

# MUTASI DAN KULTUR *IN VITRO* UNTUK MENINGKATKAN KERAGAMAN GENETIK TANAMAN KEDELAI

Endang G. Lestari, R. Purnamaningsih, Asadi, S. Hutami, dan S. Rahayu

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor  
Jl. Tentara Pelajar No. 3A Bogor 16111 e-mail: [lestarigati@gmail.com](mailto:lestarigati@gmail.com)

## ABSTRAK

Umur panen merupakan faktor penting dalam pola tanam kedelai (*Glycine max* L. Merr.) umur genjah dan produktivitas tinggi karena memberikan dampak yang luas terhadap peningkatan pendapatan petani kedelai. Di sisi lain ketersediaan varietas kedelai berumur genjah dan produksi tinggi masih terbatas sehingga pembentukan varietas unggul masih perlu dilakukan. Untuk mengatasi masalah tersebut telah dilakukan penelitian melalui teknik mutasi yang dikombinasi dengan kultur *in vitro* pada eksplan kalus embrionik dari tiga genotipe mutan M7 turunan Baluran dan F7 dari persilangan kedelai asal China dan Jepang. Perkecambahan dan pendewasaan struktur embriosomatik untuk menghasilkan tunas dilakukan menggunakan media S11 dan pemanjangan tunas menggunakan media MS+kinetin 0,1 mg/l dan GA<sub>3</sub> 0,1 mg/l. Plantlet yang dihasilkan diaklimatisasi dan benih yang diperoleh kemudian ditanam untuk mendapatkan materi genetik galur mutan M2. Dari hasil penelitian diperoleh benih galur mutan generasi ke-1 (M1), kemudian ditanam untuk mendapatkan galur M2. Galur mutan generasi ke-2 (M2) menghasilkan nilai ragam yang tinggi pada semua galur, untuk peubah tinggi tanaman, jumlah polong isi, biji isi serta bobot biji/tanaman dan hasilnya lebih tinggi dibanding tetua/kontrolnya. Dengan tersedianya keragaman genetik yang tinggi maka seleksi dan evaluasi dapat dilakukan pada generasi berikutnya untuk mendapatkan galur baru umur genjah dan hasil tinggi.

Kata kunci: kedelai, *Glycine max*, umur genjah, produksi tinggi, mutasi

## ABSTRACT

### **Mutation Techniques and *In Vitro* Culture to Improve Genetic Diversity on Soybean.**

Harvesting is an important factor in the early maturity soybean cropping pattern and high productivity because it provides a broad impact on the improvement of farmers' income. The availability of soybean varieties that can adapt widely, as well as early maturity and high production is still limited, therefore, the new superior quality engineering is urgently conducted. The effort to obtain early maturity soybean varieties and high production has been carried out, through mutation techniques and *in vitro* culture of embryonic callus explants of three genotypes of mutant M7 from Baluran and F7 from crosses of Chinese and Japanese Soybean. Germination and maturation embryosomatic structure to produce shoots using the media S11 and elongation of shoots using MS medium + kinetin 0.1 mg/l and GA<sub>3</sub> 0.1 mg/l. Mutant lines of 2<sup>nd</sup> generation (M2) produced high value variability in all lines, for variables of plant height, number of filled pods, seed content and grain weight/plant and the result is higher than the parent/control. With the availability of high genetic diversity, the selection and evaluation can be done in the next generation to get a new strain of early maturity and high production soybean.

Keyword: soybean, early maturity, high yield, mutation

## PENDAHULUAN

Varietas unggul kedelai (*Glycine max* L. Merr.) berumur pendek dan produksi tinggi masih terbatas sehingga penelitian untuk perakitan varietas unggul produktivitas tinggi dan umur genjah masih diperlukan. Umur panen merupakan komponen penting dalam pola

tanam kedelai umur genjah, diikuti produktivitas tinggi, karena akan berdampak luas pada peningkatan pendapatan petani dan membantu penyediaan kedelai. Kedelai umur genjah dapat digunakan untuk menghindari gagal panen akibat cekaman kekeringan karena periode pengisian polong lebih pendek (Mejaya *et al.* 2010). Adie (2007) mengelompokkan umur kedelai di Indonesia menjadi sangat genjah (<70 hari), genjah (70–80 hari), sedang (80–85 hari), dalam (86–90 hari), dan sangat dalam (>90 hari).

Penelitian pada tanaman kedelai melalui keragaman somaklonal untuk mendapatkan galur unggul yang produksi tinggi dan umur genjah telah dilakukan oleh Mariska *et al.* (2012), menggunakan varietas Baluran, Burangrang, Grobogan dan Wilis. Dari seleksi dan evaluasi karakter agronomi pada galur mutan (tahun 2011) dihasilkan galur-galur mutan yang produksinya lebih tinggi dibandingkan induknya, tetapi perbedaan umur panennya hanya 2 dan 3 hari, sehingga untuk mendapatkan galur yang umurnya genjah masih perlu dilakukan perbaikan genetik. Human *et al.* (2012) menyatakan bahwa dalam pembentukan galur unggul, apabila belum diperoleh karakter yang diinginkan, dapat dilakukan iradiasi ulang pada galur-galur terpilih. Perlakuan iradiasi dilakukan pada galur F7 tanaman kedelai hasil persilangan yang memiliki produktivitas tinggi namun umurnya sedang dan pada galur M7 turunan Baluran memiliki produktivitas cukup tinggi. Diharapkan melalui induksi mutasi pada tingkat kalus dapat meningkatkan keragamannya sehingga berpeluang memilih galur mutan genjah dan potensi hasilnya dipertahankan tinggi.

Jain (2010) menyatakan bahwa induksi mutasi mutagen (kimia atau fisik) telah memberikan kontribusi penting pada perbaikan tanaman di dunia, untuk perakitan varietas baru tahan cekaman biotik maupun abiotik serta kualitas hasil lebih baik, termasuk karakter genjah dan hasil tinggi. Pada tanaman hias, aplikasi teknik mutasi sudah lama berkembang, terutama di negara-negara produsen tanaman hias utama dunia, seperti Belanda dan Amerika Serikat. Kini sudah banyak varietas unggul baru yang dihasilkan (Broertjes dan Harten 1988). Beberapa mutan tanaman hias yang telah dilepas sebagai varietas unggul nasional antara lain Yulikara, Rosanda dan Rosmarun (mawar mini), Rosma (mawar potong) dan Mustika Kania (krisan) (Handayati 2014).

Tanaman kedelai berumur genjah dan produktivitas tinggi dapat diperoleh melalui beberapa cara, yaitu persilangan, radiasi dan variasi somaklonal (Acquaah 2007). Pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi pada tanaman kedelai telah dilakukan antara lain untuk mendapatkan tanaman yang toleran terhadap kekeringan (Husni *et al.* 2006; Widoretno 2003). Dengan menggunakan radiasi sinar X dan EMS juga telah dihasilkan berbagai kultivar kedelai tahan penyakit, tahan nematoda, tahan herbisida, hasil tinggi, dan kandungan asam lemak tinggi (Singh dan Hymowitz 1999).

Keberhasilan program pemuliaan tanaman bergantung pada keragamaman genetik dari karakter yang dapat diwariskan (Surya dan Human 2009) dan teknik yang digunakan untuk evaluasi dan seleksi. Makmur (1992) menyatakan efektif atau tidaknya seleksi tanaman yang berdaya hasil tinggi dari sekelompok populasi bergantung pada keragaman hasil yang disebabkan oleh faktor genetik yang nantinya diwariskan kepada keturunannya, dan keragaman hasil yang disebabkan oleh lingkungan.

Tujuan penelitian adalah melakukan radiasi dan karakteriasi mutan M2 untuk mendapatkan keragaman genetik yang tinggi pada galur mutan generasi ke-2 (M2) sebagai materi bahan seleksi.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biologi Sel dan Jaringan dan Rumah Kaca Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, pada Januari 2013 hingga Desember 2014. Bahan tanaman yang digunakan sebagai tetua untuk perakitan varietas adalah empat galur kedelai asal mutasi generasi ke-7 yaitu M7 Bal 431, M7 Bal 430, M7 Bal 470, F7 C-11. Tahapan percobaan sebagai berikut: (1) produksi kalus embrionik dan radiasi kalus serta regenerasi tunas, (2) aklimatisasi plantlet di rumah kaca, dan (3) evaluasi galur mutan M2 di rumah kaca.

### Produksi Kalus Embrionik dan Iradiasi Kalus

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah embrio zigotik kedelai umur 12–14 setelah antesis. Sterilisasi biji di dalam *laminar flow* menggunakan larutan kloroks, kemudian embrionya diisolasi. Embrio zigotik ditanam dalam media untuk induksi kalus M4C (media dasar MS+vitamin B5+2,4-D 20 mg/l) (Hutami *et al.* 2001). Botol yang telah ditanami eksplan diletakkan didalam ruang kultur dengan temperatur 25 °C dalam kondisi gelap selama 4–8 minggu sampai menghasilkan kalus embrionik.

Kalus embrionik yang dihasilkan selanjutnya diberi perlakuan mutasi menggunakan sinar gamma di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR) BATAN Pasar Jumat, Jakarta. Dosis yang digunakan untuk perlakuan iradiasi adalah 400 rad, merupakan dosis LD<sub>50</sub> untuk kalus kedelai hasil penelitian Mariska *et al.* (2004).

### Regenerasi Kalus Setelah Perlakuan Radiasi

Kalus embrionik yang telah diberi perlakuan iradiasi kemudian disubkultur pada media regenerasi (Hutami *et al.* 2001) yaitu media S11 (media dasar MS+GA 0,1 mg/l+Sukrosa 2 % +kinetin 0,1 mg/l+glutamin 100 mg/l+vitamin Morel) sampai membentuk plantlet. Untuk memacu pemanjangan tunas dilakukan subkultur pada media dasar MS+zat pengatur tumbuh kinetin 0,1 mg/l dan GA<sub>3</sub> 0,1 mg/l.

### Aklimatisasi Plantlet

Aklimatisasi dilakukan dengan mengeluarkan plantlet dari botol secara hati-hati agar akar tidak rusak. Media yang digunakan untuk aklimatisasi adalah campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Plantlet yang ditanam terlebih dahulu direndam dalam larutan IBA 1.000 mg/l selama satu jam.

### Evaluasi Galur Mutan Generasi ke-2 (M2)

Materi genetik yang telah diiradiasi (M1) dianggap sebagai individu, ditanam dalam polibag ukuran 10 kg. Pupuk diberikan sesuai standar penanaman kedelai demikian pula pemeliharaan tanaman seperti penyemprotan menggunakan antihama dilakukan secara rutin dan seoptimal mungkin. Peubah yang diamati pada semua individu meliputi warna bunga, tinggi tanaman, jumlah cabang, jumlah polong, jumlah polong isi, polong hampa dan bobot biji/tanaman.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Produksi Kalus Embriosomatik dan Pembentukan Plantlet

Eksplan embrio zigotik mulai menunjukkan respons pembentukan kalus, pada minggu ke-empat setelah tanam, berupa bulatan-bulatan berwarna kekuningan merupakan kalus

embrionik. Empat genotipe yang digunakan menunjukkan respons pembentukan kalus yang berbeda. Genotipe turunan Baluran (M7 Bal 430, 432, dan 470) lebih cepat membentuk kalus embrionik dan kalus yang dihasilkan lebih banyak dibanding genotipe F7 C-11. Penelitian Purnamaningsih *et al.* (2014) juga menggunakan media M4C untuk pembentukan kalus varietas Burangrang, Baluran, Grobogan, dan Wilis. Persentase tertinggi diperoleh pada kedelai varietas Wilis. Mariska *et al.* (2004) juga mendapatkan hasil yang sama bahwa varietas Wilis memberikan respons paling baik. Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan jenis auksin yang umum digunakan untuk induksi embriogenesis pada kedelai (Kita *et al.* 2006).

Kalus embrionik yang telah diberi perlakuan iradiasi tumbuh sangat lambat menghasilkan struktur embriosomatik. Perlakuan induksi mutasi yang diberikan, baik menggunakan iradiasi sinar gamma maupun EMS, dapat menyebabkan kerusakan pada sel sehingga menurunkan efisiensi regenerasi kedelai. Oleh karena itu, diperlukan modifikasi formulasi media tumbuh agar massa sel atau kalus hasil perlakuan induksi mutasi dapat diregenerasikan. Penggunaan metode regenerasi yang tepat dapat meningkatkan peluang diperolehnya galur-galur mutan harapan (Purnamaningsih *et al.* 2014).

Keberhasilan pembentukan tunas dari struktur embriosomatik pada penelitian ini sangat rendah, untuk pendewasaan dan perkecambahannya embriosomatik walaupun menggunakan media S11 merupakan komposisi media terbaik yang telah digunakan oleh Mariska *et al.* (2001). Hasil yang sama diperoleh Husni *et al.* (2006) bahwa kalus yang dihasilkan sangat rendah, diduga pengaruh perlakuan iradiasi sinar gamma yang diberikan menyebabkan kerusakan pada jaringan eksplan yang dapat menyebabkan perubahan susunan nukleotida (Crowder 1990). Masalah perbanyakannya tanaman melalui embriogenesis somatik adalah kesulitan mengecambahkan saat pendewasaan. Kedelai termasuk kedalam tanaman golongan Familia Leguminosae, relatif sulit diperbanyak melalui jalur embriogenesis. Keuntungan pembentukan tunas melalui jalur embriogenesis somatik ialah memberikan peluang yang tinggi untuk mendapatkan mutan tanpa kimera karena berasal dari sel tunggal (Witjaksono dan Litz 2003).

Regenerasi kedelai melalui embriogenesis somatik memerlukan proses yang panjang dan tergantung pada genotipe yang digunakan. Bonacin *et al.* (2000) dan Ko *et al.* (2003) melaporkan potensi regenerasi 15 kultivar kedelai melalui embriogenesis somatik. Keberhasilan pembentukan tunas melalui jalur embriogenesis kedelai bergantung pada umur genotipe yang digunakan dan fase fisiologis dari tetua. Hasil penelitian menunjukkan metode regenerasi yang telah ada belum tentu dapat diaplikasikan pada varietas lainnya walaupun dalam spesies yang sama (Purnamaningsih *et al.* 2014).

### **Aklimatisasi Plantlet**

Aklimatisasi plantlet kedelai agak sulit dilakukan karena akarnya sangat sensitif dan mudah patah, plantlet mudah layu dengan adanya perubahan temperatur lingkungan rumah kaca. Tanaman yang awalnya sudah tumbuh namun lama kelamaan tidak dapat bertahan, diduga karena fungsi akar belum sempurna, sehingga tidak dapat menyerap air dengan optimal, sementara transpirasi sangat tinggi. Plantlet yang direndam menggunakan larutan IBA 1000 mg/l dapat menghasilkan akar yang baru sehingga pertumbuhan tanaman lebih optimal.

Pertumbuhan tanaman yang diaklimatisasi sangat lambat, diduga karena plantlet berasal dari perlakuan radiasi, polong yang dihasilkan juga sangat sedikit. Pada minggu ke-4 hingga ke-8, tinggi tanaman hanya 10–15 cm (Tabel 1). Sampai tanaman menghasilkan

polong, tinggi tanaman rata-rata hanya 20 cm, tinggi tanaman asal biji yang tidak diberi perlakuan iradiasi, mencapai 50–60 cm.

Hasil polong dan biji hanya sedikit pada tanaman hasil aklimatisasi, diduga akibat perlakuan radiasi pada kalus sebagai eksplan. Radiasi merupakan perlakuan yang menyebabkan kerusakan pada jaringan dan sel. Peningkatan dosis pada iradiasi sinar gamma biasanya menghambat pertumbuhan sel-sel pada kalus karena rusaknya sel meristem yang sensitif terhadap iradiasi, yaitu penghambatan pada pembelahan dan pertambahan sel (Charbaji dan Nabulsi 1999). Efek umum radiasi sering ditunjukkan oleh kerusakan fisiologi. Hambatan pertumbuhan, kematian dan sterilitas tanaman merupakan gejala kerusakan fisiologi yang sering terjadi karena efek radiasi sinar gamma (IAEA 1977). Aklimatisasi kedelai hasil seleksi *in vitro* yang dilakukan oleh Husni *et al.* (2006) menghasilkan hanya satu benih somatik dari 25 somaklon yang diaklimatisasi. Pada tanaman kedelai, aklimatisasi plantlet merupakan tahapan yang sangat kritis (Husni *et al.* 2006).

Tabel 1. Rata-rata tinggi tanaman, jumlah tanaman, jumlah polong dan jumlah biji hasil aklimatisasi pada empat populasi/galur kedelai M1.

Populasi galur M1	Tinggi tanaman (cm), minggu ke 8–12	Jumlah tanaman	Jumlah polong	Jumlah biji
Bal 430	15	7	24	43
Bal 431	12,5	8	33	50
Bal 470	14	22	86	155
C11	14	4	17	33

## Evaluasi Keragaman Genetik pada Mutan Generasi ke-2 (M2)

Sebanyak 212 galur mutan kedelai generasi ke-2 (M2) ditanam bersama-sama pembandingan yaitu Baluran dan C11. Munculnya segregasi pada populasi galur M2 ditandai oleh peningkatan keragaman dibandingkan induknya. Dosis radiasi yang diberikan pada penelitian ini berkisar pada dosis LD<sub>50</sub> dianggap sebagai dosis optimum dalam menghasilkan perubahan genetik yang diinginkan, namun tidak menyebabkan kerusakan atau perubahan terhadap sifat baik yang sudah dipunyai tanaman tersebut (Broertjes dan Van Harten 1988).

Tinggi tanaman, jumlah polong isi, jumlah biji bernas dan bobot bulir/ tanaman pada galur mutan lebih tinggi dibanding induknya/kontrol (Tabel 2). Kisaran antara angka terendah dan tertinggi pada peubah yang diamati menunjukkan bahwa populasi yang berasal dari perlakuan iradiasi mempunyai keragaman yang cukup besar. Galur mutan M2 Bal 470 menghasilkan selang yang jauh pada tinggi tanaman, tanaman terendah 45 cm dan tertinggi 179 cm. Jumlah polong isi terendah 7 buah dan tertinggi 294 buah, demikian pula biji bernas (Tabel 2). Kisaran nilai yang jauh tersebut menunjukkan adanya keragaman yang cukup besar. Perbedaan yang besar antara hasil terendah dan tertinggi juga ditunjukkan galur M2 Bal 430 dan 431. Galur C-11 menghasilkan angka selang yang jauh pada peubah jumlah polong isi dan jumlah biji bernas.

Tabel 2. Kisaran dan ragam sifat agronomi galur mutan kedelai generasi ke-2 (M2).

Populasi galur M2	Tinggi tan/ ragam	Jumlah cabang/ tan/ragam	Jumlah polong isi/tan/ragam	Jumlah biji isi/tan/ragam	Bobot biji/tan (g)/ragam
K Baluran	61–104/ 412	3–5/0,3	20–147/163	350–58/574,3	9–13,3/8,3
Bal 430	55–163/639,5	3–8/1,7	20–151/1157,5	46–313/4638,5	4,3–32,3/53,3
Bal 431	14–142/546,3	2–8/2,2	21–200/1244,8	40–415/5687,5	4,2–47,2/72,7
Bal 470	45–179/569,3	2–8/1,8	7–294/1648,7	12–392/6600,2	1,6–45,5/98,8
K C-11	48–73/119,7	2–5/2,3	8–36/112,7	10– 60/433,2	2 –14/26,3
C11	32–65/99,4	2–3/0,4	20–147/767,8	80–122/1021,9	8–35,2/46

Keterangan: K baluran dan K C-11 = Kontrol.

Pada peubah tinggi tanaman, galur M2 Bal 430 menghasilkan nilai ragam tertinggi yaitu 639,5 dan terendah pada tanaman kontrol Baluran. Galur M2 Bal 470 menghasilkan nilai ragam tertinggi untuk jumlah polong isi, demikian pula untuk biji bernas dan bobot biji/tanaman. Peningkatan nilai ragam pada jumlah polong isi, biji bernas dan bobot biji/tanaman menunjukkan bahwa dosis 4 Gy yang diberikan dapat meningkatkan keragaman genetik. Pada lima peubah yang diamati, diperoleh nilai ragam tertinggi untuk tinggi tanaman pada galur M2 Bal 430, untuk jumlah polong isi, biji bernas dan bobot biji/tanaman dihasilkan pada galur M2 Bal 470. Bobot biji/tanaman pada tanaman induknya/kontrol Baluran hanya 4,6 g/tanaman, sedangkan pada galur mutan Baluran rata-rata 74,9 g/tanaman. Hasil penelitian Surya dan Hoeman (2009) pada iradiasi biji sorgum menggunakan dosis 10-100 Gy dapat meningkatkan keragaman dalam populasi galur generasi ke-2 (M2). Demikian pula Nur *et al.* (2014) mendapatkan informasi bahwa iradiasi sinar gamma pada tanaman gandum menghasilkan galur mutan (M3) dengan keragaman yang tinggi, sehingga dapat galur mutan yang adaptif di dataran rendah.

Menurut deskripsi kedelai varietas Baluran memiliki tinggi tanaman rata-rata 60–80 cm. Pada penelitian ini, galur M2 dari Bal 470 mencapai 179 cm dan pada M2 Bal 430 adalah 149 cm. Peningkatan keragaman genetik tersebut memberikan peluang bagi penelitian pemuliaan lebih lanjut melalui proses seleksi. Penelitian Asadi *et al.* (2014) untuk identifikasi umur genjah pada plasma nutfah kedelai, menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh berkorelasi positif dengan tinggi tanaman, jumlah polong/tanaman dan bobot biji/tanaman. Penelitian Arwin *et al.* (2012) iradiasi pada benih kedelai menggunakan sinar gamma dosis 200 Gy menghasilkan galur mutan Q-298 dan galur mutan 4-Psj super genjah dan hasil lebih tinggi dibandingkan induknya dan telah dilepas sebagai varietas unggul baru kedelai dengan nama Gamasugen 1 dan Gamasugen 2.

## KESIMPULAN

Iradiasi sinar gamma yang diberikan pada eksplan kalus dengan dosis 4 Gy meningkatkan nilai ragam galur mutan generasi ke-2 (M2). Peubah yang meningkat keragamannya yaitu tinggi tanaman, jumlah polong isi, jumlah biji bernas dan bobot biji/tanaman. Galur M2 Bal 470 menghasilkan keragaman paling tinggi dibanding dengan genotipe lainnya. Nilai ragam yang tinggi pada galur-galur yang dihasilkan memberikan peluang bagi seleksi lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Acquaah, G. 2007. Principles of Plant Genetics and Breeding. Black Weel Publishing. USA, UK, Australia. 569 p.
- Arwin, H.I. Mulyana., Tarmizi., Masrizal.,K. Faozi., dan M. Adie. 2012. Galur Mutan Harapan Kedelai Super Genjah Q-298 dan 4-Psj. Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. 8 (2):107–116.
- Adie, M.M. 2007. Panduan Pengujian Individual, Kebaruan, Keunikan, Keseragaman Dan Kestabilan Kedelai. Pusat Perlindungan Varietas Tanaman. Dep Pertanian Republik Indonesia. 12 hlm.
- Asadi., N. Dewi, E.G. Lestari, I. Mariska, S. Hutami, R. Purnamaningsih., I. Manzila, D. Sukmadjaya. 2014. Pembentukan Galur Mutan Melalui Mutasi *In Vitro*: Kedelai, Pisang, Cabai, Gandum Dan Nilam. Laporan Hasil Penelitian BB Biogen tahun 2014.
- Broertjes, C and A.M. Van Harten. 1988. Applied Mutation Breeding for Vegetatively Propagated Crops. Crops Sci. 345 pp.
- Bonacin, G.A., A.O. Di Mauro, R.C. de Oliverira and D. Perecin. 2000. Induction of Somatic Embryogenesis in Soybean: Physicochemical Factors Influencing the Development of Somatic Embryos. Genet. and Mol. Bio. 34(4):865–868.
- Charbaji, and I. Nabuisi.1999. Effect of Low Doses of Gamma Irradiation *In vitro* Growth of Grapevine. Plant Cell Tiss. Org Cult. 57:129–132.
- Crowder, L.V. 1990. Genetika Tumbuhan. Universitas Gajah Mada Press. 70 hlm.
- Handayati, W. 2014. Perkembangan Pemuliaan Mutasi Tanaman Hias di Indonesia. Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi 9(1):67–80.
- Human, S., S. Sihono and P. Parno. 2012. Appication of Mutation Techniques in Sorghum Breeding for Improved Drought Tolerance. Atom Indonesia, 32(1).
- Hutami, S.I. Mariska, M. Kosmiatn, A. Husni, W.H. Adil, dan Y. Rusyadi. 2001. Regenerasi dan Seleksi *In vitro* Tanaman Kedelai untuk Mendapatkan Sifat Ketahanan Terhadap Aluminium Pada Tanaman Kedelai. Laporan Hasil Penelitian. Balitbio. Bogor. 12 hlm.
- Husni, A., S. Hutami, M. Kosmiatin, dan I. Mariska. 2004. Seleksi *In vitro* Tanaman Kedelai untuk Meningkatkan Sifat Toleran Kekeringan. J. Penelitian Pertanian. 23(2):93–100.
- Husni, A., M.Kosmiatin dan I. Mariska. 2006. Peningkatan Toleransi Kedelai Sindoro Terhadap Kekeringan Melalui Seleksi *In vitro*. Bul. Agron. 34(1):25–31.
- IAEA. 1977. Mannual on Mutation Breeding. Tech. Rep.Ser.No.199. Sec. Ed. Joint Fao IAEA. Devision of Atomic Anergy in Food and Agriculture. 287 pp.
- Jain, S.M. 2010. Mutagenesis in Crop Improvement under The Climate Change. Romanian Biotechnological Letter. 15(2):88–106.
- Kita, Y, K. Nishizawa, M. Takahashi, and M. Ishimoto. 2006. Genetic Improvement of the Somatic Embryogenesis and Regeneration in Soybean and Transformation of the Improved Beeding Lines. Plant Cell Rep. DOI 10.1007/s00299-006-0245-z.
- Ko, T.S., S. Lee, S.F. Krasnyanski, and S.S. Korban. 2003. Two Critical Factors are Required for Efficient Transformation of Multiple Soybean Cultivars: Agrobacterium Strain and Orientation of Immature Cotyledonary Explants. Theor. Appl. Genet. 107:439–447.
- Makmur, A. 1992. Pengantar Pemuliaan Tanaman. Rineka Cipta. Jakarta. hlm. 79.
- Mariska, I., S. Hutami, M. Kosmiatin, A. Husni, W.H. Adil, and Y. Supriati. 2001. Somatic embryogenesis in different soybean varieties. *In* N. Sunarlim, M. Machmud, W.H. Adil, F. Salim, and I. Orbani (Eds.). Proceedings of Workshop on Soybean Biotechnology for Aluminum Tolerance on Acid Soils and Disease Resistance. Central Res. Inst. for Food Crop. Bogor.
- Mariska, I., E. Sjamsudin, D. Soepandi, S. Hutami, A. Husni, M. Kosmiatin, dan A. Vivi. 2004. Peningkatan Ketahanan Kedelai Terhadap Aluminium Melalui Kultur *in vitro*. J. Litbang Pertanian, 23(2):46–52.
- Mariska, I., E. Sjamsudin, D. Soepandi., S. Hutami, A.Husni, M. Kosmiatin, dan A.Vivi. 2004. Peningkatan ketahanan kedelai terhadap aluminium melalui kultur *in vitro*. J. Litbang Pertanian, 23(2):46–52.
- Mariska, I., E.G. Lestari, R. Purnamaningsih, S. Hutami, Asadi, Y. Supriyati, T. Santoso, A. Sishar-

- mini, A. Apriana, R. Yunita, S. Rahayu, A.H. Bahagiawati dan M. Herman. 2012. Pembentukan 220 galur M5, 50 galur M6, 40 galur M7 kedelai serta 5 galur generasi T1 produktivitas tinggi dan 5 galur generasi T2 untuk karakter umur genjah. Laporan hasil penelitian BB Biogen Bogor.
- Mejaya, I.M.J., A. Krisnawati, dan H. Kuswanto. 2010. Identifikasi Plasma Nutfah Kedelai Berumur Genjah dan Berdaya Hasil Tinggi. *Bul. Plasma Nutfah*. 16(2):113–117.
- Nur, A., S. Human dan Trikosoemaningtyas. 2014. Keragaman Genetik Gandum Populasi Mutan M3 di Agroekosistem Tropis. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 10(1):35–44.
- Purnamaningsih, R, I. Mariska, E.G. Lestari, S. Hutami, dan R. Yunita. 2014. Pengaruh Iradiasi Gamma Dan Ethyl Methan Sulfonate Terhadap Pembentukan Embriosomatik Kedelai (*Glycine max* L.). *Jurnal ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 10(1):71–80.
- Surya, M.I. dan S. Hoeman. 2009. Evaluasi Keragaman Genetik Sorgum Manis pada Mutan Generasi Ke-2 Hasil Iradiasi Gamma. *Agrivita* 31(2):142–148.
- Singh, R.J. and T. Hymowitz. 1999. Soybean Genetic Resources and Crop Improvement. *Genome*. 42, 605–616.
- Widoretno, W. 2003. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan pada Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) dan Karakterisasi Varian Somaklonal yang Toleran. Disertasi Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Witjaksono, and R.E. Litz. 2003. *In vitro* Regeneration and Transformation of Avocado (*Persea Americana* Mill.). In: Jaiwal P.K and R.P. Singh (Eds.) *Plant Genetic Engineering* (6): Improvement of fruit crops. Sci. Tech Publishing LLC, USA. Pp. 145–161.

## DISKUSI

### Pertanyaan:

#### Yuliasuti (Batan)

1. Pada generasi ke berapa dapat ditentukan perbedaannya secara statistik?
2. Pada M berapa dilakukan radiasi ulang?

#### Febria Cahya (Balitkabi)

3. Apa alasan dilakukan radiasi ulang?
4. Berapa lethal dosis yang digunakan?
5. Dari penelitian-penelitian sebelumnya, iradiasi dapat memperpanjang umur dan memperbesar ukuran biji, apakah hal tersebut selalu terjadi?

#### Andy Widjanarko (Balitkabi)

6. Apakah keunggulan metode mutasi dengan metode konvensional?

### Jawaban:

7. Penghitungan statistik tidak dapat dilakukan pada M2 dikarenakan keragaman masih sangat tinggi, kemungkinan dilakukan pada M4.
8. Iradiasi ulang dilakukan pada M7
9. Pada proyek penelitian sebelumnya menggunakan varietas Grobogan, Baluran, Burangrang, dan Wilis. Dari iradiasi 4 galur tersebut didapatkan galur dengan produksi tinggi, namun umur masak tidak berbeda jauh. Selanjutnya, pada penelitian ini, keempat galur tersebut diiradiasi kembali untuk mendapatkan umur genjah.
10. Lethal dosis (LD50) yang digunakan sebesar 4 gray terhadap kalus.
11. Hasil iradiasi tergantung dari materi dan dosis yang digunakan.
12. Keunggulan teknik *in vitro* antara lain pada M4 sudah hampir homogen dan lebih cepat daripada metode konvensional, sehingga pada M5 sudah dapat dilakukan uji daya hasil pendahuluan (UDHP).