

Morfologi Mutan Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Hasil Iradiasi Sinar Gamma Pada Cekaman Kering

Mutant Morphology of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Result of Gamma Ray Irradiation in Dry Stress

D N Harianja*, P D M H Karti, I Prihantoro

Corresponding email:
desimaharianja7@gmail.com

Departemen Ilmu Nutrisi dan
Teknologi Pakan, Fakultas
Peternakan, IPB University

Submitted : 29th July 2021

Accepted : 30th August 2021

ABSTRACT

Alfalfa in dry stress conditions cannot grow optimally. Drought inhibits growth and reduces alfalfa production in many cultivation systems. Plants breeding with gamma-ray irradiation and in vitro selection using PEG found somaclonal variants adapted to grow well in drought conditions. This study aims to determine the type of mutation with the best morphology in dry stress conditions. Alfalfa mutants resulting from gamma irradiation were sub-cultured in vitro. Alfalfa mutants cultured in PEG medium, according to treatments. This experiment used completely randomized factorial design with 2 factors, namely the gamma-ray irradiation doses (0 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 and 500 Gy), and PEG concentrations (5%, 10%, 15%, and 20%). The variables observed were viability, plant height, number of leaves, wet weight, medium shrinkage, leaf wilting, and leaf color. The results showed that the gamma-irradiated mutant had a better ($p < 0.05$) morphology than the control (0 Gy) in the face of dry stress conditions. Combination of 500 Gy and 20% PEG concentration resulted the best type of mutant.

Key words: alfalfa, in vitro, gamma rays, PEG

ABSTRAK

Alfalfa pada kondisi tercekam kering tidak dapat tumbuh secara optimal. Kekeringan menghambat pertumbuhan dan menurunkan produksi alfalfa pada banyak sistem budidaya. Pemuliaan tanaman dengan iradiasi sinar gamma dan seleksi in vitro menggunakan PEG didapatkan varian somaklonal teradaptasi tumbuh baik pada kondisi kekeringan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat jenis mutan dengan morfologi terbaik pada kondisi tercekam kering. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Mutan alfalfa hasil iradiasi sinar gamma di subkultur secara in vitro. Selanjutnya mutan alfalfa di tanam ke dalam medium PEG sesuai perlakuan. Rancangan acak lengkap pola faktorial dengan faktor pertama adalah mutan alfalfa hasil penelitian sebelumnya dengan dosis iradiasi sinar gamma (0 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy dan 500 Gy) dan faktor kedua adalah konsentrasi PEG (5%, 10%, 15% dan 20%). Variabel yang diamati yaitu viabilitas, tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah, penyusutan medium, kelayuan daun, dan warna daun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mutan hasil iradiasi sinar gamma memiliki morfologi yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol (0 Gy) dalam menghadapi kondisi cekaman kering. Mutan 500 Gy terhadap peningkatan konsentrasi PEG 20% menjadi jenis mutan terbaik.

Kata kunci: alfalfa, in vitro, sinar gamma, PEG

PENDAHULUAN

Pengembangan usaha peternakan khususnya ternak ruminansia tidak terlepas dari ketersediaan hijauan pakan yang berkualitas, dan tersedia sepanjang musim. Hijauan pakan menyumbang hampir 70% dari kebutuhan ternak ruminansia (Saking & Qomariyah 2017). Hijauan pakan dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu rumput-rumputan dan leguminosa (kacang-kacangan). Legum hijauan cenderung lebih tinggi konsentrasi proteinnya dibandingkan rumput-rumputan, dan memiliki keunggulan dalam fixasi N² melalui simbiosis dengan berbagai spesies Rhizobia (Putnam & Orloff 2014).

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) merupakan tanaman daerah subtropis yang tumbuh liar di pegunungan Mediterania di sebelah Barat Daya Asia. Tanaman ini kemudian dikembangkan dan dibudidayakan ke lebih dari 80 negara diantaranya Amerika Serikat, Jepang, Australia, dan Korea dengan luas lahan mencapai 35 juta ha. Alfalfa mengandung nutrisi lengkap dan pencernaan tinggi dengan kandungan protein sebesar 32,60% dari berat kering yang mampu meningkatkan produktivitas ternak sapi perah, sapi potong, kuda, domba, kambing, dan kelas hewan domestik lainnya (Sajimin 2011; Subantoro 2009; Radovic et al. 2009). Alfalfa sebagai tanaman daerah subtropis dapat tumbuh optimal dengan suhu 20-30°C, kondisi tanah dengan pH 6,5 dan drainase air yang baik (Radovic et al. 2009). Di luar kondisi optimalnya kemampuan tumbuh alfalfa menurun, mengakibatkan rendahnya kualitas, menurunnya total bahan segar dan kering (Anower et al. 2015).

Budidaya tanaman alfalfa yang terbatas mendorong adanya upaya pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman telah banyak berkontribusi dalam peningkatan produktivitas tanaman khususnya tanaman pangan (Aristya & Taryono 2019). Kajian pemuliaan tanaman melalui pendekatan mutasi di laboratorium kultur jaringan, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor telah dihasilkan kandidat mutan alfalfa hasil mutasi melalui iradiasi sinar gamma. Pemuliaan mutasi sangat bermanfaat untuk perbaikan beberapa sifat mutan dengan tidak merubah sebagian besar sifat mutan asli (Harsanti & Yulindar 2015). Mutasi dapat dilakukan melalui mutagen kimia (*chemical mutagen*) dan mutagen fisik (*physical mutagen*) untuk perbaikan mutu genetik seperti meningkatkan produktivitas, ketahanan terhadap penyakit tertentu, umur panen yang lebih pendek, toleran terhadap pH tinggi dan kekeringan. Pengaplikasian induksi mutasi melalui sinar gamma memiliki penetrasi yang baik, dapat diulang untuk mendapat hasil yang sama, penanganan limbah mudah, dan frekuensi mutasi yang dihasilkan tinggi (Chahal & Gosal 2002).

Seleksi *in vitro* menggunakan *polyethylene glycol* (PEG) sebagai simulasi cekaman kekeringan diharapkan terbentuk varian organisme yang toleran dan tumbuh baik dengan kondisi drainase buruk. Sebagai simulasi

cekaman kekeringan PEG tidak mampu melakukan penetrasi dan menyebabkan sel mengalami suatu kondisi sel yang mengerut akibat perpindahan air dari dalam sel ke luar sel yang disebut *cytorrhysis*. Selain itu penggunaan PEG sebagai simulasi cekaman kekeringan mampu dikontrol dengan tepat (Rosawanti 2016). Kultur *in vitro* merupakan teknik menumbuh kembangkan suatu vegetasi pada bagian tanaman berupa sel, jaringan dan organ dalam kondisi aseptik (*steril*) secara *in vitro*. Teknik ini mampu memperbanyak tanaman dalam jumlah besar dan relatif singkat (Dwiyani 2015). Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan evaluasi dalam melihat morfologi mutan alfalfa hasil iradiasi sinar gamma pada kondisi cekaman kering.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) koleksi laboratorium kultur jaringan, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, MS (*Murashige Skoog*), agar rose, gula, NaOH 2%, TDZ (*Thidiazuron*), aquades, dan PEG 6000 (*Polyethylene glycol*).

Prosedur penelitian diawali dengan multiplikasi mutan alfalfa hasil iradiasi sinar gamma dengan teknik subkultur berdasarkan Yunita (2015). Mutan alfalfa hasil iradiasi sinar gamma pada 5 dosis sinar gamma dipotong menjadi 4-5 bagian di atas permukaan cawan petri dan dipindahkan ke medium kultur (MS0). Mutan 0 Gy (kontrol) didapatkan dengan menanam biji pada medium kultur (MS0). Semua prosedur dilakukan di dalam *laminar air flow* dalam kondisi aseptik (*steril*). Setiap botol kultur berisi 1-2 eksplan tanaman sesuai dosis sinar gamma. Eksplan yang terbentuk disubkultur 3 minggu sekali sebanyak 3 kali subkultur untuk memperoleh populasi kalus yang lebih banyak (Sutjahjo et al. 2007).

Pada tahap kedua pembuatan medium PEG sebagai simulasi cekaman kering dengan menimbang bahan masing-masing berupa MS 4,43 g l⁻¹, agar rose 7 g l⁻¹, gula 30 g l⁻¹, NaOH 2% 0,2 ml, TDZ 0,2 ml, dan PEG 6000 sesuai konsentrasi perlakuan dengan takaran 50 g l⁻¹ setara 5% (-0,03 MPa), 100 g l⁻¹ setara 10% (-0,19 MPa), 150 g l⁻¹ setara 15% (-0,41 MPa), dan 200 g l⁻¹ setara 20% (-0,67 MPa). Semua bahan di campur dengan aquades sebanyak 1000 ml di dalam *beaker glass*. Larutan medium diaduk dan dipanaskan menggunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 380°C dan putaran 250 rpm. Medium yang sudah homogen diisikan pada botol kultur sebanyak ±10 ml, dan tutup dengan aluminium foil. Botol kultur yang telah diisi medium kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi selama 15 menit. Medium yang telah steril disusun dalam ruang kultur, apabila tidak terjadi kontaminasi digunakan sebagai medium perlakuan.

Pada tahap ketiga mutan alfalfa yang tumbuh baik dan tidak kontaminasi selama tahap multiplikasi

dipindahkan ke dalam medium seleksi PEG sesuai konsentrasi yang digunakan. Penambahan PEG dalam medium menyebabkan medium menjadi cair (medium cair), sehingga mencegah kalus tidak tenggelam dan berdiri tegak digunakan busa sintetik berukuran 1,5cm x 1,5 cm. Mutan alfalfa yang sudah dipindahkan ke dalam medium PEG ditempatkan di dalam ruang kultur jaringan (ruang inkubasi) dengan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$, pencahayaan selama 16 jam, dan intensitas cahaya 700 Lux cahaya putih selama 30 hari.

Variabel yang diamati selama penelitian meliputi viabilitas, tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah, penyusutan medium, kelayuan daun, dan warna daun.

Viabilitas dihitung berdasarkan jumlah eksplan yang hidup untuk masing-masing konsentrasi perlakuan.

$$\text{Viabilitas eksplan} = \frac{\sum \text{jumlah eksplan yang hidup} \times 100\%}{\text{total eksplan}}$$

Tinggi tanaman dihitung dari permukaan medium hingga bagian ujung tertinggi menggunakan penggaris dengan satuan cm. Jumlah daun dihitung berdasarkan jumlah daun yang terbentuk dalam setiap eksplan.

Bobot basah dihitung dengan menimbang berat keseluruhan (botol, medium dan eksplan/BME) dan berat botol tanpa eksplan (botol dan medium/BM) pada hari terakhir (h30).

$$\text{Bobot basah} = \text{BME h30} - \text{BM h30}$$

Penyusutan medium dihitung dengan menimbang berat botol tanpa eksplan (botol dan medium/BM) setelah sterilisasi medium dan berat botol tanpa eksplan (botol dan medium).

$$\text{Penyusutan medium} = \text{BM h0} - \text{BM h30}$$

Kelayuan daun dihitung berdasarkan jumlah daun yang layu di eksplan dan jatuh ke medium.

$$\text{Kelayuan daun} = \frac{\sum \text{jumlah daun yang layu} \times 100\%}{\text{total daun}}$$

Pengamatan warna daun dilakukan dengan membandingkan helai daun tertinggi dengan skala warna berdasarkan standar *colour chart* menggunakan aplikasi *Munsell color chart* versi 1.0.1.1.

Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan faktor A adalah dosis sinar gamma (0 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, dan 500 Gy), dan faktor B adalah konsentrasi PEG (5%, 10%, 15%, dan 20%). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 10 kali dan setiap botol terdiri atas 1 eksplan, sehingga di dapatkan 24 perlakuan dengan jumlah keseluruhan pengamatan adalah 240 botol. Data yang didapatkan selama pengamatan dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) menggunakan aplikasi SPSS versi 20, jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mutan yang ditambahkan dengan PEG memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah, penyusutan medium, dan kelayuan daun (Tabel 2, 3 dan 4). Demikian pada viabilitas dan warna daun (Tabel 1 dan Tabel 5) dosis iradiasi sinar gamma meningkatkan toleran cekaman kekeringan. Tanaman terhadap kekeringan akan merespon secara fisiologis dan morfologis sebagai mekanisme ketahanan tanaman maupun dampak dari proses akibat cekaman kekeringan (Sujinah *et al.* 2016). Dosis iradiasi sinar gamma menurut Astutik (2009) berpengaruh terhadap sifat morfologis (saat inisiasi tunas, jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tunas, dan jumlah klorofil daun) dan sifat genetic.

Viabilitas menggambarkan kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang, serta adaptasinya terhadap lingkungan. Pada mutan 0 Gy (kontrol) penambahan konsentrasi PEG hingga 20% dapat meningkatkan kematian, dan menurunkan persen viabilitas mutan (Tabel 1). Persen viabilitas tertinggi pada mutan 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy dan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 5%, akan tetapi tidak berbeda nyata dengan jenis mutan lainnya. Namun pada konsentrasi PEG 20% berbeda nyata ($p < 0,05$) pada mutan 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy dan 300 Gy. Menurut Sutjahjo *et al.* (2007) sel atau sekelompok sel (kalus) yang rentan terhadap kondisi normalnya akan mengalami kematian. Tingginya konsentrasi PEG mengakibatkan sulitnya proses osmosis di sel yang kemudian menutup masuknya air ke sel. Senyawa PEG yang bersifat larut dalam air mampu menyebabkan penurunan potensial air yang homogen. Potensial air yang rendah akan menimbulkan tekanan turgor sel benih berkurang, sehingga menghentikan proses perkecambahan (Wardhani *et al.* 2018).

Tabel 1 Viabilitas (%) mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada cekaman kering umur 30 HST

| PEG (%) | Dosis Iradiasi Sinar Gamma (Gy) | | | | | |
|--------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 |
| Eksplan Hidup | | | | | | |
| 5 | 8 | 9 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 10 | 5 | 6 | 6 | 7 | 8 | 8 |
| 15 | 4 | 5 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 20 | 4 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Eksplan Mati | | | | | | |
| 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 5 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 |
| 15 | 6 | 5 | 5 | 4 | 3 | 2 |
| 20 | 6 | 6 | 6 | 5 | 4 | 3 |
|Viabilitas (%)..... | | | | | | |
| 5 | 80 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 10 | 50 ^b | 60 ^a | 60 ^a | 70 ^a | 80 ^a | 80 ^a |
| 15 | 40 ^c | 50 ^b | 50 ^b | 60 ^a | 70 ^a | 80 ^a |
| 20 | 40 ^c | 40 ^c | 40 ^c | 50 ^b | 60 ^a | 70 ^a |

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Tabel 2 Tinggi tanaman (cm) dan jumlah daun (helai) mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada cekaman kering umur 30 HST

| PEG (%) | Dosis Iradiasi Sinar Gamma (Gy) | | | | | | Rerata |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | |
| Tinggi tanaman | | | | | | | |
| 5 | 1,54±0,30 ^{dz} | 1,99±0,39 ^{by} | 2,51±0,39 ^{by} | 4,75±0,50 ^{ax} | 7,16±0,48 ^{ax} | 6,05±0,2 ^{ax} | 3,84±0,42 ^x |
| 10 | 1,25±0,12 ^e | 1,38±0,10 ^e | 1,52±0,16 ^{dz} | 3,85±0,31 ^{bx} | 3,20±0,50 ^{cy} | 4,43±0,18 ^{ax} | 2,75±0,32 ^y |
| 15 | 0,99±0,13 ^e | 1,26±0,17 ^e | 1,33±0,27 ^{dz} | 1,96±0,17 ^{cy} | 2,43±0,30 ^{cy} | 3,35±0,29 ^{bx} | 1,78±0,22 ^y |
| 20 | 0,61±0,09 ^f | 0,92±0,16 ^e | 1,26±0,21 ^{dz} | 1,75±0,12 ^{dz} | 2,35±0,17 ^{cy} | 3,09±0,19 ^{cy} | 1,79±0,19 ^y |
| Rerata | 1,10±0,18 ^b | 1,39±0,22 ^b | 1,66±0,26 ^b | 3,08±0,33 ^a | 3,78±0,42 ^a | 4,23±0,26 ^a | |
| Jumlah daun | | | | | | | |
| 5 | 3,40±1,84 ^{cy} | 5,00±2,71 ^{bx} | 4,80±1,48 ^{bx} | 5,50±2,46 ^{bx} | 7,60±4,60 ^{ax} | 6,50±1,72 ^{ax} | 5,47±2,89 ^x |
| 10 | 3,30±0,82 ^{dz} | 4,00±2,00 ^{cde} | 4,60±1,78 ^{bx} | 4,20±1,81 ^{cy} | 4,70±2,45 ^{bx} | 5,00±1,76 ^{bx} | 4,30±1,84 ^y |
| 15 | 3,30±1,16 ^{dz} | 3,40±1,73 ^{cde} | 3,70±1,06 ^{cy} | 3,80±1,55 ^{cy} | 4,00±1,63 ^{cy} | 4,50±2,17 ^{bx} | 3,78±1,57 ^y |
| 20 | 2,70±1,25 ^e | 3,10±0,99 ^{de} | 2,80±0,79 ^e | 3,30±1,06 ^{dz} | 3,90±2,18 ^{cy} | 3,80±2,44 ^{cy} | 3,27±1,58 ^z |
| Rerata | 3,18±1,30 ^c | 3,88±2,01 ^{bc} | 3,98±1,51 ^b | 4,20±1,91 ^a | 5,05±3,21 ^a | 4,95±2,21 ^a | |

Superskrip a-d yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata (p<0,05)

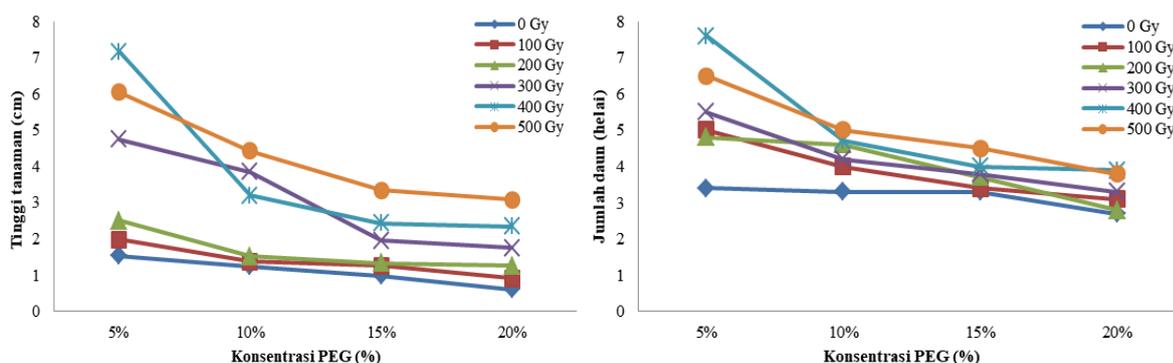
Superskrip x-z yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata (p<0,05).

Pada kondisi tercekam kering kemampuan proliferasi embrio somatik, rerata embrio somatik per eksplan, dan total embrio somatik tertinggi berlangsung pada kalus teriradiasi sinar gamma dan terendah tanpa iradiasi. Perubahan kromosom akibat iradiasi dosis tinggi menghasilkan ketidakstabilan genetik yang menjadikan tanaman mampu bertahan pada potensial air jaringan yang rendah yang kemudian tanaman mampu menjaga turgor dengan menginduksi pengumpulan bahan-bahan terlarut seperti gula dan asam amino (Hemon 2009).

Tinggi tanaman menjadi indikator visual yang mampu menunjukkan tren pertumbuhan tanaman selama masa cekaman secara kualitatif. Tinggi tanaman (Tabel 2) tertinggi pada mutan 400 Gy dengan konsentrasi PEG 5% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (0 Gy) dan mutan lainnya, akan tetapi tidak berbeda nyata pada mutan 300 Gy dan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 5%. Pada konsentrasi PEG 20% mutan 0 Gy (kontrol) menunjukkan pertumbuhan tinggi tanaman terendah. Adanya gangguan aliran air dari xilem ke sekitar sel-sel akan menghentikan perpanjangan sel, serta terhambatnya mitosis dan pembesaran sel (Anjum et al. 2011; Wardhani et al. 2018). Penambahan konsentrasi PEG menurunkan tinggi tanaman. Namun induksi mutasi dengan sinar

gamma menunjukkan peningkatan fisiologis tanaman pada parameter tinggi tanaman terhadap konsentrasi PEG sebagai simulasi cekaman kering (Gambar 1). Menurut Havidzati et al. (2017) induksi mutasi oleh iradiasi sinar gamma menimbulkan perubahan genetik pada urutan basa nukleoida (DNA) yang mengalami perombakan susunan asam amino dan merubah pola protein. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Meliala et al. (2016) perlakuan iradiasi sinar gamma berpengaruh nyata terhadap semua karakter tanaman yaitu pada karakter tinggi tanaman, jumlah anakan produktif, panjang malai, dan luas daun.

Jumlah daun yang bertambah dan berkurang diakhir pengamatan menunjukkan respon tanaman dalam menyerap nutrisi dan interaksinya pada kondisi tercekam (Gambar 1). Jumlah daun (Tabel 2) tertinggi pada mutan 400 Gy dengan konsentrasi PEG 5%, akan tetapi tidak berbeda nyata pada mutan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 5%, dan jumlah daun terendah pada mutan 0 Gy (kontrol) dengan konsentrasi PEG 20%. Kondisi cekaman kekeringan menimbulkan lingkungan tanaman tidak menerima asupan air yang cukup, sehingga tanaman tidak mampu melakukan proses pertumbuhan dan produksi secara optimal (Ulfa et al. 2018).



Gambar 1. Pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah daun mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada berbagai dosis iradiasi sinar gamma terhadap konsentrasi PEG selama 30 hst

Tabel 2 Tinggi tanaman (cm) dan jumlah daun (helai) mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada cekaman kering umur 30 HST

| PEG (%) | Dosis Iradiasi Sinar Gamma (Gy) | | | | | | Rerata |
|----------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | |
| Tinggi tanaman (cm) | | | | | | | |
| 5 | 1,54±0,30 ^{def} | 1,99±0,39 ^{cdef} | 2,51±0,39 ^{cdef} | 4,75±0,50 ^{abc} | 7,16±0,48 ^a | 6,05±0,2 ^{ab} | 3,84±0,42 ^a |
| 10 | 1,25±0,12 ^{ef} | 1,38±0,10 ^{ef} | 1,52±0,16 ^{def} | 3,85±0,31 ^{bcde} | 3,20±0,50 ^{cdef} | 4,43±0,18 ^{bcd} | 2,75±0,32 ^b |
| 15 | 0,99±0,13 ^{ef} | 1,26±0,17 ^{ef} | 1,33±0,27 ^{def} | 1,96±0,17 ^{cdef} | 2,43±0,30 ^{cdef} | 3,35±0,29 ^{bcdef} | 1,78±0,22 ^b |
| 20 | 0,61±0,09 ^f | 0,92±0,16 ^{ef} | 1,26±0,21 ^{def} | 1,75±0,12 ^{def} | 2,35±0,17 ^{cdef} | 3,09±0,19 ^{cdef} | 1,79±0,19 ^b |
| Rerata | 1,10±0,18 ^b | 1,39±0,22 ^b | 1,66±0,26 ^b | 3,08±0,33 ^a | 3,78±0,42 ^a | 4,23±0,26 ^a | |
| Jumlah daun (helai) | | | | | | | |
| 5 | 3,40±1,84 ^{cde} | 5,00±2,71 ^{bcd} | 4,80±1,48 ^{bcde} | 5,50±2,46 ^{bc} | 7,60±4,60 ^a | 6,50±1,72 ^{ab} | 5,47±2,89 ^a |
| 10 | 3,30±0,82 ^{de} | 4,00±2,00 ^{cde} | 4,60±1,78 ^{bcde} | 4,20±1,81 ^{cde} | 4,70±2,45 ^{bcde} | 5,00±1,76 ^{bcd} | 4,30±1,84 ^b |
| 15 | 3,30±1,16 ^{de} | 3,40±1,73 ^{cde} | 3,70±1,06 ^{cde} | 3,80±1,55 ^{cde} | 4,00±1,63 ^{cde} | 4,50±2,17 ^{bcde} | 3,78±1,57 ^{bc} |
| 20 | 2,70±1,25 ^e | 3,10±0,99 ^{de} | 2,80±0,79 ^e | 3,30±1,06 ^{de} | 3,90±2,18 ^{cde} | 3,80±2,44 ^{cde} | 3,27±1,58 ^c |
| Rerata | 3,18±1,30 ^c | 3,88±2,01 ^{bc} | 3,98±1,51 ^{bc} | 4,20±1,91 ^{ab} | 5,05±3,21 ^a | 4,95±2,21 ^a | |

Superskrip a-d yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$);

Superskrip x-z yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Induksi mutasi yang berlangsung pada mutan alfalfa teriradiasi sinar gamma mengembangkan keragaman genetik kearah positif, sehingga dihasilkan tanaman teradaptasi pada cekaman kering dengan pertumbuhan daun yang tinggi. Menurut Meliala *et al.* (2016) iradiasi sinar gamma mampu memunculkan keragaman secara kuantitatif dan kualitatif. Perubahan yang berlangsung pada tanaman mampu disebabkan sebagai akibat dari perlakuan. Saragih *et al.* (2020) menyatakan bahwa tanaman yang terinduksi mutasi sinar gamma menunjukkan perlakuan mutasi berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun.

Bobot basah (Tabel 3) tertinggi pada mutan 300 Gy pada konsentrasi PEG 5%, akan tetapi tidak berbeda nyata dengan mutan 300 Gy dengan konsentrasi PEG 10%, mutan 400 Gy dengan konsentrasi PEG 5% dan 10%, dan mutan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 5%, 10%, 15% dan 20% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (0 Gy). Pertambahan bobot basah menunjukkan tingkat pertumbuhan yang dihasilkan tanaman selama pemberian perlakuan cekaman kering. Pada mutan 0 Gy (kontrol) bobot basah menurun seiring dengan penambahan PEG. Penambahan konsentrasi *polyetilne*

glycol dalam medium seleksi *in vitro* mengembangkan persentase kematian kalus, menurunkan nilai indeks kualitas kalus, persentase kalus dan jumlah kalus beregenerasi (Sutjahjo *et al.* 2007). Menurut Liu *et al.* (2013) tanaman yang mengalami cekaman akan mengurangi penggunaan cadangan karbohidrat untuk mempertahankan proses metabolismenya. Kekurangan karbon dalam proses metabolisme menimbulkan rendahnya pertumbuhan dan tanaman akan mengalami kematian, sedangkan bobot tanaman yang semakin tinggi menggambarkan laju pertumbuhan yang tinggi. Keragaman yang ditimbulkan iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah daun (Tabel 2) menunjukkan adanya interaksi secara positif pada pertambahan bobot basah. Berdasarkan penelitian oleh Meliala *et al.* (2016) bahwa perlakuan penyinaran iradiasi menunjukkan adanya mutasi pada tanaman, sehingga berlangsung peningkatan karakter bobot gabah per rumpun dan keragaman tanaman.

Penyusutan medium (Tabel 4) tertinggi pada mutan 300 Gy dengan konsentrasi PEG 5% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (0 Gy) dan mutan lainnya.

Tabel 3 Bobot basah (gram) dan penyusutan medium (gram) mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada cekaman kering umur 30 HST

| PEG (%) | Dosis Iradiasi Sinar Gamma (Gy) | | | | | | Rerata |
|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | |
| Bobot basah (gram) | | | | | | | |
| 5 | 0,46±0,19 ⁱ | 0,61±0,31 ^f | 0,66±0,27 ^{dz} | 1,04±0,33 ^{ax} | 0,98±0,31 ^{ax} | 0,94±0,27 ^{ax} | 0,78±0,35 ^x |
| 10 | 0,26±0,13 ^j | 0,54±0,23 ^{ghi} | 0,63±0,22 ^e | 0,94±0,28 ^{ax} | 0,97±0,34 ^{ax} | 0,91±0,23 ^{ax} | 0,71±0,35 ^x |
| 15 | 0,21±0,12 ^k | 0,49±0,13 ^{hi} | 0,58±0,33 ^f | 0,75±0,16 ^{bx} | 0,79±0,22 ^{bx} | 0,89±0,21 ^{ax} | 0,62±0,30 ^y |
| 20 | 0,18±0,09 ^k | 0,46±0,21 ^{ij} | 0,49±0,22 ^{hi} | 0,67±0,18 ^{dz} | 0,72±0,15 ^{cy} | 0,85±0,20 ^{ax} | 0,56±0,28 ^y |
| Rerata | 0,28±0,17 ^c | 0,52±0,23 ^b | 0,59±0,26 ^b | 0,85±0,28 ^a | 0,86±0,28 ^a | 0,90±0,22 ^a | |
| Penyusutan medium (gram) | | | | | | | |
| 5 | 0,91±0,27 ^{dz} | 0,94±0,40 ^{cy} | 1,09±0,33 ^{bx} | 1,51±0,36 ^{ax} | 1,29±0,33 ^{ax} | 1,22±0,33 ^{bx} | 1,16±0,39 ^x |
| 10 | 0,79±0,19 ^e | 0,89±0,35 ^{dz} | 0,93±0,21 ^{cy} | 1,23±0,31 ^{ax} | 1,25±0,36 ^{ax} | 1,18±0,21 ^{bx} | 1,04±0,32 ^x |
| 15 | 0,58±0,20 ^h | 0,88±0,38 ^{dz} | 0,91±0,27 ^{dz} | 1,07±0,30 ^{bx} | 1,11±0,30 ^{bx} | 1,16±0,19 ^{bx} | 0,95±0,33 ^y |
| 20 | 0,52±0,12 ^h | 0,67±0,33 ^g | 0,76±0,35 ^f | 1,05±0,21 ^{bx} | 1,16±0,16 ^{bx} | 1,25±0,20 ^{ax} | 0,90±0,36 ^z |
| Rerata | 0,70±0,25 ^c | 0,84±0,37 ^b | 0,92±0,31 ^b | 1,21±0,34 ^a | 1,20±0,30 ^a | 1,20±0,23 ^a | |

Superskrip a-d yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Superskrip x-z yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Tabel 4 Kelayuan daun (%) mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada cekaman kering umur 30 HST

| PEG (%) | Dosis Iradiasi Sinar Gamma (Gy) | | | | | Rerata | |
|---------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | | 500 |
| 5 | 65,29±25,54 ^{by} | 42,76±15,98 ^{ax} | 48,02±21,40 ^{ax} | 61,34±16,09 ^{bx} | 39,46±20,73 ^{ax} | 36,52±27,28 ^{ay} | 48,90±23,37 ^x |
| 10 | 77,50±20,80 ^{dz} | 65,95±21,62 ^{cy} | 69,33±18,31 ^{cy} | 74,95±26,21 ^{dz} | 73,33±22,33 ^{dz} | 55,33±31,34 ^{ax} | 69,36±23,94 ^x |
| 15 | 78,33±20,49 ^e | 47,00±23,33 ^{ax} | 67,50±15,93 ^{cy} | 47,00±17,05 ^{ax} | 52,50±24,22 ^{ax} | 59,14±23,49 ^{ax} | 58,58±23,13 ^y |
| 20 | 86,67±21,94 ^e | 82,17±20,96 ^e | 78,33±23,64 ^e | 76,33±19,06 ^{dz} | 44,29±16,73 ^{ax} | 59,61±27,63 ^{ax} | 71,23±25,69 ^z |
| Rerata | 76,95±22,76 ^a | 59,47±25,46 ^{bc} | 65,80±22,27 ^b | 64,91±22,67 ^b | 52,34±24,17 ^c | 52,65±28,17 ^c | |

Superskrip a-d yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaaan nyata (p<0,05)
Superskrip x-z yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaaan nyata (p<0,05).

Pada mutan 300 Gy dengan konsentrasi PEG 10%, mutan 400 Gy dengan konsentrasi PEG 5% dan 10%, dan mutan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 20% tidak berbeda nyata. Penyusutan medium menunjukkan kemampuan tanaman dalam menyerap nutrisi dan air yang terdapat di medium untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Penambahan PEG dalam medium mampu menurunkan proliferasi dan pertumbuhan jaringan eksplan, serta regenerasi tanaman. Faktor penting yang berpengaruh terhadap proliferasi tanaman ialah potensial osmotik medium tumbuh. Terhambatnya penyerapan nutrisi di medium akibat dari rendahnya potensial air medium mengakibatkan tanaman kesulitan dalam menyerap nutrisi dan mentranslokasikannya ke sel tanaman. Menurut Sutjahjo *et al.* (2007) kalus yang mengalami tekanan seleksi PEG akan mengalami gangguan metabolisme akibat ketidaksesuaian medium. Pada tekanan seleksi 20% PEG kemampuan kalus dalam menyerap nutrisi terbatas, sehingga mengakibatkan kalus sulit beregenerasi. Keragaman tanaman hasil iradiasi sinar gamma menunjukkan kemampuan menyerap nutrisi dan air yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Keragaman genetik yang terjadi akibat adanya mutasi, rekombinasi, dan migrasi gen. Berdasarkan penelitian Wardhani *et al.* (2007) iradiasi sinar gamma mampu menginduksi keragaman morfologi tanaman. Keragaman morfologi terlihat pada tinggi tanaman, serta ukuran dan warna daun, bahkan mampu merangsang pertumbuhan jumlah daun yang lebih baik.

Kelayuan daun tertinggi pada tanaman kontrol (0 Gy) dengan konsentrasi PEG 20% lebih tinggi dibandingkan dengan jenis mutan lainnya (Tabel 4). Kelayuan daun terendah terdapat pada mutan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 5%, akan tetapi tidak berbeda nyata dengan mutan 500 Gy dengan konsentrasi PEG 10%, 15% dan 20%, mutan 400 Gy pada konsentrasi PEG 5%, 15% dan 20%, mutan 300 Gy dengan konsentrasi PEG 15%, mutan 200 Gy dengan konsentrasi PEG 5%, dan mutan 100 Gy pada konsentrasi PEG 5% dan 15%. Perbedaan persen kelayuan daun menunjukkan adanya interaksi. Daun akan menutup stomata segera setelah merasakan peningkatan perbedaan tekanan uap air, bahkan jika akar-akarnya memiliki cukup air. Air yang terbatas juga menaikkan sintesis dan pemenuhan asam absisat di sel-sel mesofil daun. Pada membran sel asam absisat mendukung dalam mempertahankan stomata agar tetap tertutup. Asam absisat juga mempercepat penuaan dan pengguguran daun (Jardine *et al.* 2015; Sujinah *et al.* 2016). Tanaman tanpa iradiasi sinar gamma tidak

toleran terhadap cekaman kekeringan, sedangkan pada tanaman teriradiasi sinar gamma menunjukkan adanya upaya adaptasi, sehingga membentuk genetik yang toleran pada kondisi cekaman kering. Menurut Sutjahjo *et al.* (2007) kalus yang dikulturkan pada konsentrasi 20% PEG mampu menghambat pertumbuhan kalus. Kalus yang mampu bertahan terhadap konsentrasi PEG 20% berpotensi membawa sifat toleran terhadap cekaman kekeringan.

Perubahan warna daun planlet menjadi indikator kandungan klorofil pada daun (Tabel 5). Semakin hijau warna daun menunjukkan semakin tinggi kandungan klorofil pada daun (Maslukah *et al.* 2019). Warna hijau daun mutan 0 Gy (kontrol) menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi PEG. Penambahan konsentrasi PEG yang meningkat dari 5% menjadi 20% memperlihatkan penurunan persen warna daun yang sebelumnya berwarna hijau tua, hijau dan hijau muda,

Tabel 5 Warna daun (%) mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada cekaman kering umur 30 hst

| PEG (%) | Dosis Iradiasi Sinar Gamma (Gy) | | | | | |
|---------|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 |
| 5 | 30 | 40 | 50 | 40 | 40 | 50 |
| | 30 | 10 | 10 | 30 | 40 | 10 |
| | 20 | 40 | 40 | 30 | 10 | 40 |
| | 20 | 10 | | | 10 | |
| 10 | 10 | 10 | 10 | 20 | 20 | 50 |
| | 20 | 20 | 20 | 30 | 10 | 10 |
| | 20 | 20 | 30 | 20 | 30 | 40 |
| | 50 | 10 | 40 | 30 | 20 | |
| 15 | 10 | 20 | 40 | 20 | 20 | 50 |
| | 10 | 30 | 30 | 30 | 30 | 10 |
| | 20 | 50 | 10 | 10 | 20 | 40 |
| | 60 | | 10 | 40 | 30 | |
| 20 | 10 | 30 | 10 | 20 | 20 | 50 |
| | 30 | 10 | 20 | 30 | 30 | 10 |
| | 60 | 60 | 10 | 50 | 10 | 40 |
| | | | 60 | | 40 | |

menjadi kekuningan dan coklat. Zat hijau daun klorofil yang terdapat pada tanaman perlahan memudar dengan meningkatnya konsentrasi cekaman. Selain terbatasnya air perubahan warna daun juga akibat adanya senyawa fenol yang bersifat toksik. Toksisitas fenol diduga disebabkan oleh ikatan reversibel antara hidrogen dan protein. Fenol teroksidasi menjadi senyawa aktif yang kemudian mempolimerase atau mengoksidasi protein menjadi senyawa melanat yang meningkat menghentikan pertumbuhan (Hutami 2008). Tanaman teriradiasi sinar gamma (100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy dan 500 Gy) menunjukkan warna daun yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol (0Gy). Menurut Astutik (2009) semakin besar terjadinya mutasi klorofil maka akan semakin tinggi variasi pada parameter pertumbuhan, ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, ataupun produksi tanaman. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Meliala *et al.* (2016) luas daun tanaman dan kadar klorofil daun yang diberikan perlakuan iradiasi sinar gamma mengalami peningkatan dibandingkan dengan tanaman kontrol.

SIMPULAN

Iradiasi sinar gamma memberikan interaksi yang positif dengan konsentrasi PEG sebagai simulasi kekeringan dalam menginduksi keragaman pada morfologi tanaman. Keragaman morfologi terlihat pada tinggi tanaman, jumlah daun dan warna daun dengan pertumbuhan terbaik pada mutan 500 Gy. Namun belum diketahui perubahan morfologi bersifat permanen atau sementara.

DAFTAR PUSTAKA

- Anower MR, Boe A, Auger D, Mott IW, Peel MD, Xu L, Kanchupati P & Wu Y. 2015. Comparative drought response in eleven diverse alfalfa accessions. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 203(1):1-13.
- Anjum SA, Xie XY, Wang LC, Saleem MF, Man C & Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*. 6(9):2026-2032.
- Aristya VE & Taryono. 2019. Pemuliaan tanaman partisipatif untuk meningkatkan peran varietas padi unggul dalam mendukung swasembada pangan nasional. *Agrotechnology Innovation*. 2(1):026-035.
- Astutik A. 2009. Peningkatan kualitas bibit pisang kepok melalui radiasi sinar gamma secara in vitro. *Buana Sains*. 9(1):69-75.
- Chahal GS & Gosal SS. 2002. *Principle and Procedures of Plant Breeding: Biotechnology and Conventional Approaches*, UK : Alpha Science Internasional
- Dwiyani R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Denpasar Barat (ID): Pelawan Sari "Percetakan & Penerbit"
- Harsanti L & Yulidar Y. 2015. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan awal tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) varietas denna 1. Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah - Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir, Yogyakarta (ID): Pusat Sains dan Teknologi Akselerator (PSTA) Badan Tenaga Nuklir Nasional
- Hemon F. 2009. Induksi mutasi dengan iradiasi sinar gamma dan seleksi in vitro untuk mendapatkan embrio somatik kacang tanah yang toleran polietilena glikol. *Jurnal Agrotropika*. 14(2):67-72.
- Havidzati N, Karti PDMH & Prihantoro I. 2017. Morphology response of alfalfa (*Medicago sativa* L.) based on level gamma ray irradiation with tissue culture methods. The 7TH Annual Basic Science International Conference, Malang (ID) : Faculty of Science, Universitas Brawijaya
- Hutami S. 2008. Masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 4(3):83-88.
- Jardine KJ, Chambers JQ, Holm J, Jardine AB, Fontes CG, Zorzanelli RF & Manzi AO. 2015. Green leaf volatile emissions during high temperature and drought stress in a central amazon rainforest. *Plants*. 4(3):678-690.
- Liu X, Fan Y, Long J, Wei R, Kjellgren R, Gong C & Zhao J. 2013. Effects of soil water and nitrogen availability on photosynthesis and water use efficiency of Robinia pseudoacacia seedlings. *Journal of Environmental Sciences*. 25(3):585-595.
- Maslukah R, Yulianti F, Roviq M & Maghfoer MD. 2019. Pengaruh polyethylene glycol (peg) terhadap hardening planlet apel (*Malus sp.*) akibat hiperhidrisitas secara in vitro. *Jurnal of Agricultural Science*. 4(1):30-38.
- Meliala JHS, Basuki N & Soegianto A. 2016. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap perubahan fenotipik tanaman padi gogo (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 4(7):585-594.
- Putnam DH & Orloff SB. 2014. *Forage Crops in Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. volume 3. California (USA) : Elsevier Inc.
- Radovic J, Sokolovic D & Markovic J. 2009. Alfalfa-most important perennial forage legume in animal husbandry. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 8(5):321-336.
- Rosawanti P. 2016. Pertumbuhan akar kedelai pada cekaman kekeringan. *Jurnal Ilmiah Pertanian dan Kehutanan*. 3(1):21-28.
- Sajimin. 2011. *Medicago sativa* L (alfalfa) sebagai tanaman pakan ternak harapan di Indonesia. *Wartazoa*. 2(21):91-98.
- Saking N & Qomariyah N. 2017. Identifikasi hijauan makanan ternak (hmt) lokal mendukung produktivitas sapi potong di sulawesi selatan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Bogor (ID): Badan Libang Pertanian
- Saragih SHY, K Rizal & Sitanggang KD. 2020. Induksi mutasi kara benguk (*Mucuna pruriens* L.) menggunakan iradiasi sinar gamma. *Agrosains*. 22(2):105-108.
- Subantoro R. 2009. Mengenal karakter mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Mediumgro*. 5(2):50-62.
- Sujinah A & Jamil. 2016. Mekanisme respon tanaman padi terhadap cekaman kekeringan dan varietas toleran. *Iptek Tanaman Pangan*. 11(1):1-8.
- Sutjahjo SH, Abdul K & Ika M. 2007. Efektivitas polietilena glikol sebagai bahan penyeleksi kalus nilam yang diiradiasi sinar gamma untuk toleransi terhadap cekaman kekeringan. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*. 9(1):48-57.
- Ulfa M, Zulkarnain & Rainiyati. 2018. Pengaruh pemberian poli etilen glikol (peg) konsentrasi subletal pada perkembangan kalus kedelai (*Glycine Max* L. Merrill) secara in vitro. [Artikel] Jambi (ID) : Universitas Jambi. (<http://repository.unja.ac.id/id/eprint/3278>)
- Wardhani MUD, Puspitaningtyas DM, Dinarti D. 2007. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan angrek brachypeza indusiata (Reichb. f) secara in vitro. *Buletin Kebun Raya Indonesia*. 10(2):53-59.
- Wardhani PCK, Suryawati A & Lagiman. 2018. Uji kekeringan terhadap viabilitas dan vigor benih beberapa varietas cabai (*Capsicum Annum* L.) dengan berbagai konsentrasi peg-6000 di fase perkecambahan dan pertumbuhan. *Agrivet*. 24(1):1-11