

ADAPTATION TEST MUNGBEAN MUTANT LINES ON DRY LAND (MATARAM, MAROS DAN LAMPUNG) NUTRITIONAL QUALITY PROTEIN CONTENT ANALISYS.

Yuliasti

*Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi
Badan Tenaga Nuklir Nasional
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Pasar Jumat, Jakarta Selatan, Indonesia*

ABSTRACT

The objective The multilocation trial test has been performed on the mutant lines and control in three location. A total number of 11 mungbean accessions including mutant lines, their parents and national control varieties were tested for their yield and adaptability in the central region of Mataram (West Nusa Tenggara), South Sulawesi, Lampung (South Sumatra) and based the superior performance in the multilocation showed that PSJ-S-31 (2.28.194 t/ha and 1.66 t/ha) gave significant higher yield comparing than original parent (Gelatik variety and national control variety Perikutut, (1.30 t/ha and 1.45 t/ha) significantly. The Chemical analysis results showed that Mutant PSJ-S-31 has good quality with high B1 vitamin compare than parent Gelatik (0.90 and 0.79%) and also have high protein content and folic acid than parent were (24.55% and 21.84%), and (122.80% and 80%).

Kata kunci:

ABSTRAK

Berdasarkan data hasil penelitian uji daya hasil multilokasi galur mutan harapan kacang hijau di Lombok Timur, galur mutan harapan PSJ-S-31 memberikan hasil yang sangat tinggi 2,28 t/ha dan berbeda sangat nyata dengan vareitas Gelatik (Tetua) dan varietas Perikutut sebagai kontrol nasional (1,94 t/ha dan 1,93 t/ha) Di Sulawesi Selatan (Maros) dan Lampung, galur mutan secara statistik tidak menunjukkan hasil yang berbeda dengan tetua dan kontrol nasional. Hasil Analisis protein, lemak dan nutrisi seta vitamin galur mutan kacang hijau menunjukkan galur mutan PSJ S31 memberikan hasil yang signifikan dengan varietas Gelatik sebagai tetua dan Perikutut sebagai kontrol nasional dalam kondisi cekaman kekeringan (Tabel 2 dan 3). Hasil analisis vitamin B, protein, dan nutrisi galur mutan kacang hijau menunjukkan galur mutan PSJ S31 memberikan hasil yang tinggi dibandingkan dengan varietas Gelatik sebagai tetua dan perikutut sebagai kontrol nasional.

Keywords:

PENDAHULUAN

Kacang Hijau (*Vigna radiata*) merupakan salah satu komoditas tanaman pangan setelah padi dan kedelai yang sangat penting dan bagus untuk dikonsumsi karena merupakan sumber protein, lemak dan vitamin nabati untuk dikonsumsi (Mahalakshmi *et al.*, 2006). Kacang hijau memiliki kelebihan dibandingkan tanaman pangan lainnya, yaitu berumur genjah (55-65 hari), lebih toleran kekeringan dengan kebutuhan air untuk pertumbuhan kacang hijau relatif kecil, yakni 700-900 mm/tahun (1). Kebutuhan kacang hijau di Indonesia semakin meningkat (4%/tahun) seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk sedangkan luas panen selama tahun 2007-2008 berkurang 5%/tahun sementara produksi nasional berkurang 2%/tahun (BPPS). Peran strategis lain dari kacang hijau komplementer dengan beras dapat diperkaya oleh kacang hijau, sebab protein beras yang miskin lisin akan diperkaya oleh kacang hijau yang kaya lisin. Asam amino kacang hijau yang miskin sulfur akan diperkaya oleh asam amino asam amino beras yang kaya sulfur. Oleh karena itu kombinasi

kacang hijau dan tepung beras merupakan kombinasi yang serasi. Campuran tepung kacang hijau dan tepung beras masing-masing 50% sangat baik untuk konsumsi anak balita karena kandungan lisin dan asam amino-sulfur sangat serasi. Kacang hijau tidak hanya sebagai sumber protein tapi juga dapat meningkatkan organik tanah melalui fiksasi Nitrogen (Sinar Tani, 23 Mei 2007).

Implikasi dari sosialisasi konsumsi kacang hijau hingga mencapai 2,5 kg/tahun/kapita bila untuk 225 juta penduduk memerlukan tambahan produksi kacang hijau sekitar 200.000-215.000 ton. Tambahan produksi tersebut memerlukan tambahan areal tanam, yang berarti akan menampung tenaga kerja yang diperlukan untuk pengembangan lahan kering.

Sampai saat ini varietas-varietas unggul kacang hijau yang sudah dilepas belum ada yang toleran terhadap kekeringan, karena proses seleksinya tidak untuk toleransi terhadap kekeringan tapi untuk hasil tinggi dan sifat-sifat lainnya. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pemuliaan kacang hijau untuk toleransi kekeringan dan umur pendek (genjah). Berdasarkan hasil BPPS (2006) produksi nasional kacang hijau rata-rata 0,7-2,2 t/ha. untuk lahan normal yang tidak bermasalah, 70% budi-daya kacang hijau dilakukan di lahan kering dan kultivar yang ada tidak beradaptasi di lahan kering.

BAHAN DAN METODE

Pengujian Daya Hasil Kacang Hijau

Pengujian daya hasil multilokasi dilakukan dalam plot berukuran (4 x 5) m². dengan jarak tanam 40 cm x 10 cm. Pengujian daya hasil multilokasi dilakukan untuk melengkapi kekurangan pengujian data galur mutan PSJ S 31 dan sembilan galur dengan menggunakan tetuanya varietas Gelatik dan Perikutut sebagai pembandingan. Penelitian ini dilakukan di lahan kering Mataram, Sulawesi Selatan dan Lampung dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 ulangan. Pemupukan dilakukan pada saat tanam dan pembentukan polong, dengan dosis 75 kg urea/ha, 100 kg SP-36/ha dan 100 kg KCl/ha.

Analisis Kimia Kandungan Nutrisi Seperti Protein, Vitamin dan Kandungan Nutrisi

Pada tahap ini dilakukan analisis protein galur galur tanaman toleran kekeringan. Analisis prolin berdasarkan metode Kjeldahl, vitamin dan asam folat menggunakan Chromatografi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian 1

Berdasarkan data hasil penelitian uji daya hasil multilokasi Galur mutan harapan kacang hijau di Lombok Timur galur mutan harapan PSJ-S-31 menunjukkan hasil yang sangat tinggi dan berbeda sangat nyata dengan varietas gelatik (Tetua) dan Varietas Perikutut sebagai kontrol nasional (Tabel 1). Di Sulawesi Selatan (Maros) tidak ada interaksi antara lingkungan dengan genotipe, hal ini dapat dilihat dari data yang dihasilkan dimana semua galur dan varietas yang diuji memberikan respon yang sama terhadap produksi. Namun galur mutan PSj S 31 memberikan hasil lebih tinggi dari varietas Gelatik sebagai tetua dan Perikutut sebagai kontrol Nasional. Hal yang sama juga terjadi pada pengujian adaptasi galur mutan kacang hijau di lahan kering masam Lampung, dimana semua genotipe yang diuji memberikan respon yang sama terhadap produksi. Namun Galur mutan harapan

PSj S31 memberikan hasil lebih tinggi dari varietas Gelatik sebagai tetua dan Perikut sebagai kontrol Nasional (Tabel 1).

Penelitian 2

Hasil Analisis kimia kandungan protein lemak dan nutrisi serta vitamin galur mutan kacang hijau menunjukkan galur mutan PSj S31 memberikan hasil yang bervariasi (Tabel 2). Berdasarkan hasil analisis kandungan protein galur mutan PSj S31 memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan tetua varietas Gelatik. Begitu juga terhadap kandungan Vitamin B1 galur mutan PSj S31 memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan tetua varietas Gelatik (Tabel 2 dan 3).

Berdasarkan hasil analisis kandungan asam folat dan asam lemak omega tiga dan omega 6 serta kandungan nutrisi galur mutan PSj S31 menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan varietas Gelatik sebagai tetua. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Saxena (2003) penggunaan sinar Gamma dalam pemuliaan tanaman dapat meningkatkan dan memperluas variasi genetik tanaman terhadap hasil dan kandungan Protein serta Nutrisi.

Tabel 1. Data produksi galur mutan kacang hijau dilahan NTB, Sulawesi Selatan, dan Lampung pada musim kemarau (t/ha).

No. galur	NTB	Sulawesi Selatan	Lampung
1. PsJ-30-91	2,55 b	1,67 e	0,31 f
2. PsJ-31-91	2,28 c	1,66 e	0,30 f
3. PsJ-32-91	2,30 c	1,68 e	0,32 f
4. PsJ-6-90	2,50 b	1,69 e	0,22 f
5. PsJ-19-90	2,86 ab	1,67 e	0,30 f
6. PsJ-21-90	3,12 a	1,67 e	0,28 f
7. PsJ-BII-17-	2,53 b	1,66 e	0,16 f
8. PsJ-BII-5	3,07 a	1,66 e	0,31 f
9. PsJ-BII-15	2,37 c	1,66 e	0,37 f
10. Gelatik	1,94 d	1,61 e	0,27 f
11. Perikut	1,93 d	1,60 e	0,18 f

Tabel 2. Data analisis kandungan Protein, lemak dan makro nutrient galur mutan varietas kacang hijau.

Galur	Protein	Lemak	K	P	Mg
PSj S30	24,44	1,40	620,11	579,11	89,78
Psj S31	24,55	1,20	625,08	573,07	82,64
Psj 15	24,07	1,77	615,47	580,25	80,45
Gelatik	21,84	1,20	627,09	560,60	84,71
Perikut	20,80	1,20	510,62	394,66	-

Tabel 3. Data Analisis kandungan Nutrisi galur mutan varietas kacang hijau.

Galur	As lemak Omega 3	As Lemak Omega 6	As Folat	Vit B1	Fe	Zn	Sn
PSj S30	3,25	14,198	178,55	0,85	5,24	11,07	2,02
Psj S31	1,82	12,745	175,49	0,90	6,77	10,55	1,70
Psj 15	2,37	10,747	177,63	0,87	5,60	10,71	1,96
Gelatik	1,54	12,343	180,12	0,79	7,11	9,85	0,85
Perikut	2,68	13,825	122,80	0,65	5,40	-	-



Gambar 1. Uji adaptasi galur mutan kacang hijau di Lampung.

KESIMPULAN

Dari hasil pengujian sebelas galur mutan kacang hijau di lahan kering NTB musim kemarau berdasarkan analisis statistik diperoleh hasil galur mutan PSJ S-31 lebih tinggi dan berbeda sangat nyata dengan varietas Gelatik sebagai kontrol tetua dan Perikutut sebagai kontrol nasional serta Sampeong sebagai kontrol varietas lokal. Sedangkan galur mutan PSJ S-31 memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan varietas Gelatik sebagai tetua dan Perikutut kontrol nasional di Sulawesi selatan dan dilahan kering masam Lampung.

Berdasarkan hasil analisis kimia kandungan perotein, asam lemak, vitamin dan nutrisi, menunjukkan galur mutan kacang hijau PSJ S31 memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan varietas Gelatik sebagai tetua dan Perikutut sebagai kontrol nasional dalam kondisi cekaman kekeringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Baihaki, A., dan N. Wicaksana. 2003. Interaksi Genotipe x lingkungan, adaptabilitas dan stabilitas hasil, dalam pengembangan tanaman varietas unggul di Indonesia. Zuriat
- Mahalakshmi, L.S., T. Leela, B.K. Kumar, B. Nresh, and P. Devi. 2006. In vitro plant regeneration from the petioles of primary leaves of mungbean *Vigna radiata* L. Plant Biotechnology 23:409-411.
- Satija, D.R., C.K. Bedi, and V.P. Gupta. 1987. Quality improvement in mungbean: A new approach. Proc. 2nd International Symposium on Mungbean. 16-20 Nov. Bangkok, Thailand. p. 152-157.
- Abbas, G., B.M. Atta, and T.M. Shah. 2008. Stability analysis for seed yield in Mungbean *Vigna radiata* L. Wilczek. J. Agric. Res. 46(3).

KARAKTERISASI GENOTIPIK GALUR-GALUR KEDELAI PUTATIVE MUTAN-MUTAN TAHAN KEKERINGAN

Arvita Netti Sihalo¹, Trikoesoemaningtyas², Didy Sopandie², dan Desta Wirnas²

¹Mahasiswa Pascasarjana PBT Departemen AGH IPB

²Staf Pengajar Departemen AGH IPB

ABSTRACT

The objective of the research was to verify genotypic differences among drought tolerant putative soybean putative mutant lines and between putative mutant lines and their parental line. DNA samples were taken from 11 putative mutant lines consisting of six drought-tolerant mutant lines and five drought moderate putative mutant lines and Argomulyo variety as parental line. In this study, 12 random primers to amplify the sample DNA. The amplification results showed that only 10 primers are polymorphic. The results of amplification also showed that 11 mutant lines was tolerant and moderate mutant against drought. There were obtained 70 marker of RAPD where only 60 of this marker were polymorphic. The analysis similarities of UPMGA method were resulted mutan5 (M200-39-69-4) and mutan3 (M200-52A-66-8) as the really mutant group (completely unlike the parental).

Key words:

PENDAHULUAN

Kedelai telah menjadi salah satu komoditas strategis setelah padi dan jagung. Kebutuhan kedelai dalam negeri terus meningkat, tetapi produksi dalam negeri belum mampu mengimbangi peningkatan permintaan. Permasalahan yang dihadapi dalam budidaya kedelai antara lain masih kurangnya varietas kedelai yang mampu beradaptasi pada kondisi kekeringan (Arsyad *et al.*, 2007)

Induksi mutasi dengan sinar gamma adalah teknik yang umum digunakan untuk mendapatkan keragaman genetik. Mutasi iradiasi dapat dilakukan secara makro (*macro mutation*) dan mikro (*micro mutation*). Mutasi makro menggunakan dosis iradiasi yang tinggi, yaitu dosis yang berada di atas *Lethal Doses 50*, biasanya menyebabkan ketidakstabilan genetik, sedangkan mutasi mikro, yaitu mutasi yang menggunakan dosis rendah, yaitu dosis di bawah LD₅₀ (Van Harten, 1998). Induksi mutasi dosis rendah mempengaruhi perubahan karakter kuantitatif tanaman dan sedikit mempengaruhi perubahan kromosom dibandingkan dengan mutasi yang diinduksi oleh iradiasi sinar gamma pada dosis yang tinggi (Sakin, 2002).

Saat ini telah diperoleh galur-galur putatif mutan M₉ tahan kekeringan yang diseleksi di lapang pada kondisi kekeringan berdasarkan karakter agronomi dan hasil. Galur-galur putatif mutan yang diperoleh perlu diverifikasi sehingga diperoleh informasi bahwa galur-galur tersebut berbeda dengan tetuanya,

Penggunaan marka molekuler merupakan salah satu metode yang cepat dan akurat untuk melihat perbedaan lokus antara mutan-mutan tersebut dengan tetuanya (Thormann *et al.*, 1994). Hal ini sangat penting karena penandaan pada tingkat DNA tidak dipengaruhi lingkungan dan dapat dilakukan pada setiap organ dan fase tumbuh tanaman.

Random Amplified Polymorphic DNA adalah tehnik untuk mengamplifikasi DNA dengan mesin PCR menggunakan primer tunggal berukuran 10 nukleotida. Primer yang digunakan merupakan primer acak yang mengamplifikasi genom target secara acak. Primer acak yang dicampurkan

dengan reaksi amplifikasi akan berikatan dengan sekuens komplemen di sepanjang genom target. Selanjutnya sekuens target akan teramplifikasi, yang dapat divisualisasikan pada gel agarose yang diwarnai dengan ethidium bromide (Sharma *et al.*, 2008)

Metode RAPD mampu mendeteksi sekuens nukleotida dengan hanya menggunakan satu primer. Primer tersebut akan berikatan dengan ujung tunggal genom yang satu dan pada ujung DNA pasangannya dengan arah berlawanan. Selama situs penempelan primer masih berada pada jarak yang dapat diamplifikasi pada umumnya tidak lebih dari 5.000 pasangan basa (pb), maka akan diperoleh produk DNA amplifikasi (Weising *et al.*, 1995). Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi mutan-mutan putatif toleran dan memperoleh perbedaan karakter molekuler antara mutan-mutan yang ada serta perbedaan karakter molekuler mutan dengan tetuanya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dua tahap yaitu penelitian lapang di lahan petani di Kecamatan Natar Lampung pada bulan Maret 2012 hingga Mei 2012 dan molekuler di Laboratorium Biomolekuler Departemen Agronomi dan Hortikultura, yang dimulai bulan Juli 2012 hingga Agustus 2012. Bahan tanam yang digunakan untuk analisis RAPD adalah DNA dari satu tetua dan 11 galur mutan putatif yang terdiri atas enam genotipe mutan yang toleran kekeringan dan lima genotipe mutan agak peka kekeringan yang telah diseleksi pada lahan kering di Lampung. Pada penelitian ini yang diamati komponen hasil dan hasil serta keragaan mutan-mutan toleran kekeringan dan karakterisasinya secara molekuler.

Isolasi DNA (Ekstraksi DNA)

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi DNA adalah daun pertama yang muncul setelah daun lembaga dari tanaman kedelai (pada saat tanaman kedelai berumur 3 minggu setelah tanam). Bahan digunting kecil sebesar kurang lebih 2 x 2 cm lalu dicacah, kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube 2 ml yang telah berisi cairan ekstrak dari kit SIGMA sebanyak 100 µl. Mikrotube dipanaskan pada suhu 95°C selama 5 menit dalam waterbath. Setelah itu, ditambahkan larutan dilusi dari kit SIGMA sebanyak 100 µl, DD H₂O sebanyak 300 µl, sambil dikocok manual beberapa saat. Larutan tersebut, dipisahkan ke mikrotube baru dari sisa-sisa daun. *Chloroform* : Isoamyl alcohol (CIA = 24 : 1) 200 µl ditambahkan ke dalam mikrotube tersebut kemudian dihomogenkan dengan vorteks mixer selama 1 menit. Sentrifugasi 15.000 rpm dilakukan selama 5 menit. Supernatan di-

Tabel 1. Galur/varietas dan primer yang digunakan.

No.	Jenis galur/varietas	Nama galur/varietas	Primer	Urutan basa
1.	Tetua (T)	Argomulyo	OPE1	(5'-CCCAAGGTCC-3')
2.	Mutan1	M150-70-45-12	OPE7	(5'-AGATGCAGCC-3')
3.	Mutan2	M200-80-48-2	OPE8	(5'-TCACCACGGT-3')
4.	Mutan3	M200-52A-66-8	OPE19	(5'-ACGGCGTATG-3')
5.	Mutan4	M50-97-8-12	OPH5	(5'-AGTCGTCCCC-3')
6.	Mutan5	M200-39-69-4	OPH6	(5'-ACGCATCGCA-3')
7.	Mutan6	M200-64-51-8	OPH7	(5'-CTGCATCGTG-3')
8.	Mutan7	M200-13-47-5	OPH9	(5'-TGTAGCTGGG-3')
9.	Mutan8	M200-20-52-3	OPH13	(5'-GACGCCACAC-3')
10.	Mutan9	M100-29A-42-14	OPM1	(5'-GTTGGTGGCT-3')
11.	Mutan10	M150-29-44-10	OPM2	(5'-ACAACGCCTC-3')
12.	Mutan11	M100-96-53-6	OPM20	(5'-AGGTCTTGGG-3')

pisahkan ke mikrotube 1,5 ml, kemudian ditambah ethanol absolut sebanyak 2 kali dari volume supernatan. Sentrifugasi 15.000 rpm selama 3 detik. Setelah itu DNA dikeringkan dengan cara membalik tabung di atas kertas tisu sampai tidak ada tetesan. DNA dikeringkan dengan *vacuum pump*, selanjutnya dicairkan dengan 200 µl aquabides.

Amplifikasi DNA dengan PCR

Metode amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan sesuai yang dilakukan metode SIGMA. Tahapan PCR meliputi *pre heat*, *denaturation*, *annealing*, *extention*, dan pendinginan suhu.

Untuk amplifikasi DNA, 5 µl primer, 5 µl DNA ekstrak dan 10 µl taqpol dari kit SIGMA dimasukkan ke dalam PCR *tube* dan diamplifikasi pada mesin PCR ASTEC Thermal Cycler PC 707. Proses amplifikasi ini dilakukan sebanyak 45 siklus, yaitu denaturasi selama 1 menit pada suhu 94°C, annealing selama 1 menit pada suhu 36°C dan extention selama 2 menit pada suhu 72°C serta stop PCR/post PCR dilakukan pada suhu 72°C selama 7 menit. Hasil dari amplifikasi ini dilanjutkan dengan elektroforesis.

Elektroforesis Produk PCR

Langkah elektroforesis dimulai dengan pembuatan gel agarose 1,5% 0,6 g dengan larutan TAE 1 x 200 ml. Gel agarose dipasang sekat pencetak dan sisir pelubang (pembentuk sumur), kemudian dilepaskan saat beku. Larutan TAE 1x ditambahkan sampai gel terendam. Pelaksanaan tahap elektroforesis sama dengan proses pengujian DNA. Dengan perbandingan *loading dye* dan DNA adalah 10:2 DNA ladder disimpan pada salah satu sumur untuk mengukur pita-pita DNA yang akan dihasilkan dari masing-masing galur kedelai. DNA ladder yang digunakan adalah Vivantis 100 bp. Elektroforesis dilakukan selama 90 menit pada voltase 90 V. Hasil elektroforesis divisualisasikan di atas ultra violet transiluminator dan didokumentasikan dengan kamera.

Analisa Data

Produk amplifikasi hasil pemotretan gel berupa pola pita DNA dengan ukuran tertentu, Ukuran DNA ditentukan dengan membandingkan marka dengan BM 1 Kb Ladder. Perbedaan antar individu tanaman ditunjukkan dengan adanya jumlah pita dan jarak migrasinya. Pita-pita DNA diubah menjadi data biner dengan melakukan skoring data. Pita diskor “1” bila ada pita atau diskor “0” bila tidak ada pita. Variasi genetik diantara tanaman sampel dilihat dengan menggunakan model jarak genetik (1-F). Nilai F diperoleh berdasarkan estimasi fraksi dari pita (F) di antara 2 tanaman sebagai berikut (Nei dan Li, 1979):

$$F = 2 \frac{m_{xy}}{m_x + m_y}$$

Keterangan :

F : Koeffisien kemiripan gen

m_{xy} : Jumlah pita RAPD dari dua tanaman

m_x : Jumlah pita pada individu x

m_y : Jumlah pita pada individu y

Data biner hasil marka RAPD dianalisis menggunakan UPMGA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means) dengan fungsi SIMQUAL menjadi dendrogram melalui program NTSYSpc 2.02 for windows. Hasil analisis tersebut dapat diketahui kemiripan antara mutan yang satu dengan yang lain serta tetuanya. Pada karakter agronomi dilakukan analisis uji t untuk membandingkan antara mutan-mutannya dengan tetua.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa dari 10 primer (OPE1, OPE7, OPE19, OPH5, OPH6, OPH7, OPH9, OPH13, OPM2, dan OPM20) diperoleh 60 pola pita yang polimorfik. Kesepuluh primer tersebut menghasilkan 5 sampai 12 pola pita dengan ukuran 200-2.500 bp (base pair). Jumlah fragmen DNA dari masing-masing mutan dari masing-masing primer disajikan pada Tabel 2.

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 (Bardacki 2001; Sharma *et al.* 2008).

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.

Berdasarkan profil pita DNA hasil amplifikasi yang menggunakan 10 primer, ditentukan matrik kesamaan untuk mengetahui hubungan kesamaan genetik antar individu dalam 11 galur mutan dan satu tetua (Tabel 3). Diperoleh galur mutan 9 dan galur mutan 10 (M100-29A-42-14 dan M150-29-44-10) mempunyai tingkat kesamaan mutan tertinggi, yaitu 95%, sedangkan mutan 5 (M200-39-69-4) mempunyai tingkat kesamaan genetik yang paling rendah 47,2%. Pada Gambar 1 hasil analisis UPGMA dengan 10 primer memperlihatkan bahwa mutan5 (M200-39-69-4) dan mutan 3 (M200-52A-66-8) sangat jauh kemiripannya dengan tetua Argomulyo.

Pada Tabel 4 terlihat pita-pita hasil amplifikasi DNA mutan-mutan dengan tetuanya bersifat polimorfik terutama pada primer OPE1 (pita 600 bp) dan primer OPM20 (pita 1.000 bp, 800 bp, 500

Tabel 2. Primer dan jumlah pita DNA hasil amplifikasi satu tetua dan 11 galur mutan kedelai.

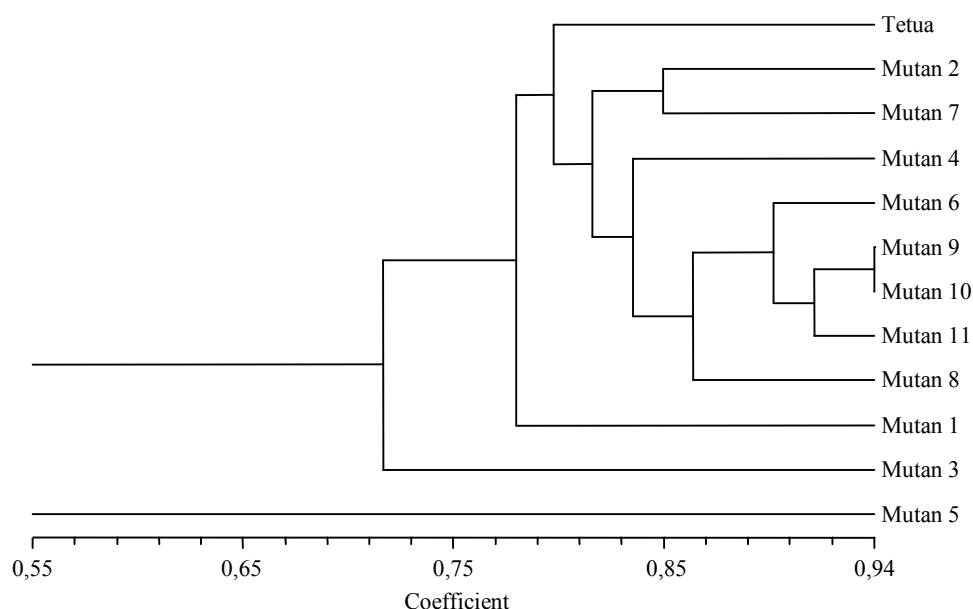
Primer	Kisaran Ukuran Pita (bp)	Jumlah Pola Pita	Jumlah Pita Polimorfik	Persentase Polimorfik
OPE1	400-1700	9	8	88,88
OPE7	300-2500	12	10	83,33
OPE19	250-900	6	5	83,33
OPH5	200-800	5	3	60
OPH6	600-2000	6	6	100
OPH7	400-1500	8	7	87,5
OPH9	400-1500	5	4	80
OPH13	300-1500	7	5	71,43
OPM2	300-1500	6	6	100
OPM20	300-2000	6	6	100

bp dan 300 bp). Perbedaan antara mutan-mutan dengan tetua yaitu pada primer OPE1 (pita 600 bp) dan primer OPM20 (pita 300 bp) tetua tidak memiliki pita-pita tersebut tetapi pada mutan-mutan pita-pita tersebut ada. Sedangkan pada primer OPM20 (pita 1.000 bp, 800 bp dan 500 bp) tetua memiliki pita-pita tersebut tetapi untuk mutan-mutan tidak ada, sehingga dapat dikatakan bahwa mutan-mutan 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.

Mutan 5 (M200-39-69-4) dan mutan 3 (M200-52A-66-8) secara genom dan fenotipik dilapang juga berbeda dengan tetua (Argomulyo) karena keragaman genetik dari galur-galur mutan dapat diamati melalui karakter morfologi, agronomi dan molekuler (Lima *et al.*, 2011). Hal ini terlihat dari karakter agronomi dan karakter morfologi yang berbeda dengan tetuanya (Tabel 5). Perubahan karakter morfologi tanaman diantaranya perubahan bentuk daun dari bulat telur menjadi bulat

Tabel 3. Matrik kemiripan analisis RAPD Argomulyo dan 11 mutan.

	Tetua	Mutan 1	Mutan 2	Mutan 3	Mutan 4	Mutan 5	Mutan 6	Mutan 7	Mutan 8	Mutan 9	Mutan 10	Mutan 11
Tetua	1,000											
Mutan 1	0,729	1,000										
Mutan 2	0,789	0,861	1,000									
Mutan 3	0,713	0,800	0,765	1,000								
Mutan 4	0,732	0,753	0,789	0,759	1,000							
Mutan 5	0,472	0,613	0,606	0,545	0,639	1,000						
Mutan 6	0,805	0,824	0,868	0,828	0,854	0,583	1,000					
Mutan 7	0,795	0,815	0,861	0,747	0,769	0,676	0,821	1,000				
Mutan 8	0,791	0,854	0,875	0,747	0,883	0,657	0,884	0,854	1,000			
Mutan 9	0,843	0,814	0,883	0,813	0,819	0,575	0,939	0,835	0,874	1,000		
Mutan 10	0,861	0,805	0,904	0,786	0,835	0,609	0,911	0,853	0,867	0,950	1,000	
Mutan 11	0,837	0,854	0,875	0,813	0,883	0,579	0,907	0,829	0,911	0,919	0,916	1,000



Gambar 1. Dendrogram Satu Tetua dan 11 Galur Mutan yang Dihasilkan dari Analisis UPGM Gabungan 10 Primer.

memanjang, perubahan warna bunga dari ungu menjadi putih dan perubahan jumlah cabang yang sedikit menjadi banyak.

Tabel 4. Lokus hasil amplifikasi yang polimorfik antara tetua dengan 11 mutan.

Primer	Ukuran lokus	Tetua	Mutan 1	Mutan 2	Mutan 3	Mutan 4	Mutan 5	Mutan 6	Mutan 7	Mutan 8	Mutan 9	Mutan 10	Mutan 11
OPE-1	1700	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	1500	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	1200	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	900	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	800	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
	600	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	400	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
OPE-7	2500	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	2000	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	1500	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	1200	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	1.000	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	900	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	800	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	500	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
OPE-19	400	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	300	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
	900	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	600	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	500	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	400	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
	250	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
	500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
OPH-5	400	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	200	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.000	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+
OPH-6	1.500	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+
	1.200	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
	1.000	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
	800	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
	600	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
	1.500	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.200	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	1.000	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
OPH-7	800	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
	700	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
	600	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
	500	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
	1.500	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+
	1.000	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	800	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	600	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
OPH-9	1.500	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+
	1.000	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	800	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	600	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	1.500	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.000	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	900	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	800	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
OPH-13	400	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	1.500	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.000	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	900	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	800	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	400	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	300	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	2.000	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
OPM-2	1.350	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	1.000	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	800	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	300	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1.500	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	1.000	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	700	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OPM-20	600	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	400	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	300	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	2.000	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.350	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	1.000	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	800	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	300	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Pada mutan 5 dan mutan 3 terjadi peningkatan keragaman genetik dimana keragaman yang terjadi akibat adanya iradiasi yang menyebabkan perubahan tinggi tanaman, produksi polong, bobot biji dan karakter-karakter kuantitatif yang bersifat diwariskan (Tah, 2006; Pavadai *et al.*, 2010).

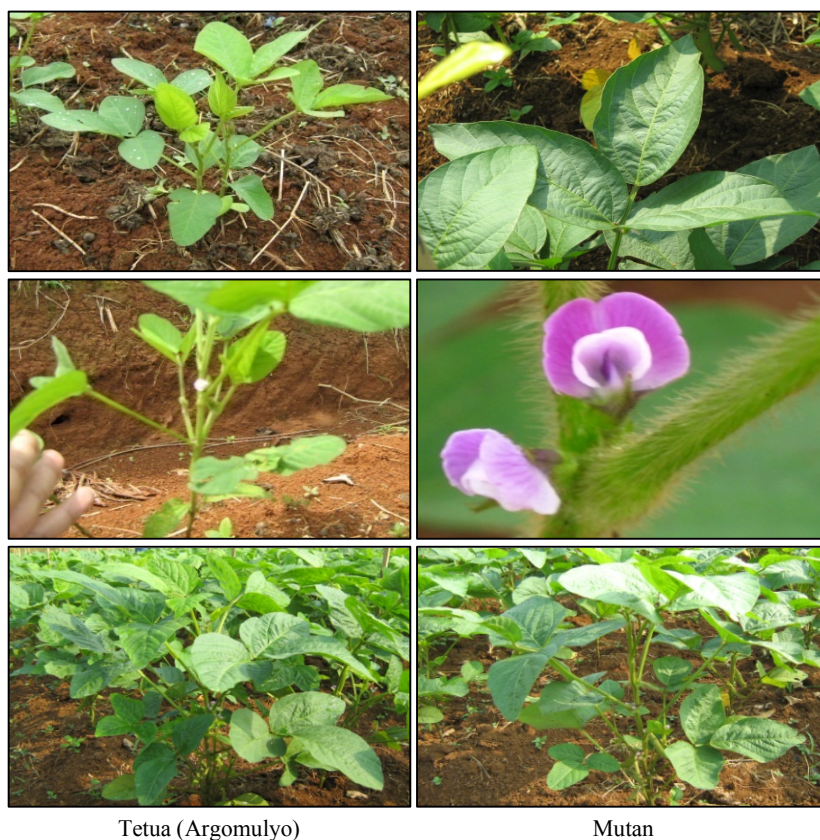
KESIMPULAN

Berdasarkan analisis penanda RAPD yang dihasilkan dari satu tetua dan 11 mutan putatif kedelai yang diuji, galur mutan 5 (M200-39-69-4) menunjukkan perbedaan terbesar dengan tetua

Tabel 5. Keragaan karakter agronomi generasi M₈ hasil iradiasi sinar gamma.

Galur	Jumlah polong bernas	Bobot biji/tanaman (g)	Bobot 100 biji (g)
Argomulyo	20,3	8,88	18,44
M150-70-45-12	20,83	7,14	16,40*
M200-80-48-2	16,8	7,59	15,55*
M200-52A-66-8	17,93	8,14	16,76*
M50-97-8-12	22,1	7,67	17,43
M200-39-69-4	16,77	7,03	17,38*
M200-64-51-8	21,77	8,75	17,76
M200-13-47-5	19,1	8,34	17,70
M200-20-52-3	22,1	8,66	17,21
M100-29A-42-14	19,33	7,70	17,38*
M150-29-44-10	21,47	8,09	16,55*
M100-96-53-6	14,6*	5,46*	13,41*

* = berbeda nyata dengan tetua (Argomulyo) pada taraf 5% berdasarkan uji t.



Tetua (Argomulyo) Mutan
Gambar 2. Perbedaan karakter morfologi antara tetua dan mutan-mutan.

dengan tingkat kesamaan genetik yang paling rendah, yaitu 47,2% Argomulyo pada karakter agronomi dan molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyad, D.M., M.M. Adie, dan H. Kuswanto. 2007. Perakitan Varietas Unggul Kedelai Spesifik Agroekologi. *Dalam* Sumarno, Suyanto, A. Widjono, Hermanto, dan H. Kasim (Eds.) *Kedelai. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor.* hlm. 205-228.
- Bardacki, F. 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turk. J. Biol.* 25:185-196.
- Mudibu, J., K.K.C. Nkongolo, A. Kalonji-Mbuyi, and R.V. Kizungu. 2012. Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of soybeans (*Glycine max* L.). *American Journal of Plant Sciences* 3:331-337.
- Nei, M. and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variations in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Science, Washington*, 76:5269-5273.
- Pavadai, P., M. Girija, and Dhanavel. 2010. Effect of gamma rays on some yield parameters and protein content of soybean in M₂, M₃ and M₄ generation. *Journal of Experimental Sciences* 1(6):8-11.
- Sakin, M.A. 2002. The use of induced micro-mutation for quantitative characters after EMS and gamma ray treatments in Durum wheat breeding. *Pakistan Journal of Applied Sciences* 2(12):1102-1107.
- Sharma, A., A.G. Namdeo, and K.R. Mahadik. 2008. Molecular Markers: New Prospects in Plant Genome Analysis. *Pharmacognosy Reviews* 2(3):23-31.
- Tah, P.R. 2006. Studies on gamma ray induced mutation in Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilezek]. *Asian Journal of Plant Science* 5(1):61-70.
- Thormann C.E, M.E. Ferreira, L.E.A. Camango, J.G. Tivang, and T.C. Osborne. 1994. Comparison of RFLP and RAD Markers to Estimating Genetic Relationships Within and Among Cruciferous Species. *Theor Appl Genet* 88:973-980.
- Van Harten, A.M. 1998. Mutation Breeding, Theory and Practical Application. *The United Kingdom: The Press Syndicate of the Univ. Of Cambridge.* 243-353 p.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Yogyakarta: Andi Offset.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff, and W. Meyer. 1995. DNA Finger Printing in Plants and Fungi. *Boca Raton-Florida: CRC Pr.*