120,5	26,12

15	Kipas Merah	42,07	91,33	43	114,5	29,99
16	Anjasmoro	37,33	85,60	49,60	67,7	24,35

Keterangan : (1) Umur berbunga; (2) Umur panen; (3) Tinggi tanaman; (4) Jumlah polong; (5) Bobot biji per tanaman.

Tabel 11. Hasil seleksi mutan-mutan potensial yang berdaya hasil tinggi pada generasi M4

No	Genotipe	Karakter Agronomi				
		1	2	3	4	5
1	M.8.1.27	41	92	68	375	85,02
2	M.8.1.3	41	92	62	396	81,17
3	M.8.1.26	41	92	64	345	78,48
4	M.8.1.7	41	92	65	264	77,56
5	M.1.2.9	41	90	68	216	75,35
6	M.1.2.8	41	90	58	246	75,13
7	M.2.1.6	41	90	59	275	74,59
8	M.7.1.13	40	92	50	259	74,58
9	M.7.1.11	41	92	54	408	74,24
10	M.10.1.6	40	92	63	305	73,47
11	M.8.1.6	40	92	63	305	73,47
12	M.6.2.4	44	92	47	200	70,99
13	Kipas Putih	41,86	91,33	43,60	120,5	26,12
14	Kipas Merah	42,07	91,33	43	114,5	29,99
15	Anjasmo ro	37,33	85,60	49,60	67,7	24,35

Keterangan : (1) Umur berbunga; (2) Umur panen; (3) Tinggi tanaman; (4) Jumlah polong; (5) Bobot biji per tanaman.

Hasil penanaman pada generasi M₄ dapat disimpulkan bahwa hasil seleksi generasi M₄ berdasarkan karakter umur berbunga dan bobot biji per tanaman, diperoleh 118 genotipe

mutan putatif kedelai yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi yang akan dilanjutkan pada penelitian generasi M₅.

4.5. Seleksi Pedigree Genotipe Mutan M₅ terhadap Umur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi

Pada generasi M₅, galur yang di uji adalah 118 galur hasil seleksi pada penanaman generasi M₄ yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. Hasil penanaman pada generasi M₅ menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara galur mutan dibandingkan dengan tetuanya Kipas Putih kecuali pada karakter jumlah polong bernas pertanaman. Rata-rata jumlah polong per tanaman galur mutan lebih tinggi (274 polong) dibanding tetuanya Kipas Putih (192 polong), dan varietas pembanding Kipas Merah (175 polong) dan Anjasmoro (147 polong).

Tabel 12. Nilai rata-rata karakter agronomi populasi dasar generasi M₅, galur mutan hasil seleksi dan tetua kipas putih

Karakter	Populasi Dasar M ₅	Galur Seleksi	Hasil Kipas Putih
1. Tinggi Tanaman	52,30 ± 8,92	57,42 ± 9,65	48,15 ± 6,60
2. Jumlah Polong Bernas	274* ± 137	363** ± 193	192,3 ± 52,2
3. Bobot Biji per Tanaman	57,4 ± 32,7	83,1* ± 45,4	48,0 ± 24,0

4.Umur	41,15±	39,90±0,90	40,450±0,915
Berbunga	1,67		
5.Umur Panen	94,58±	93,42 ± 5,47	95,45±1,64
	3,65		

.Keterangan : * = berbeda nyata dengan populasi Argomulyo pada taraf 5 % berdasarkan uji t;

** = berbeda nyata dengan populasi Argomulyo pada taraf 1 % berdasarkan uji t.

Pada generasi M₅ dilakukan seleksi berdasarkan karakter umur berbunga dan bobot biji per tanaman sehingga diperoleh 33 nomor galur putatif mutan. Galur putatif mutan hasil seleksi memiliki nilai rata-rata karakter agronomi yang lebih baik dibandingkan nilai rata-rata varietas asal Kipas Putih. Perbaikan nilai rata-rata terdapat pada karakter jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dibandingkan varietas asal Kipas Putih, Kipas Merah dan Anjasmoro. Sedangkan karakter umur berbunga galur mutan terjadi peningkatan dibanding Kipas Putih, sedangkan nilai rata-rata karakter umur berbunga dan umur panen galur putatif mutan masih berada dibawah nilai rata-rata varietas pembanding Kipas Merah dan Anjasmoro.

Hasil seleksi pada generasi M₅ diperoleh 33 galur mutan putatif yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. Nilai rata-rata galur mutan terpilih pada generasi ini menunjukkan adanya perbaikan terhadap karakter jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman dibanding dengan tetuanya Kipas Putih dan varietas pembanding Kipas Merah dan Anjasmoro.

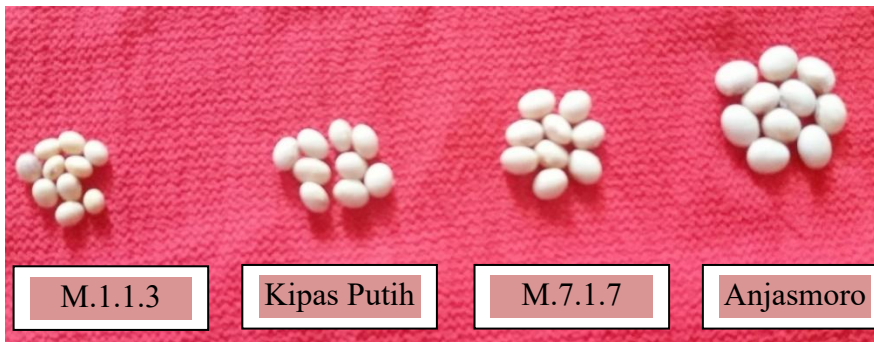
Tabel 13. Keragaan karakter agronomi 33 galur mutan putatif hasil seleksi generasi M5

No	Genotipe	1	2	3	4	5	6
1.	M.1.1.3	36	81	55	153	21,47	9,37
2.	M.5.2.1	36	84	39	147	26,9	10,28
3.	M.1.1.9	36	84	59	270	47,76	10,21
4.	M.1.1.7	36	90	50	205	40,72	10,56
5.	M.5.2.3	37	86	44	143	25,89	10,01
6.	M.7.1.17	39	84	59	180	29,76	11,12
7.	M.1.2.6	39	95	50	295	58,53	11,5
8.	M.2.2.2	39	95	55	248	56,55	12,81
9.	M.7.1.8	39	95	56	287	66,01	13,77
10.	M.1.1.10	39	95	42	242	54,08	11,01
11.	M.7.1.7	39	95	57	288	69,01	14,76
12.	M.4.1.12	39	87	70	170	35,35	13,03
13.	M.7.1.16	39	87	50	243	59,68	13,99
14.	M.2.2.3	39	87	56	130	23,69	10,63
15.	M.1.1.2	42	104	73	730	174,95	14
16.	M.2.2.5	41	95	64	720	136,22	12,19
17.	M.1.2.9	42	95	68	540	132,48	13,06
18.	M.1.1.8	41	102	57	500	132,36	14,16
19.	M.5.1.7	42	95	69	580	128,7	13,93
20.	M.12.1.7	42	95	74	480	125,244	13,69
21.	M.8.1.28	40	95	46	470	120,56	14,08
22.	M.2.2.1	41	95	55	500	112,8	12,8
23.	M.7.1.38	41	95	55	470	112,4	13,67
24.	M.4.2.12	41	102	57	550	107,43	12,99
25.	M.10.1.14	41	95	50	440	104,32	12,63
26.	M.4.2.15	43	102	45	500	98,03	12,07
27.	M.8.1.3	41	95	54	470	97,52	12,88
28.	M.6.2.3	42	95	66	375	93,89	14,43
29.	M.11.1.3	41	95	57	400	93,36	11,88
30.	M.3.1.12	41	95	59	390	88,85	14,2
31.	M.4.1.10	40	95	60	330	87,61	12,5
32.	M.7.1.21	41	95	82	490	87,34	11,04
33.	M.2.1.6	43	95	62	338	86,56	14,09

	Kipas						
34.	Putih	40,45	95,45	48	192	47,95	12,02
	Kipas						
35.	Merah	38,05	94,35	71	175	44,04	13,69
36.	Anjasmoro	32,95	94,25	67	147	71,52	16,97

Keterangan : (1) Umur berbunga; (2) Umur panen; (3) Tinggi Tanaman (4) Jumlah polong; (5) Bobot biji per tanaman; (6) Bobot 100 biji

Pada Tabel 15 terlihat bahwa galur-galur mutan dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Kelompok 1 yang terdiri dari 6 galur mutan, memiliki umur berbunga lebih cepat 3-4 hari dengan umur panen lebih cepat 4- 14 hari dibanding kontrol yaitu genotipe M.1.1.3, M.5.2.1, M.1.1.9, M.1.1.7, M.5.2.3 dan M.7.1.17. Ke enam galur terpilih yang berumur genjah ini memiliki bobot biji yang rendah (21,47 g – 47,76 g/tanaman) dengan ukuran biji yang kecil (bobot 100 biji berkisar 9 – 11 g). Kelompok 2 terdiri dari 3 galur mutan yang umur panennya lebih cepat 8 hari dibanding kontrol yaitu M.4.1.12, M.7.1.16 dan M. 2.2.3. Kelompok 3 terdiri dari 5 mutan yang memiliki umur panen sama seperti kontrol namun bobot biji per tanaman lebih berat dibanding kontrol (54 – 69 g/tanaman). Kelompok 4 terdiri dari 19 mutan yang memiliki umur panen sama seperti kontrol sampai lebih lama dari kontrol (95 – 104 HST) tapi memiliki bobot biji per tanaman dua sampai 3 kali lebih besar dibanding kontrol (86 – 200 g/tanaman).



Gambar 8. Perbandingan ukuran biji antara Mutan putatif M.1.1.3, Kipas Putih dan Anjasmoro

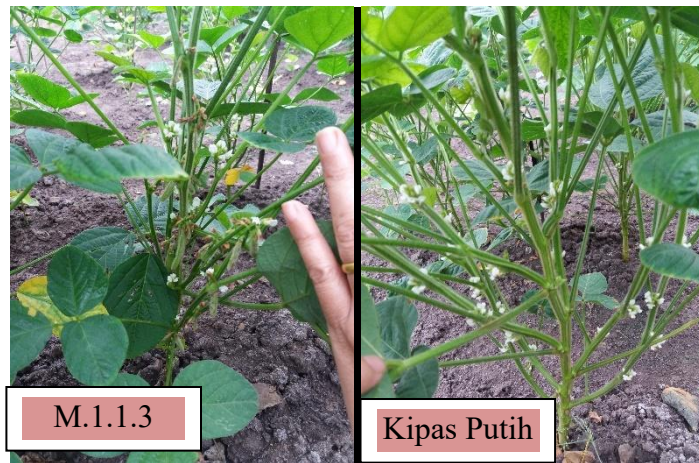
Nilai ekonomi ukuran biji tidak hanya sebagai bahan baku industri, namun juga berkontribusi terhadap peningkatan produktivitas. Adebisi *et al.* (2013) dalam Krisnawati dan Adie (2015) melaporkan bahwa kedelai berbiji besar akan menghasilkan biji per tanaman, polong per tanaman, dan hasil biji per tanaman yang maksimal, dikarenakan adanya ekstra cadangan makanan yang tersimpan pada biji berukuran besar.

Pada penanaman generasi ini diperoleh galur mutan berumur genjah dengan bobot biji kecil, terdapat galur mutan yang berumur tidak terlalu genjah dengan bobot biji sedang (tidak berbeda dengan kontrol) dan terdapat mutan yang berumur dalam namun bobot biji meningkat sampai 2 kali lebih banyak dibanding kontrol. Pada tahap ini tidak diperoleh galur yang berumur genjah, ukuran biji besar sekaligus memiliki daya hasil yang tinggi.

. Waktu munculnya bunga pada Anjasmoro lebih cepat (32 HST) dibanding mutan M.1.1.3 (36 HST). Pada saat tanaman berumur 46 HST, mutan M.1.1.3 sudah menunjukkan

munculnya polong sedangkan Kipas Putih dan Anjasmoro bunganya terlihat masih mekar (Gambar 6). Hal ini menunjukkan bahwa mutan berumur genjah ini memiliki waktu fase pembentukan bunga ke fase pembentukan polong yang lebih cepat.

Mutan M.1.13 memiliki umur panen 81 HST sedangkan Kipas Putih 95 HST. Hal ini menunjukkan bahwa mutan ini memiliki umur panen 14 hari cepat dibanding tetuanya. Masa pengisian biji mutan ini lebih singkat dibanding tetua dan varietas pembandingnya yaitu hanya 45 hari (Kipas Putih 55 hari, Kipas Merah 56 hari, Anjasmoro 64 hari). Masa pengisian biji yang singkat ini berhubungan dengan ukuran biji yang menjadi lebih kecil pada mutan ini dengan bobot 100 biji hanya 9,37 g (Kipas Putih 12,02 g, Kipas Merah 13,69 g, Anjasmoro 16,97 g).



Gambar 9. Perbandingan penampilan Kipas Putih, Anjasmoro dan Mutan M.1.1.3 pada umur 6 MST

Varietas unggul kedelai yang paling disukai konsumen adalah yang berdaya hasil tinggi, ukuran biji yang besar, dan berumur genjah. Kedelai berukuran biji besar menjadi favorit sebagai bahan baku industri tempe (Krisdiana 2014), sedangkan varietas umur genjah banyak diminati karena mengeliminir penurunan hasil yang disebabkan oleh kekeringan dan infestasi

hama, serta meningkatkan indeks pertanaman dalam setahun (Krisnawati dan Adie 2010). Mejaya et al. (2010) mengidentifikasi aksesori plasma nutfah yang akan digunakan sebagai sumber gen dalam perakitan varietas kedelai berumur genjah dan berdaya hasil tinggi, dan mendapatkan dua aksesori MLGG 0751 dan MLGG 0753 sebagai sumber gen dalam perakitan varietas kedelai berumur genjah.

Galur-galur yang berumur genjah cenderung memiliki daya hasil yang rendah dengan ukuran biji yang lebih kecil dibanding tetua dan varietas pembanding. Ukuran biji merupakan karakteristik penting pada produksi kedelai. Peluang perakitan varietas kedelai yang berdaya hasil tinggi, berumur genjah, sekaligus berukuran biji besar masih kecil (Krisnawati dan Adie 2007). Genotipe-genotipe mutan putatif berumur genjah terpilih pada penelitian ini dapat dilanjutkan ke tahap pemuliaan selanjutnya yaitu sebagai bahan uji daya hasil dalam perakitan varietas unggul baru kedelai atau dapat digunakan sebagai sumber gen (tetua persilangan) dalam program perbaikan varietas kedelai.

Hasil penelitian pada generasi M_1 dengan membandingkan populasi hasil iradiasi sinar gamma dengan kontrol, dapat diamati bahwa terdapat perubahan yang sangat nyata pada perkembangan dan produksi tanaman generasi M_1 pada semua dosis iradiasi. Pemberian iradiasi sinar gamma terhadap varietas Kipas Putih mempengaruhi semua karakter agronomi yang diamati pada generasi M_1 . Nilai rata-rata

karakter agronomi semakin menurun dengan meningkatnya dosis iradiasi sinar gamma, namun karakter umur berbunga dan umur panen menjadi semakin meningkat dibanding dengan tanaman kontrol.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Mudibu *et. al.*, (2012). Mereka mendapatkan bahwa pada generasi M₁, seluruh tanaman pada populasi iradiasi mengalami penurunan terhadap hasil tanaman dibandingkan dengan kontrol pada tiga varietas kedelai yang diradiasi sinar gamma. Banyak hasil penelitian yang menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma pada dosis yang tinggi menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan, sedangkan pada dosis iradiasi yang rendah kadang-kadang bisa menstimulasi pertumbuhan dan hasil tanaman. Iradiasi sinar gamma menghasilkan zat radikal yang dapat merusak dan mengakibatkan perubahan morfologi, anatomi, biokimia dan fisiologi tanaman tergantung pada level iradiasi.

Pada generasi M₁ menunjukkan penampilan tanaman secara umum sangat buruk pada populasi yang mengalami iradiasi. Hal ini disebabkan karena generasi M₁ adalah generasi yang mengalami kerusakan secara langsung akibat iradiasi sinar gamma. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Van Harten (1998) dimana generasi M₁ adalah populasi yang mengalami pengaruh fisiologis langsung akibat iradiasi sinar gamma yang menghasilkan elektron bebas yang bersifat radikal sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel. Selanjutnya Jagajantham

et. al. (2012) juga menambahkan bahwa pengaruh secara biologi iradiasi sinar gamma adalah berdasarkan interaksi antara atom atau molekul-molekul di dalam sel. Radikal ini dapat merusak atau memodifikasi komponen-komponen penting dari sel tanaman dan hal ini mempengaruhi morfologi, anatomi, biokimia dan fisiologi tanaman tergantung pada dosis iradiasi (Ashraf *et al.*, 2003). Benih yang diradiasi dengan sinar gamma dosis tinggi akan mengganggu sintesis protein, keseimbangan hormon, pertukaran gas pada daun, pertukaran air dan aktifitas (Toker *et al.*, 2005).

Girija and Danavel (2013) menyatakan bahwa kemampuan dari mutagen ini untuk masuk kedalam sel organisme akan berinteraksi dengan DNA untuk menghasilkan pengaruh racun secara umum yang berasosiasi dengan bahan mutagen. Selanjutnya akan mempengaruhi interaksi secara langsung antara mutagen dan molekul DNA (Mensah *et al.*, 2007). Mutagen dapat menyebabkan kerusakan secara fisiologi yang akan mengakibatkan terjadinya hambatan pertumbuhan dan kematian yang umumnya terjadi pada generasi M₁ (Mak *et al.*, 1986). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan dan hasil pada generasi M₁ akibat pengaruh iradiasi sinar gamma

Pada generasi M₂ menunjukkan terjadinya keragaman pada karakter morfologi dan agronomi akibat iradiasi sinar gamma. Generasi M₂ adalah generasi yang mengalami segregasi. Pada generasi ini terdapat berbagai variasi morfologi

diantaranya mutan tipe daun, sterilitas dan mutan klorofil. Telah banyak peneliti yang mendapatkan hasil yang menyatakan bahwa generasi M₂ hasil iradiasi sinar gamma adalah generasi yang paling banyak menimbulkan keragaman karakter morfologi dan agronomi (Mudibu *et.al.* 2012; Bhosale and Hallale, 2011; Khan and Tyagi, 2013; Anbarasan *et.al.*, 2015). Secara genetik, keragaman dari karakter agronomis pada populasi M₂ hasil iradiasi sinar gamma disebabkan karena adanya segregasi dari gen-gen dalam lokus-lokus yang mengalami mutasi pada M₁. Keragaman yang terjadi akibat segregasi gen-gen dari populasi yang mengalami iradiasi yang menyebabkan terjadinya keragaman pada karakter kuantitatif pada generasi M₂ (Van Harten, 1998).

Pada generasi M₂ terlihat bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara populasi iradiasi sinar gamma dengan populasi kontrol terhadap semua karakter agronomi yang diamati kecuali umur panen. Populasi iradiasi sinar gamma 200 Gy menunjukkan kisaran nilai karakter agronomi yang lebih luas dibandingkan dengan populasi iradiasi lainnya terutama pada karakter jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman. Dosis iradiasi sinar gamma merupakan hal yang paling penting untuk menginduksi keragaman genetik dan dapat menghasilkan positif mutan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa iradisi sinar gamma pada dosis 200 Gy secara efektif dapat menginduksi keragaman genetik pada tanaman (Hanafiah *et. al.*, 2012; Mudibu *et. al* 2012).

Hanafiah (2012) mendapatkan populasi 100 Gy dan 150 Gy merupakan populasi yang memiliki perubahan nilai rata-rata yang paling banyak dibandingkan dengan populasi iradiasi lainnya. Hal ini disebabkan kedua populasi iradiasi ini mempunyai variasi individu yang luas.

Sejumlah mutan dapat diidentifikasi pada generasi M₂ kedelai Kipas Putih hasil iradiasi sinar gamma. Generasi M₂ adalah generasi yang mengalami segregasi. Keragaman yang terjadi pada generasi ini merupakan akibat dari segregasi gen-gen dalam lokus-lokus yang mengalami mutasi pada generasi M₁. Keragaman yang terjadi akibat dari segregasi gen-gen dari populasi yang mengalami iradiasi yang menyebabkan terjadinya keragaman pada karakter kuantitatif pada generasi M₂ (Van Harten, 1998).

Nilai duga heritabilitas (arti luas) yang diamati pada penelitian generasi M₂ berkisar antara rendah sampai tinggi. Nilai heritabilitas yang tinggi pada karakter tinggi tanaman, jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dan umur berbunga menunjukkan bahwa peranan genetik lebih besar pada penampilan fenotipnya dibandingkan dengan lingkungan. Seleksi untuk perbaikan terhadap karakter-karakter tersebut dapat dilakukan pada generasi selanjutnya.

Nilai duga heritabilitas yang diamati pada populasi generasi M₃ ini berkisar antara 0,02 – 0,89. Hasil penelitian Sulistyono and Yulianti (2012) pada kacang hijau mendapatkan nilai duga heritabilitas yang tinggi berkisar antara 41,30-

88,96%. Hal ini mengindikasikan bahwa kemungkinan pewarisan karakter-karakter yang diamati pada penelitian ini cukup besar sehingga kegiatan seleksi untuk perbaikan sifat-sifat tersebut mudah dilakukan. Karakter umur berbunga, umur panen dan jumlah polong memiliki nilai duga heritabilitas berturut-turut 68,81, 61,79 dan 63,29.

Syukur *et. al.*, (2010) menyatakan bahwa nilai duga heritabilitas perlu diketahui untuk menduga apakah karakter tersebut banyak dipengaruhi oleh lingkungan atau genetik. Nilai heritabilitas yang tinggi menunjukkan bahwa faktor genetik lebih besar pengaruhnya terhadap penampilan fenotipe dibandingkan dengan pengaruh lingkungan. Nilai heritabilitas yang tinggi berperan dalam meningkatkan efektifitas seleksi. Selanjutnya Lestari *et. al.*, (2006) menambahkan bahwa nilai heritabilitas menunjukkan apakah suatu karakter dikendalikan oleh faktor genetik atau faktor lingkungan, sehingga dapat diketahui sejauh mana karakter tersebut dapat diturunkan ke keturunan selanjutnya. Jika nilai heritabilitas tinggi, sebagian besar variasi fenotip disebabkan oleh variasi genetik, maka seleksi akan memperoleh kemajuan genetik (Suprpto, 2007)

Nilai heritabilitas merupakan salah satu parameter genetik yang dipertimbangkan untuk memilih karakter seleksi (Wirnas *et al.*, 2006; Syukur *et al.*, 2010; Yuniarti *et al.*, 2010; Barmawi *et al.*, 2013). Karakter umur berbunga dan umur panen memiliki nilai heritabilitas yang tinggi. Hal ini menandakan bahwa penampilan karakter tersebut kurang dipengaruhi oleh

lingkungan. Seleksi dapat berlangsung lebih efektif pada karakter yang memiliki nilai duga heritabilitas tinggi karena pengaruh lingkungan sangat kecil. Berdasarkan nilai heritabilitas tinggi maka karakter yang dapat dipertimbangkan sebagai karakter seleksi untuk menyeleksi famili terbaik pada tahap penelitian selanjutnya adalah umur berbunga, umur panen, jumlah polong dan bobot biji per tanaman.

Seleksi untuk memperoleh genotipe kedelai yang berumur genjah relatif mudah dilakukan karena memiliki nilai heritabilitas yang tinggi. Sementara untuk perbaikan hasil karakter jumlah polong dan bobot biji per tanaman dapat digunakan sebagai kriteria seleksi. Menurut Rao *et al.*, (2006), jumlah polong per tanaman memiliki nilai duga heritabilitas yang tinggi dan secara langsung berpengaruh terhadap hasil.

Hasil seleksi terhadap karakter umur berbunga pada populasi M₃ menghasilkan perbaikan nilai rata-rata genotipe tertinggi pada populasi iradiasi 200 Gy dengan nilai rata-rata 37,77 HST dari nilai rata-rata populasi dasar 39,29 dan lebih tinggi dibanding populasi kontrol dengan nilai rata-rata 40,20 HST. Hasil seleksi terhadap karakter umur berbunga yang tinggi juga terdapat pada populasi 100 Gy dengan nilai rata-rata 37,90 HST. Mutan kedelai berumur genjah juga telah didapatkan oleh Khan dan Tyagi (2013). Mutan yang berumur genjah menunjukkan pertumbuhan yang normal dengan produktivitas yang cepat. Jumlah polong dan bobot biji per tanaman pada

mutan yang diperoleh juga menunjukkan daya hasil yang lebih tinggi dibanding populasi tetuanya.

Seleksi terhadap karakter bobot biji/tanaman pada populasi M₃ juga menghasilkan nilai rata-rata genotipe terpilih tertinggi pada populasi iradiasi 200 Gy dengan nilai rata-rata 77,22 g dengan nilai rata-rata populasi dasar 52,79 g dan lebih tinggi dibanding populasi Kipas Putih yang bobot bijinya hanya 51,88 g per tanaman. Hanafiah *et. al.* (2015) melakukan seleksi terhadap karakter jumlah polong bernas dari populasi M₃ kedelai Anjasmoro hasil iradiasi sinar gamma pada kondisi optimum. Hasil penelitian menghasilkan nilai rata-rata genotipe terpilih tertinggi pada populasi hasil iradiasi 150 Gy dengan nilai rata-rata 77,6 dari nilai rata-rata populasi dasar 45,2 dan lebih tinggi dibandingkan populasi Argomulyo yang hanya 38,6. Hasil seleksi jumlah polong bernas yang tinggi juga diperoleh dari populasi 200 Gy dengan nilai rata-rata genotipe terpilih mencapai 76,8.

Populasi generasi M₄ terdiri dari 233 galur mutan terpilih hasil seleksi genotipe pada generasi M₃ dari tiga populasi iradiasi sinar gamma. Setelah dilakukan seleksi pada generasi M₄ berdasarkan karakter umur berbunga dan bobot biji per tanaman, diperoleh 118 genotipe mutan putatif kedelai yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. Hasil seleksi menunjukkan terdapat perbaikan nilai rata-rata pada karakter jumlah polong bernas, bobot biji per tanaman dibandingkan varietas asal Kipas Putih, Kipas Merah dan Anjasmoro.

Sedangkan karakter umur berbunga galur mutan terjadi peningkatan dibanding Kipas Putih dan Kipas Merah sedangkan nilai rata-rata karakter umur berbunga dan umur panen dari galur putatif mutan masih berada dibawah nilai rata-rata varietas pembanding Anjasmoro.

Dari 118 genotipe yang di seleksi pada generasi M₄, terdapat 6 genotipe yang memiliki umur berbunga cepat yaitu 36-37 HST (Galur M-1.1.3, M-5.2.1, M-1.1.8, M-2.1.1, M.1.1.9 dan M-2.5.1) dengan umur panen 80-83 HST (Tabel 14). Galur-galur tersebut memiliki umur yang lebih genjah dibanding tetuanya Kipas Putih yang memiliki umur berbunga 41 HST dan umur panen 91,33 HST. Dalam hal ini mutan-mutan tersebut memiliki umur berbunga 4-5 hari lebih genjah dan 8-11 hari lebih cepat umur panen dibanding dengan tetuanya. Bobot biji/tanaman pada genotipe mutan terpilih berumur genjah hasilnya lebih rendah dibanding kontrol (26 g/tanaman) kecuali genotipe M-1.1.8 dengan bobot biji/tanaman yang lebih tinggi dari kontrol yaitu 35,18 g/tanaman. Mutan-mutan tersebut dapat di uji lebih lanjut sebagai kandidat galur unggul berumur genjah dan untuk genotip M-1.1.8 dapat di uji sebagai kandidat galur berumur genjah dan produksi tinggi.

Dari genotipe yang di uji pada generasi M₄ ini juga terdapat 7 genotipe mutan yang memiliki umur berbunga 38-39 HST (1-2 hari lebih cepat dibanding tetuanya) dengan umur panen 87 HST (3 hari lebih genjah). Genotipe genotipe tersebut diantaranya M-7.1.17, M-7.1.4, M-2.2.2, M-7.1.8, M.1.1.10, M-

7.1.7 dan M-5.2.4. Pada genotipe ini terlihat memiliki bobot biji per tanaman yang melebihi bobot biji induknya dengan kisaran 42,1 – 68,68 g/tanaman.

Seleksi terhadap karakter bobot biji per tanaman diperoleh 12 genotipe mutan kedelai yang berdaya hasil tinggi yang di tandai dengan bobot biji per tanaman antara 70, 98 – 85,02 g/tanaman, dibandingkan dengan tetuanya dengan bobot biji 26,12 g/tanamaan. Dalam hal ini maka mutan-mutan tersebut memiliki bobot biji 3 kali lebih banyak dibanding kontrol. Genotipe mutan ini tidak termasuk dalam kelompok mutan yang berumur genjah karena umur berbunganya berkisar antara 40-44 HST dengan umur panen 90-92 HST. Genotipe mutan tersebut diharapkan akan tetap stabil pada uji daya hasil pada generasi M₅.

Dari hasil penelitian ini diperoleh beberapa genotipe mutan yang berumur genjah dan genotipe mutan yang berdaya hasil tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi sinar gamma dapat menyebabkan terjadinya mutasi pada kedelai Kipas Putih. Arwin dan Yuliasti (2016) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma memiliki daya tembus yang sangat kuat sehingga dapat menyebabkan terjadinya perubahan genetik pada tanaman induk. Mutasi yang terjadi dapat bersifat positif maupun negatif sehingga untuk mendapatkan perubahan genetik terhadap karakter yang baik (positif) dapat dilakukan seleksi dan pemurnian pada generasi selanjutnya.

Hasil studi ini sesuai dengan penemuan beberapa peneliti lain diantaranya Arwin (2012), Asadi (2013) dan Arwin dan Yuliasti (2016) yang telah melaporkan adanya galur-galur mutan kedelai yang umur berbunga dan umur panen menjadi lebih genjah. Lestari *et.al.* (2016) melakukan penelitian dengan menguji 970 galur mutan M4 kedelai Baluran dan C11. Mereka mendapatkan kenaikan hasil biji 100-200% pada 158 galur mutan yang diuji dibanding tetuanya. Pada galur C11 juga diperoleh mutan yang umurnya 6 hari lebih genjah dibanding induknya.

Hasil seleksi pada generasi M₅ diperoleh 33 galur mutan putatif yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. Nilai rata-rata galur mutan terpilih pada generasi ini menunjukkan adanya perbaikan terhadap karakter jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman dibanding dengan tetuanya Kipas Putih dan varietas pembandingan Kipas Merah dan Anjasromo.

Mutan-mutan putatif terpilih yang dikelompokkan sebagai kandidat mutan berumur genjah pada generasi ini adalah genotipe M.1.1.3, M.5.2.1, M.1.1.9, M.1.1.7, M.5.2.1 dan M.7.1.17. Ke enam galur terpilih yang berumur genjah ini memiliki bobot biji yang rendah (21,47 g - 47,76 g/tanaman) dengan ukuran biji yang kecil (bobot 100 biji berkisar 9 - 11 g).

Mutan-mutan putatif terpilih yang dikelompokkan sebagai kandidat mutan berdaya hasil tinggi (bobot biji >100 g/tanaman) namun tidak berumur genjah adalah M.1.1.2,

M.2.2.5, M.1.2.9, M. 1.1.8, M.5.1.7, M. 12.1.7, M. 8.1.2.8, M.2.2.1, M.7.1.38, M. 4.2.12 dan M 10.1.14.

Mutan-mutan terpilih yang dikelompokkan sebagai kandidat mutan yang berbiji besar (bobot 100 biji >14 g) tidak berumur genjah adalah M.7.1.7, M.6.2.3, M.3.1.12, M.1.1.8, M.2.1.6, M.8.1.28, dan M.1.1.2. Mutan M.7.1.7 merupakan mutan yang memiliki bobot 100 biji per tanaman yang paling besar yaitu 14,76 g. Mutan ini dapat dijadikan sebagai kandidat galur yang berbiji besar dimana terjadi peningkatan bobot biji sebesar 2,76 g dibanding tetuanya.

Mejaya *et. al* (2010) mengatakan bahwa preferensi terhadap kedelai berumur genjah lebih tinggi daripada berumur dalam karena dapat meningkatkan indeks pertanaman. Di samping itu, kedelai berumur genjah juga dapat digunakan untuk menghindari kegagalan panen akibat cekaman kekeringan karena periode pengisian polong lebih pendek. Lama pengisian polong merupakan periode kritis terjadinya kekeringan yang dapat menurunkan hasil kedelai. Mekanisme semacam ini disebut mekanisme penghindaran (*escape*) yang merupakan salah satu bentuk toleransi tanaman terhadap kekeringan. Dengan demikian, kedelai berumur genjah memiliki risiko kegagalan panen yang lebih rendah dibandingkan dengan kedelai berumur sedang dan dalam. Oleh karena itu, sasaran pembentukan varietas kedelai perlu diarahkan pada umur genjah sekaligus berdaya hasil tinggi.

Varietas Kipas Putih memiliki karakteristik morfologi yang khas yaitu bentuk cabang yang menyerupai kipas dengan jumlah cabang yang banyak (7-8 cabang). Umur berbunga varietas ini adalah 40 HST dengan umur panen 90 HST serta memiliki bobot biji yang sedang (12 g/100 butir). Hasil penelitian pada generasi M₅ menunjukkan bahwa terdapat perubahan karakter agronomi pada galur-galur mutan hasil seleksi dibandingkan varietas asal Kipas Putih. Perubahan karakter agronomi tersebut terdapat pada karakter umur berbunga, umur panen, jumlah polong bernas, dan bobot biji/tanaman dan bobot 100 biji. Ini menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma telah berhasil memperbaiki/merubah karakter yang diinginkan yang berhubungan dengan karakter umur dan peningkatan bobot biji per tanaman.

4.6. Keragaman Agronomi dan Molekuler Mutan-Mutan Putatif Kedelai Hasil Iradiasi Sinar Gamma pada Generasi M₆

Rekapitulasi hasil analisis ragam terhadap karakter tinggi tanaman pada umur 1, 2, 3, 4, 5 MST dan tinggi panen, umur berbunga, umur panen, jumlah cabang, jumlah polong berisi, jumlah polong hampa, bobot 100 biji per tanaman, bobot biji per tanaman, bobot biji per plot dan produksi beberapa galur mutan putatif generasi M₆ serta Kipas Putih dan Anjasmoro disajikan pada Tabel 16.

Tabel 14. Rekapitulasi hasil analisis ragam beberapa karakter agronomi genotipe mutan M6 dengan dua varietas pembanding

Peubah	Faktor	
	Genotipe	KK (%)
Tinggi Tanaman		
1 MST	13,40 **	13,47
2 MST	105,00 **	5,92
3 MST	6,45 **	7,76
4 MST	9,98 **	7,30
5 MST	15,64 **	8,84
Tinggi Panen	9,42 **	7,14
Umur Berbunga	9,08 **	3,33
Umur Panen	18,19 **	1,03
Jumlah Cabang	0,82 ^{tn}	15,70
Jumlah Polong Berisi	10,28 **	18,36
Jumlah Polong Hampa	1,31 ^{tn}	56,54
Bobot 100 Biji Per Tanaman	14,85 **	6,36
Bobot Biji Per Tanaman	7,88 **	17,90
Bobot Biji Per Plot	3,58 *	14,80
Produksi	7,88 **	17,94

Keterangan: tn = Tidak Berbeda Nyata, * = Berpengaruh Nyata, ** = Berpengaruh Sangat Nyata, KK = Koefisien Keragaman, MST = Minggu Setelah Tanam.

Berdasarkan Tabel 16 dapat dilihat bahwa faktor genotipe kedelai yang diuji berpengaruh nyata sampai sangat nyata terhadap semua karakter yang diamati kecuali jumlah cabang dan jumlah polong hampa. Rincian pengaruh dan perbedaan karakter pada setiap genotipe akan dijelaskan secara jelas pada bagian selanjutnya.

1. Karakter Tinggi Tanaman (cm)

Genotipe (G)	Tinggi Tanaman (cm)					Tinggi Panen
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST	5 MST	
G1	4,16 d	11,22 de	25,55 c	37,22 cd	46,61 cd	81,11 cd
G2	4,27 cd	10,83 de	25,88 c	39,33 cd	52,94 bcd	90,39 bc
G3	4,55 cd	11,94 cd	26,88 c	39,61 cd	52,00 bcd	88,66 bc
G4	4,16 d	10,14 e	26,54 c	37,83 d 35,39	46,63 cd	82,33 cd
G5	4,27 cd	11,00 de	24,61 c	42,27 cd	45,05 d	73,94 d 89,89
G6	5,50 bc	12,83 c	28,33 bc	bc	54,61 bc	bc 110,50
G7	8,33 a	24,43 a	33,61 a	52,49 a	79,16 a	a 99,66
G8	6,28 b	15,72 b	31,72 ab	45,05 b	58,66 b	ab

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata pada karakter tinggi tanaman, umur 1, 2, 3, 4, 5 MST dan tinggi panen beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya. Hasil uji lanjut terhadap rata-rata tinggi tanaman pada beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 15. Pengaruh beberapa genotipe kedelai terhadap karakter tinggi tanaman

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5 %.

Tabel 17 menunjukkan bahwa tanaman tertinggi djumpai pada genotipe G7 (Kipas Putih) pada setiap umur pengamatan, dengan tinggi saat panen mencapai 110,50 cm yang tidak berbeda nyata dengan tinggi genotipe G8 (Anjasmoro) dengan

tinggi saat panen 99,66 cm. Selanjutnya diikuti oleh G2, G6 dan G3, G4 dan G1, sedangkan tinggi saat panen yang terendah terdapat pada genotipe G5 dengan tinggi hanya 73,94 cm yang tidak berbeda nyata dengan tinggi G4 dan G1.

Pada galur-galur mutan hasil iradiasi sinar gamma hasil seleksi pada generasi sebelumnya yang diuji tetap menampilkan adanya penurunan tinggi tanaman dibanding tetuanya Kipas Putih. Pengurangan tinggi tanaman akibat perlakuan iradiasi sinar gamma pada tanaman telah banyak ditemukan oleh peneliti sebelumnya. Yadaf et. al (2019) mendapatkan bahwa jagung genotipe HQGM-1 yang diradiasi pada beberapa dosis iradiasi menunjukkan pengurangan tinggi tanaman sebesar 56% pada dosis iradiasi 0,5 kGy.

Jika dibandingkan penanaman pada generasi sebelumnya (generasi M₅), tinggi tanaman galur yang diuji ini berkisar antara 39 – 59 cm yang berarti lebih pendek tingginya dibanding penanaman pada generasi M₆ ini. Hal ini disebabkan karena perbedaan lokasi dan musim tanam yang berbeda. Tinggi tanaman termasuk kedalam karakter kuantitatif yang sangat dipengaruhi oleh lingkungan.

2. Umur Berbunga, Umur Panen (HST) dan Jumlah Cabang

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata pada karakter umur berbunga dan umur panen beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya. Hasil analisis ragam menunjukkan tidak

terdapat pengaruh yang nyata pada karakter jumlah cabang beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya. Hasil uji lanjut terhadap rata-rata umur berbunga, umur panen dan jumlah cabang pada beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 16. Pengaruh beberapa genotipr kedelai terhadap karakter umur berbunga, umur panen dan jumlah cabang

Genotipe (G)	Umur Berbunga (HST)	Umur Panen (HST)	Jumlah Cabang (cabang)
G1 (M.1.1.3)	42,11 a	83,89 bcd	5,99 a
G2 (M.5.2.1)	41,00 a	83,72 bcd	6,11 a
G3 (M.5.2.3)	42,77 a	84,61 b 84,44	6,33 a
G4 (M.1.1.8)	41,89 a	bc 83,05	6,75 a
G5 (M.1.1.9)	42,72 a	cd	6,94 a
G6 (M.7.1.17)	42,66 a	84,78 b	5,72 a
G7 (Kipas Putih)	41,11 a	89,66 a	5,94 a
G8 (Anjasmoro)	35,55 b	82,83 d	5,44 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5 %.

Umur berbunga paling lama terdapat pada genotipe mutan G3 dengan umur berbunga 42,77 HST yang tidak berbeda nyata dengan genotype mutan lainnya serta tetuanya varietas kipas putih. Umur berbunga paling cepat terdapat pada genotipe G8 (Anjasmoro) yang mulai berbunga pada umur 35,55 HST. Hasil penelitian pada generasi ini memperlihatkan adanya

ketidakstabilan penampilan terhadap karakter umur berbunga dibandingkan dengan penanaman galur-galur ini pada generasi sebelumnya. Nilahayati (2018) menemukan bahwa pada generasi M5 galur G1, G2, G3 dan G5 merupakan galur hasil seleksi berdasarkan kriteria umur berbunga yang lebih cepat dibanding galur lainnya dengan umur berbunga pada 36 – 37 HST.

Umur panen paling lama terdapat pada genotype G7 (kipas putih) dengan umur panen 89.66 HST, yang berbeda nyata dengan umur panen genotype G6, G3 dan G4. Umur panen paling genjah terdapat pada genotype G8 (Anjasmoro) dengan umur panen 82,83 HST yang tidak berbeda nyata dengan umur panen G1, G2 dan G5 dengan umur panen berturut-turut adalah 83,89 HST, 83.72 HST dan 83,05 HST. Jika dibandingkan dengan generasi sebelumnya, genotype galur mutan G1, G2 dan G3 menunjukkan umur panen yang tetap masih genjah. Mutan-mutan ini bisa disebut sebagai mutan yang solid terhadap umur panen karena memberikan kestabilan dalam karakter umur panen yang genjah pada beberapa generasi penanaman.

Menurut Adie dan Krisnawati (2007), umur panen di Indonesia terbagi atas tiga golongan yaitu varietas berumur genjah (78 – 85 hari), sedang (86 – 95 hari), dan dalam (>95 hari). Berdasarkan pengelompokan tersebut, umur panen 3 genotype mutan yang diuji yaitu G1, G2 dan G3 memiliki rata - rata umur panen 83 HST sehingga dikategorikan sebagai kedelai berumur genjah (78 - 85 hari).

Sa'adiyah et. al. (2016) melakukan persilangan kedelai Wilis dengan Galur Mlg 2521. Hasil penelitian pada generasi F5 mereka mendapatkan beberapa genotype yang memiliki waktu berbunga lebih awal dari Wilis tetapi tidak lebih cepat dibandingkan Mlg 2521, sedangkan pada karakter umur panen seluruh genotype yang diuji memiliki waktu panen lebih cepat dibandingkan Wilis dan Mlg 2521.

Menurut Mejaya *et. al* (2010) mengatakan bahwa preferensi terhadap kedelai berumur genjah lebih tinggi daripada berumur dalam karena dapat meningkatkan indeks pertanaman. Hal ini dapat pula digunakan untuk menghindari terjadinya gagal panen akibat dari cekaman kekeringan dikarenakan massa pengisian polong menjadi lebih singkat. Lamanya waktu pengisian polong menjadi periode yang paling kritis dan rentan jika terjadi musim kemarau panjang. Ketika memasuki musim kemarau saat bersamaan juga terjadi fase pengisian polong maka hal tersebut dapat menghambat kegiatan metabolisme tanaman sehingga dikhawatirkan akan menurunkan hasil produksi.

3. Jumlah Polong Bernas, Jumlah Polong Hampa dan Bobot 100 Biji

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata pada karakter jumlah polong bernas dan bobot 100 biji beberapa genotype M₆ dan dua varietas pembandingnya. Hasil analisis ragam menunjukkan tidak terdapat pengaruh yang nyata pada karakter jumlah polong

hampa beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya. Hasil uji lanjut terhadap rata-rata jumlah polong bernas dan bobot 100 biji pada beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 17. Pengaruh beberapa genotipe kedelai terhadap karakter jumlah polong bernas, jumlah polong hampa dan bobot 100 biji

Genotipe (G)	Jumlah Polong Bernas (polong)	Jumlah Polong Hampa (polong)	Bobot 100 Biji (g)
G1 (M.1.1.3)	97,05 c	19,11 a	11,79 d
G2 (M.5.2.1)	154,33 b	12,11 a	13,52 bc
G3 (M.5.2.3)	154,45 b	8,55 a	14,08 b
G4 (M.1.1.8)	217,33 a	17,45 a	12,55 cd
G5 (M.1.1.9)	145,17 bc	12,49 a	11,82 d
G6 (M.7.1.17)	106,89 bc	12,66 a	13,95 bc
G7 (Kipas Putih)	239,89 a	4,33 a	11,68 d
G8 (Anjasmoro)	109,00 bc	12,77 a	17,34 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5 %.

Tabel 19 menunjukkan bahwa jumlah polong bernas paling banyak terdapat pada varietas Kipas putih yang berjumlah 239,89 polong, yang tidak berbeda nyata dengan galur G4 dengan jumlah polong 217,33 polong. Jumlah polong paling sedikit diperoleh pada galur G1 dengan hanya memiliki 97,05 polong yang tidak berbeda nyata dengan galur G5, G6 dan varietas pembanding Anjasmoro.

Dari hasil pengujian hanya terdapat satu genotip mutan putative yang memiliki jumlah polong yang sama dengan tetuanya Kipas Putih yaitu genotype M.1.1.8 (G4). Tidak terdapat genotype yang jumlah polongnya melebihi jumlah polong tetua. Genotipe M.1.1.8 pada pengujian generasi sebelumnya (M5) memiliki jumlah polong paling banyak dibanding dengan genotype lainnya yaitu dengan rata-rata mencapai 500 polong (dua kali lipat dibanding jumlah polong tetuanya). Pada penanaman generasi M6 ini terjadi penurunan jumlah rata-rata polong bernas mungkin disebabkan karena lokasi dan musim penanaman yang berbeda. Gardner et. al. (1991) menyatakan bahwa pada saat pengisian polong, maka polong akan menjadi daerah penyaluran asimilasi. Sebagian besar asimilasi akan digunakan untuk meningkatkan bobot biji. Pembentukan polong tergantung pada tingkat kelembaban tanah yang tinggi dan penyediaan unsur hara.

Bobot 100 biji paling besar terdapat pada varietas anjasmoro sebesar 17.34 g/100 biji. Bobot 100 biji terkecil terdapat pada galur G1 dengan bobot 11,79 g yang tidak berbeda nyata dengan varietas Kipas Putih, galur G5 dan G4 yang memiliki bobot 100 biji berturut-turut 11,68 g, 11,82 g dan 12,55 g. Galur mutan yang memiliki peningkatan ukuran biji dibanding tetuanya pada penanaman generasi M₆ ini adalah galur G3 yang meningkat 2 g/100 biji. Galur G3 ini pada penanaman generasi M₅ sebelumnya menunjukkan ukuran biji yang kecil hanya 10,21 g/100 biji. Hal ini menunjukkan bahwa ukuran biji yang

meningkat lebih dipengaruhi oleh perbedaan lingkungan penanaman.

Menurut Adisarwanto (1997), bahwa berat biji 100 butir digunakan dalam menentukan ukuran benih kedelai. Ukuran biji kedelai dikelompokkan dalam tiga kelompok, yaitu biji berukuran kecil (6 - 12 g), biji berukuran sedang (12 - 14 g), dan biji berukuran besar (lebih dari 14 g). Berdasarkan kriteria tersebut maka galur mutan putative pada penelitian ini yang memiliki ukuran biji kecil dan biji ukuran sedang, tidak berbeda dengan tetuanya Kipas Putih. Sedangkan varietas pembanding yaitu Anjasmoro yang merupakan varietas kedelai berbiji besar dengan bobot 100 biji 17 g yang sesuai dengan deskripsi varietasnya.

4. Bobot Biji/Tanaman, Bobot Biji/Plot dan Produksi/ha

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata sampai sangat nyata pada karakter bobot biji/tanaman, bobot biji/plot dan produksi beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya. Hasil uji lanjut terhadap rata-rata bobot biji/tanaman, bobot biji/plot dan produksi/hektar pada beberapa genotipe M₆ dan dua varietas pembandingnya dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 18. Pengaruh beberapa genotipe kedelai terhadap karakter bobot biji/tanaman, bobot biji/plot dan produksi

Genotipe (G)	Bobot Biji Per Tanaman (g)	Bobot Biji Per Plot (g)	Produksi (ton/ha)
--------------	----------------------------------	-------------------------------	----------------------

G1 (M.1.1.3)	18,25 c	326,13 bc	2,05 c
G2 (M.5.2.1)	28,91 b	407,66 ab	3,25 b
G3 (M.5.2.3)	28,93 b	409,13 ab	3,25 b
G4 (M.1.1.8)	38,84 a	364,80 bc	4,37 a
G5 (M.1.1.9)	25,47 bc	322,48 bc	2,86 bc
G6 (M.7.1.17)	19,43 c	303,00 c	2,18 c
G7 (Kipas Putih)	42,25 a	489,30 a	4,75 a
G8 (Anjasmoro)	28,96 b	391,82 abc	3,26 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5 %.

Tabel 20 memperlihatkan bahwa bobot biji per tanaman dan produksi per hektar yang paling tinggi terdapat pada varietas Kipas Putih dengan bobot biji 42,25 g dan produksi 4,75 ton/ha , yang tidak berbeda nyata dengan bobot biji galur M4 yaitu 38.84 g/tanaman dan produksi 4,37 ton/ha . Bobot biji dan produksi paling rendah terdapat pada galur G1 dengan bobot biji hanya 18,25 g dan produksi 2,05 ton/ha yang tidak berbeda nyata dengan G6 dan G5. Pada galur G5 bobot biji per tanaman yang rendah disebabkan karena banyak terdapat polong yang berisi tetapi biji yang dihasilkan tidak bagus seperti bentuk biji yang kecil dan mengkerut.

Untuk data pengukuran bobot biji per plot terlihat bahwa bobot biji/plot paling tinggi terdapat pada varietas Kipas Putih

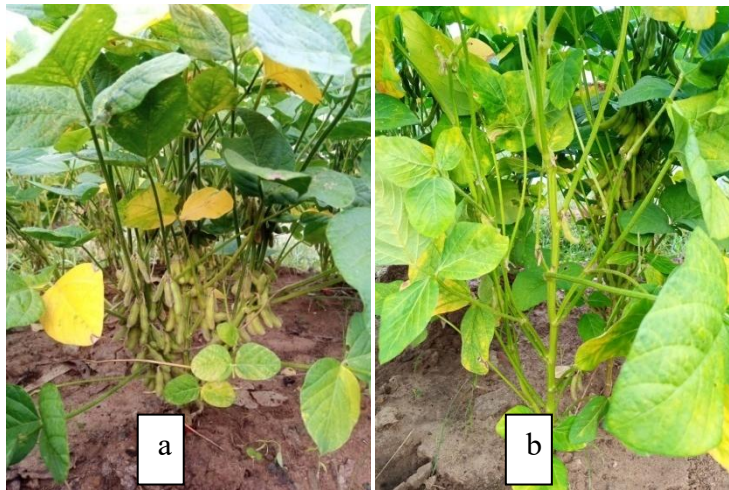
yaitu 489,30 g yang tidak berbeda nyata dengan G3, G2 dan G8. Bobot biji per plot paling rendah terdapat pada galur G6 yaitu 303 g/plot. Pada bobot biji/tanaman galur G4 terdapat penurunan bobot biji/plot disebabkan karena jumlah tanaman per plot yang berhasil tumbuh pada galur ini hanya 50% dari jumlah tanaman keseluruhan. Dari 24 tanaman per plot benih yang berhasil tumbuh hanya 12 tanaman per plot sehingga terjadi penurunan pada bobot biji/plot dibanding data bobot biji/tanaman.

Tabel 19. Nilai ragam genetik, ragam fenotipe, heritabilitas beberapa genotipe mutan generasi M6 dan varietas pembandingan

Karakter	Heritabilitas			
	σ^2g	σ^2p	nilai	kriteria
Tinggi Tanaman (cm)	116,15	157,54	0.73	tinggi
Jumlah Cabang (cabang)	0,17	0,76	0.22	rendah
Umur Berbunga (hari)	5,10	6,99	0.72	tinggi
Umur Panen (hari)	4,38	5,14	0.85	tinggi
Jumlah Polong (polong)	2443	3233	0.75	tinggi
Jumlah Polong hampa	4,88	54,84	0,08	rendah
Bobot Biji Per Tanaman (g)	61,37	88,12	0,69	tinggi
Bobot 100 Biji (g)	3,33	4,05	0,82	tinggi
Bobot Biji Per Plot (g)	2675	5786	0,46	sedang
Produksi/ha (ton)	0,78	1,11	0,70	tinggi

Tabel 21 menunjukkan nilai duga heritabilitas pada penanaman generasi M6 ini berkisar antara 0.22 – 0,85 dengan kriteria rendah, sedang sampai tinggi. Nilai heritabilitas yang tinggi terdapat pada karakter tinggi tanaman, umur berbunga, umur panen, jumlah polong, bobot biji/tanaman, bobot 100 biji dan produksi/ha. Tingginya nilai heritabilitas dari karakter yang diamati menunjukkan bahwa faktor genetik sangat berpengaruh terhadap penampilan fenotipe tanaman.

Pada penanaman tahap ini, masih ditemui mutan steril salah satu jenisnya yaitu *full sterility* mutant. Berdasarkan pengamatan di lapangan, tanaman *full sterility* memperlihatkan pertumbuhan vegetatif yang normal hingga akhir fase vegetatif, namun ketika memasuki fase pembungaan tanaman tidak berhasil mengeluarkan bunga dan otomatis tidak akan ada polong dan biji. Menurut Bione *et, al.*, (2002) mutasi menginduksi sterilitas pada kedelai disebabkan oleh degenerasi sel generatif pollen pada Meosis II yang menghasilkan viabilitas pollen yang rendah. Tanaman ini menunjukkan perbedaan pertumbuhan ketika mencapai umur panen yaitu daun yang lebih cepat menguning dan lama kelamaan daun menjadi layu dan rontok. Beberapa ciri kelainan yang lainnya pada tanaman *full sterility* yang terlihat yaitu jumlah cabang dan jumlah daun yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan tanaman yang lain, tanaman ini ditemukan pada galur G1 (M.1.1.3).

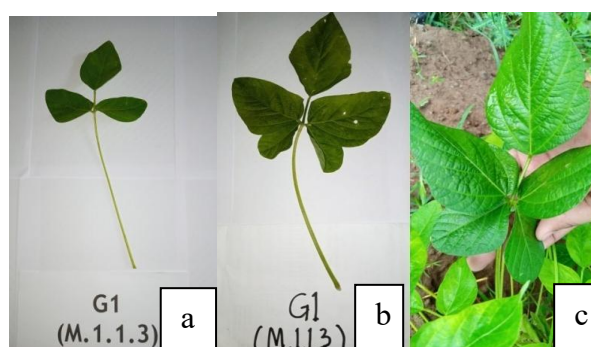


**Gambar 10. Tanaman normal dan steril pada generasi M6
a. Tanaman normal b. Tanaman *full sterility***

Nilahayati (2018) melaporkan bahwa tanaman *full sterility* menunjukkan pertumbuhan vegetatif yang normal namun tidak berhasil mengeluarkan bunga apalagi polong dan biji. Namun pada pengujian galur generasi M6 yang telah dilakukan hanya terdapat 1 tanaman *full sterility* dari keseluruhan populasi yang dibudidayakan seperti yang terlihat pada Gambar 10. Pada saat memasuki fase pembungaan, tanaman ini memperlihatkan kemunculan beberapa bakal calon bunga namun dalam 2 hari mengalami gugur sehingga calon bunga tidak dapat tumbuh.

Berdasarkan pengamatan di lapangan ditemukan daun yang mengalami mutasi morfologi bentuk daun tipe *pentafoliate*. Pada tanaman yang daunnya mengalami mutasi tidak ditemukan pengaruh yang berarti yang dapat menghambat pertumbuhan ataupun meningkatkan produktivitas tanaman. Diantara semua galur yang diamati terlihat hanya terdapat 1 tangkai daun

yang mengalami mutasi morfologi terhadap bentuk daun tipe *pentafoliate* dan ditemukan pada tanaman galur G1 (M.1.1.3).



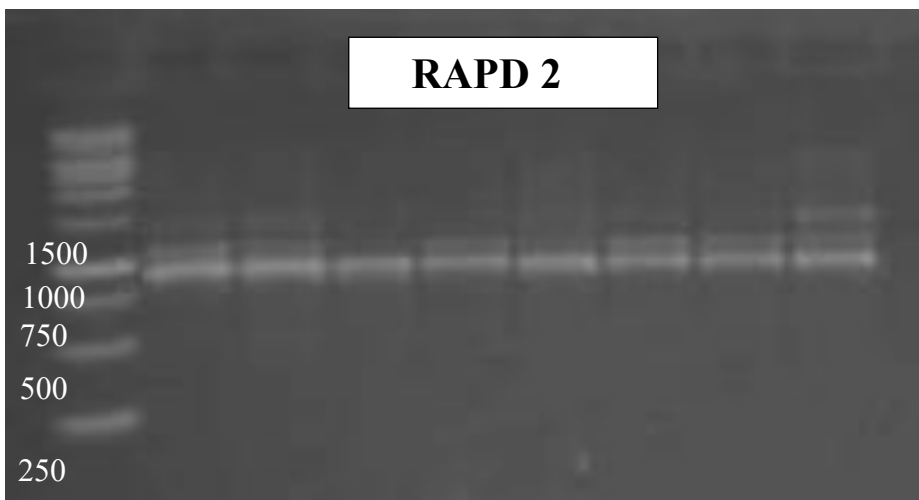
Gambar 11. Mutan bentuk daun pada generasi M₆. a. Daun Normal, b&c. Daun *Pentafoliate*

Mutasi morfologi bentuk daun yang terjadi tidak menunjukkan adanya gangguan terhadap fase awal vegetatif hingga fase panen. Berdasarkan pada hasil penelitian sebelumnya Nilahayati (2018) mendapatkan hasil bahwa terdapat berbagai tipe mutasi morfologi pada galur yang diuji seperti *unifoliate*, *bifoliate*, *quadrifoliate*, *pentafoliate*, *narrow rugose leaflet*, *wrinkled leaf*, *undeveloped rasim flower*, *half sterility* dan *full sterility* banyak terdapat pada populasi yang diberi perlakuan iradiasi sinar gamma. Namun, pada penelitian generasi M₆ yang telah dilakukan hanya terdapat mutasi morfologi tanaman *full sterility* dan mutasi morfologi bentuk daun tipe *pentafoliate* seperti yang terlihat pada Gambar 11.

Hasil analisis DNA dengan menggunakan 4 primer yaitu RAPD 2, RAPD 3, RAPD 4 dan RAPD 5 dapat dilihat pada Gambar 12, 13, 14 dan 15. Hasil analisis terhadap penampilan pola pita tersebut menunjukkan adanya pola pita yang polimorfik (Primer

RAPD 2, RAPD 3 dan RAPD 5 dan monomorfik (RAPD 4). Tabel 22 memperlihatkan pita-pita hasil amplifikasi DNA mutan-mutan dengan tetuanya yang bersifat polimorfik terdapat pada primer RAPD 2 (pita 1500 bp dan 1400 bp), primer RAPD 3 (pita 1000 bp) dan primer RAPD 5 (pita 1.000 bp, 900 bp, 550 dan 450 bp).

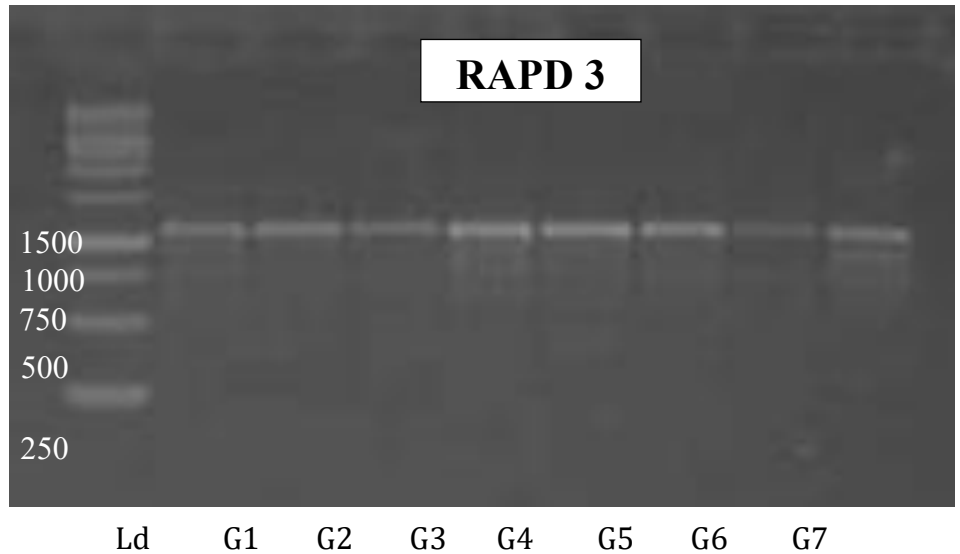
Perbedaan antara mutan-mutan dengan tetua yaitu pada primer RAPD 2 (pita 1400 bp), tetua memiliki pita-pita tersebut tetapi pada mutan G3 dan G5 pita-pita tersebut ada. Primer RAPD 5 (pita 1000 bp, 550 bp) tetua memiliki pita-pita tersebut tetapi pada mutan G1 dan G4 pita tersebut tidak ada. Hal ini menunjukkan sehingga bahwa mutan-mutan G1, G3, G4 dan G5 tersebut mempunyai keragaman genetik yang berbeda dari tetuanya. Menurut Van Harten (1998) dan Mudibu et al. (2012) sinar gamma menghasilkan electron bebas yang bersifat radikal sehingga mengakibatkan kerusakan sel yang dapat merubah morfologi tanaman menjadi berbeda dengan tetuanya



Ld G1 G2 G3 G4 G5 G6 G7
G8

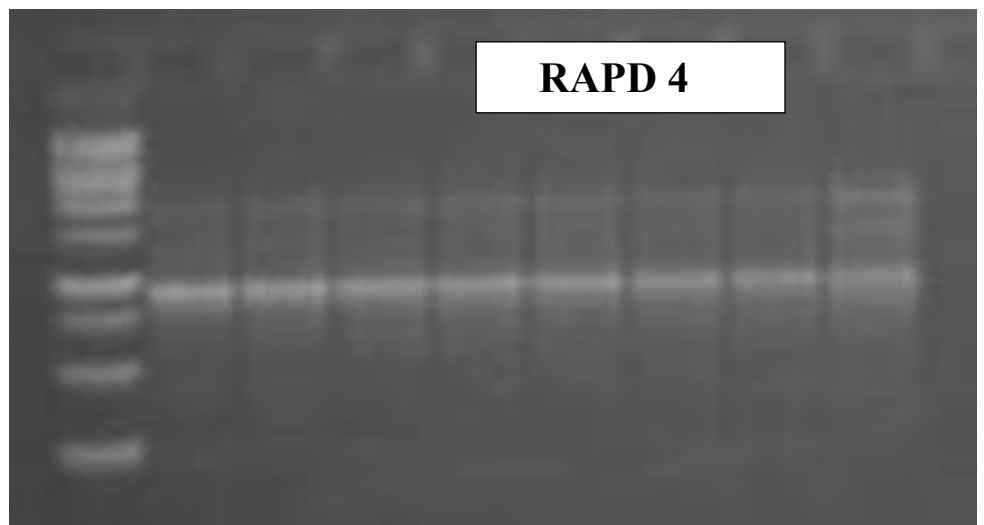
Gambar 12. Pola pita DNA hasil analisis RAPD menggunakan Primer RAPD 2

Ld: DNA ladder, G1: Mutan M.1.1.3, G2: Mutan M.5.2.1, G3: Mutan M.5.2.3, G4: Mutan M.1.1.8, G5: Mutan M.1.1.9, G6: Mutan M.7.1.17, G7: Tetua Kipas Putih, G8: Pemanding Anjasmoro



Gambar 13. Penampilan pola pita hasil analisis RAPD dengan menggunakan Primer RAPD 3

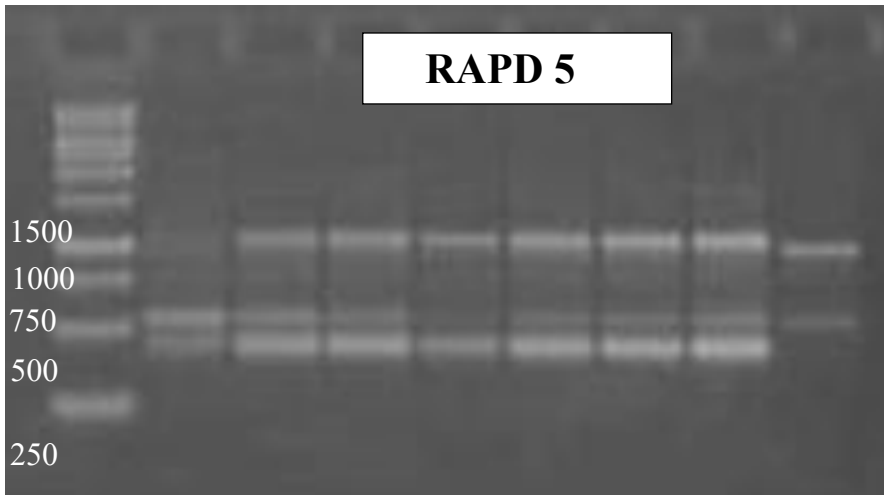
Ld: DNA ladder, G1: Mutan M.1.1.3, G2: Mutan M.5.2.1, G3: Mutan M.5.2.3, G4: Mutan M.1.1.8, G5: Mutan M.1.1.9, G6: Mutan M.7.1.17, G7: Tetua Kipas Putih, G8: Pemanding Anjasmoro



Ld G1 G2 G3 G4 G5 G6 G7
G8

Gambar 14. Pola pita DNA hasil analisis RAPD dengan menggunakan Primer RAPD 4

Ld: DNA ladder, G1: Mutan M.1.1.3, G2: Mutan M.5.2.1, G3: Mutan M.5.2.3, G4: Mutan M.1.1.8, G5: Mutan M.1.1.9, G6: Mutan M.7.1.17, G7: Tetua Kipas Putih, G8: Pemanding Anjasmoro



Ld G1 G2 G3 G4 G5 G6 G7
G8

Gambar 15. Pola pita DNA hasil analisis RAPD dengan menggunakan Primer RAPD 5

Ld: DNA ladder, G1: Mutan M.1.1.3, G2: Mutan M.5.2.1, G3: Mutan M.5.2.3, G4: Mutan M.1.1.8, G5: Mutan M.1.1.9, G6: Mutan M.7.1.17, G7: Tetua Kipas Putih, G8: Pemanding Anjasmoro

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah suatu sistem deteksi molekuler yang berbasis PCR, salah satu teknik molekuler untuk mendeteksi keragaman DNA didasarkan pada

penggandaan DNA. RAPD merupakan penanda DNA yang memanfaatkan primer acak oligonukleotida pendek (dekamer) untuk mengamplifikasi DNA genom organisme (Sharma et al. 2008).

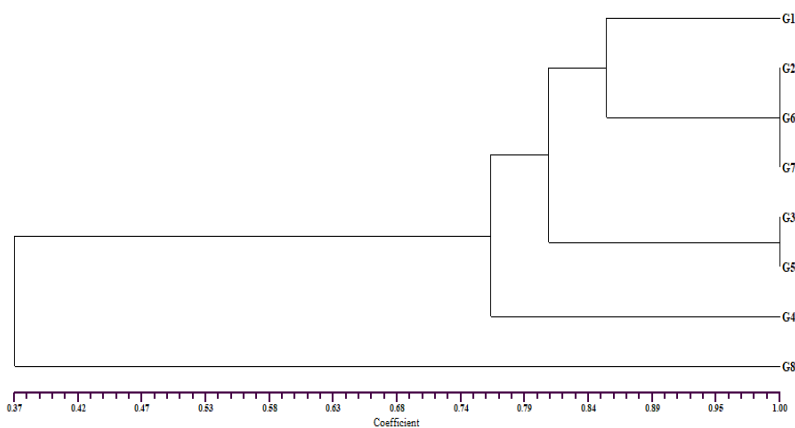
Tabel 20. Lokus hasil amplifikasi polimorfik antara genotipe tetua, pembanding dan enam genotipe mutan kedelai hasil iradiasi gamma

Primer	Ukuran lokus	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
RAPD-2	1500	-	-	-	-	-	-	-	+
	1400	+	+	-	+	-	+	+	+
RAPD-3	1000	-	-	-	-	-	-	-	+
RAPD-5	1000	-	+	+	+	+	+	+	-
	900	-	-	-	-	-	-	-	+
	550	+	+	+	-	+	+	+	+
	450	+	+	+	+	+	+	+	-

Amplifikasi DNA tergantung dari kecocokan primer dengan sekuen DNA kedelai mutan. Primer yang tidak sesuai dengan sekuen DNA kedelai tidak menghasilkan produk amplifikasi. Hal ini disebabkan karena tidak terdapat situs yang komplementer pada DNA kedelai dengan sekuen primer tersebut. Menurut Yuwono (2006), primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi.

Hasil analisis cluster genotype kedelai yang diuji berdasarkan penanda molekuler RAPD (Gambar 16)

menunjukkan bahwa 8 genotipe kedelai dibagi kedalam dua kelompok utama yaitu kelompok 1 (varietas anjasmoro) dan kelompok 2 (varietas Kipas putih dan 6 genotipe mutan putative hasil iradiasi sinar gamma). Varietas anjasmoro dan varietas Kipas Putih serta genotype mutan memiliki jarak kekerabatan genetik yang sangat jauh dengan nilai koefisien kemiripan pada 0,37. Pada kelompok 2, terlihat persentase kemiripan antara tetua Kipas Putih dengan mutannya yang paling jauh adalah mutan M.1.1.8 dengan koefisien kemiripan 0,76, mutan M.5.2.3 dan M.1.1.9 dengan koefisien kemiripan 0.80 dan mutan M.1.1.3 dengan koefisien kemiripan 0,85. Sedangkan mutan M.5.2.1 dan M.7.1.17 memiliki koefisien kemiripan 1,00 yang berarti tidak terdapat perbedaan genetic dengan tetuanya.



Gambar 16. Hasil analisis hubungan kekerabatan antara 8 genotipe kedelai dengan menggunakan program NTSys

BAB 5

TEKNIK MUTASI DENGAN ETHYL METHANE SULFONATE PADA KEDELAI

Teknik induksi mutasi dengan menggunakan mutagen EMS dilakukan dengan tiga tahap yaitu tahap 1, penentuan dosis LD50 mutagen EMS pada kedelai Gepak Kuning. Tahap 2, induksi keragaman genetik kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 dengan mutagen EMS (Generasi M₁) dan tahap 3, keragaman karakter morfologi dan agronomi generasi M₂ hasil induksi mutagen EMS pada kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3.

5.1. Penentuan *Lethal Dose 50* (LD 50) Mutagen EMS pada Kedelai Gepak Kuning

5.1.1. Pelaksanaan

Penentuan LD50 bertujuan untuk menetapkan dosis LD50 yaitu dosis yang menyebabkan 50% populasi mengalami kematian akibat respon pemberian mutagen EMS pada benih kedelai Gepak Kuning. Konsentrasi EMS yang digunakan adalah 0%, 0.025%, 0.05%, 0,1%, 0,3%, 0,5% dan 1% dengan lama perendaman 4 jam. Konsentrasi EMS 0% dilakukan sebagai perlakuan kontrol. Masing-masing perlakuan terdiri dari 30 benih kedelai sehingga jumlah keseluruhan benih adalah 210 benih. Media tanam bak perkecambahan adalah tanah:pasir:pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1. Benih

yang telah ditanam disiram setiap hari untuk menjaga kelembaban tanah.

5.1.2. Pengamatan

1. Persentase daya tumbuh (%)

Daya tumbuh benih dihitung pada umur 2 minggu setelah tanam (MST). Perhitungannya dilakukan dengan membagi jumlah seluruh benih yang tumbuh setelah diberi mutagen EMS dengan seluruh benih yang diberikan mutagen EMS kemudian dikalikan dengan 100%.

2. Tinggi kecambah (cm)

Tinggi kecambah diukur dengan meteran dihitung dari pangkal akar sampai ujung bibit.

5.1.3. Analisis Data

Data persentase daya tumbuh digunakan untuk menentukan nilai *lethal Dose 50* (LD 50) yang dianalisis dengan program *Curve-fit Analysis*. Program ini merupakan suatu program untuk menentukan model persamaan yang terbaik untuk persentase daya tumbuh dari suatu populasi.

5.2. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 dengan Mutagen EMS pada Generasi M₁

5.2.1. Tempat pelaksanaan

Penanaman benih generasi M₁ dilaksanakan di Desa Tambon Baroh, Kecamatan Dewantara, Kabupaten Aceh Utara dengan ketinggian 11 m dpl. Penelitian dilaksanakan mulai Juni 2023 sampai dengan Agustus 2023.

5.2.2. Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah benih kedelai varietas Gepak Kuning, EMS, aquades, buffer phosphate pH 7. Sarana produksi pertanian yang digunakan yaitu pupuk Urea 50 kg/ha, SP-36 150 kg/ha, KCl 100 kg/ha, pupuk kandang 3 ton/ha, Decis 25 EC dan Dithane-M45.

5.2.3. Metode Penelitian

Konsentrasi mutagen EMS yang digunakan adalah empat taraf yaitu 0 %, 0,05%, 0,07% dan 0,1%. Benih kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 direndam dalam larutan EMS sehingga membentuk 8 populasi. Pada setiap perlakuan terdiri dari 150 benih kemudian segera di tanam pada generasi M₁.

5.2.4. Pelaksanaan

1. Pembuatan Larutan Mutagen EMS

Pembuatan larutan EMS dilakukan dengan mencampurkan 1 M buffer fosfat pH 7 . Selanjutnya dibuat larutan dengan konsentrasi 0,05%, 0,07% dan 0,1 % dengan cara mengambil 0,05 ml, 0,07 ml dan 0,1 ml EMS dan masing-masing konsentrasi dijadikan 100 ml dengan menggunakan buffer fosfat pH 7.

2. Persiapan Lahan

Areal pertanaman yang akan digunakan dibersihkan dari gulma yang tumbuh di areal tersebut. Kemudian dibuat 4 petak percobaan dengan ukuran masing-masing 2.20 m x 1.80 m. Dibuat parit drainase dengan jarak antar petak 50 cm. Pengolahan tanah dilakukan secara manual dan dilakukan 2 minggu sebelum penanaman.

3. Penanaman Benih

Benih kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 yang sudah direndam dalam larutan EMS sesuai dengan konsentrasi perlakuan segera ditanam di lapangan. Sebanyak 150 benih (M_1) pada masing-masing perlakuan konsentrasi EMS ditanam dengan jarak tanam $40 \times 20 \text{ cm}^2$ dan satu biji per lubang tanam. Total keseluruhan tanaman pada generasi pertama adalah 1200 tanaman.

4. Pemeliharaan Tanaman

Penyiraman dilakukan sesuai dengan kondisi di lapangan. Penyiraman dilakukan pada pagi atau sore hari. Apabila terjadi hujan maka tanaman tidak disiram. Penyiangan\gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang ada di plot, untuk menghindari persaingan dalam mendapatkan unsur hara dari dalam tanah. Penyiangan dilakukan sesuai dengan kondisi lapangan. Agar tanaman tidak mudah rebah dan berdiri tegak serta kokoh, pembumbunan dilakukan dengan cara membuat gundukan tanah disekeliling tanaman. Pembumbunan dilakukan pada saat tanaman berumur 2 MST.

5. Panen

Pemanenan dilakukan dengan cara mencabut batang tanaman tersebut dengan tangan. Adapun kriteria panennya adalah sebagian besar daun telah menguning dan gugur, kulit polong sudah berwarna kuning kecoklatan.

Pengamatan

Karakter-karakter yang diamati pada M_1 meliputi:

3 Tinggi tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dari pangkal batang sampai titik tumbuh dengan menggunakan meteran. Pengamatan tinggi tanaman dilakukan pada saat panen.

4 Umur berbunga (HST)

Umur berbunga dihitung saat bunga pertama sudah muncul dalam satu tanaman pada setiap plot percobaan.

5 Jumlah polong bernas per tanaman (polong)

Jumlah polong per tanaman dapat diketahui dengan menghitung semua polong berisi yang terbentuk pada setiap tanaman sampel. Perhitungan dilakukan pada saat panen.

6 Jumlah biji pertanaman (biji)

Perhitungan dilakukan pada saat panen. Untuk mengetahui jumlah biji pada tiap tanaman sampel dilakukan dengan membuka/mengupas tiap polong lalu dihitung semua biji yang ada pada polong tersebut.

7 Bobot biji kering per tanaman (g)

Pengamatan ini dilakukan setelah biji kedelai dikeringkan dengan kadar air 14%, pengeringan dilakukan dengan cara menjemur biji dibawah sinar matahari selama 3 hari, kemudian biji per tanaman ditimbang.

8 Umur panen (HST)

Pengamatan umur panen dihitung ketika tanaman telah mencapai warna polong matang 95% yang ditandai dengan warna kecoklatan pada polong.

Analisis Data

Data dianalisis dengan menghitung rata-rata dari setiap karakter kuantitatif yang diamati. Uji t dilakukan untuk menguji perbedaan di antara perlakuan kontrol dengan perlakuan konsentrasi mutagen EMS.

5.3. Keragaman Karakter Morfologi dan Agronomi Generasi M₂ Hasil Induksi Mutagen EMS pada Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3

Pada generasi M₁, tiap tanaman pada masing-masing konsentrasi perlakuan EMS, dipanen dan diambil 5 polong per tanaman untuk ditanam sebagai generasi M₂. Benih-benih (M₂) pada masing-masing perlakuan konsentrasi EMS ditanam dengan jarak tanam 40 x 20 cm² dan satu biji per lubang tanam. Pengolahan tanah sampai siap tanam dilakukan dua minggu sebelum tanam. Tanaman diberi pupuk dasar dengan dosis 50 kg/ha Urea, 200 kg/ha SP₃₆ dan 100 kg/ha KCl. Pemeliharaan tanaman dilakukan secara manual dan kimiawi sesuai dengan kondisi tanaman di lapangan.

Pengamatan dilakukan terhadap perubahan karakter morfologi (daun, bunga, batang, polong dan biji) dan agronomi. Karakter-karakter agronomi yang diamati pada M₂ meliputi tinggi tanaman, jumlah cabang, umur berbunga, umur panen, jumlah polong, bobot biji kering per tanaman dan bobot 100 biji. Analisis data dimulai dengan menghitung rata-rata setiap karakter yang diamati dengan menggunakan uji t. Analisis data juga dilakukan untuk penghitungan ragam fenotip dan lingkungan

dan serta pendugaan ragam genotip, heritabilitas, dan nilai koefisien keragaman untuk masing-masing populasi.

Keragaman genetik pada generasi kedua dihitung dengan rumus :

$$\sigma^2 = \frac{(\sum x^2) - [(\sum x)^2 / n]}{n - 1}$$

Nilai heritabilitas dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2} \times 100\%$$

$$\sigma^2_p = \sigma^2_g + \sigma^2_e$$

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

BAB 6

PENGARUH MUTAGEN EMS PADA KEDELAI

6.1. Penentuan *Lethal Dose 50* Benih Kedelai Varietas Gepak Kuning pada Pemberian Berbagai Konsentrasi Mutagen *Ethyl Methane Sulfonate*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat penurunan daya tumbuh benih kedelai Gepak Kuning akibat pemberian berbagai konsentrasi mutagen EMS. Persentase daya tumbuh terlihat mulai menurun pada konsentrasi 0,5%. Konsentrasi paling tinggi yaitu EMS 1% tidak menunjukkan daya tumbuh sama sekali. Rata-rata daya kecambah benih kedelai varietas Gepak Kuning akibat pemberian berbagai konsentrasi EMS dapat dilihat pada Tabel 23.

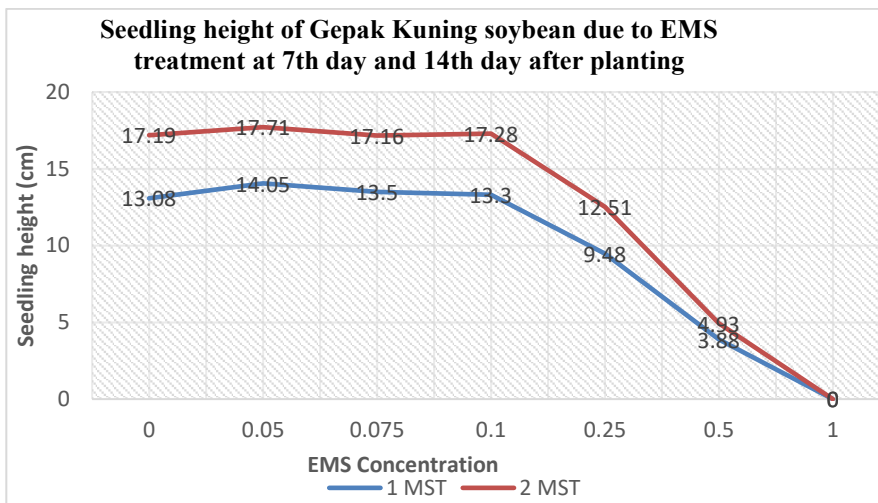
Tabel 21. Persentase perkecambahan benih kedelai gepak kuning pada berbagai konsentrasi EMS

Konsentrasi EMS (%)	Persentase perkecambahan (7 HST)	Persentase perkecambahan (14 HST)
0	93,33	86,66
0,05	83,33	83,33
0,075	83,33	83,33
0,1	90	90
0,25	90	83,33
0,5	60	60
1	0	0

Berkurangnya daya kecambah benih akibat perlakuan mutagen EMS telah banyak dilaporkan oleh para peneliti sebelumnya, antara lain lada (Arisha *et al.* 2015), kacang tanah

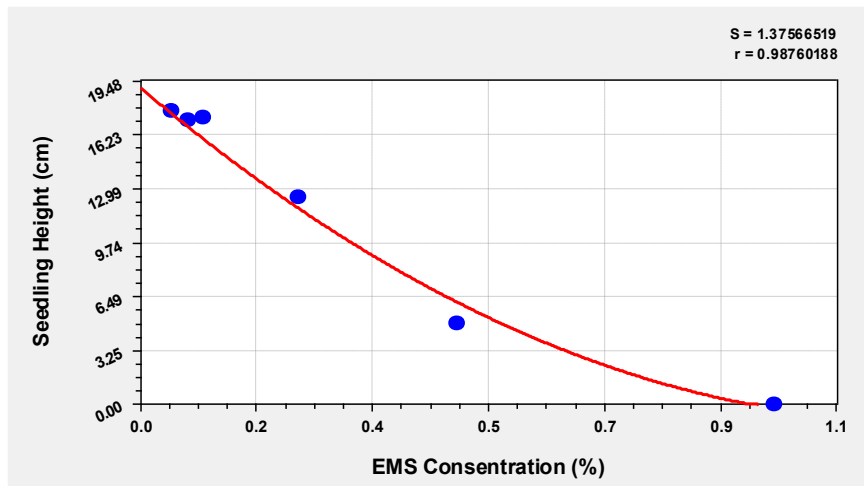
(Chen *et al.* 2020), kacang tunggak (Opoku Gyamfi *et al.* 2022), padi (Talebi *et al.* 2012) dan kedelai (Sagel *et al.* 2017); (Kalpande *et al.* 2020). Berkurangnya daya berkecambah mungkin disebabkan oleh benih yang menyerap mutagen, yang kemudian mencapai daerah meristemik dan mempengaruhi sel gamet (Serrat *et al.* 2014). Selain itu, penurunan perkecambahan mungkin disebabkan oleh kerusakan komponen sel (Kumar & Pandey, 2019), perubahan aktivitas enzim, atau penundaan atau penghambatan proses fisiologis dan biologis (Talebi *et al.* 2012). Berkurangnya persentase perkecambahan dapat disebabkan oleh gangguan jaringan meristemik benih pada tingkat sel yang mengakibatkan kerusakan kromosom, mengganggu growth promotor karena meningkatnya akumulasi penghambat pertumbuhan (Jayakumar and Selvaraj, 2003).

Perlakuan mutagen EMS pada benih kedelai Gepak Kuning juga menyebabkan penurunan tinggi kecambah. Gambar 1 menunjukkan bahwa pada konsentrasi EMS 0,05% terjadi rangsangan terhadap tinggi kecambah, namun mulai pada konsentrasi 0,25% terjadi penekanan terhadap tinggi kecambah kedelai Gepak Kuning. Respon varietas Gepak Kuning terhadap konsentrasi EMS 0,01% - 1% menunjukkan respon kuadratik. Grafik konsentrasi EMS dengan tinggi bibit kedelai Gepak Kuning dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 17. Tinggi bibit kedelai Gepak Kuning akibat perlakuan EMS pada hari ke-7 dan hari ke-14 setelah tanam

Hossain *et al.* (2021) juga menemukan bahwa tinggi tanaman padi meningkat secara signifikan pada konsentrasi EMS yang lebih rendah (1 dan 2%) dengan lama perlakuan 6-12 jam dibandingkan dengan tanaman kontrol. Namun ketika konsentrasi ini ditingkatkan, tinggi tanaman mengalami penurunan dibandingkan tanaman kontrol maupun tanaman dengan konsentrasi rendah. Talebi *et al.* (2012) menambahkan, mutagenesis yang diinduksi EMS memberikan dampak yang signifikan terhadap tinggi bibit padi cv. MR219. Penurunan tinggi bibit maksimum terjadi pada perlakuan padi MR219 dengan konsentrasi 0,25%.

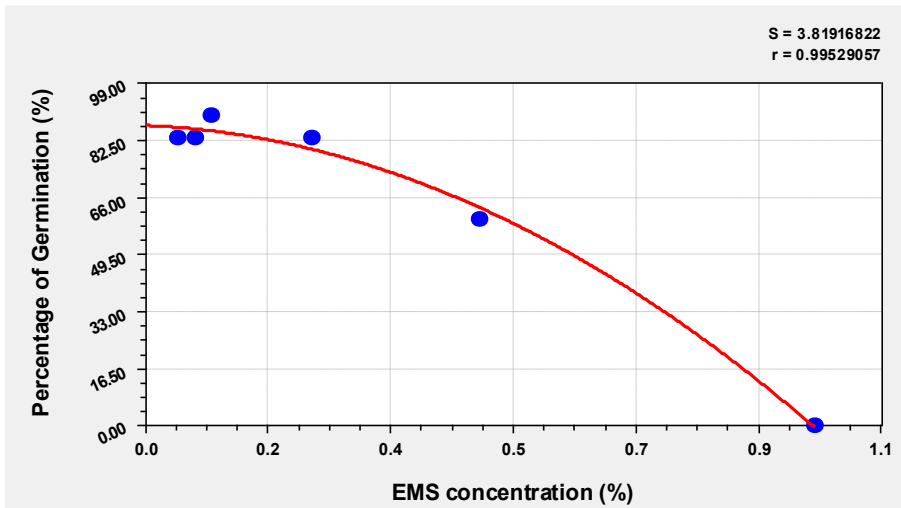


Gambar 18. Grafik konsentrasi EMS (%) terhadap tinggi bibit (cm) kedelai Gepak Kuning

Untuk mutasi yang diinduksi secara artifisial baik dengan mutagen fisik atau kimia, LD50 dilakukan untuk memperoleh tingkat yang ideal untuk mencapai frekuensi mutasi yang tinggi (Anbarasan et al., 2013). LD50 mutagen berguna untuk menentukan dosis optimal untuk induksi mutasi. LD50 dihitung menggunakan persentase perkecambahan biji pada dosis EMS yang berbeda. Kurva terbaik untuk varietas Gepak Kuning digambarkan melalui kurva kuadrat berdasarkan hasil analisis menggunakan *Curve Expert 1.4* (Gambar 18).

Hasil studi ini menunjukkan bahwa LD50 varietas Gepak Kuning yang diberi perlakuan mutagen EMS diperoleh pada konsentrasi 0,63%, nilai LD20 pada konsentrasi 0,25% dan nilai LD30 pada 0,41%. Persamaan regresi yang diperoleh adalah $Y(x) = 86.87 - 80.22x - 79.36x^2$, $Y(x)$ adalah logaritma laju pertumbuhan perkecambahan secara keseluruhan, x adalah konsentrasi EMS dan a, b, c adalah parameter regresi. LD50

berbeda-beda pada setiap jenis tanaman tergantung pada tahap pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta bagian tanaman yang diberi perlakuan mutagen EMS. Kisaran konsentrasi EMS di bawah LD50 digunakan untuk menginduksi keanekaragaman tanaman dan karakter yang diinginkan dalam penelitian selanjutnya.



Gambar 19. Pengaruh etil metana sulfonat terhadap persen perkecambahan dan garis grafik yang sesuai untuk memperkirakan LD50 pada kedelai Gepak Kuning yang diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi etil metana sulfonat

Kisaran dosis LD50 berguna untuk memperkirakan dosis atau konsentrasi yang tepat untuk menginduksi mutasi. Perlakuan mutagen EMS dilakukan pada kisaran dosis 50% dengan pertimbangan kerusakan fisiologis diimbangi dengan perubahan genetik yang diperoleh. Selvaraj et al. (2014) menyatakan, dosis optimum adalah dosis yang menyebabkan mutasi maksimum dengan kerusakan minimal pada tanaman.

Lebih lanjut Van Harten, (1998) menambahkan bahwa rentang konsentrasi EMS yang digunakan untuk menginduksi variabilitas berada di bawah dosis LD50, berkisar antara LD20 dan LD30. Pada studi ini didapatkan dosis LD20 diperoleh pada konsentrasi 0,25% dan LD30 diperoleh pada konsentrasi 0,41%.

Kavina *et al.* (2020) telah melaporkan penentuan LD50 mutagen EMS pada tanaman *Frenugreek*. Benih tanpa perlakuan EMS menunjukkan persentase perkecambahan 100%. Persentase perkecambahan menurun dengan meningkatnya konsentrasi EMS. *Frenugreek* yang diberi perlakuan EMS menunjukkan penurunan persentase perkecambahan pada konsentrasi yang lebih tinggi. Persentase perkecambahan terendah (2,1%) terdapat pada konsentrasi 1% pada pengamatan perkecambahan hari ke 7. Berdasarkan data perkecambahan diperoleh nilai LD50 *frenugreek* pada konsentrasi EMS 0,4%.

Nilai LD50 pada hasil studi ini hampir sama dengan hasil sebelumnya. (Arisha *et al.* 2015) mempelajari LD50 beberapa kultivar lada dan menemukan bahwa 0,6% (v/v) EMS adalah konsentrasi yang menghasilkan sekitar 50% tingkat kematian. Sharamo *et al.* (2021) juga menemukan adanya tren penurunan akibat peningkatan dosis dan lama perendaman dengan EMS pada tanaman barley. Nilai LD50 dosis EMS 0,64% (v/v) diidentifikasi sebagai dosis optimal untuk protokol mutagenesis skala besar untuk memilih mutan barley dengan hasil biomassa tinggi

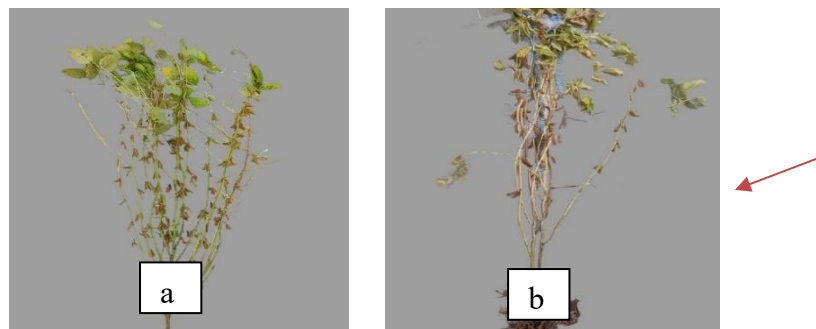
LD50 kedelai gepak kuning jauh lebih rendah dibandingkan LD50 kacang tepary. Thangwana *et al.* (2021) melaporkan LD50 kacang tepary sebesar 3,37%, 2,68% dan 2,26% v/v EMS masing-masing untuk genotipe 3, 4 dan 6. Selain itu, terdapat koefisien determinasi yang tinggi untuk masing-masing fungsi linier (>75%) yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan penting antara penurunan perkecambahan biji dan konsentrasi mutagen. Nilai-nilai ini jauh lebih tinggi daripada yang dilaporkan dalam penelitian ini karena perbedaan genotipe dan spesies tanaman yang digunakan selama mutagenesis.

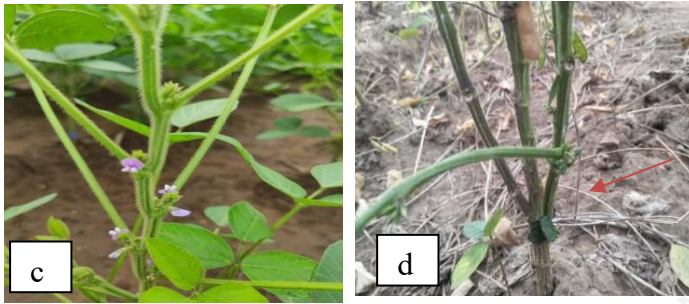
Protokol mutagenesis akan berguna untuk mengembangkan mutasi resesif dan titik untuk membantu seleksi individu terbaik yang melibatkan keluarga mutan M2-M5 dengan produksi hasil tinggi pada kedelai Gepak Kuning. Penelitian ini menentukan kondisi perlakuan optimal untuk menginduksi variasi genetik pada kedelai cv. Gepak Kuning. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dosis EMS 0,63% v/v EMS dapat digunakan untuk meningkatkan variabilitas genetik sifat-sifat utama kedelai.

6.2. Induksi Keragaman Genetik Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 Menggunakan Mutagen EMS pada Generasi M₁

Pada generasi M₁ terdapat keragaman morfologi pada populasi kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 yang diberikan perlakuan mutagen EMS. Induksi mutasi EMS pada kedelai gepak kuning, terdapat 3 tanaman steril (*full sterility* mutant) dan 1 tanaman yang bunganya tidak berkembang (undeveloped

rasim flower). Tanaman *full sterility* menunjukkan pertumbuhan vegetatif yang normal hingga akhir fase vegetatif. Namun, ketika memasuki fase pembungaan tanaman tidak berhasil mengeluarkan bunga dan tidak menghasilkan polong dan biji. Tanaman yang bunganya tidak berkembang menunjukkan tanaman dapat membentuk bunga, tetapi tidak berhasil membentuk polong atau rasim bunga tidak berkembang. Berdasarkan pengamatan di lapangan, juga ditemukan tanaman yang mengalami perubahan bentuk percabangan pada perlakuan E1 (0,05). Perubahan morfologi sterilitas bunga dan perubahan bentuk percabangan pada kedelai gepak kuning akibat perlakuan mutagen EMS dapat dilihat pada Gambar 4.

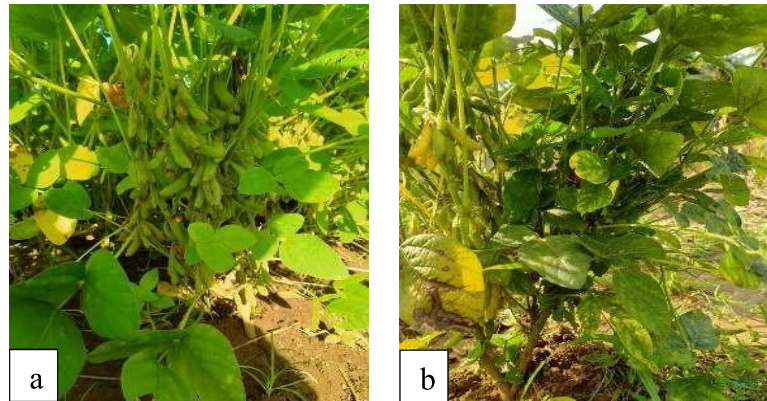




**Gambar 20. Tanaman kontrol (Gambar 1a dan 1c).
Tanaman yang mengalami perubahan morfologi bentuk
cabang dan rasim bunga tidak berkembang (Gambar1b
dan 1d)**

Berdasarkan pengamatan pada populasi tanaman kedelai Galur M.1.1.3, terdapat 1 tanaman kimera. Mutasi tanaman kimera memperlihatkan pertumbuhan vegetative yang normal hingga memasuki akhir fase vegetatif, namun ketika memasuki fase pembungaan (generatif) tanaman hanya mengeluarkan bunga pada salah satu cabang, namun pada cabang lainnya tidak terjadi pembungaan (steril), yang otomatis akan menyebabkan tanaman tersebut tidak akan ada polong dan biji pada satu cabang. Mutasi kimera terdapat pada perlakuan EMS dengan konsentrasi 0,1% (E3). Perlakuan EMS terbukti menyebabkan perubahan varian morfologi pada galur M.1.1.3. Perubahan morfologi tanaman kimera pada galur M.1.1.3 akibat perlakuan mutagen EMS dapat dilihat pada Gambar 21.

Gambar 21. (a) Tanaman kedelai Galur M.1.1.3 tanpa pemberian mutagen EMS, (b). tanaman kimera pada populasi galur M.1.1.3 akibat perlakuan EMS

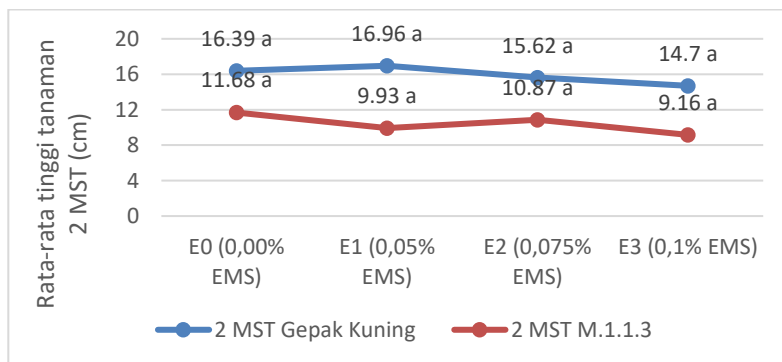


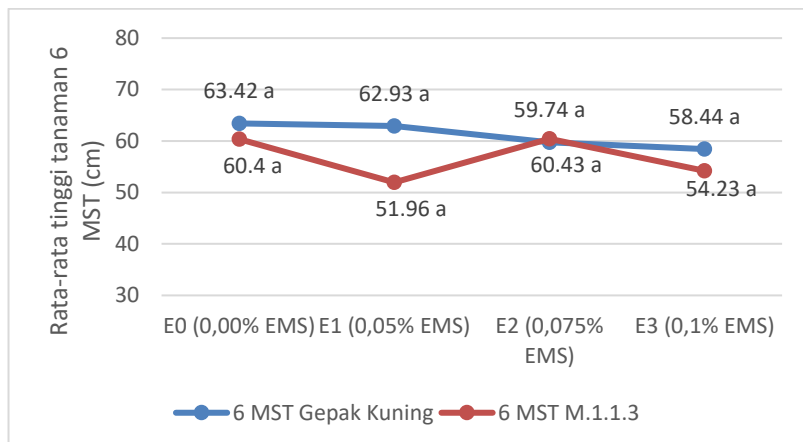
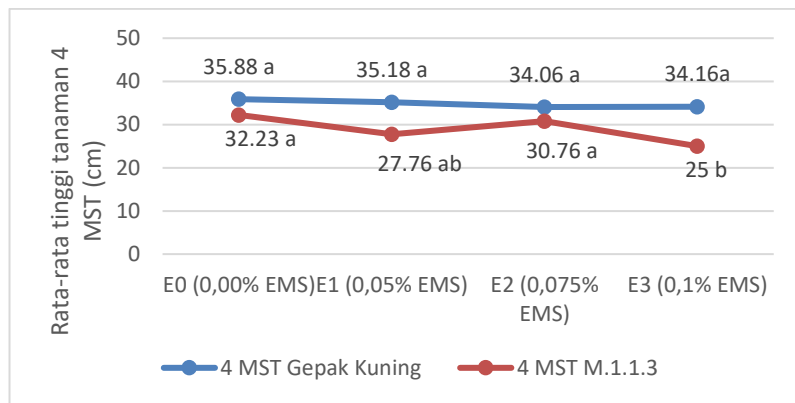
Keragaman morfologi merupakan salah satu indikator efektifitas perlakuan mutagen yang diberikan pada tanaman. Pada penelitian ini terdapat *full sterility* mutan dan *undveloped rasim flower* pada perlakuan E1 (0,05% EMS) kedelai gepak kuning dan tanaman kimera pada galur M.1.1.3. Hal ini sejalan dengan penelitian Jabeen & Mirza (2004) yang menunjukkan bahwa dari 16 tipe mutasi yang terjadi tanaman cabai setelah perlakuan dengan EMS, 5 diantaranya adalah steril sedangkan pada kontrol tidak ditemui tanaman yang steril. Arslan et al 2022 mengidentifikasi several mutant phenotypes akibat perlakuan EMS pada Grass pea (*Lathyrus sativus L.*) pada such as seedling growth defects, abnormal branching, chlorophyll mutants, absence of flowering, and sterility in M1 and M2 populations. Suliartini *et at.* (2019) menyatakan bahwa mutasi pada tanaman dapat menimbulkan abnormalitas. Hal ini

menandakan telah terjadi perubahan pada tingkat genom, kromosom, dan DNA sehingga proses fisiologis pada tanaman menjadi tidak normal dan menghasilkan variasi-variasi genetik baru. Abnormalitas atau bahkan kematian pada populasi mutan pada generasi pertama.

Johnson (1980) melaporkan pada penggunaan mutagen iradiasi sinar gammadosis 68 gray pada stek pucuk sembilan kultivar anyelir, menimbulkan kimera periklinal pada lima kultivar, sedangkan keempat kultivar lainnya menunjukkan perubahan warna non-kimera. Kultivar non-kimera hanya menghasilkan bunga normal dan mutan solid.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa mutagen EMS tidak berpengaruh nyata terhadap peubah tinggi tanaman kedelai gepak kuning pada setiap umur pengamatan. Pemberian mutagen EMS berpengaruh nyata terhadap peubah tinggi tanaman galur M.1.1.3 pada umur 4 MST. Hasil uji lanjut terhadap rata-rata tinggi tanaman kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 akibat perlakuan mutagen EMS dapat dilihat pada Gambar 23.





Gambar 23. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata tinggi tanaman kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Gambar 23 menunjukkan bahwa pemberian mutagen EMS tidak berpengaruh nyata terhadap peubah tinggi tanaman kedelai gepak kuning pada setiap umur pengamatan. Secara rata-rata, tanaman paling tinggi pada umur 6 MST terdapat pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 63,42 cm, walaupun tidak berbeda nyata dengan tinggi tanaman pada populasi perlakuan EMS.

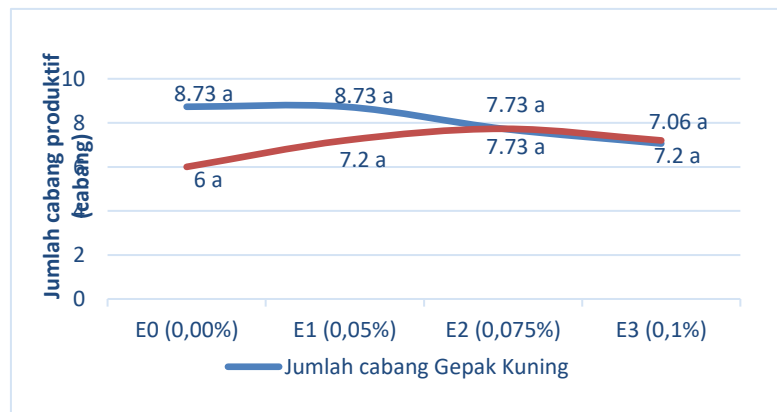
Perlakuan EMS pada kedelai gepak kuning secara rata-rata sedikit menurunkan karakter tinggi tanaman.

Pemberian EMS pada galur M.1.1.3 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar konsentrasi perlakuan EMS pada perubahan tinggi tanaman umur 4 MST, sedangkan pada umur pengamatan 2 dan 6 MST juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Tanaman paling tinggi galur M.1.1.3 pada umur 4 MST terdapat pada perlakuan control (32,23 cm) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan E1 dan E2. Tinggi tanaman terendah terdapat pada perlakuan konsentrasi EMS 0,1 % (E3) dengan tinggi hanya 25 cm. Pada umur 2 dan 6 MST, secara rata-rata juga terlihat bahwa tinggi tanaman pada populasi perlakuan EMS menunjukkan tinggi tanaman yang cenderung lebih pendek dibanding control walaupun secara statistik tidak berbeda nyata.

Hal ini sesuai pada hasil Pratiwi *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa tinggi tanaman Marigold pada umur 4 MST hingga 5 MST berbeda nyata antara kontrol dengan semua perlakuan. Tanaman kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang diberikan perlakuan EMS dengan konsentrasi yang berbeda. Menurut Defiani *et al* (2013), hal ini dapat disebabkan oleh sifat mutagen yang dapat menyebabkan kerusakan fisiologis dan kromosomal yang akut serta penundaan onset mitosis. Perbedaan respon yang ditunjukkan pada tinggi tanaman disebabkan akibat konsentrasi EMS yang berbeda-beda. Perlakuan konsentrasi EMS yang diberikan

bersifat menghambat pertumbuhan dan terjadinya pengurangan tinggi tanaman pada galur M.1.1.3 pada umur 4 MST. Hal tersebut terjadi seiring dengan meningkatnya konsentrasi EMS yang digunakan. Priyono dan Susilo (2002) mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi EMS dan semakin lama perendaman menyebabkan penyerapan EMS yang lebih banyak ke dalam tanaman termasuk bertambahnya toksisitas EMS yang dapat mengakibatkan terjadinya penurunan tinggi tanaman.

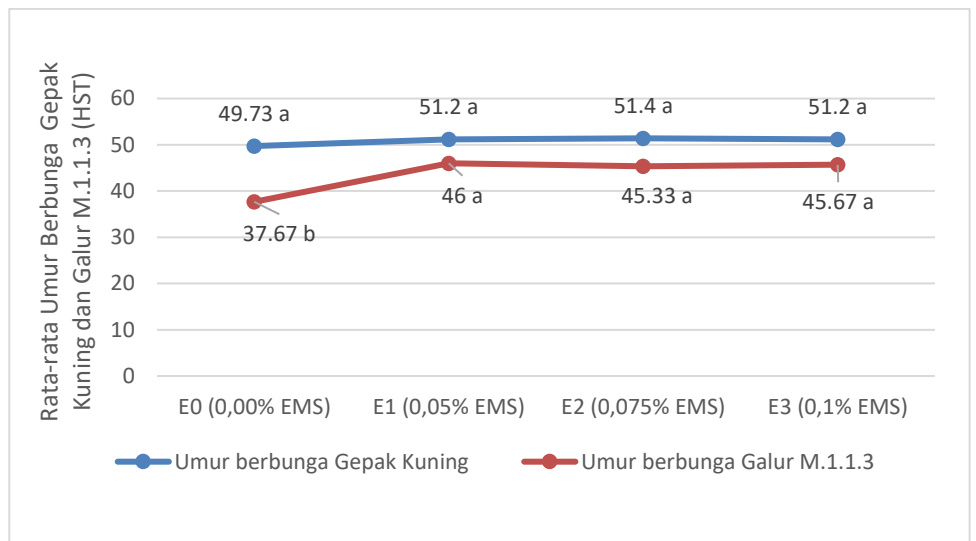
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa mutagen EMS tidak memberikan pengaruh nyata terhadap peubah jumlah cabang produktif pada kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3. Hasil uji lanjut terhadap rata-rata jumlah cabang produktif kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 akibat perlakuan mutagen EMS dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata jumlah cabang kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Gambar 24 menunjukkan bahwa perlakuan EMS tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada peubah jumlah cabang baik pada kedelai gepak kuning maupun galur M.1.1.3. Namun secara rata-rata terlihat bahwa jumlah cabang produktif paling banyak pada kedelai gepak kuning terdapat pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 8,73 cabang dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan E1 (0,05%), E2 (0,075%) dan E3 (0,1%) dengan jumlah cabang berturut-turut 8,73, 7,73 dan 7,06 cabang. Selanjutnya, Secara rata-rata jumlah cabang terbanyak pada galur M.1.1.3 terdapat pada perlakuan E2 yaitu 7,73 cabang yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya berturut-turut E1, E3 dan E0. Hal ini sejalan dengan penelitian Purba *et al* (2013), bahwa pemberian mutagen menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata pada jumlah cabang tanaman kedelai hitam.

Perlakuan mutagen EMS pada cv. gepak kuning berpengaruh sangat nyata terhadap peubah umur panen, namun, pada peubah umur berbunga tidak berpengaruh nyata. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata pada perlakuan konsentrasi EMS terhadap peubah umur berbunga dan umur panen galur M.1.1.3. Hasil uji lanjut rata-rata umur berbunga dan umur panen kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 dapat dilihat pada Gambar 25 dan 26.



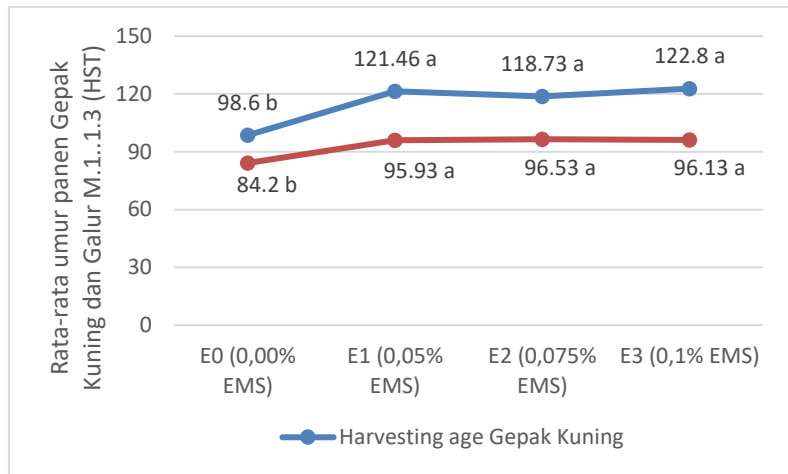
Gambar 25. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata umur berbunga kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Grafik 25 menunjukkan bahwa pemberian mutagen EMS tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap peubah umur berbunga pada tanaman kedelai gepak kuning. Secara rata-rata umur berbunga tercepat terdapat padaperlakuan E0 (kontrol) dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pemberian EMS dapat memperlambat umur berbunga pada galur M.1.1.3. Umur berbunga paling cepat pada galur M.1.1.3 terdapat pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 37,67 HST. Kemudian umur berbunga paling lambat pada galur M.1.1.3 terdapat pada perlakuan E1 (konsentrasi 0,05 %) yaitu 46 HST, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan E2 (konsentrasi 0,075 %) dan E3 (konsentrasi 0,1 %). Pada tanaman kontrol menunjukkan

pembungaan yang lebih cepat dibandingkan tanaman yang diberikan perlakuan mutagen EMS.

Peristiwa lambatnya umur berbunga pada galur M.1.1.3 disebabkan karena efek yang ditimbulkan oleh mutagen EMS. Hal ini sesuai dengan pendapat Girija dan Danavel (2013) yang menyatakan bahwa efek dari mutagen dapat memperlambat umur berbunga pada tanaman. Umur berbunga paling cepat terdapat pada tanaman kontrol dan umur pembungaan terlambat terdapat pada tanaman dengan perlakuan mutagen. Nilahayati et al (2015) juga mendapatkan umur berbunga kedelai kipas putih dengan perlakuan mutagen iradiasi gamma memperlambat umur berbunga.

Gambar 26 menunjukkan bahwa pemberian mutagen EMS memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap peubah umur panen pada tanaman kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3. Hasil pengamatan umur panen kedelai gepak kuning menunjukkan bahwa peubah umur panen paling lama pada perlakuan E3 (0,1) yaitu 122,80 HST dan paling cepat umur panen pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 98,60 HST. Pemberian EMS memperlambat umur panen galur M.1.1.3. Umur panen paling cepat terdapat pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 84,20 HST, sedangkan umur panen paling lambat terdapat pada perlakuan E2 (konsentrasi 0,075 %) yaitu 96,53 HST yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan E1 (konsentrasi 0,05 %) dan E3 (konsentrasi 0,1 %).

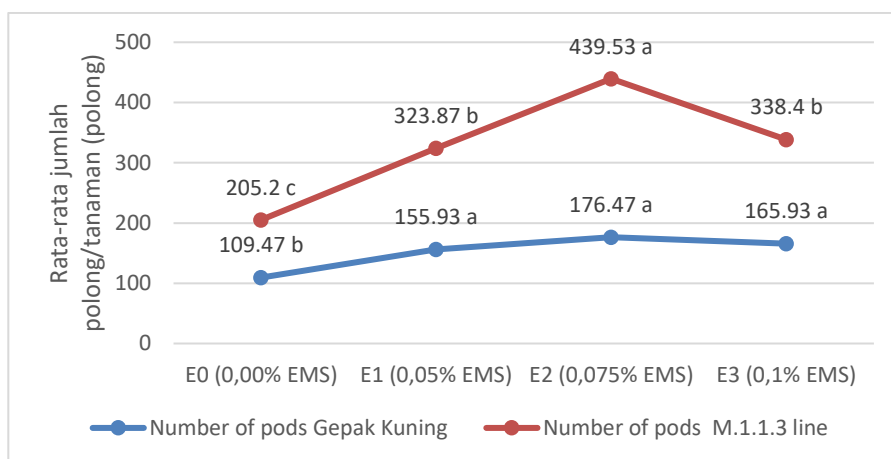


Gambar 26. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata umur panen kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Pada tanaman kontrol menunjukkan umur panen tercepat sedangkan umur panen terlama ditunjukkan pada perlakuan EMS. Hal ini diduga penggunaan EMS pada berbagai konsentrasi yang digunakan dapat menyebabkan kerusakan pada bagian sel embrio yang membuat pertumbuhan tanaman selanjutnya menjadi terganggu yang berakibat mundurnya waktu panen. Hal ini sesuai dengan pendapat Purba *et al* (2013) yang mengatakan bahwa semakin tinggi dosis mutagen yang diberikan maka umur panen menjadi semakin lama. Nilahayati (2018) menambahkan bahwa pada generasi M1, umur panen kedelai kipas putih dengan perlakuan mutagen iradiasi sinar gamma juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata

dengan tanaman control. Umur panen semakin lama dengan meningkatnya dosis mutagen iradiasi sinar gamma.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa mutagen EMS pada kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 berpengaruh nyata sampai sangat nyata pada peubah jumlah polong per tanaman. Hasil uji lanjut rata-rata jumlah polong pada kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 dapat dilihat pada Gambar 27.

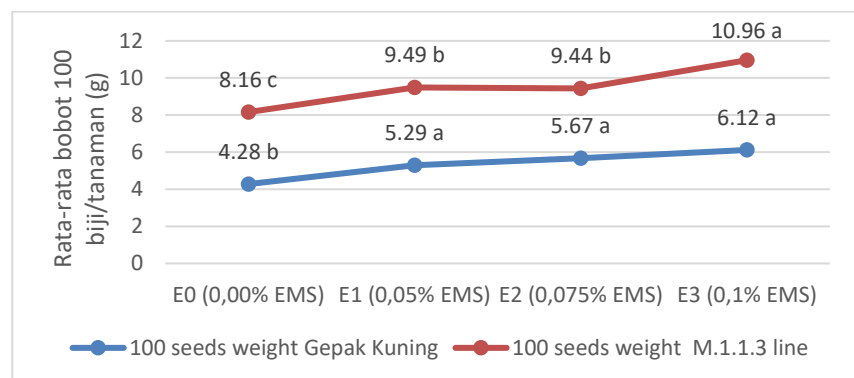


Gambar 27. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata umur jumlah polong kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Gambar 27 menunjukkan bahwa jumlah polong paling banyak pada varietas gepak kuning terdapat pada perlakuan E2 (0,075% EMS) yaitu 176.47 polong, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan E1 dan E3, sedangkan jumlah polong paling sedikit terdapat pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 109,47 polong. Pada galur M.1.1.3, jumlah polong paling banyak juga

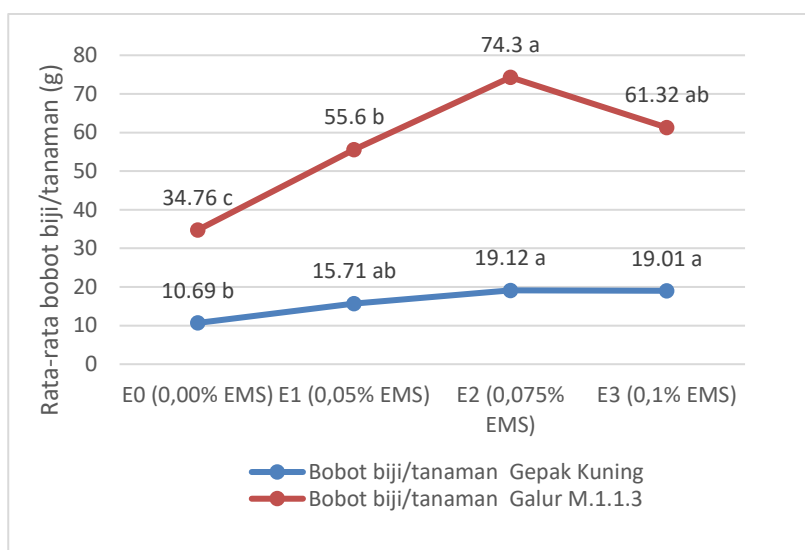
terdapat pada perlakuan konsentrasi EMS 0,075 % (E2) yaitu 439.53 polong, jumlah polong paling sedikit terdapat pada kontrol yaitu 205,20 polong. Hal ini sejalan dengan penelitian Alfarisi *et al.*, (2018) yang mendapatkan bahwa pemberian mutagen meningkatkan jumlah polong berisi per tanaman, Hal ini dikarenakan benih yang diberikan mutagen dengan dosis tertentu dapat membuat produktivitas tanaman meningkat dibandingkan dengan control.

Aplikasi mutagen EMS pada varietas gepak kuning dan galur M.1.1.3 berpengaruh nyata sampai sangat nyata terhadap peubah bobot 100 biji per tanaman dan bobot biji kering per tanaman. Hasil uji lanjut rata-rata bobot 100 biji dan bobot biji kering per tanaman pada kedelai varietas gepak kuning dan galur M.1.1.3 akibat pemberian mutagen EMS dapat dilihat pada Gambar 28 dan 29



Gambar 28. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata bobot 100 biji kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Bobot 100 biji per tanaman kedelai gepak kuning menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan E3 (0,1) yaitu 6,12 g yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi EMS lainnya, sedangkan terendah pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu 4,28 g/100 biji. Hasil pengamatan bobot biji kering per tanaman kedelai gepak kuning menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan E2 (0,075) yaitu 19,12 g yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi EMS lainnya, sedangkan bobot biji/tanaman terendah pada perlakuan E0 (kontrol) yaitu hanya 10,69 g/tanaman.



Gambar 29. Pengaruh perlakuan konsentrasi EMS terhadap rata-rata bobot biji/tanaman kedelai gepak kuning dan galur M.1.1.3 generasi M1. Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis grafik yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Bobot 100 biji per tanaman tertinggi pada galur M.1.1.3 terdapat pada perlakuan E3 (konsentrasi 0,1 %) yaitu 10,96 g

dan terendah terlihat pada E0 (tanpa perlakuan EMS) yaitu 8,16 g. Bobot biji per tanaman paling banyak pada galur M.1.1.3 terdapat perlakuan E2 (konsentrasi 0,075 %) yaitu 74,30 g/tanaman yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi E1 dan E3, sedangkan bobot biji per tanaman paling sedikit terdapat pada E0 (tanpa pemberian EMS) dengan bobot biji hanya sebesar 34,76 g/tanaman.

Peningkatan bobot biji disebabkan akibat pemberian konsentrasi EMS yang berbeda-beda. Hal ini sejalan dengan penelitian Ye *et al* (2020) bahwa bobot 100 benih dan volume benih *Cyperus esculentus* L menunjukkan perbedaan yang nyata pada perlakuan konsentrasi EMS yang berbeda.

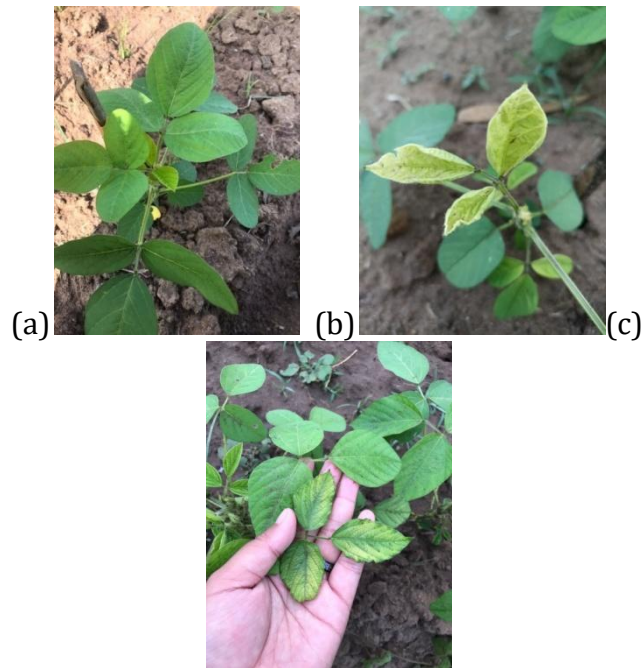
Hal ini berarti perlakuan konsentrasi EMS yang digunakan mempengaruhi nilai bobot biji kering per tanaman dibandingkan dengan kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian Miswar (2013), berdasarkan pengukuran berat biji per tanaman didapat bahwa kedelai hasil mutasi mempunyai berat biji per tanaman lebih besar dibandingkan kedelai normal. Berat biji per tanaman terbesar dihasilkan oleh kedelai mutan sebesar 22,4 g/tanaman, sedangkan yang terkecil pada kedelai normal sebesar 9,8 g/tanaman. Terdapat kaitan antara jumlah polong per tanaman dengan bobot biji kering per tanaman, dimana semakin banyak jumlah polong bernas maka semakin besar pula bobot biji kering per tanaman.

6.3. Keragaman Morfologi dan Agronomi Kedelai Gepak Kuning dan Galur M.1.1.3 Menggunakan Mutagen EMS pada Generasi M₂

6.3.1 Keragaman Karakter Morfologi dan Agronomi cv. Gepak Kuning pada Generasi M₂

Hasil pengamatan pada generasi M₂ menunjukkan bahwa terjadinya perubahan genetik yang disebabkan mutagen sehingga semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin adanya perubahan morfologi. Behera *et al.*,(2012) menyatakan bahwa evaluasi morfologi merupakan salah satu cara untuk mendeteksi terjadinya perubahan fenotip, sedangkan perubahan pada material genetik diamati melalui analisis DNA atau kromosom. Hal ini serupa juga disampaikan oleh Widiastuti *et al.*,(2013) bahwa keberhasilan mutasi dapat diamati melalui perubahan morfologi, anatomi, maupun pada tingkat DNA.

Hasil pengamatan pada 4 MST generasi M₂ pada tanaman yang di beri perlakuan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) terlihat munculnya warna daun yang disebut mutan klorofil, perubahan warna daun ini akan hilang pada tanaman memasuki umur 10 MST. hal ini menunjukkan bahwa pada tanaman yang diberi perlakuan akan merusak gen pada warna daun. Menurut Bhosale & Hallale (2011) Mutasi klorofil merupakan salah satu indikator dalam mengevaluasi pengaruh perlakuan mutagen berbagai tanaman yang diradiasi dengan sinar gamma telah banyak dilaporkan terjadi mutasi klorofil ini diantaranya pada tanaman Black gram.



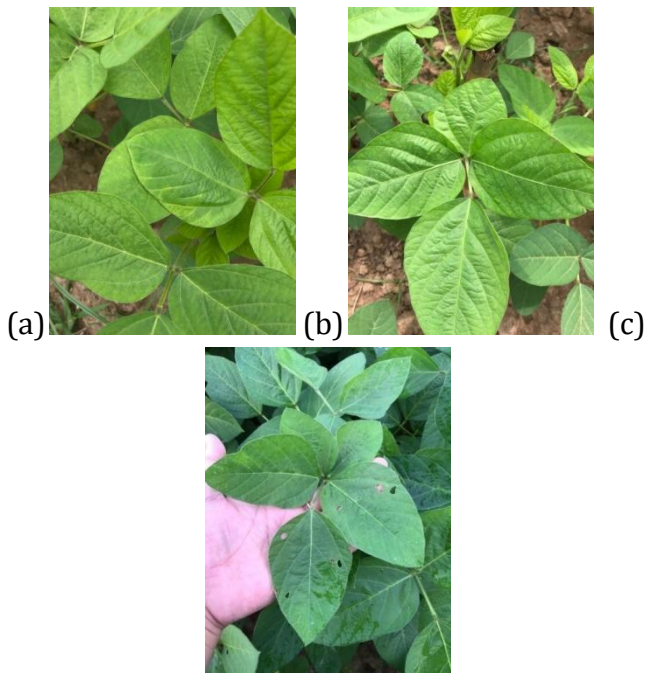
Gambar 30.(a) Tanaman (kontrol), (b) dan (c) tanaman yang diberikan perlakuan EMS

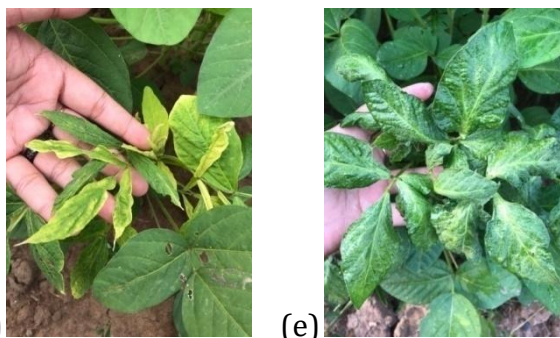
Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Martha (2017) analisis warna daun menunjukkan bahwa konsentrasi EMS 0% menghasilkan warna daun hijau tua yang paling baik, sedangkan pada perlakuan EMS terdapat perbedaan pada warna yang berubah menjadi hijau muda hingga putih dan terdapat perbedaan pada masing-masing value dan chroma. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Nilahayati *et al* (2018) yang menggunakan iradiasi gamma sebagai mutagen pada generasi M_2 pada penelitian tersebut menemukan berbagai macam mutan klorofil seperti *xantha*, *chlorina* dan *viridis*.

Mutan *xantha* menunjukkan warna daun kuning cerah (*bright yellow colour*), mutan *chlorine* menunjukkan warna daun

yang hijau kekuningan (*yellowish green colour*) dan tipe mutan *viridis* menunjukkan warna daun hijau terang (*light green*) (Nilahayati, 2018). Pada penelitian Pratiwi *et al* (2013) menambahkan bahwa perubahan warna daun ini secara bertahap berubah kembali menjadi warna hijau yang normal selama masa pertumbuhan tanaman, hanya beberapa dari mutan klorofil yang dapat melanjutkan pertumbuhannya sampai memasuki tahap panen.

Hasil pengamatan 4 MST generasi M₂ pada tanaman yang diberi perlakuan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) menunjukkan adanya muncul karakter morfologi pada fase vegetatif di berbagai perlakuan konsentrasi. Munculnya perubahan bentuk daun yang berbeda-beda ini disebut dengan mutan bentuk daun (*leaflet mutant*).





Gambar 31. (a) Daun normal (b) daun *tetrafoliate*, (c) Daun *Pentafoliate*, (d) dan (e) Bentuk daun abnormal

Variasi morfologi khususnya *leaflet mutant* yang menunjukkan abnormalitas pada daun merupakan indikator efektifnya mutagen yang diberikan daun *tetrafoliate*, daun Abnormal, dan daun *Pentafoliate* menunjukkan pertumbuhan yang normal dan dapat menghasilkan polong dan biji (Nilahayati, 2018). Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Purwati *et al.*, (2008) bahwa pada populasi tanaman yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS terdapat jumlah karakter varian tambahan yaitu tepi daun menggulung, warna daun kekuningan, dan duduk daun berhadapan seperti kipas.

Hasil serupa juga dilaporkan oleh Misra *et al.*, (2013) pada *Greengram* mereka mendapatkan beberapa tipe mutasi morfologi seperti *unifoliate*, *quadrifoliate*, *pentafoliate*, tanaman tinggi, tanaman pendek, berbunga cepat, lambat berbunga, berpolong banyak, *serrated leaf* dan *modified inflorescence* yang ditemukan pada populasi yang diberi perlakuan mutagen pada kedua varietas yang diuji. Dan pada penelitian Pratiwi *et al*

(2013) juga ditemukan nya 1 tanaman daun chimera pada perlakuan EMS dengan konsentrasi 0,9% pada tanaman marigold.

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji t pada Tabel 24 menunjukkan bahwa perlakuan EMS (*Ethyl Methane Sulfnate*) berpengaruh nyata hingga sangat nyata terhadap peubah tinggi tanaman umur 2 dan 4 MST , jumlah cabang, jumlah polong tanaman, bobot biji pertanaman, bobot 100 biji, bobot biji kering perplot, dan produksi. Namun, tidak berpengaruh nyata pada peubah tinggi tanaman 6 MST, jumlah polong hampa, umur berbunga, dan umur panen.

Tabel 22. Rata-rata karakter agronomi kedelai gepak kuning akibat pemberian mutagen EMS pada generasi M2

No	Karakter	Konsentrasi EMS			
		0%(E0)	0,05% (E1)	0,075% (E2)	0,1%(E3)
1	Tinggi tanaman				
	2 MST	14,5±1,7	11,7**±3,3	12,8**±2,1	13,3*±1,9
	4 MST	37,3±3,5	31,9**±7,6	33,9*±7,1	35,2*±4,5
	6 MST	67,5±7,5	64,2 ^{tn} ±15,3	68,1 ^{tn} ±9,8	67,7 ^{tn} ±11,9
	8 MST	93,2±9,0	90,6 ^{tn} ±12,7	101*±15,2	93,2 ^{tn} ±15,9
2	Jumlah cabang	16,2±2,0	15,3*±1,98	14,8**±1,9	14,4**±2,6
	Jumlah polong tanaman	217±82,6	155**±65,9	141**±48,3	108**±73,0
3	Bobot biji pertanama	35,0±12,0	34,6 ^{tn} ±16,4	23,6**±7,5	16,4**±16,0
	n				

5	Bobot 100 biji	10,6±0,7	9,9*±1,1	9,7**±0,6	9,5**±0,6
6	Umur bunga	44,3±5,4	55,3 ^{tn} ±69,3	43,2 ^{tn} ±4,7	43,6 ^{tn} ±2,7
7	Umur panen	98,8±6,5	97,7 ^{tn} ±5,5	97,9 ^{tn} ±5,4	96,6 ^{tn} ±4,4
8	Bobot biji perplot	1.700±100	1.433*±152,7	1.000*±200	900**±100
9	Hasil Produksi	21±1,25	18*±1,90	17 ^{tn} ±7,63	15 ^{tn} ±8,32

Keterangan: tn = Tidak Berbeda Nyata, *= Berpengaruh Nyata,**= Berpengaruh Sangat Nyata.

Hasil pengamatan pada peubah tinggi tanaman menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata hingga sangat nyata pada umur tanaman 2 dan 4 MST akibat perlakuan pemberian mutagen EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) pada gepak kuning namun tidak berbeda nyata pada tinggi tanaman umur 6 dan 8 MST.

Pemberian mutagen EMS memberikan pengaruh pada tinggi tanaman gepak kuning umur 2 dan 4 MST. Nilai tertinggi terdapat pada tanaman tanpa perlakuan yaitu 14,51cm dan 37,31cm dan nilai terendah terdapat pada perlakuan E1(0,05%) yaitu 11,75 cm dan 31,98 cm. Ini menunjukkan tanaman kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang diberikan perlakuan EMS dengan konsentrasi yang berbeda. Pada penelitian ini tinggi tanaman yang berpengaruh nyata hingga sangat nyata terdapat pada umur tanaman 2 MST dan 4 MST

Perbedaan nilai tertinggi pada peubah tinggi tanaman di dominasi oleh perlakuan kontrol (E0) dan terendah yaitu pada

perlakuan EMS. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Pratiwi *et al.*, (2013) yang menunjukkan bahwa tinggi tanaman Marigold pada umur 4 MST hingga 5 MST berbeda nyata antara kontrol dengan semua perlakuan. Tanaman kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang diberi perlakuan EMS dengan konsentrasi yang berbeda. Menurut Defiani *et al.*, (2013), hal ini dapat disebabkan oleh sifat mutagen yang dapat menyebabkan kerusakan fisiologis dan kromosomal yang akut serta penundaan onset mitosis. Perbedaan respon yang ditunjukkan pada tinggi tanaman disebabkan akibat konsentrasi EMS yang berbeda-beda.

Pada peubah jumlah cabang produktif, cabang terbanyak terdapat pada konsentrasi E0 dengan cabang rata-rata mencapai 16,23cm dan terendah terdapat pada tanaman konsentrasi E3 (0,1%) dengan jumlah rata-rata 14,4 cm, serta terdapat perbedaan nyata hingga sangat nyata terhadap semua konsentrasi dengan tanaman kontrol. Penelitian ini menunjukkan perbedaan antara tanaman kontrol dengan tanaman yang diberikan perlakuan EMS. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sari *et al.*, (2017) bahwa kombinasi perlakuan EMS dan cara rendam adalah konsentrasi yang paling menekan pertumbuhan karakter tinggi tanaman dan jumlah batang, namun kombinasi perlakuan aplikasi EMS pada konsentrasi tinggi dapat menurunkan tinggi tanaman dan jumlah cabang. Hal ini diperkuat juga dengan penelitian Pratiwi *et al.*, (2013) pada jumlah cabang tanaman marigold pada umur 3 MST berbeda

nyata antara kontrol dengan perlakuan EMS 0,9%, sedangkan jumlah cabang pada umur 4 MST hingga 7 MST berbeda nyata antara kontrol dengan semua perlakuan. Jumlah cabang tanaman kontrol lebih banyak dari pada tanaman yang diberi perlakuan EMS dengan konsentrasi yang berbeda.

Pada peubah umur bunga, tanaman yang cepat berbunga terdapat pada tanaman konsentrasi E2 (0,075%) dengan nilai rata-rata 43,2 HST dan tanaman yang lambat berbunga terdapat pada tanaman konsentrasi E1(0,05%) dengan nilai rata-rata 55,3 HST. Pada penelitian ini tidak adanya perbedaan terhadap tanaman yang diberi perlakuan konsentrasi EMS dengan tanaman kontrol.

Pada peubah umur panen, tanaman yang cepat panen terdapat pada tanaman tanpa perlakuan dengan nilai rata-rata 98,86 HST dan tanaman yang lambat panen terdapat pada tanaman konsentrasi E3 (0,1%) dengan nilai rata-rata 96,63 HST. Penelitian ini tidak adanya perbedaan terhadap tanaman yang diberi konsentrasi dengan tanaman kontrol. Namun, penelitian ini berbeda dengan penelitian Rasyad & Fiarahman (2022) bahwa rata-rata umur panen antar populasi tanaman kedelai yang berasal dari benih yang diinduksi dengan konsentrasi EMS 200 ppm sampai 600 ppm secara statistik cenderung lebih lambat umur panennya sekitar 4 hari bahkan jika digunakan 700 ppm umur panen makin lambat 6 hari di bandingkan dengan tetua. Meningkatnya nilai keragaman umur panen pada populasi yang diinduksi dengan konsentrasi 200 ppm sampai 700 ppm

cukup efektif menyebabkan mutasi pada lokus-lokus yang mengatur umur panen.

Pada peubah jumlah polong pertanaman, polong terbanyak terdapat pada konsentrasi E0 dengan polong rata-rata mencapai 217 polong dan polong terendah terdapat pada tanaman konsentrasi E3 (0,1%) dengan jumlah polong rata-rata 108 polong, serta terdapat perbedaan sangat nyata terhadap semua konsentrasi. Penelitian ini menunjukkan tanaman kontrol menghasilkan polong lebih banyak dibandingkan dengan tanaman yang diberi perlakuan. Rasyad & Fiarahman (2022) menyatakan bahwa perubahan jumlah polong pertanaman kedelai menjadi lebih sedikit mengindikasikan bahwa telah terjadi mutasi gen atau kromosom yang mengontrol jumlah polong tanaman karena dilakukan induksi mutasi menggunakan konsentrasi EMS. Hal ini berbeda dengan studi Irawan *et al.*, (2022), dimana pemberian mutagen EMS pada generasi M1 meningkatkan jumlah polong berisi pertanaman. Hal ini dikarenakan benih yang diberikan mutagen dengan dosis tertentu dapat membuat produktivitas tanaman meningkat dibandingkan dengan tanaman kontrol. Parameter jumlah polong pertanaman merupakan jumlah polong yang terdapat pada tangkai tanaman kedelai. Semakin tinggi jumlah polong, maka jumlah produksi yang akan dihasilkan akan semakin tinggi pula (Laksono & Fanata, 2022).

Pada peubah jumlah bobot biji pertanaman, bobot terbanyak terdapat pada tanaman tanpa perlakuan E0 dengan

tinggi bobot rata-rata 35,01 g dan bobot terendah terdapat pada tanaman konsentrasi E3 (0,1%) dengan jumlah bobot rata-rata 16,44 g. Pada penelitian ini tanaman konsentrasi E1 (0,05%) tidak berpengaruh nyata terhadap bobot biji pertanaman dengan tanaman kontrol, namun pada tanaman konsentrasi E2 (0,075%) dan E3 (0,1%) berpengaruh sangat nyata dengan tanaman kontrol.

Hal ini sejalan dengan penelitian Rasyad & Fiarahman (2022) yang menunjukkan bahwa bobot biji pertanaman hasil induksi mutasi dengan konsentrasi 200 ppm dan 300 ppm EMS relatif sama dengan tetua, namun dengan semakin tingginya konsentrasi EMS yang digunakan rata-rata cenderung lebih rendah dibanding tetua. Penurunan rata-rata bobot biji pertanaman terlihat pada hasil induksi mutasi yang dihasilkan akan semakin sedikit. Hal ini disebabkan karena menginduksi mutasi dengan EMS akan berpengaruh secara tidak langsung terhadap komponen hasil seperti bobot biji.

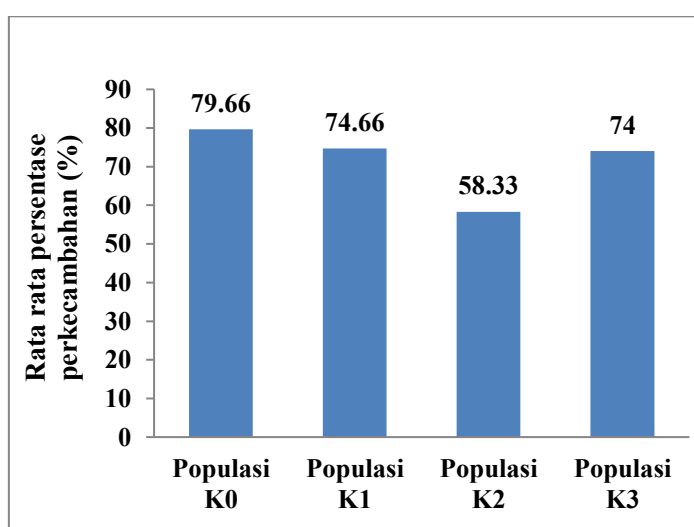
Pada peubah bobot 100 biji pertanaman, bobot terbanyak terdapat pada tanaman tanpa perlakuan E0 dengan bobot rata-rata mencapai 10,26 g dan bobot terendah terdapat pada tanaman konsentrasi E3 (0,1%) dengan jumlah bobot rata-rata 9,56 g, serta terdapat perbedaan sangat nyata pada semua tanaman yang diberikan konsentrasi. Penelitian ini menunjukkan tanaman kontrol menghasilkan bobot 100 biji paling tinggi dibandingkan dengan tanaman yang diberi perlakuan. Hal ini sejalan dengan penelitian Ye *et al* (2020) bahwa bobot 100 benih

dan volume benih *Cyperus esculentus* L menunjukkan perbedaan yang nyata pada perlakuan konsentrasi EMS yang berbeda. Menurut Rasyad & Fiarahman (2022) yang menyatakan bahwa menginduksi dengan konsentrasi tinggi menyebabkan biji yang dihasilkan akan semakin sedikit. Hal ini disebabkan karena menginduksi mutasi dengan EMS akan berpengaruh secara tidak langsung terhadap komponen hasil seperti jumlah biji. Hasil dari penelitian tersebut ialah pada populasi tanaman hasil induksi mutasi dengan EMS pada konsentrasi 600 ppm dan 700 ppm, nilai rata-rata dan nilai keragaman dari karakter bobot biji pertanaman semakin menurun.

4.3.2 Keragaman Karakter Morfologi dan Agronomi Galur M.1.1.3 Pada Generasi M₂

Hasil pengamatan pada satu minggu setelah tanam (1 MST) menunjukkan bahwa pada tanaman kontrol (0%) terlihat pertumbuhan daun kotiledon dan daun plumula telah membuka secara sempurna. Tanaman dengan konsentrasi K1(0,05%) menunjukkan perkembangan daun kotiledon yang sempurna, daun plumula sudah muncul namun belum terbuka secara sempurna. Tanaman dengan konsentrasi K2 (0,075) menunjukkan daun kotiledon banyak yang belum membuka secara sempurna dan daun plumulanya belum muncul. Tanaman dengan konsentrasi K3 (0,1%) terlihat daun kotiledon banyak yang belum membuka secara sempurna dan daun plumulanya belum muncul.

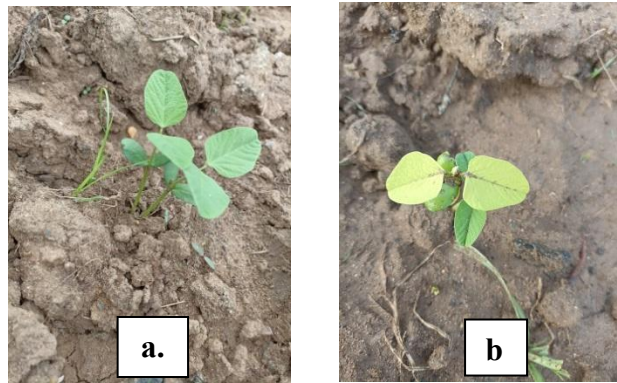
Hasil pengamatan pada generasi M₂ menunjukkan bahwa terjadi penurunan terhadap persentase perkecambahan dan persentase tanaman yang dapat bertahan hidup dengan semakin meningkatnya konsentrasi EMS jika dibandingkan dengan kontrol. Pada konsentrasi K₀ persentase perkecambahan sebesar 79% (239 tanaman yang berkecambah dari 300 benih yang ditanam), Pada konsentrasi K₁, persentase perkecambahan sebesar 74% (224 tanaman yang berkecambah dari 300 benih yang ditanam). Pada konsentrasi K₂, persentase perkecambahan sebesar 58% (175 tanaman yang berkecambah dari 300 benih yang ditanam). Pada konsentrasi K₃, persentase perkecambahan sebesar 74% (222 tanaman yang berkecambah dari 300 benih yang ditanam). Berikut persentase perkecambahan kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian mutagen EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Gambar 32.



Gambar 32. Persentase perkecambahan populasi kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian mutagen EMS pada generasi M₂

Menurut Pratiwi *et al.*, (2013) menyatakan bahwa terjadi penurunan persentase perkecambahan akibat pemberian mutagen EMS hal ini disebabkan oleh sifat racun dari EMS yang dapat menyebabkan kerusakan fisiologis, kerusakan kromosom, terhambatnya proses mitosis, aberasi kromosom yang disebabkan aktivitas enzim katalase dan lipase, dan mengganggu aktivitas hormonal yang dapat mengakibatkan penurunan persentase bertahan hidup pada perkecambahan. Gangguan pembentukan enzim yang terlibat dalam proses perkecambahan, merupakan salah satu dampak fisiologis yang diakibatkan oleh EMS. Dosis EMS yang tinggi dapat menurunkan persentase tumbuh pada saat perkecambahan.

Terdapat keragaman morfologi yaitu perubahan pada warna daun (Mutan Klorofil. Ditemukan hanya satu macam jenis mutan klorofil yaitu tipe *xantha* . Nilahayati *et al.*, (2018) menyatakan bahwa mutasi klorofil merupakan salah satu indikator dalam mengevaluasi pengaruh perlakuan mutagen, walaupun mutasi klorofil tidak mempunyai nilai berharga disebabkan karena letak secara alami namun studi sangat berguna untuk dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi dosis mutagen yang dapat meningkatkan variabilitas genetik.

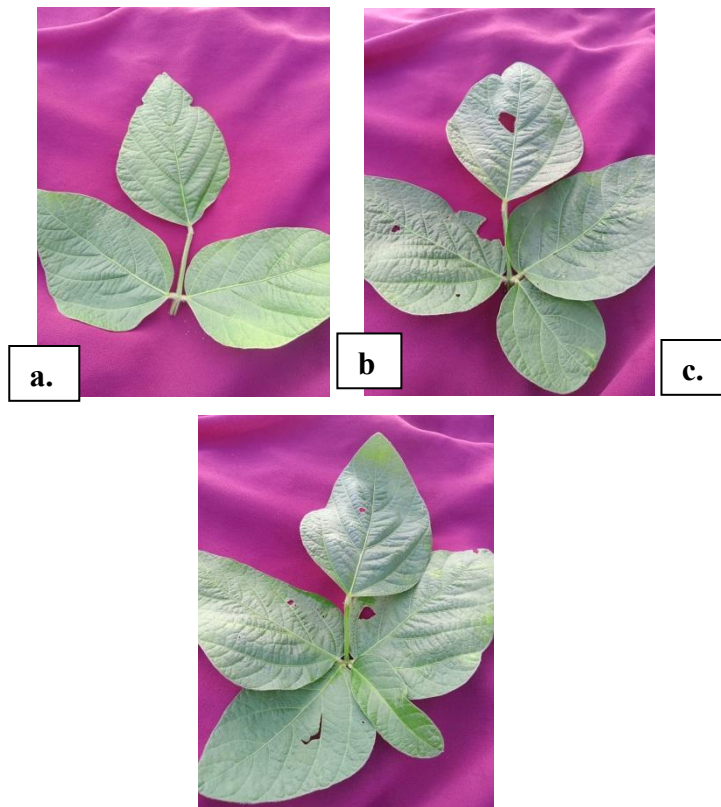


Gambar 33. Perubahan warna daun : a. Daun normal b. Mutan klorofil

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Nilahayati *et al.*, (2016) yang menggunakan iradiasi sinar gamma sebagai mutagen. Pada generasi M₂ mereka menemukan berbagai macam mutan klorofil seperti *xantha*, *chlorina* dan *viridis*. Mutan *xantha* menunjukkan warna daun kuning cerah (*bright yellow colour*), mutan *chlorine* menunjukkan warna daun yang hijau kekuningan (*yellowish green colour*) dan tipe mutan *viridis* menunjukkan warna daun hijau terang (*light green*). Pratiwi *et al.*, (2013) menambahkan bahwa perubahan warna daun ini secara bertahap berubah kembali menjadi warna hijau yang normal selama masa pertumbuhan tanaman, hanya beberapa dari mutan klorofil yang dapat melanjutkan pertumbuhannya sampai memasuki masa panen.

Pada penelitian ini diperoleh mutan bentuk daun hanya dua macam yaitu *tetrafoliate* dan *pentafoliate*. *Tetrafoliate* adalah bentuk daun yang ditandai dengan daun terbagi menjadi

4 helai daun, sedangkan *pentafoliate* adalah bentuk daun yang ditandai dengan daun terbagi menjadi 5 helai daun



Gambar 34. Mutan bentuk daun (*Leaflet mutant*) : a. Normal leaf b. *Tetrafoliate* c. *Pentafoliate*

Hal yang sama dapat dijumpai pada penelitian Nilahayati *et al.*, (2016) yang menggunakan iradiasi sinar gamma sebagai mutagen. Pada generasi M₂ mereka menemukan berbagai macam mutan bentuk daun (*leaflet mutant*) berupa *unifoliate*, *bifoliate*, *tetrafoliate*, *pentafoliate*.

Pada tahap ini terdapat keragaman morfologi yaitu rasim bunga tidak berkembang (*Undeveloped Rasim Flower*), Hal yang sama juga terjadi pada mutasi menggunakan iradiasi gamma

(Nilahayati *et al.*, (2016), yang menunjukkan adanya sterilitas pada tanaman.



Gambar 35. Rasim Bunga Tidak Berkembang Pada Beberapa Tanaman

Rasim bunga yang tidak berkembang ini juga ditemukan pada kedelai yang menggunakan iradiasi sinar gamma. Hanafiah *et al.*, (2010) menyatakan pada tanaman dengan penyinaran dosis iradiasi 200 Gy, jumlah polong yang terbentuk lebih sedikit, banyak bakal bunga tidak berkembang dan bunga tidak berkembang membentuk polong. Sibarani *et al.*, (2015) juga mendapatkan bahwa iradiasi sinar gamma dosis 200 Gy ditemukan beberapa tanaman yang tidak berhasil membentuk polong atau rasim bunga tidak berkembang.

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji t pada Tabel 25 menunjukkan bahwa perlakuan EMS berpengaruh nyata hingga sangat nyata terhadap peubah tinggi tanaman umur 2, 4, 6 dan 8 MST, jumlah cabang, jumlah polong tanaman, jumlah polong hampa, bobot biji pertanaman, bobot 100 biji,

umur bunga, umur panen, bobot biji kering per plot, dan produksi.

Tabel 23. Rekapitulasi analisis uji t pengaruh EMS terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai galur M.1.1.3 pada generasi M2

No	Karakter	Konsentrasi EMS			
		0 (K0)	0,05 (K1)	0,075 (K2)	0,1 (K3)
1.	Tinggi Tanaman	18,9 ±	20,2** ±	19,3 ^{tn} ±	18,7 ^{tn} ±
	2 MST	1,9	1,7	2,4	2,1
	4 MST	38,2 ±	43,0** ±	39,9 ^{tn} ±	28,6** ±
	6 MST	5,2	4,9	7,4	5,2
	8 MST	59,9 ±	73,2** ±	66,2* ±	32,6** ±
	Jumlah Cabang	10,4	13,0	16,2	6,9
	Jumlah Polong	78,1 ±	83,4 ^{tn}	78,2 ^{tn} ±	35,5** ±
	Jumlah Hampa	13,2	±13,7	20,1	8,8
2.	Jumlah Bobot Biji	12,4 ±	12,8 ^{tn} ±	12,3 ^{tn} ±	10,7** ±
	Jumlah Polong	1,5	2,0	2,4	0,9
3.	Jumlah Hampa	66,7 ±	88,8** ±	67,8 ^{tn} ±	2,03** ±
	Jumlah Bobot Biji	19,9	34,9	41,1	4,7
4.	Jumlah Pertanaman	1,1 ±	1,7 ^{tn} ±	1,2 ^{tn} ±	10,8** ±
	Jumlah Bobot Biji	1,6	3,0	2,3	4,8
5.	Jumlah Pertanaman	19,2 ±	22,3 ^{tn} ±	19,1 ^{tn} ±	0,7** ±
	Jumlah Bobot Biji	4,8	10,8	11,2	0,9
6.	Jumlah Pertanaman	11,8 ±	12,3 ^{tn} ±	12,2 ^{tn} ±	0,0**
	Jumlah Bobot Biji	0,7	1,1	1,2	±0,0
7.	Umur Bunga	39,1 ±	38,6* ±	39,4 ^{tn} ±	45,6** ±
	Umur Panen	0,6	0,6	1,3	0,8
8.	Umur Panen	93,6 ±	94,3 ^{tn} ±	97,1** ±	104,1** ±
	Bobot Biji Kering Per Plot	3,4	2,1	2,5	3,6
9.	Bobot Biji Kering Per Plot	437 ±	809 ^{tn} ±	896 ^{tn} ±	
	Plot	116	659	1149	3,6* ± 4,3

Produksi	5,40 ±	10,03 ^{tn}	11,1 ^{tn} ±	
10. (Ton/Ha)	1,4	± 8,2	14,4	0,0* ± 0,0

Keterangan: tn = Tidak Berbeda Nyata, *= Berpengaruh Nyata,**= Berpengaruh Sangat Nyata.

Pada tinggi tanaman umur 2 MST terdapat perbedaan tinggi tanaman antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K1 (0,05). Sedangkan konsentrasi K2 (0,075) dan K3 (0,1) tidak terdapat perbedaan tinggi tanaman dengan kontrol. Pada tinggi tanaman umur 4 MST terdapat perbedaan tinggi tanaman antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K1 (0,05) dan K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K2 (0,075) tidak terdapat perbedaan tinggi tanaman dengan kontrol. Pada tinggi tanaman umur 6 MST terdapat perbedaan tinggi tanaman antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi EMS konsentrasi K1 (0,05) , K2 (0,075) dan K3 (0,1). Pada tinggi tanaman umur 8 MST terdapat perbedaan tinggi tanaman antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K1 (0,05), K2 (0,075) tidak terdapat perbedaan tinggi tanaman dengan kontrol. Nilai rata rata tinggi tanaman kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Tabel 25.

Pada tinggi tanaman umur 2 MST tanaman tertinggi terdapat pada konsentrasi K1 dengan tinggi rata rata mencapai

20,23 cm, berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan tinggi rata rata mencapai 18,91 cm. Sedangkan tanaman terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 18,71 cm. Pada tinggi tanaman umur 4 MST tanaman tertinggi terdapat pada konsentrasi K1 dengan tinggi rata rata mencapai 43,05 cm, berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan tinggi rata rata mencapai 38,28 cm. Sedangkan tanaman terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 28,63 cm. Pada tinggi tanaman umur 6 MST tanaman tertinggi terdapat pada konsentrasi K1 dengan tinggi rata rata mencapai 73,16 cm, berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan tinggi rata rata mencapai 59,9 cm. Sedangkan tanaman terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 32,63 cm. Pada tinggi tanaman umur 8 MST tanaman tertinggi terdapat pada konsentrasi K1 dengan tinggi rata rata mencapai 83,36 cm, berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan tinggi rata rata mencapai 78,13 cm. Sedangkan tanaman terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 35,53 cm.

Pada peubah tinggi tanaman dapat dilihat bahwa rata rata tinggi pada konsentrasi K1 lebih tinggi dibandingkan K0 pada setiap minggunya, namun semakin tinggi konsentrasi EMS yang diberikan rata rata tinggi tanaman K2 dan K3 menurun dibandingkan dengan K0. Menurut Pratiwi *et al.*, (2013) tingginya konsentrasi EMS yang masuk kedalam benih akan menyebabkan mutasi titik pada DNA sel embrio yang terdapat di

dalam benih dan mengubah susunan asam amino. Akhtar (2014) juga menyebutkan bahwa tingkat dosis mutagen yang lebih tinggi menunjukkan tinggi tanaman yang rendah karena mutagen membatasi pembelahan sel somatik, juga dapat menyebabkan pertumbuhan abnormal dan penurunan kesuburan. Hal ini didukung oleh Rasyad (2022) yang menyebutkan pemberian EMS pada konsentrasi terlalu tinggi dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan sehingga menyebabkan batang tanaman menjadi kerdil. Namun bertolak belakang dengan hasil penelitian Widyati *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa konsentrasi EMS tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, hal itu disebabkan karena pertumbuhan tanaman sangat dipengaruhi faktor lingkungan dan genetik dari tanaman itu sendiri. Pada peubah jumlah cabang produktif terdapat perbedaan jumlah cabang antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K1 (0,05), K2 (0,075) tidak terdapat perbedaan jumlah cabang dengan kontrol. Nilai rata rata jumlah cabang produktif tanaman kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Tabel 25.

Pada peubah jumlah cabang produktif, cabang terbanyak terdapat pada konsentrasi K1 dengan cabang rata rata mencapai 12,86, tidak berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan cabang rata rata mencapai 12,4 . sedangkan cabang terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata

mencapai 10,7. Hal ini sejalan dengan penelitian Pratiwi *et al.*, (2013) yang menyebutkan jumlah cabang tanaman kontrol lebih banyak daripada tanaman yang diberikan perlakuan EMS dengan konsentrasi yang berbeda. Jumlah cabang tanaman marigold pada umur 3 MST berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan EMS 0,9 %, sedangkan jumlah cabang pada umur 4 MST hingga 7 MST berbeda nyata. Namun berbeda dengan hasil penelitian Savitri (2015) yang mengatakan bahwa pengamatan jumlah daun, luas daun, jumlah cabang perlakuan EMS pada konsentrasi 0,03% dengan lama perendaman 4 jam menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Pada peubah umur berbunga terdapat perbedaan umur berbunga antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K1 (0,05) dan K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K2 (0,075) tidak terdapat perbedaan umur berbunga dengan kontrol. Nilai rata rata umur berbunga kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Tabel 3. Pada peubah umur berbunga pertanaman, umur tertinggi terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 45.63 HST , berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan umur rata rata mencapai 39.13 HST . Sedangkan jumlah polong terendah terdapat pada konsentrasi K1 dengan rata rata mencapai 38.63 HST.

Perbedaan ini diduga karena berhubungan dengan munculnya perkecambahan permukaan tanah. Pada mutasi dengan dosis yang semakin tinggi mengakibatkan munculnya kecambah lebih lambat dibandingkan kontrol. Hal ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Laksono (2022), yang menyatakan bahwa tingginya konsentrasi EMS dapat merusak promotor pertumbuhan, meningkatkan penghambat pertumbuhan dan metabolisme benih, dan menyebabkan berbagai penyimpangan kromosom. Hal ini mengakibatkan waktu muncul bunga pertama pada kedelai mutasi lebih lambat dibandingkan kontrol.

Pada peubah umur panen terdapat perbedaan umur panen antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K2 (0,075) dan K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K1 (0,05) tidak terdapat perbedaan umur berbunga dengan kontrol. Nilai rata rata umur panen kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Tabel 3. Pada peubah umur panen pertanaman, umur panen paling lama terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 104.13 HST, berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan umur panen rata rata mencapai 93.63 HST. Sedangkan umur terendah terdapat pada konsentrasi K0 dengan rata rata 93.63 HST. Hal ini diduga penggunaan EMS pada berbagai konsentrasi yang digunakan dapat menyebabkan kerusakan pada bagian sel embrio yang membuat pertumbuhan tanaman selanjutnya menjadi terganggu

yang berakibat mundurnya waktu panen. Hal ini didukung oleh pendapat Putra *et al.*, (2013) yang mengatakan bahwa semakin tinggi dosis mutagen yang diberikan maka umur panen menjadi semakin lama.

Hal ini sejalan dengan penelitian Rasyad (2022), yang menyatakan kedelai yang berasal dari benih yang diinduksi dengan konsentrasi EMS 200 ppm sampai 600 ppm secara statistik cenderung lebih lambat umur panennya sekitar 4 hari bahkan jika digunakan 700 ppm umur panen makin lambat 6 hari dibandingkan dengan tetua.

Pada peubah jumlah polong pertanaman terdapat perbedaan jumlah polong antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K1 (0,05) dan K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K2 (0,075) tidak terdapat perbedaan jumlah polong dengan kontrol. Nilai rata rata jumlah polong pertanaman kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Tabel 25.

Pada peubah jumlah polong pertanaman, cabang tertinggi terdapat pada konsentrasi K1 dengan rata rata mencapai 88.76 , berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan tinggi rata rata mencapai 66.66. Sedangkan tanaman terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan rata rata mencapai 2.03. Hal ini sejalan dengan Rasyad (2022), yang menyatakan bahwa konsentrasi EMS yang digunakan ditingkatkan lebih dari 400 ppm, jumlah polong pertanaman

cenderung mengalami penurunan. Induksi EMS konsentrasi 200 ppm sampai 400 ppm dapat menyebabkan perubahan genetik sehingga nilai individunya banyak mengalami perubahan. Fiarahman *et al.*, (2021) menyebutkan bahwa perubahan jumlah polong pertanaman kedelai menjadi lebih sedikit mengindikasikan bahwa telah terjadi mutasi gen atau kromosom yang mengontrol jumlah polong tanaman karena dilakukan induksi mutasi menggunakan konsentrasi EMS.

Banyaknya jumlah polong pada konsentrasi K1 diduga karena memiliki jumlah daun yang banyak yang sejalan dengan perubahan jumlah cabang dimana cabang K1 memiliki jumlah cabang yang paling banyak. Hal ini didukung oleh Laksono, (2022) yang menyebutkan daun yang lebih banyak memungkinkan tanaman menangkap sinar matahari secara maksimal dan fiksasi CO₂ semakin tinggi sehingga dapat meningkatkan hasil fotosintesis. Hasil fotosintesis yang besar akan berpengaruh pada hasil asimilat yang besar juga, dan terus menerus terproses dalam pembentukan polong tanaman.

Pada perubahan bobot biji pertanaman dan bobot 100 biji pertanaman terdapat perbedaan jumlah bobot biji antara perlakuan kontrol (tanpa EMS) dengan populasi tanaman yang diberikan mutagen EMS konsentrasi K3 (0,1). Sedangkan konsentrasi K1 (0,05), K2 (0,075) tidak terdapat perbedaan jumlah bobot biji pertanaman dan bobot 100 biji dengan kontrol. Nilai rata-rata bobot biji pertanaman dan bobot 100 biji

pertanaman kedelai galur M.1.1.3 akibat pemberian EMS pada generasi M₂ dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada peubah bobot biji per tanaman, polong tertinggi terdapat pada konsentrasi K2 dengan rata rata bobot mencapai 19,08 gram, tidak berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan bobot rata rata mencapai 19,25 gram. Sedangkan jumlah bobot terendah terdapat pada konsentrasi K3 dengan bobot rata rata mencapai 0,724 gram. Pada peubah bobot 100 biji per tanaman, polong tertinggi terdapat pada konsentrasi K2 dengan rata rata bobot mencapai 12,23 gram, tidak berbeda nyata dengan perlakuan K0 (kontrol) dengan bobot rata rata mencapai 11,84 gram. Sedangkan jumlah bobot terendah terdapat pada konsentrasi K3.

Penurunan bobot biji yang cukup drastis terlihat jelas pada hasil konsentrasi K3 yang berbeda sangat nyata dengan K0 diduga karena konsentrasi EMS yang tinggi. Pratiwi *et al.*, (2013) mengatakan bahwa menurunnya persentase tumbuh pada perlakuan EMS disebabkan racun dari EMS yang dapat menyebabkan kerusakan fisiologis, kerusakan kromosom, terhambatnya proses mitosis, aberasi kromosom yang disebabkan aktivitas enzim seperti enzim katalase dan lipase, dan mengganggu aktivitas hormonal yang dapat mengakibatkan penurunan persentase bertahan hidup pada saat perkecambahan. Semakin tinggi dosis dari pemberian konsentrasi EMS maka akan berdampak pada persentase tumbuh pada tanaman Galur M.1.1.3. yang didukung juga dengan

penelitian Rasyad, (2022) yang menyatakan bahwa menginduksi dengan konsentrasi tinggi, menyebabkan biji yang dihasilkan akan semakin sedikit. Hal ini disebabkan karena menginduksi mutasi dengan EMS akan berpengaruh secara tidak langsung terhadap komponen hasil seperti jumlah biji. Hasil dari penelitian tersebut ialah pada populasi tanaman hasil induksi mutasi dengan EMS pada konsentrasi 600 ppm dan 700 ppm, nilai rata-rata dan nilai keragaman dari karakter bobot biji pertanaman semakin menurun.

Peubah bobot biji pada konsentrasi K1 menunjukkan data mengalami peningkatan dibanding dengan K0 (kontrol). Menurut Laksono (2022), penggunaan EMS pada konsentrasi rendah merubah gen yang mempengaruhi biosintesis beberapa hormon pertumbuhan yang berakibat dalam pembelahan dan pemanjangan sel sehingga fisiologis dalam tubuh meningkat yang juga akan berdampak pada peningkatan hasil. Menurut Asadi (2013), hasil dari induksi EMS akan beragam secara acak dan tidak dapat ditentukan dimana dan pada bagian mana yang terkena dampaknya. Hal ini disebabkan oleh berbedanya jenis bahan yang diinduksi dengan EMS dan iklim atau kondisi lingkungannya.

BAB 7

PENUTUP

1. Nilai rata-rata karakter agronomi kedelai kipas putih pada generasi M_1 semakin menurun dengan meningkatnya dosis iradiasi sinar gamma, sedangkan karakter umur berbunga dan umur panen menjadi semakin meningkat dibanding dengan tanaman kontrol.
2. Perlakuan iradiasi sinar gamma pada kedelai kipas putih menunjukkan adanya perubahan karakter morfologi dan agronomi pada generasi M_2 . Populasi dosis 200 Gy terlihat mempunyai kisaran nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kisaran nilai pada populasi iradiasi lainnya untuk karakter jumlah polong bernas dan bobot biji per tanaman.
3. Hasil seleksi genotipe pada generasi M_3 di peroleh 233 mutan putatif kedelai berumur genjah dan berdaya hasil tinggi yang akan dilanjutkan pada penelitian generasi M_4 .
4. Hasil seleksi generasi M_4 berdasarkan karakter umur berbunga dan bobot biji per tanaman, diperoleh 118 genotipe mutan putatif kedelai yang berumur genjah dan berdaya hasil tinggi.
5. Seleksi pada generasi M_5 menghasilkan 33 galur putatif mutan ; 6 galur mutan berumur genjah dengan umur panen lebih cepat 4- 14 hari dengan bobot biji kecil, 3 galur mutan berumur panen 8 hari lebih cepat, 19 galur mutan yang berdaya hasil tinggi namun tidak berumur

- genjah (7 galur mutan putatif diantaranya memiliki bobot biji yang besar (> 14 g/tanaman)
6. Pengujian galur mutan pada generasi M_6 menunjukkan perlakuan genotipe berpengaruh terhadap semua karakter yang diamati kecuali jumlah cabang dan jumlah polong hampa. Galur mutan yang memiliki hasil tinggi dan setara dengan tetuanya adalah galur M.1.1.8 dengan produksi 4,37 ton/ha. Galur mutan yang berumur genjah adalah galur M.1.1.9, M.5.2.1 dan M.1.1.3 dengan umur panen 83 HST.
 7. Peningkatan konsentrasi EMS berpengaruh terhadap persentase daya berkecambah dan tinggi kecambah kedelai cv. Gepak Kuning. Hasil uji sensitivitas mutagen EMS pada kedelai cv. Gepak Kuning memperoleh nilai LD50 pada konsentrasi EMS 0,63%.
 8. Perlakuan mutagen EMS pada generasi M_1 mengakibatkan perubahan morfologi pada cv. gepak kuning dan galur M.1.1.3 seperti tanaman steril, perubahan bentuk cabang dan tanaman kimera. Perlakuan mutagen EMS pada cv. Gepak kuning menyebabkan tertundanya waktu panen dan mempengaruhi jumlah polong, bobot 100 biji, bobot benih kering/tanaman. Pada galur M.1.1.3 perlakuan EMS menurunkan tinggi tanaman, menunda pembungaan dan waktu panen, serta mempengaruhi jumlah polong, bobot 100 biji dan bobot kering biji/tanaman.

9. Perlakuan mutagen EMS menyebabkan perubahan morfologi cv. gepak kuning dan Galur M.1.1.3 pada generasi M₂. Perubahan morfologi yang terjadi diantaranya perubahan warna daun, *leaflet mutant*, dan *Undeveloped Rasim Flower*. Perubahan agronomi yang terjadi diantaranya tinggi tanaman, jumlah cabang, jumlah polong pertanaman, jumlah polong hampa, bobot biji pertanaman, bobot 100 biji, umur bunga dan umur panen.

DAFTAR PUSTAKA

- Adie, M. M. dan Krisnawati, A. 2007. Biologi tanaman kedelai, hal 45-73. *Dalam: Sumarno, Suyamto, A. Widjono, Hermanto, dan H. Kasim (Eds.). Kedelai: Teknik Produksi dan Pengembangan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.*
- Adrianto, T.T dan Indarto, N. 2004. Budidaya dan analisis usaha tani kedelai, kacang hijau, kacang panjang. Penerbit Absolut. Yogyakarta Hal : 22-23.
- Alfarisi, S., Hanafiah, D.S., Kardhinata, E.H. 2018. Pengamatan Parameter Genetik pada Generasi M3 Tanaman Kedelai (*Glycine max L.(Merrill.)*) Berdasarkan Kehijauan Daun dan Produksi Tinggi. *Jurnal Agroekoteknologi.* 6.(1), 77-85
- Arisha, M. H., Shah, S. N. M., Gong, Z. H., Jing, H., Li, C., & Zhang, H. X. (2015). Ethyl methane sulfonate induced mutations in M2 generation and physiological variations in M1 generation of peppers (*Capsicum annuum L.*). *Frontiers in Plant Science*, 6(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00399>
- Arsyad, D. M. 2000. Varietas unggul dan strategi pemuliaan kedelai di Indonesia, hal 39-42. *Dalam: L. W. Gunawan, N. Sunarlim, T. Handayani, B. Soegiharto, W. Adil, B. Priyanto, dan Suwarno (Eds.). Penelitian dan Pengembangan Produksi Kedelai di Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.*
- Arsyad M.D, Adie M.M, Kuswanto H. 2007. Perakitan Varietas Unggul Kedelai Spesifik Agroekologi. Di dalam: Sumarno, Suyamto, A Widjono, Hermanto, H Kasim, editor. Kedelai : Teknik Produksi dan Pengembangan. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Arwin, Mulyana, H.I., Tarmizi, Masrizal, Fauzi, K., Mukhlis, A., 2012. Galur mutan harapan kedelai super genjah Q298 dan 4 PJS. *Jurnal ilmiah aplikasi isotop dan radiasi* 8 (2): 107-116.

- Arwin dan Yuliasti. 2016. Keragaan galur-galur kedelai umur genjah dari iradiasi sinar gamma. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi:92-97.
- Asadi. 2013. Pemuliaan mutasi untuk perbaikan terhadap umur dan produktivitas kedelai. *Jurnal AgroBiogen* 9(3):135-142
- Baharsjah, J.S., D. Suardi dan I. Las 1985 *dalam* Somaatmadja, S., M. Ismunadji, Sumarno, M. Syam, S.O. Manurung dan Yuswadi, 1984. Kedelai: Hubungan iklim dengan pertumbuhan kedelai. Institut Pertanian Bogor dan Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Pusat Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Hal 87-102.
- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-biogen). 2011. Pemanfaatan sinar radiasi dalam pemuliaan tanaman. *Warta Penelitian&Pengembangan Pertanian* Vol 33 (1): 7-8
- Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan umbi-umbian [Balitkabi]. 2009. Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang. 175 hlm
- Balitkabi. (2015). *Deskripsi Varietas Unggul Kedelai 1918-2012*. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Malang. 80 Halaman
- Barmawi M, Yushardi, A and Sa'diyah, N. 2013 Daya waris dan harapan kemajuan seleksi karakter agronomi kedelai F2 hasil persilangan antara Yellow Bean dan Taiching. *J. Agrotek Tropika* 1 20-24
- Behera, M., Panigrahi, J., Mishra, R. R., & Rath, S. P. (2012). Analysis of EMS induced in vitro mutants of *Asteracantha longifolia* (L.) Nees using RAPD markers. *Indian Journal of Biotechnology*, 11(1), 39-47.
- Bhosale, U.P and Hallale, B.V. 2011. Gamma radiation induced mutations in Black gram (*Vigna mungo* (L) Hepper). *Asian Journal of Plant Science and Research*. 1 (2):96-100
- Bhosle S.S. and Kothekar V.S., 2014. Gamma ray induced chlorophyll mutations in *Cyamopsis tetragonoloba* (L.)Taub. Vol 2 (15):1-6 hal.
- Bione, N.C.P., Pagliarini, M.S and. de Almeida, L.A. 2002. An original mutation in soybean involving degeneration of

- generative cell and causing male sterility. *Genome*, 45:1257-1261.
- Chen, T., Huang, L., Wang, M., Huang, Y., Zeng, R., Wang, X., Wang, L., Wan, S., & Zhang, L. (2020). Ethyl methyl sulfonate-induced mutagenesis and its effects on peanut agronomic, yield and quality traits. *Agronomy*, 10(5), 1–13. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050655>
- Devy, L. Sastra, D. R. Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap kultur in vitro tanaman jahe. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. Vol 8 (1) : 7-14
- Dhasarathan, Meenakshiganesan, M.I and Geetha. 2014. Studies on the influence of physical mutagen (gamma irradiation) in Black gram (*Vigna Mungo* (L) HEPPER). *Life Science Leaflets Journal*. Vol 56 : 13-19
- Dhanavel, D., Pavadai, P., Mullainathan, L., Mohana, D., Raju, G., Girija, M. and Thilagavathi, C., 2008. Effectiveness and efficiency of chemical mutagens in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Afr. J. Biotech*, 7: 4116-4117.
- Dhumal, K.N. and Bolbhat, S.N. 2012. Induction of genetic variability with gamma radiation and its applications in improvement of horsegram in *Gamma Radiation*, 1st ed., Feriz Adrovic, Ed., Rijeca (Croatia): In Tech Publisher, Chapter 10, pp. 207-228.
- Espina, M. J., Ahmed, C.M.S., Bernardini, A., Adeleke, E., Yadegari, Z., Arelli, P., Pantalone, V & Taheri, A. (2018). Development and Phenotypic Screening of an Ethyl Methane Sulfonate Mutant Population in Soybean. *Front. Plant Sci*, 9, 394. doi: 10.3389/fpls.2018.00394
- Fikriah, (2016). Pengaruh lama perendaman dan konsentrasi mutagen EMS terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kedelai (*Glycine max* L.) varietas Grobogan pada kondisi kekeringan. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Gnanamurthy, S., Mariyammal, S., Dhanavel, D., and Bharathi, T., 2012. Effect of gamma ray on yield and yield components characters R3 generation in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Inter. J. Res. Plant Sci.*, 2(2): 39-42

- Geetha, K., Divya, S., & Srividya, S. (2021). Studies on Effect of Mutagens on Quantitative Characters in M₂ and M₃ Generation of Horsegram [*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc]. *Legume Research - an International Journal*, 2(Of). <https://doi.org/10.18805/lr-4608>
- Girija, M. And Dhanavel. D. 2013. Effect of gamma ray on quantitative traits of Cowpea in M₁ generation. *International Journal of Research in Biological Sciences* 2013; 3(2): 84-87
- Ghosyepa, Sutarno, A. & Kusmiyati, F. (2018). Ketahanan kedelai varietas Detam 3 hasil iradiasi sinar gamma di tanah salin. *J. Agro Complex*, 2(3), 261-268. doi: <https://doi.org/10.14710/joac.2.3.261-268>
- Hakim, L. 2008. Heritabilitas dan harapan kemajuan genetik beberapa karakter kuantitatif pada galur F₂ hasil persilangan kacang hijau. *J.Penel. Pertanian Tan. Pangan* 27 (1) : 42-46
- Hanafiah, D.S., Trikoesoemaningtyas, S. Yahya, D. Wirnas. 2010. Induced mutations by gamma ray irradiation to Argomulyo soybean. *Biosciences*, Vol. 2 (3) : 121-125.
- Hanafiah, D.S. 2012. Perbaikan karakter agronomi dan adaptasi terhadap cekaman kekeringan pada kedelai (*Glycine max* l.) melalui iradiasi sinar gamma dosis rendah. Institut Pertanian Bogor. Disertasi. 141 hal.
- Hanafiah, D. S., Trikoesoemaningtyas, T., Yahya, S., & Wirnas, D. (2011). Penggunaan Mikro Irradiasi Sinar Gamma untuk Meningkatkan Keragaman Genetik pada Varietas Kedelai Argomulyo [*Glycine max* (L) Merr]. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 80-85.
- Hanafiah, D.S., Trikoesoemaningtyas, S. Yahya, D. Wirnas. 2015..Keragaan generasi ketiga (M₃) kedelai hasil iradiasi sinar gamma pada kondisi optimum dan pada kondisi kekeringan. *Jurnal Pertanian tropik*. Vol. 2 (1) : 21-28.
- Hanafiah, D.S., Siregar, L.A.M dan Putri, M.D. 2017. Effect of Gamma Rays Irradiation on M₁ Generation of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Int. J. Agric. Res.*, 12 (1): 28-35.

- Hanafiah, D.S., Luthfi, A. M., & Dinulia Pu, M. (2016). Effect of Gamma Rays Irradiation on M1 Generation of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *International Journal of Agricultural Research*, 12(1), 28–35. <https://doi.org/10.3923/ijar.2017.28.35>
- Hartini, H. 2008. Induksi mutasi dengan iradiasi sinar gamma pada kedelai kultivar Slamet dan Lumut. Institut Pertanian Bogor. Tesis.
- Hossain, M., Khatun, R., Akhter Ban, N., & Nazmul Hud, A. K. M. (2021). Mutagenic Effects of Ethyl Methanesulfonate on Morpho-Physiological Traits of Local Rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 15(1), 7–13. <https://doi.org/10.3923/ijpbg.2021.7.13>
- Hussain, S., Akram, Z., Shabbir, G. & Ahmad, Q. (2020.) Response of soybean genotypes to different levels of mutagens for yield related attributes. *Biomed J Sci & Tech Res*, 25 (1):18757-18764. DOI: 10.26717/BJSTR.2020.25.004135
- Horn, L. N., Ghebrehiwot, H. M., & Shimelis, H. A. (2016). Selection of novel cowpea genotypes derived through gamma irradiation. *Frontiers in Plant Science*, 7(MAR2016), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00262>
- Ichsan, C.N., Hayati, M. Masthura, S.P. 2010. Respon kedelai kultivar Kipas Putih dan Wilis pada kadar air tanah berbeda terhadap pertumbuhan dan hasil. *Agrista* 14 (1): 25-29
- Indriani, F.C., Kuswantoro, H & Supeno, A. (2012). Radiosensivitas beberapa varietas kedelai terhadap iradiasi sinar gamma. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. 97-104
- Irawan, G., Nilahayati, Handayani, R. S., & Nurdin, M. Y. (2022). Pengaruh Pemberian EMS (Ethyl Methane Sulfonate) terhadap pertumbuhan kedelai generasi M1. *Ilmiah Mahasiswa Agroekoteknologi*, 1(4), 87–90.
- Ismachin, M. 1988. Pemuliaan tanaman dengan mutasi buatan. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi. BATAN. Jakarta.
- Jagajantham, N., Dhanavel, D., Pavadai, P and Al.A Chidambaram, 2012. Growth and yield parameters using gamma ray in bhendi (*Abelmoschus esculentus* (L.)

- Moench) var. arka anamika. *International Journal of Research in Plant Science* 2012; 2(4): 56-58
- Jusuf, M. 2001. *Genetika struktur dan ekspresi gen*. Sagung Seto. Jakarta
- Jusuf, M. 2004. Exploration method, inventarisasi, evaluasi dan konservasi plasma germ. Research center of Biotechnology, IPB. Bogor.
- Kalpande, H. V., Borgaonkar, S. B., & Chavan, S. K. (2020). Mutagenic Induction of Yield Contributing Traits in of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) with Gamma Irradiation and EMS. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(6), 3057–3063. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.906.367>
- Karthika, L and B.S. Lakshmi, 2006. Effect of gamma rays and EMS on two varieties of soybean. *Asian Journal of Plant Science* 5(4):721-724.
- Kavina, Pg. J., Ranjith, V., & Sathya, B. (2020). Effect of EMS on chlorophyll mutagen in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). ~ 1 ~ *Journal of Medicinal Plants Studies*, 8(2), 1–05. www.plantsjournal.com
- Ke, C., W. Guan, S. Bu, X. Li , Y. Deng, Z. Wei , W. Wu, Y. Zheng. (2019). Determination of absorption dose in chemical mutagenesis in plants. *PLoS ONE*, 14(1), e0210596. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210596>
- Khalil, I.H. 2011. Environment influence on heritability and selection response of vegetative and maturity trait in mungbean. *Egypt. Acad.J.Biolog. Sci.* 2(1): 1 -10
- Kharkwal, M.C. and Q.Y. Shu. 2009. p. 33-38. *In* The Role of Induced Mutations in World Food Security. Q.Y. Shu (*ed.*) *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Kolar. F. Pawar, N., and Dixit. G., 2011. Induced chlorophyll mutations in *Delphinium malabaricum* (Huth) Munz. *Journal of Applied Horticulture*, 13(1): 18-24
- Krisdina, R. 2013. Dominansi varietas unggul kedelai di Nanggroe Aceh Darussalam. Kajian penyebaran varietas dan preferensi petani. *Prosiding Seminar Hasil Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*. Malang. Hal.293 – 299

- Krisnawati, A. dan Adie. M.M. 2015. Seleksi populasi F5 kedelai berdasarkan karakter agronomis. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. Juni 2015. Vol 1 (3): 434-437
- Kumar, G., & Pandey, A. (2019). Ethyl methane sulphonate induced changes in cyto-morphological and biochemical aspects of *Coriandrum sativum* L. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(4), 469–475. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.03.003>
- Laksono, F. P., & Fanata, W. I. D. (2022). Pengaruh Induksi Mutasi Dengan Mutagen EMS (Ethyl Methane Sulfonate) Terhadap Hasil dan Kualitas Kedelai Hitam (Glycine soja (L) Merrit). *Berkala Ilmiah Pertanian*, 5(2), 120–126.
- Lenawaty, D. Y., Sukma, D., Syukur, M., Suprpta, D. N., Nurcholis, W., & Aisyah, S. I. (2022). Increasing the diversity of marigold (*Tagetes* sp.) by acute and chronic chemical induced mutation of EMS (Ethyl Methane Sulfonate). *Biodiversitas*. 23(3), 1399–1407. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230326>
- Lestari, A.D.,W. Dewi W., W.A. Qosim, M. Rahardja, N. Rostini, R. Setiamihardja. 2006. Variabilitas genetik dan heritabilitas Karakter Komponen Hasil dan Hasil Lima Belas Genotip Cabai Merah. *Zuriat* 17(1) 94-102.
- Lestari, E.G., Asadi, S. Hutami, R. Purnamaningsih, dan S. Rahayu. 2016. Seleksi galur mutan M₄ kedelai berdaya hasil tinggi. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi: 98-103.
- Lukmaningtias, S. A. 2014. Pengaruh Mutasi dengan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) terhadap Pertumbuhan, Hasil dan Kandungan Karbohidrat Tanaman Kedelai (*Glycine max* L. Merrill). *Skripsi*. Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Makmur A. 1992. Pengantar Pemuliaan Tanaman. Rlneka Cipta. Jakarta. 79 hal.
- Maluszynski, M., B. Sigurbjornsson, E. Amano, L. Sitch, and O. Kamra. 1991. Mutant varieties-Data Bank. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. Mutation Breeding Newsletter 38:16-49.

- Marwoto, S. Hardaningsih, dan A. Taufiq. 2006. Hama, penyakit, dan masalah hara pada tanaman kedelai: Identifikasi dan pengendaliannya. Departemen Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. 68 hal.
- Mba, C., Afza, R., Bado, S., & Jain, S. M. (2010). Induced Mutagenesis in Plants Using Physical and Chemical Agents. *Plant Cell Culture: Essential Methods*, 8, 111–130. <https://doi.org/10.1002/9780470686522.ch7>
- Mejaya I.M. Krisnawati A, Kuswantoro H. 2010. Identifikasi plasma nutfah kedelai berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. *Buletin Plasma Nutfah* 16 (2): 113-117.
- Mishra, D. B. Singh. R. Sahu. 2013. Gamma Ray Induced Macro-Mutations in Greengram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *International Journal of Agriculture and Forestry*. 3 (3): 105-109
- Mudibu, J. Nkongolo CKK, Mehes-Smith, Kalonji-Mbuyi A. 2011. Genetic analysis of soybean genetic pool using ISSR marker: effect of gamma mutation on genetic variability. *International Journal of Plant Breeding and Genetics* 5(3): 235-245.
- Mudibu, J. Nkongolo CKK, Kalonji-Mbuyi A, Kizungu RU. 2012. Effect of gamma radiation on morpho-agronomic characteristic of soybeans (*Glycine max* L.). *American Journal of Plant Science* 3 : 331-337.
- Nobre, D. A., C. Sigueyuki Sedyama, W. R. Macedo, N. D. Piovesan, and V. Arthur. (2019). Gamma Radiation to Produce Soybean Mutants for Better Plant Performance and Chemical Composition of Seeds". *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(7), pp. 511-519. doi:10.9755/ejfa.2019.v31.i7.1983.
- Nilahayati, Rosmayati, Hanafiah, D.S., dan Harahap, F., 2015. Induction of genetic variability in Kipas Putih soybean with gamma rays irradiation (M1 generation). *Proceeding of the 1th Almuslim International conference on Science, Technology and Society (AICSTS)*. Bireuen, Indonesia p178-183.
- Nilahayati, Rosmayati, Hanafiah, D.S dan Harahap, F. 2016. Gamma irradiation induced chlorophyll and

- morphological mutation in Kipas Putih soybean. *Basic and Applied Research (IJSBAR)* 30 (3): 74-79.
- Nilahayati, (2018). Perbaikan karakter agronomi pada kedelai Kipas Putih melalui iradiasi sinar gamma. Universitas Sumatera Utara. Disertasi. 93 hal.
- Nilahayati, Nazimah, Handayani, R.D., Syahputra, J. & Rizky, M. (2022). Agronomic diversity of several soybean putative mutant lines resulting from gamma-rays irradiation in M6 generation. *Nusantara Bioscience*, 14(1), 34-39
- Nilahayati, Rosnina & Syahputra, J. (2022.) RAPD Analysis for Genetic Variability of Soybean Mutant Resulting from Gamma Rays Irradiation in M6 Generation. *Agricultural Science Digest (ASD)*, 42 (6), 723-728
- Nugraha, U. S., D.S. Damardjati, dan S. Widowati. 2000. Pengembangan mutu kedelai untuk agroindustri, hal 27-38. *Dalam: L. W. Gunawan, N. Sunarlim, T. Handayani, B. Soegiharto, W. Adil, B. Priyanto, dan Suwarno (Eds.). Penelitian dan Pengembangan Produksi Kedelai di Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.*
- Nugroho, W.D., Barmawi, M., Sa'diyah. 2013. Pola segregasi karakter agronomi tanaman kedelai (*Glycine max L.*) generasi F2 hasil persilangan Yellow Bean dan Taichung. *J. Agrotek Tropika* 1(1): 38-44
- Nur A, Trikoesoemaningtyas, N Khumaida and S Yahya 2012 Evaluasi dan keragaman genetik 12 galur gandum introduksi di lingkungan tropika basah. *J. Agrivigor* 11 230-243
- Opoku Gyamfi, M., Eleblu, J. S. Y., Sarfoa, L. G., Asante, I. K., Opoku-Agyemang, F., & Danquah, E. Y. (2022). Induced variations of ethyl methane sulfonate mutagenized cowpea (*Vigna unguiculata L. walp*) plants. *Frontiers in Plant Science*, 13(August), 1-17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.952247>
- Pavadai, P., M. Girija and D. Dhanavel, 2010. Effect of gamma rays, EMS, DES and COH on protein and oil content in soybean. *J. Eco. Bio. Tech*, 2 (4): 47-50.

- Pavadai, P. and Dhanavel. D. 2005. Effect of gamma ray on yield and its components in soybean (*Glycine max* L.) Merrill. Var. CO1. *Crop Research*, 30(3): 459- 461
- Pavadai, P., 2015. Studies on quantitative character for gamma rays treatment in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Var. Co-1. *International Journal of Modern Cellular and Molecular Biology*, 4(1):1-10.
- Padmavathi, T., P. Devi and V. Kiranmai, 1992. Induced variability for different biological parameters in soybean. *J. Cytol. Genet.*, 27: 175-177.
- Pepol, P. and P. Pepo, 1989. Preliminary experiment on inducing soybean mutants by fast neutron seed irradiation. *Soybean Abstracts*, 12(5): 4-7
- Poespodarsono, S. 1988. Dasar-dasar ilmu pemuliaan tanaman. PAU. IPB. Bogor. 169 hal.
- Pratiwi, N. M. D., Pharmawati, M., & Astarini, I. A. (2013). Pengaruh Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Terhadap Pertumbuhan dan Variasi Tanaman Marigold (*Tagetes* sp.). *Agrotrop*, 3(1), 23–28.
- Purwati, Rully Dyah, Sudjindro, S., Kartini, E., & Sudarsono, S. (2008). *Keragaman Genetika Varian Abaka Yang Diinduksi Dengan Ethyl Methane Sulfonate (EMS)*. 14(1), 16–24.
- Rao Ch M, YK Rao and M Reddy 2006 Genetic variability and path analysis in Mungbean. *Legume Res.* **29(3)**:216-218
- Rahman, S. M., V. Takag, K. Kubota, K. Miyamoto dan V. Kawakita, 1994. The High Oleic Acid Mutant in Soybean Induced by X-Rays Irradiation, *Bioscience, Biotechnology Biochemistry*, Vol. 58 (6) : 1070-1072.
- Rahim, MA., A.A. Ma, F. Mahmud, N. Zeba and K.S. Afrin. 2010. Genetic variability, character association and genetic divergence in mungbean (*Vigna radiata* L.) *Plant Ornic Journal* 3 (1): 1-6
- Rajendran, K. and Laksmi, B.S. (2017). Fixation on lethal dose 50 and the performane of M1 population in two soybean varieties. *Legume Res.* 30 (1) : 49 - 52.
- Ramesh, D.V. and T.V.V. Seetharami Reddi, 2002. Induced morphological variability among three genotypes of rice. *Cytol. Genet. J.*, 3: 115-20

- Rasyad, A., & Fiarahman, B. (2022). Keragaan Kedelai (*Glycine max.*) Generasi M1 Hasil Mutasi Varietas Dega 1 Dengan Beberapa Konsentrasi Ethyl Methane Sulphonate. *Jurnal Dinamika Pertanian Edisi XXXVIII Nomor, 1*(April), 1–10
- Rathore, J., G.R. Lavanaya., N. Kumar and O.P. Khaedar. 2014. Evaluation of gamma rays induced genetic variability and divergence in M3 generation og Mungbean. *International Journal of Innovation and Research (IJAIR)* **3**(2) 2319-1473
- Rubatzky, V.E. dan M. Yamaguchi. 1998. Sayuran dunia I, prinsip produksi dan gizi. Terjemahan Catur Herison. Penerbit ITB Press, Bandung.
- Russell, P.J. 1992. Genetics. Third edition. Harper Collins Pub. 758 P. New York.
- Sagel, Z., Tutluer, M. İ., Peskircioğlu, H., Kantoglu, Y., & Kunter, B. (2017). Determination of effect of chemical mutagen EMS on TAEK A-3 and TAEK C-10 mutant soybean varieties in M1 generation. *EKIN, Journal of Crop Breeding and Genetics*, 3(1), 19–24.
- Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*). Eds. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York
- Satpute, R.A., & Fultambkar, R.V. (2012). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and EMS in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Current Botany*, 3(2): 18-20
- Savitri, E.S. & Fauziah, S.M. (2019). Characterization of drought tolerant of GmDREB2 soybean mutant (*Glycine max* L.) by ethyl methyl sulfonate induction. AIP Conference Proceedings 2019, 020017 <https://doi.org/10.1063/1.5061853>
- Selvaraj, R., Pillai, A., & Ushakumar, R. (2014). Determination of Lethal Dose and Effect of Ethyl Methane Sulphonate in Rice Varieties. *Trends in Biosciences*, 7(11), 1151–1156.
- Serrat, X., Esteban, R., Guibourt, N., Moysset, L., Nogués, S., & Lalanne, E. (2014). EMS mutagenesis in mature seed-derived rice calli as a new method for rapidly obtaining TILLING mutant populations. *Plant Methods*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1746-4811-10-5>

- Sharma, S.M. 1993. Utilization of national collection of sesame in India. ICAR-IBPGR Reg. Workshop on sesame evaluation and improve, 28-30th, Sep., Nagpur, India.
- Sharamo, F. F., Shimelis, H., OlaOlorun, B. M. O., Korir, H., Indetie, A. H., & Mashilo, J. (2021). Determining ethyl methane sulfonate-mediated (EMS) mutagenesis protocol for inducing high biomass yield in fodder barley (*Hordeum vulgare* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 15(7), 983–989. <https://doi.org/10.21475/ajcs.21.15.07.p2877>
- Sibarani, I. B., & Hanafiah, D. S. (2015). Respon morfologi tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) varietas anjasmoro terhadap beberapa iradiasi sinar gamma. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 3(2): 103-933.
- Sihombing, Y.B.L., D.S. Hanafiah dan Y. Husni. Seleksi individu M₃ berdasarkan karakter umur genjah dan produksi tinggi pada tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merrill). *Jurnal agroekoteknologi* 4(4): 2272-2283.
- Somaatmadja, S. 1985. Peningkatan produksi kedelai melalui perakitan varietas, hal 243-261. *Dalam*: S. Somaatmadja, M. Ismunadji, Sumarno, M. Syam, S. O. Manurung dan Yuswandi (Eds.). *Kedelai*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor.
- Song, H.S., J.B. Kim, K.J. Lee, D.S. Kim, S.H. Kim, S.J. Lee, and S.Y. Kang. 2010. A new improved soybean variety, 'Josaengseori' by mutation breeding. *Korean J. Breeding Science* 42(3):222-225.
- Soeranto, 2003. Peran iptek nuklir dalam pemuliaan unbtuk mendukung industri pertanian. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta
- Subandi, A. Harsono, dan H. Kuntastyuti. 2007. Areal pertanaman dan sistem produksi kedelai di Indonesia, hal 104-129. *Dalam*: Sumarno, Suyamto, A.Widjono, Hermanto, dan H. Kasim (Eds.). *Kedelai: Teknik Produksi dan Pengembangan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.

- Sulistyo, A. Yuliasti. 2012 Nilai duga heritabilitas galur-galur mutan kacang hijau (*Vigna radiata*) Seminar nasional pangan UPN Veteran Yogyakarta. p :13-16.
- Sumarno dan A. G. Manshuri. 2007. Persyaratan tumbuh dan wilayah produksi kedelai di Indonesia, hal 74-103. *Dalam: Sumarno, Suyamto, A. Widjono, Hermanto, dan H. Kasim (Eds.). Kedelai: Teknik Produksi dan Pengembangan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor
- Suprpto and N Kairudin 2007 Variasi genetik, heritabilitas, tindak gen dan kemajuan genetik kedelai (*Glycine max Merrill*) pada Ultisol *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*. **9(2):183-190**
- Surya, M. I dan Hoeman S. 2009. Evaluasi Keragaman Genetik Sorgum Manis pada Mutan Generasi Ke-2 Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *Agrivita* 31(2):142-148.
- Suzuki, D.T., A.J.F. Griffith, J.H. Miller and R.C. Lewontin. An Introduction to Genetic Analysis. W.H. Freeman and Company. New York. 1993. 840p
- Suwandi, L. Nuryati, B.Waryanto. R. Widaningsih. D. Riniarsi. 2016. Outlook komoditas pertanian sub sektor tanaman pangan, kedelai. Pusat Data dan Informasi Pertanian Kementerian Pertanian. 85 hal.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, R. Yuniarti, K. Nida., 2010. Pendugaan komponen ragam, heritabilitas dan korelasi untuk menentukan kriteria seleksi cabai (*Capsicum annum L.*) populasi F5. *J. Hort.Indonesia* **1(3): 74-80**.
- Soedjono, S. 2003. Aplikasi Mutasi Induksi dan Variasi Somaklonal dalam Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. 22 (2),70-78.
- Soeranto, 2003. Peran iptek nuklir dalam pemuliaan unbtuk mendukung industri pertanian. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta
- Talebi, A. B., Talebi, A. B., & Shahrokhifar, B. (2012). Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose

- Determination. *American Journal of Plant Sciences*, 03(12), 1661–1665.
<https://doi.org/10.4236/ajps.2012.312202>
- Thangwana, A., Gwata, E. T., & Zhou, M. M. (2021). Impact of chemical mutagenesis using ethyl methane sulphonate on tepary bean seedling vigour and adult plant performance. *Heliyon*, 7(1), e06103.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06103>
- Thilagavathi, C. and L. Mullainathan, 2009. Isolation of macro mutants and mutagenic effectiveness, efficiency in black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *Glo. J. Mol. Sci*, 4 (2): 76-79.
- Tindall, H.D. 1983. Vegetables in tropics. The Macmillan Press, London.
- Umavathi, S., & Mullainathan, L. (2015). Physical and Chemical Induced Mutagenesis Study for Identifying Lethality Dose in Chick Pea (*Cicer arietinum* L.) Var. Co - 4. *International Letters of Natural Sciences*, 35, 1–5.
<https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ilns.35.1>
- Van Harten A. M. 1998. Mutation breeding, theory and practical application. University of Cambridge, Cambridge, UK.
- Wattimena, G.A. 1992. Bioteknologi tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 308 hlm.
- Ye, Y., Li, X., Qian, H., Yang, S., Han, X., & Zhang, J. (2020). Effects of different EMS solution concentration and time treatment on morphological traits of *Cyperus esculentus* L. *E3S Web of Conferences*, 203.
- Yunianti, R S Sastrosumarjo, S Sujiprihati, M Surahman, S H Hidayat 2010 Kriteria seleksi untuk perakitan varietas cabai tahan *Phytophthora capsici* Leonian. *J. Agron. Indonesia* 38:122-129.
- Zuichi, T dan Sutoro. 2016. Keragaman genetik plasma nutfah kedelai (*Glycine max* L.) berdasarkan karakter morfologi dan hasil. Prosiding Seminar Nasional II Kerjama Prodi Pendidikan Biologi FKIP dengan Pusat Studi Lingkungan dan Kependudukan (PSLK) Universitas Muhammadiyah, Malang. p. 461-471

TEKNIK PEMULIAAN MUTASI

PADA TANAMAN KEDELAI

Buku “Teknik Pemuliaan Mutasi pada Tanaman Kedelai” menyajikan panduan komprehensif mengenai aplikasi teknik mutasi sebagai strategi inovatif dalam pemuliaan tanaman kedelai. Dengan fokus pada peningkatan varietas, buku ini secara mendalam membahas berbagai agen mutagen—baik fisik maupun kimia—serta protokol aplikasinya untuk menginduksi keragaman genetik yang bermanfaat pada kedelai.

Pembaca akan diajak memahami mekanisme mutasi pada tingkat seluler dan molekuler, serta bagaimana mutasi tersebut dapat menghasilkan karakteristik agronomis baru yang lebih unggul, seperti peningkatan hasil panen, ketahanan terhadap hama penyakit, toleransi terhadap cekaman lingkungan (kekeringan, salinitas), dan perbaikan kualitas nutrisi biji. Buku ini juga mengupas tuntas metode seleksi mutan yang efisien dan akurat, mulai dari tahapan M1 hingga M4, untuk mengidentifikasi dan mengembangkan galur-galur harapan.

Dilengkapi dengan studi kasus dan contoh-aplikasi praktis, buku ini menjadi referensi esensial bagi peneliti, akademisi, mahasiswa, dan praktisi di bidang genetika, pemuliaan tanaman, dan bioteknologi pertanian yang tertarik dalam pengembangan varietas kedelai unggul melalui pendekatan mutasi.



Penerbit
SEFA MEDIA UTAMA
Jl. Sriwijaya No. 34 Kota Semarang
Telp. 0852 6063 3550

ISBN 978-634-96170-8-6



9

786349

617086