

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
HIBAH BERSAING LANJUTAN
TAHUN ANGGARAN 2011**



JUDUL PENELITIAN

**SELEKSI MUTAN IRADIASI SINAR GAMMA DALAM RANGKA
PERAKITAN KULTIVAR UNGGUL JAGUNG TENGGANG
KEMASAMAN**

PENELITI :

1. Dr. Ir. RUSTIKAWATI, M.Si
2. Ir. ATRA ROMEIDA, M.Si
3. Ir. EKO SUPRIYONO, M.P

**DIBIYAI OLEH DANA DIPA UNIVERSITAS BENGKULU
NOMOR : 0824/023-04.2.16/08/2011, Tanggal 20 DESEMBER 2011
SESUAI DENGAN SURAT PERJANJIAN
PELAKSANAAN PENELITIAN PEMBINAAN
NOMOR : 1714/H30.10.06.01/HK/2011, Tanggal 17 FEBRUARI 2011**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BENGKULU
TAHUN ANGGARAN 2011**



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS BENGKULU
LEMBAGA PENELITIAN**

Jalan W.R.Supratman, Kandang Limun Bengkulu 38371 A
Telp (0736) 21170, 342584 Faksimile (0736) 342584

SURAT KETERANGAN

Nomor: 781 /UN30.10/PL/2011

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Drs. Sarwit Sarwono, M.Hum.
NIP : 19581112 198603 1 002
Jabatan : Ketua Lembaga Penelitian
: Universitas Bengkulu

Dengan ini menerangkan bahwa :

NO	Nama	NIP	Jabatan	Fakultas
1	Dr.Ir. Rustikawati, M.Si	19650508 199001 2 001	Ketua Peneliti	Pertanian
2	Ir. Atra Romeida, M.Si	131839982	Anggota	Pertanian
3	Ir. Eko Supriyono, MP	131471170	Anggota	Pertanian

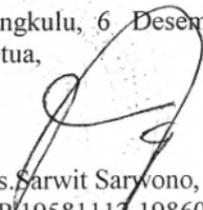
Benar-benar telah melaksanakan/mengadakan Penelitian **Hibah Bersaing Lanjutan** dengan judul : *"Seleksi Mutan Iradiasi Sinar Gamma Dalam Rangka Perakitan Kultivar Unggul Jagung Tenggang Kemasaman "*.

Jangka Waktu Penelitian : 8 (Delapan Bulan)

Hasil penelitian tersebut telah dikoreksi oleh Tim Pertimbangan Penelitian Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu dan memenuhi syarat.

Demikian surat keterangan kami buat dengan sebenar-benarnya dan dapat dipergunakan untuk keperluan yang bersangkutan sebagai tenaga edukatif

Bengkulu, 6 Desember 2011
Ketua,


Drs. Sarwit Sarwono, M.Hum.
NIP 19581112 198603 1 002

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR
HIBAH BERSAING

1. **Judul Usulan** : SELEKSI MUTAN IRADIASI SINAR GAMMA DALAM RANGKA PERAKITAN KULTIVAR UNGGUL JAGUNG TENGGANG KEMASAMAN
2. **Ketua Peneliti** :
- a. Nama Lengkap : Dr. Ir. Rustikawati, MSi.
 - b. Jenis Kelamin : P
 - c. NIP : 19650508 199001 2 001
 - d. Jabatan Fungsiona : Lektor
 - e. Jabatan Struktural : -
 - f. Bidang Keahlian : Pemuliaan Tanaman/ Bioteknologi
 - g. Fakultas/Jurusan : Fakultas Pertanian/ Budidaya Pertanian
 - h. Perguruan Tinggi : Universitas Bengkulu
 - i. Anggota Peneliti : 2 orang

No.	Nama dan Gelar	Bidang Keahlian	Jurusan/Fakultas
1.	Ir. Atra Romeida, MSi.	Fisiologi Tanaman	Budidaya Pertanian/Faperta
2.	Ir. Eko Supriyono, MS	Ekologi Tanaman	Budidaya Pertanian/Faperta

2. **Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian**

- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 3 (tiga) tahun
- b. Biaya yang diusulkan tahun 2011 : Rp 50 000 000,-
- c. Biaya yang disetujui tahun 2011 : Rp 50 000 000,-

Bengkulu, 14 November 2011

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian UNIB

Ketua Peneliti



Prof. Dr. I. Yuwana, M.Sc.
NIP: 1951210 1986031 003

Dr. Ir. Rustikawati, MSi
NIP: 19650101 198903 2 002



Mengetahui
Kepala Lembaga Penelitian UNIB

Drs. Sarwit Sarwono/ M. Hum
NIP: 19581112 1986031 002

RINGKASAN

Produksi jagung nasional hingga saat ini belum dapat memenuhi kebutuhan dalam negeri sehingga Indonesia masih mengimpor jagung dalam jumlah yang cukup besar. Dalam rangka mencapai swa sembada jagung di masa mendatang, maka upaya-upaya peningkatan produktivitas dan pemanfaatan lahan-lahan marginal perlu terus digalakkan. Kondisi masam dan keracunan Al merupakan stres abiotik yang selalu dijumpai pada tanah-tanah marginal, dimana pada tanah tersebut ekstensifikasi penanaman jagung dilakukan. Tujuan jangka panjang dari rangkaian penelitian yang dilakukan adalah untuk merakit kultivar jagung unggul berdaya hasil tinggi dan toleran terhadap kemasaman secara konvensional.

Berbagai tahapan penelitian yang telah dilakukan dalam Hibah Bersaing ini dirinci dalam 3 tahun penelitian. **Tahun I (2009):** Seleksi dan pembuatan populasi mutan sampai generasi ke-4, dan optimasi metode analisis molekuler dan seleksi primer RAPD untuk tanaman jagung. **Tahun II (2010):** Seleksi dan pembuatan populasi mutan sampai generasi ke-6 dan analisis mutan S6 secara morfologi dan molekuler (RAPD), **Tahun III (2011):** Perakitan kultivar hibrida, yang meliputi kegiatan (1) uji daya gabung umum dan daya gabung khusus galur tenggang masam, (2) Perakitan hibrida produksi tinggi sekaligus tenggang masam dan (3) uji lapang hibrida. Pada akhir tahun ketiga luaran yang ditargetkan adalah hibrida harapan jagung unggul tenggang kemasaman dan produksi tinggi. Selain itu juga dihasilkan publikasi ilmiah pada jurnal nasional terakreditasi.

Hasil penelitian yang telah diperoleh dalam Hibah Bersaing ini adalah:

Tahun I (2009)

- Peneliti telah melakukan seleksi mutan generasi ke-3 dan melakukan selfing S3 diperoleh 48 genotipe hasil seleksi pedigree
- Peneliti melanjutkan selfing S4 pada tanah masam dan diperoleh 15 genotipe hasil seleksi indeks untuk dilanjutkan pada tahap berikutnya.
- Peneliti telah melakukan optimasi teknik RAPD untuk tanaman jagung. Hasil seleksi primer RAPD yang dapat mengamplifikasi DNA jagung adalah 15 primer dari 4 operon teknologis.

Tahun II

- Peneliti telah memperoleh 6 galur mutan generasi ke-5 hasil seleksi family dan selfing S4 pada tanah masam
- Peneliti telah mendapatkan 6 galur mutan S6 dan deskripsi galur S6
- Peneliti telah berhasil mendeteksi adanya mutasi DNA pada satu atau dua lokus dengan penanda molekuler RAPD

Tahun III

- Peneliti telah menguji daya gabung umum dan daya gabung khusus pasangan hibrida
- Peneliti telah melakukan uji lapang pendahuluan hibrida dan diperoleh 6 hibrida harapan produksi tinggi dan toleran kemasaman

SUMMARY

Maize national production until recently has yet to fulfill domestic needs so that Indonesia is still importing a large number of maize. To achieve self providing maize in the future, efforts to increase productivity and to use marginal land have to be enforced. Acidity and Al toxicity are abiotic stress faced on marginal land, where maize extensification takes place. The final objective of this research is to develop superior high yielding and acidity tolerance maize cultivars through conventional breeding.

Steps of the research which was and will be conducted in this 'Hibah Bersaing' program is detailed in three consecutive year research. **Year I (2009):** Selection and mutant development up to the fourth generation, and optimizing molecular analysis protocols and RAPD primer selection for maize plant. **Year II (2010):** Selection and mutant population development up to the sixth generation and to analyze mutant S6 by morphological and molecular (RAPD) traits. **Year III (2011):** Development of hybrid cultivars, including (1) General and Specific combining ability study on acidity tolerance lines, (2) Development of high yielding and acidity tolerance hybrid cultivars, and (3) field test of hybrid developed. At the end of the three year research, the outcomes targeted will be prototypes of superior maize hybrid cultivars, high yielding and acidity tolerance. Besides that will be scientific articles publish on accredited national journal.

The result obtained in this 'Hibah Bersaing' research were:

Year I (2009)

- The researchers had done selection on the third mutant generation and selfing S3, and obtained 48 genotypes of pedigree selection.
- The researchers continued the selfing S4 on acid soil and obtained 15 genotypes through index selection carried on further generation.
- The researchers had done optimizing RAPD technique protocol for maize plant. RAPD primers selection resulted in 15 primers of 4 operon technologies which could amplify maize DNA genome.

Year II (2010)

- The researchers have obtained 6 lines of the fifth mutant generation as a result of family selection and S4 selfing on acid land.
- The researchers have obtained 6 lines of S6 mutant and description of the lines.
- The researchers have detected DNA mutation at one or two loci by RAPD markers.

Year III 2011)

- The researchers had done general combining ability and specific combining ability study from hybrids
- The researchers had done preliminary field test hybrids and obtain 6 superior maize hybrid cultivars with high yielding and acidity tolerance.

PRAKATA

Penulis panjatkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT, yang hanya atas berkat dan rahmat-Nya laporan akhir Penelitian Hibah Bersaing tahun ke III yang berjudul **Seleksi mutan iradiasi sinar gamma dalam rangka perakitan kultivar unggul jagung tenggang kemasaman** dapat diselesaikan.

Penelitian ini merupakan bagian dari *root map* penelitian yang bertujuan untuk merakit kultivar jagung unggul berdaya hasil tinggi dan toleran terhadap kemasaman secara konvensional. Kegiatan penelitian telah dimulai sejak tahun 2007. Penelitian yang diusulkan melalui Hibah Bersaing ini secara garis besar adalah pembentukan galur S3 sampai S6 dan perakitan hibrida dari galur S6. Pada akhir tahun ketiga ini telah diperoleh enam hibrida harapan produks tinggi dan toleran kemasaman.

Penelitian ini terselenggara berkat bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis dan seluruh tim peneliti mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Dirjen Dikti, melalui program penelitian Hibah Bersaing DIPA UNIB, yang telah memberikan pendanaan dalam penelitian ini.
2. Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.
3. Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu.
4. Laboratorium Seluler dan Molekuler Depart. Agrohort Faperta IPB.
5. Laboratorium Agronomi, Faperta Universitas Bengkulu
6. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan yang telah banyak memberikan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

Akhirnya penulis sangat berharap penelitian ini dapat selesai sampai diperoleh hibrida unggul sehingga dapat bermanfaat bagi negara, institusi, dan masyarakat petani pada umumnya.

Bengkulu, 15 November 2011

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. KAJIAN PUSTAKA.....	4
2.1. Mutasi dalam Pemuliaan Tanaman.....	4
2.2. Keragaman dan Seleksi Tanaman ke arah Ketenggangan terhadap Keracunan Aluminium.....	6
2.3. Efek Iradiasi Sinar Gamma.....	7
2.4. Analisis Keragaman Genetik dengan RAPD.....	10
2.5. Pembentukan Hibrida.....	12
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	14
3.1. Tujuan Penelitian.....	14
3.2. Manfaat Penelitian.....	14
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	17
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
5.1. Seleksi lapang mutan generasi M3 ke arah ketenggangan terhadap kemasaman tanah.....	20
5.2. Seleksi lapang mutan generasi M4 ke arah ketenggangan terhadap kemasaman tanah.....	28
5.3. Seleksi primer RAPD untuk tanaman jagung.....	37
5.4. Seleksi mutan generasi S5 hasil iradiasi sinar gamma pada tanah PMK.....	37
5.5. Karakterisasi morfologi mutan generasi S6 hasil iradiasi sinar gamma.....	42
5.6. Identifikasi mutan berdasarkan penanda RAPD.....	47
5.7. Uji daya gabung umum dan daya gabung khusus mutan S6.....	51
5.8. Uji lapang hibrida-hibrida harapan pada tanah masam.....	61
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	69
Kesimpulan.....	69
Saran.....	69
DAFTAR PUSTAKA.....	70
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Induksi mutasi pada Sorgum dengan Sinar Gamma.....	10
Gambar 2. Skema bagan alir perakitan kultivar hibrida jagung.....	18
Gambar 3. Kondisi pertumbuhan tanaman S3 pada 15 HST (kiri atas) dan 50 HST saat mulai penyungkupan bunga jantan.....	22
Gambar 4. Visualisasi mutan jagung generasi M3 hasil iradiasi sinar gamma.....	27
Gambar 5. Visualisasi mutan jagung generasi M4 hasil iradiasi sinar gamma Kiri: saat tanam, Kanan: saat 6 MST	29
Gambar 6. Visualisasi mutan jagung generasi M4 hasil iradiasi sinar gamma saat pembungkusan bunga betina	33
Gambar 7. Hasil amplifikasi pada jagung galur G1 dan G7 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19	49
Gambar 8. Hasil amplifikasi pada jagung galur G8 dan G9 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19	49
Gambar 9. Kondisi pertanaman uji daya gabung pada umur 5 MST	58
Gambar 10. Tetua G8 (kiri), hibrida 8X1(tengah) dan tetua G1(kanan) pada umur 7 MST	58
Gambar 11. Hibrida G6XG1 (kiri) dan hibrida G7XG6 pada umur 7 MST	67
Gambar 12. Hibrida G8XG1 (kiri) dan hibrida pembanding Nusantara 1 pada umur 7 MST	67

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Sasaran, luaran dan indikator capaian kegiatan penelitian selama 3 tahun.....	19
Tabel 2.	Nilai rata-rata dari beberapa parameter vegetatif dan produksi mutan M4.....	29
Tabel 3.	Nilai ragam dari beberapa parameter vegetatif dan produksi mutan M4.....	32
Tabel 4.	Nilai koefisien keragaman dari beberapa parameter vegetative dan produksi mutan M4.....	33
Tabel 5.	Urutan basa primer yang dapat mengamplifikasi DNA jagung dan jumlah pita yang dihasilkan.....	37
Tabel 6.	Rata-rata (m) dan varian (v) yang distandarisasi terhadap peubah tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun.....	39
Tabel 7.	Rata-rata (m) dan varian (v) yang distandarisasi terhadap panjang tongkol, panjang baris biji, diameter tongkol, jumlah baris biji dan jumlah baris per biji.....	40
Tabel 8.	Rata-rata (m) dan varian (v) yang distandarisasi terhadap jumlah biji per tongkol, bobot biji per tongkol dan nilai indeks dari semua peubah yang diamati.....	41
Tabel 9.	Polimorfisme pola pita RAPD pada DNA mutan irradiasi sinar gamma dan tetua asal.....	50
Tabel 10.	Rata-rata tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun tetua dan persilangannya.....	50
Tabel 11.	Daya gabung umum dan daya gabng khusus parameter vegetatif.....	50
Tabel 12.	Rata-rata tinggi tanaman, diameter batang, umur berbunga dan jumlah daun.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Instrumen Pnelitian.....	74
Lampiran 2.	Personalia Tenaga Peneliti.....	74
Lampiran 3.	Seleksi indeks berdasarkan karakter vegetatif dan generatif.....	75

BAB I. PENDAHULUAN

Jagung merupakan salah satu komoditas strategis yang ekonomis dan berpeluang untuk dikembangkan menjadi bahan baku produksi lain. Jagung juga termasuk sumber utama karbohidrat dan protein, setelah beras. Jagung juga merupakan salah satu bahan baku industri pakan ternak yang paling banyak dibutuhkan akhir-akhir ini. Pada tahun-tahun mendatang kebutuhan akan jagung terus meningkat sejalan dengan meningkatnya laju pertumbuhan penduduk dan meningkatnya kebutuhan pakan ternak.

Perkembangan produksi jagung di Indonesia selama lima tahun terakhir mengalami peningkatan yang cukup berarti. Produksi jagung nasional tahun 2008 sebesar 16,32 juta ton pipilan kering. Pada tahun 2009, produksi naik menjadi 17,66 juta ton (BPS, 2010). Kenaikan produksi jagung terutama disebabkan oleh kenaikan produktivitas dengan adanya perubahan varietas yang ditanam petani dari varietas lokal ke varietas komposit atau hibrida. Sayangnya Hampir semua hibrida yang ditanam petani berasal dari benih impor yang harganya mahal dan seringkali terbatas ketersediaannya.

Disamping kenaikan produktivitas, peningkatan produksi juga dapat dilakukan dengan perluasan areal tanam. Pada tahun 2005 luas areal yang ditanami jagung seluas sekitar 3,2 juta hektar. Dengan luas lahan kering yang cukup besar, maka sebenarnya Indonesia berpotensi sebagai negara produsen jagung dunia. Oleh karena itu, gerakan nasional peningkatan produksi jagung yang digelar pemerintah perlu didukung semua pihak. Indonesia segera keluar dari ketergantungan impor jagung, dan berbalik menjadi negara pengekspor jagung dunia.

Dalam rangka mencapai swa sembada jagung di masa mendatang, maka upaya-upaya peningkatan produktivitas dan pemanfaatan lahan-lahan marginal perlu terus digalakkan. Perlu terobosan untuk menciptakan hibrida baru yang berasal dari plasma nutfah yang ada sehingga petani tidak perlu mengeluarkan biaya tinggi untuk membeli benih impor. Dalam hal perluasan areal pada lahan marginal, masalah umum yang dijumpai antara lain adalah tanah yang bereaksi masam, tingkat erosi dan pencucian hara

tinggi sehingga ketersediaan unsur Ca, Mg, P, K, dan N rendah serta ketersediaan Al sangat tinggi yang cenderung bersifat racun bagi tanaman.

Upaya untuk mengatasi masalah lahan marginal dapat dilakukan dengan memperbaiki sifat fisik kimia tanah melalui pengapuran dan pemupukan P dosis tinggi serta penggunaan kultivar toleran (tenggang) masam. Kedua pendekatan tersebut telah dilakukan oleh pemerintah sejalan dengan pengembangan program transmigrasi. Namun demikian belum menunjukkan hasil yang memuaskan. Manipulasi sifat fisik kimia tanah melalui pengapuran dan pemupukan dosis tinggi adalah upaya yang sangat mahal dan bersifat sementara sehingga usaha tani menjadi tidak ekonomis dan tidak mungkin dilakukan oleh petani secara swadaya. Sedangkan upaya penggunaan kultivar toleran masam hingga saat ini masih terkendala oleh terbatasnya ketersediaan kultivar jagung unggul berdaya hasil tinggi dan toleran masam. Oleh karena itu, mengingat upaya manipulasi sifat fisik kimia tanah tidak memungkinkan dilakukan dalam skala luas, maka perakitan kultivar unggul tenggang tanah masam sangat diperlukan karena merupakan alternatif yang paling mungkin dilakukan. Kultivar jagung unggul dan tenggang kemasaman adalah kultivar jagung yang secara genetik mampu berproduksi tinggi pada lahan masam.

Varietas unggul dapat dirakit melalui mutasi induksi (fisik) untuk mendapatkan mutan yang diinginkan. Mutan yang diinginkan adalah mutan yang baru dan unggul, yang berasal dari tetua yang sudah beradaptasi dengan baik di Indonesia. Pada tanaman sorgum Induksi mutasi fisik dengan iradiasi sinar gamma telah berhasil meningkatkan keragaman genetik tanaman dengan meradiasi benih (seeds) atau embrio (plantlets).

Kegiatan penelitian Hibah Bersaing ini merupakan salah satu rangkaian kegiatan untuk mendapatkan galur unggul jagung tenggang kemasaman yang diperlukan untuk merakit kultivar unggul berdaya hasil tinggi dan tenggang terhadap kemasaman.

Kegiatan penelitian pada tanaman jagung telah banyak dilakukan peneliti. Pada penelitian sebelumnya, peneliti telah memperoleh beberapa hasil yang dapat memberi keyakinan bahwa rangkaian kegiatan dalam Hibah Bersaing ini akan dapat diselesaikan. Hasil beberapa kegiatan pendahuluan tersebut adalah:

1. Peneliti telah berhasil memperoleh dosis irradiasi sinar gamma yang menyebabkan 50% populasi mati (LD50) yang selanjutnya digunakan sebagai dosis radiasi untuk mendapatkan mutan
2. Peneliti telah berhasil melakukan mutasi pada 10 galur murni jagung dengan dosis radiasi 275 Gy
3. Peneliti telah berhasil mendapatkan mutan generasi ke-1 yang menunjukkan peningkatan keragaman genetik jagung.
4. Peneliti telah berhasil mendapatkan mutan generasi ke-2 melalui selfing (S2) yang selanjutnya akan digunakan sebagai bahan dalam penelitian Hibah Bersaing ini
5. Dalam hal analisis molekuler, peneliti telah berhasil menepatkan marker RAPD untuk ketahanan terhadap virus pada tanaman cabai

Pada **Tahun I** penelitian Hibah Bersaing (2009), peneliti telah berhasil menyelesaikan serangkaian percobaan lanjutan meliputi:

1. Peneliti telah melakukan seleksi mutan generasi ke-3 dan melakukan selfing S3 diperoleh 48 genotipe hasil seleksi pedigree
2. Peneliti melanjutkan selfing S4 pada tanah masam dan diperoleh 15 genotipe hasil seleksi indeks untuk dilanjutkan pada tahap berikutnya
3. Peneliti telah melakukan optimasi teknik RAPD untuk tanaman jagung. Hasil seleksi primer RAPD yang dapat mengamplifikasi DNA jagung adalah 15 primer dari 4 operon teknologis

Pada **Tahun II** penelitian Hibah Bersaing (2010), telah diselesaikan penelitian lanjutan meliputi:

4. Peneliti telah memperoleh 6 galur mutan generasi ke-5 hasil seleksi family dan selfing S4 pada tanah masam
5. Peneliti telah mendapatkan 6 galur mutan S6 yang telah memiliki tingkat kemurnian > 99%
6. Peneliti telah berhasil mendeteksi adanya mutasi DNA pada satu atau dua lokus dengan penanda molekuler RAPD.

Pada Tahun III penelitian Hibah Bersaing (2011), telah diselesaikan penelitian lanjutan meliputi:

7. Peneliti telah menguji daya gabung umm dan daya gabng khusus pasangan hibrida
8. Peneliti telah melakukan uji lapang pendahuluan hibrida dan diperoleh 6 hibrida harapan produksi tinggi dan toleran kemasaman

BAB II. KAJIAN PUSTAKA

2.1. Mutasi dalam Pemuliaan Tanaman

Mutasi adalah perubahan genetik baik gen tunggal, sejumlah gen ataupun susunan kromosom, dapat terjadi pada setiap bagian tanaman terutama bagian yang aktif melakukan pembelahan sel (Micke dan Donini, 1993). Secara luas mutasi dihasilkan oleh segala macam tipe perubahan genetik yang mengakibatkan perubahan penampakan fenotipe yang diturunkan, termasuk keragaman kromosom maupun mutasi gen (Ahloowalia *et al*, 2004). Mutasi juga dapat disebut sebagai perubahan materi genetik pada tingkat genom, kromosom dan DNA atau gen sehingga menyebabkan terjadinya keragaman genetik (Soeranto, 2003). Mutasi dapat terjadi secara tiba-tiba dan acak, dan merupakan dasar sebagai sumber keragaman bagi tanaman dan bersifat terwariskan (heritance). Mutasi dapat terjadi secara spontan di alam (spontaneous mutation) dan dapat terjadi melalui induksi (induced mutation) (Koonneef, 1991). Secara mendasar tidak terdapat perbedaan antara mutasi yang terjadi secara alami dan mutasi hasil induksi. Keduanya dapat menimbulkan variasi genetik untuk dijadikan dasar seleksi tanaman (Soeranto, 2003).

Mutasi induksi dapat dilakukan pada tanaman dengan perlakuan bahan mutagen tertentu terhadap organ reproduksi tanaman seperti biji, stek batang, serbuk sari, akar rizome, kalus dan sebagainya (Soeranto, 2003). Mutagen yang sering digunakan dalam pemuliaan tanaman yaitu mutagen kimia dan mutagen fisik (Koonneef, 1991; Micke dan Donini, 1993). Frekuensi dan spektrum mutasi tergantung dari jenis mutagen dan dosis yang digunakan. Mutagen fisik yang telah luas penggunaannya adalah sinar-X dan sinar

gamma, keduanya mempunyai penetrasi yang baik, bersifat sebagai radiasi pengion (ionizing radiation) (Micke dan Donini, 1993). Sedangkan mutagen kimia pada umumnya berasal dari senyawa alkyl seperti ethyl methane sulphonat (EMS), diethyl sulphate (dES), metthyl metane sulphonat (MMS), hydroxylamine, nitrous acids dan sebagainya (Soeranto, 2003).

Mutasi induksi menggunakan radiasi sinar-X dan sinar gamma paling banyak penggunaannya sebagai metode untuk mengembangkan varietas mutan. Hal ini terlihat dari 2.250 varietas mutan yang dilepas di seluruh dunia dalam kurun waktu 70 tahun terakhir (Maluszyński *et al*, 2000), 89 % dari 1.585 varietas yang dilepas sejak tahun 1985 adalah dikembangkan dari induksi mutasi secara langsung, 64 % diantaranya adalah dikembangkan dengan menggunakan sinar gamma, sedangkan penggunaan sinar-X hanya 22 %. (Ahloowalia *et al*, 2004).

Secara relatif, proses mutasi dapat menimbulkan perubahan pada sifat-sifat genetik tanaman baik kearah positif maupun negatif, dan kemungkinan mutasi yang terjadi dapat juga kembali normal (recovery). Mutasi yang terjadi ke arah sifat positif dan terwariskan ke generasi berikutnya merupakan mutasi yang dikehendaki oleh pemulia tanaman pada umumnya (Soeranto, 2003). Mutasi induksi dapat memperluas variabilitas genetik tanaman. Teknik mutasi induksi pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif lebih efektif karena dapat mengubah satu atau beberapa karakter tanpa mengubah karakteristik kultivar asalnya (Nagatomi, 1996).

Mutasi dapat dibedakan atas, mutasi genom, mutasi kromosom dan mutasi gen. Mutasi genom dapat diakibatkan oleh perubahan jumlah set kromosom baik penambahan maupun pengurangan jumlah set kromosom. Poliploid pada tanaman mencerminkan adanya penambahan satu set kromosom atau lebih. Perubahan jumlah kromosom dapat dibedakan menjadi euploid dan aneuploid (Suzuki, *et al*. 1993). Mutasi kromosom dapat terjadi akibat pecahnya benang kromosom, meliputi 4 kelompok yaitu translokasi (translocations), inversi (inversion), duplikasi (duplication), defesien (deficiens) (Soeranto, 2003)

Mutasi gen terjadi karena perubahan pada struktur primer dari DNA. Mutasi gen dapat terjadi karena substitusi, tambahan ataupun hilangnya satu atau lebih basa-basa di dalam sebuah molekul DNA (Micke dan Donini, 1993; Van Harten, 1998). Smith dan Wood (1991) mendefinisikan mutasi gen adalah perubahan sekuen nukleotida pada gen yang menghasilkan perubahan asam amino dan produk protein mutan. Mutasi gen juga didefinisikan sebagai perubahan satu bentuk alel menjadi bentuk alel lainnya. Perubahan tersebut terjadi dalam satu gen pada satu lokus kromosom atau disebut juga mutasi titik (Zusuki et al, 1993).

Mutasi gen digolongkan ke dalam dua kategori, yaitu *microlesions* dan *macrolesions*, yang dicirikan oleh adanya perubahan basa pada DNA (Van Harten, 1998). Menurut Zusuki et al (1993) ada empat tipe perubahan basa (1) transisi, yaitu penggantian satu basa purin dengan satu purin atau penggantian satu basa pirimidin dengan pirimidin, (2) transversi, yaitu penggantian satu basa pirimidin oleh basa purin atau sebaliknya, (3) delesi, yaitu pasangan basa tertentu menghilang sehingga terjadi susunan nucleotida yang berbeda (4) dan inversi pasangan basa, yaitu terjadi perubahan orientasi susunan pasangan basa. DNA sangat sensitif terhadap radiasi, sehingga radiasi sinar gamma dapat menyebabkan perubahan DNA pada makhluk hidup (Van Harten, 1998).

2.2. Keragaman dan Seleksi Tanaman ke arah Ketenggangan terhadap Keracunan Aluminium

Devine (1982) menyatakan bahwa salah satu prasyarat untuk melakukan perbaikan genetik adalah tersedianya keragaman genetik untuk ciri yang dikehendaki. Keragaman itu dapat berasal dari varietas budidaya, spesies liar atau dari spesies lain yang berdekatan.

Adanya keragaman genetik untuk karakter ketenggangan terhadap keracunan aluminium dan pH rendah pada berbagai tanaman telah ditemukan sejak lama. Wright dan Ferrari (1976) menemukan adanya perbedaan tanggap tanaman terhadap kelarutan ion aluminium tinggi dan kondisi pH tanah rendah pada tanaman sereal seperti :

barley, gandum, rye, triticale, padi, jagung, sorghum, millet dan outs serta tanaman legum seperti: kedelai dan alfalfa.

Upaya untuk menyaring atau menyeleksi jenis-jenis tanaman tenggang Al dan pH rendah tersebut dari alam sudah dilakukan oleh banyak peneliti. Demikian pula upaya untuk mengetahui pola pewarisannya secara genetik sudah dipelajari. Foy et al. (1965) menguji daya ketenggangan 227 varietas gandum terhadap keracunan Al dan mendapatkan tanggap yang beragam antar varietas. Diduga ketenggangan tanaman gandum tersebut terhadap keracunan Al dikendalikan oleh satu atau dua gen utama (nurjor gene) dan beberapa gen peubah (modifier gene) yang pola pewarisannya tidak sederhana. Van Essen dan Dantuma (1962) mendapatkan sebanyak 61 varietas tanaman barley yang tenggang terhadap kondisi pH tanah rendah dari 670 varietas yang diseleksi.

Pada tanaman jagung Lutz et al. (1971) menguji sejumlah galur inbred (inbred line) dan hibrida silang tunggal pada tanah sangat masam (pH = 3.9). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tinggi tanaman dan produktivitasnya sangat beragam diantara galur-galur yang diuji. Berdasarkan hasil studi Gorsline et al. (1964 dan 1968) ditegaskan bahwa perbedaan tanggap tanaman tersebut bersifat genetik dan dikendalikan oleh paling sedikit dua gen utama dan satu atau lebih gen pendamping (minor gene). Dengan demikian, potensi genetik di alam untuk menyeleksi tanaman-tanaman yang tenggang terhadap keracunan Al relatif tersedia cukup besar, walaupun seringkali terkait dengan tingkat kemampuan produksi dan kualitas hasil yang kurang memuaskan, sehingga diperlukan suatu strategi pemuliaan yang mampu mematahkan kaitan gen tersebut serta mendorong rekombinasi baru yang menguntungkan (Hallauer, 1981).

2.3. Efek Iradiasi Sinar Gamma

Iradiasi dapat menyebabkan perubahan genetik di dalam sel somatik (mutasi somatik), dapat diturunkan dan dapat menyebabkan terjadinya perubahan fenotip. Perubahan tersebut dapat terjadi secara lokal pada tingkat sel atau kelompok sel sehingga individu dapat menjadi kimera (Ismachin, 1988). Irradiasi dapat menginduksi perubahan struktur kromosom yaitu terjadi pematihan kromosom. Pada dosis yang

rendah dapat menyebabkan terjadinya delesi, semakin tinggi dosis akan menimbulkan duplikasi, inversi dan translokasi.

Radiasi sinar gamma sering digunakan dalam usaha pemuliaan tanaman karena dapat meningkatkan variabilitas, sehingga dapat menghasilkan mutan baru (Wattimena, 1992; Zottini et al, 1997). Untuk tujuan tertentu, misalnya menciptakan variabilitas baru, adanya mutagenik akibat iradiasi gamma, penyinaran dengan sinar UV, perlakuan mutagen kimiawi seperti ethylmethane sulphonate (EMS) dan nitroso guanidine dapat digunakan bersama-sama kultur in vitro untuk meningkatkan frekuensi munculnya tanaman mutan akibat variasi somaklonal (Kulsoca et al. 1997).

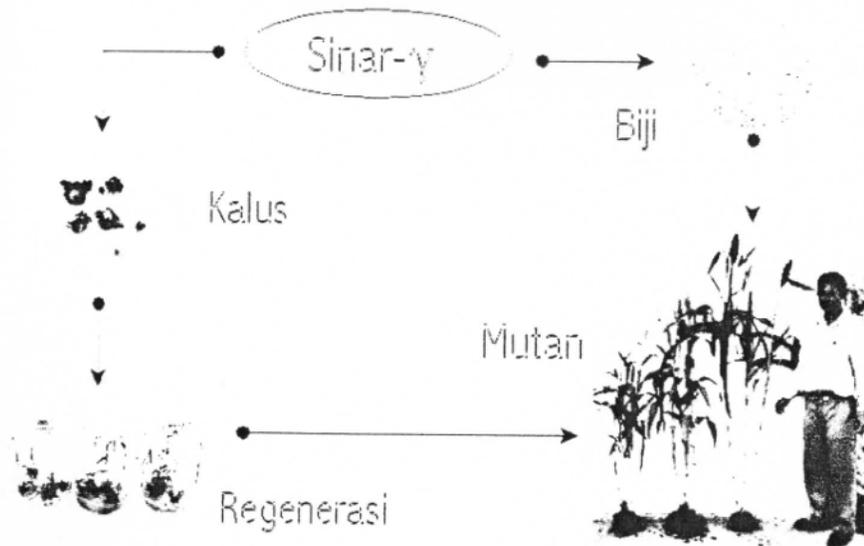
Respon tanaman terhadap efek iradiasi gamma, selain jenis kultur yang digunakan juga tergantung dari laju dosis iradiasi yang digunakan. Laju dosis iradiasi adalah jumlah dosis terserap per satuan waktu (rad per detik atau Gy perdetik). Satuan sinar radiasi adalah Gray (Gy) atau rad. $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg per gram} = 10 \text{ joule per kg}$. $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad} = 0,1 \text{ krad}$. Alat yang digunakan untuk mengukur besarnya dosis radiasi adalah dosimeter. Dosimeter yang umum digunakan adalah "Fricke" yaitu mampu mengukur dosis sinar gamma antara 40 – 400 Gy. Pengukuran diluar selang dosis tersebut dilakukan kalibrasi (Ismachin, 1988).

Beberapa hasil penelitian penggunaan iradiasi sinar gamma menyebutkan bahwa iradiasi sinar gamma pada dosis rendah dapat menginduksi perubahan secara fisiologi dan biokimia (Berezina dan Kaushankii, 1989), menghasilkan pertumbuhan vegetatif yang lebih cepat dan pembungaan lebih awal (Al-Qudat, 1990). Iradiasi sinar pada dosis rendah pada kultur jaringan meningkatkan bobot kalus tanaman jeruk dan wortel (Al-Safadi dan Simon, 1996). Charbaji dan Nabulsi (1999), melaporkan bahwa penggunaan dosis 5 Gray (Gy) memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol pada bobot kering tanaman anggur secara in vitro.

Hasil penelitian Mariska et al (1997), telah diperoleh 23 varian tanaman nilam hasil iradiasi gamma dengan menggunakan dosis 0,0; 1,0; 1,5 dan 2,0 pada kalus yang mengalami sub kultur yang lama, tiga klon diantaranya mempunyai kandungan minyak yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hasil penelitian Edi (2004),

memperoleh 5 genotipe padi yang toleran terhadap Al tinggi dan pH rendah yang diradiasi dengan dosis letal 1,5 krad. Hasil radiasi pada tanaman anggerek pada dosis 31,88 Gy (3,188 krad) merupakan LD50 berdasarkan prosentase tumbuh stek (Sukandari et al 1999). Roux et al (1994) melaporkan bahwa penggunaan dosis sinar gamma 35 Gy mampu menginduksi mutasi pisang klon GN-60A menghasilkan 50 % tanaman hidup. Pada tanaman hias, Aisyah (2006) juga mendapatkan mutan anyelir yang stabil dengan cara meradiasi planlet menggunakan sinar gamma.

Penelitian perbaikan varietas tanaman sorgum melalui pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi telah dilakukan Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi - Badan Tenaga Nuklir Nasional (P3TIR-BATAN). Tujuan penelitian adalah memperbaiki sifat agronomi dan kualitas produk sorgum (biji dan hijauan) untuk dikembangkan sebagai sumber bahan pangan dan pakan ternak alternatif di daerah kering khususnya selama musim kemarau. Induksi mutasi untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman dilakukan dengan meradiasi benih (seeds) atau embrio (plantlets) (Gambar 1) dengan sinar Gamma bersumber dari Cobalt-60 yang terpasang pada alat Gamma Chamber model 4000A. Seleksi tanaman dilakukan mulai generasi kedua (M2) setelah perlakuan radiasi, dan dilanjutkan pada generasi-generasi berikutnya, yaitu dengan memilih tanaman mutan yang menunjukkan sifat agronomi unggul dibanding kontrol, samapai diperoleh tanaman yang homosigot. Selanjutnya, galur mutan unggul diuji daya hasilnya pada daerah kering seperti di Kabupaten Gunung Kidul, Daerah Istimewa Yogyakarta pada musim kemarau. Dalam pengujian galur-galur mutan tersebut P3TIR-BATAN bekerjasama dengan Pemerintah Daerah dan Perguruan Tinggi setempat (www.batan.go.id/patir/berita/pertanian/sorgum). Teknik yang sama diharapkan dapat juga diterapkan pada tanaman jagung untuk mendapatkan keragaman mutan.



Gambar 1. Induksi mutasi pada Sorgum dengan Sinar Gamma

2.4. Analisis Keragaman Genetik dengan RAPD

Penanda molekuler mempunyai potensi yang sangat luas untuk memperbaiki efisiensi program pemuliaan tanaman. Dengan menggunakan penanda molekuler, lokasi gen yang tepat pada kromosom dapat ditentukan. Kelebihan utama dari pemuliaan molekuler dibandingkan dengan seleksi konvensional adalah bahwa seleksi dapat dilakukan pada tanaman yang masih muda, ketika vegetatif tanaman telah cukup untuk diekstraksi DNA. Jika sifat-sifat tanaman yang menjadi obyek penelitian dikendalikan oleh beberapa gen, peluang gen hilang selama proses pelaksanaan seleksi dapat dihindari sekecil mungkin. Melalui penyilangan dan penyeleksian tanaman dengan suatu sifat kuantitatif tunggal (Qtl) atau kombinasi spesifik Qtl (Qtls), stok gen dapat dikembangkan dimana pengaruh Qtl dan interaksinya dapat diteliti secara lebih akurat.

Teknik yang sangat penting dalam biologi molekuler adalah Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR adalah suatu teknik mengamplifikasi (multiplikasi) bagian spesifik dari molekul DNA (White *et al.*, 1989). Teknik PCR didasarkan pada sekuen pendek DNA (disebut Primers), dan mensintesis DNA komplemennya dengan bantuan enzim Taq-polimerase. Sintesis dilakukan sepanjang DNA yang dimulai dari primer yang telah

menempel (terhibridisasi/annealing). Dalam studi keterkaitan genetik, teknik PCR makin lama menggantikan teknik RFLP.

Teknik PCR yang pertama diaplikasikan adalah Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Dengan RAPD biasanya sekuen primer dipilih secara acak dengan panjang 8-10 nukleotida. Ini memungkinkan mengamplifikasi beberapa bagian genom DNA. Pemisahan bagian-bagian genom dilakukan melalui elektroforesis. Bagian-bagian genom akan berupa pita pada gel. Secara teknis proses analisis relatif sederhana dan murah dengan perolehan hasil yang lebih cepat dan DNA yang digunakan lebih sedikit. Namun penanda DNA yang digunakan biasanya dominan dan hasil analisis sering berubah tergantung kondisi reaksi (kurang reproduibel). RAPD telah berhasil diterapkan untuk menganalisis hubungan genetik sejumlah kelompok taksonomi.

Beberapa tahun terakhir penanda RAPD telah banyak digunakan sebagai alat dalam genetika dasar maupun aplikasinya. Penanda RAPD dihasilkan melalui proses amplifikasi DNA seperti halnya dalam melakukan PCR. Perbedaannya terletak pada penggunaan primer oligonukleotida (dengan panjang 10 basa) yang sekuennya dibuat secara acak. Genom hampir setiap organisme tersusun dari jutaan nukleotida, yang secara teoritis akan banyak yang sekuen DNANYa sama dengan sekuen dari random oligonukleotida primer. Jika genom tersebut dipakai sebagai templat untuk reaksi PCR, maka DNA genom yang sekuennya sama dengan sekuen random oligonukleotida primer yang orientasinya berlawanan arah (*inverted orientation*) dan yang hanya berjarak beberapa ratus atau ribu pasang basa antara satu dengan yang lain akan teramplifikasi. Berbagai ukuran potongan DNA hasil amplifikasi akan dapat dengan mudah dipisahkan berdasarkan ukurannya dengan menggunakan teknik elektroforesis dan hasilnya dapat dilihat sebagai pita-pita DNA dengan berbagai ukuran (Williams et al., 1990)

Penggunaan RAPD mampu menghasilkan potongan-potongan DNA hasil pelipatgandaan yang masing-masing potongan DNA dapat diperlukan sebagai karakter untuk keperluan analisis. Liu dan Furnier (1993) melaporkan bahwa penggunaan analisis RAPD selalu memperlihatkan keragaman yang lebih tinggi daripada isozym. Pada tomat, penanda RAPD berhasil diketahui terkait dengan gen pembawa sifat

ketahanan terhadap nematoda Mi (Klein-Lankhorst et al., 1991) . Penanda RAPD juga terkait dengan gen Fom 2 untuk sifat ketahanan pada fusarium pada muskmellon MR1 (Wechter et al., 1995). Pada tanaman cabai, teknik RAPD juga telah digunakan untuk menguji adanya polimorfisme intraspesifik (Prince et al., 1995).

Hambatan utama teknik RAPD adalah reliabilitasnya berkurang karena penggunaan primer randomnya pendek yang tidak sepenuhnya homolog dengan situs penempelan pada DNA, akibatnya teknik ini memerlukan suhu annealing PCR relatif rendah yang menyebabkan resiko amplifikasi yang tidak spesifik. Oleh karena itu untuk meningkatkan efisiensi analisis penanda, digunakan teknik baru yang disebut AFLP (Mansfield et al., 1994). Istilah AFLP digunakan untuk menerangkan amplicon polimorfik yang dihasilkan dengan primer arbitrary. Dalam istilah sederhananya, teknik AFLP adalah teknik penanda baru yang sangat baik dibandingkan yang lain. Teknik ini didasarkan pada amplifikasi PCR secara simultan dari banyak fragmen restriksi dan pendeteksiannya pada sekuensing gel. Penanda ini pertama kali digunakan untuk menduga jarak genetik pada galur-galur jagung (Smith, et al., 1994). Dewasa ini penanda ini juga banyak digunakan pada berbagai macam tanaman diantaranya kentang (Meksem et al., 1995), tomat (Thomas et al., 1995), barley (Becker, et al., 1995), beet (Schondelmaier, et al., 1996) dan kedelai (Powell, et al., 1996).

2.5. Pembentukan Hibrida

Potensi heterosis, yaitu hasil persilangan yang berdaya hasil melebihi daya hasil kedua tetuanya menjadi dasar pengembangan kultivar hibrida (Fehr, 1987). Penggunaan kultivar hibrida telah terbukti dapat meningkatkan daya hasil dari berbagai tanaman pangan, melebihi daya hasil dari kultivar tradisional yang umumnya digunakan petani. Penelitian untuk menghasilkan kultivar hibrida dan untuk memproduksi benih hibrida memang memerlukan biaya yang relatif lebih mahal, sehingga harga benih hibrida juga lebih mahal dibandingkan benih tradisional (lokal). Namun demikian dengan daya hasil yang jauh lebih baik, penggunaan benih hibrida yang lebih mahal masih sangat menguntungkan dan akan tetap menjadi pola pengembangan benih tanaman di masa yang akan datang. Selain itu, benih hibrida memberikan insentif ekonomi kepada

produsen benih karena dapat digunakan untuk melindungi varietas yang dikembangkan (breeder's right).

Untuk tanaman jagung, kultivar hibrida F1 yang ditanam petani memiliki karakteristik daya hasil tinggi tetapi pada umumnya tidak adaptif jika ditanam pada lahan marginal. Hal ini disebabkan karena tetua hibrida tidak dirancang tenggang terhadap kemasaman tanah. Kemungkinan lain karena sebagian besar ibrida jagung pengembangannya dilakukan di luar negeri, kultivar tersebut tidak adaptif terhadap kondisi marginal yang ada di Indonesia.

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan jangka panjang penelitian Hibah Bersaing yang diusulkan adalah menghasilkan kultivar hibrida jagung unggul berdaya hasil tinggi dan tenggang terhadap kemasaman tanah.

Kegiatan penelitian tahun kedua ini merupakan kegiatan penelitian yang mengembangkan berbagai hasil yang telah dicapai sebelumnya, dengan penekanan masalah pembentukan galur tenggang kemasaman dan perakitan hibrida. Dengan telah tersedianya populasi mutan generasi ke-4, serta tersedianya peralatan dan sumber daya manusia dengan bidang keahlian yang mendukung kegiatan penelitian, maka keberhasilan usulan kegiatan penelitian yang diajukan sangat besar. Selain itu, luaran hasil penelitian yang diharapkan juga berpotensi untuk membantu mengatasi masalah yang dihadapi dalam budidaya tanaman jagung di Indonesia sehingga akan sangat berguna bagi petani produsen jagung umumnya.

Penelitian Tahun III ini terdiri atas beberapa kegiatan dengan tujuan khusus masing-masing sebagai berikut

- Diperoleh informasi daya gabung umum dan daya gabung khusus setiap galur
- Diperoleh hibrida harapan berproduksi tinggi sekaligus tenggang terhadap kemasaman tanah

3.2. Manfaat Penelitian

Jagung selain sebagai sumber utama karbohidrat dan protein selain beras, juga merupakan bahan yang bisa dikembangkan menjadi produk baru pada industri pengolahan sehingga menjadi produk yang bernilai ekonomis cukup tinggi. Negara Indonesia sampai saat ini masih selalu mengimpor jagung dari negara lain. Pada tahun 2005 pemerintah mencanangkan program satu juta hektar lahan jagung untuk menuju

swa sembada jagung pada tahun 2000. Untuk mendukung program pemerintah tersebut, berbagai sektor yang berkaitan dengan produksi perlu diperhatikan. Menurut ketua Dewan Jagung Nasional usaha untuk mendorong budidaya jagung dalam rangka menuju swa sembada jagung, masih sulit dilakukan. Produksi jagung nasional masih kurang sehingga setiap tahun impor tidak bisa dihindarkan.

Peningkatan produksi jagung nasional dapat dilakukan dengan peningkatan produktivitas dan perluasan areal tanam. Produktivitas jagung nasional sejak tahun 2000 hingga 2008 sudah mengalami peningkatan yang cukup berarti. Peningkatan tersebut terjadi karena petani mau melakukan perbaikan teknologi, yakni dengan penggantian varietas jagung lokal ke jagung komposit atau dari jagung komposit ke jagung hibrida. Permasalahannya adalah benih hibrida yang beredar di pasar adalah impor dari negara Thailand, Filipina dan Vietnam. Petani sangat tergantung baik harga maupun ketersediaan benih kepada negara produsen tersebut. Bahkan timbul kepercayaan bahwa hanya benih imporlah yang mampu berproduksi tinggi. Oleh karena itu sangat penting untuk segera merakit kultivar hibrida yang berkualitas sama dengan benih impor dan berasal dari plasma nutfah yang ada.

Selain produktivitas, peningkatan produksi nasional bisa dilakukan dengan perluasan areal tanam. Kendalanya adalah lahan-lahan yang tersedia sebagian besar merupakan lahan marginal. Pada lahan marginal terdapat banyak faktor yang dapat menekan potensi produksi jagung. Di luar Jawa sebagian besar lahan-lahan yang bisa dikembangkan berupa tanah Podsolik Merah Kuning dengan tingkat kemasaman yang tinggi. Diperlukan teknologi yang tepat untuk mengatasi kendala tersebut agar petani tidak merasa enggan untuk menanam jagung.

Penelitian ini terkait dengan masalah pertumbuhan pemanfaatan ilmu pengetahuan. Manfaat hasil penelitian ini adalah sebagai salah satu masukan teknologi yang dapat digunakan oleh pemerintah dalam mewujudkan swasembada jagung melalui ekstensifikasi pada lahan marginal. Oleh karena itu penelitian yang akan dilakukan ini mempunyai urgensi yang sangat tinggi atau sangat penting baik untuk ilmu pengetahuan maupun untuk kemakmuran bangsa dan negara.

Secara rinci, signifikansi hasil penelitian ini adalah:

- (1) Kultivar unggul jagung toleran kemasaman sangat penting dalam peningkatan produksi jagung nasional sehingga dapat menambah optimisme pemerintah untuk mencapai swasembada jagung di tahun-tahun mendatang. Kultivar unggul tahan kemasaman adalah dapat mengurangi impor jagung nasional yang sampai saat ini masih terus dilakukan oleh pemerintah
- (2) Diperolehnya kultivar unggul jagung toleran kemasaman akan meningkatkan produktivitas jagung per hektar karena telah didesain sejak awal untuk adaptasi pada lahan marginal di Indonesia. Jagung kultivar hibrida biasanya punya keunggulan mampu memproduksi tiga kali lebih banyak daripada kultivar komposit. Saat ini produktivitas jagung kultivar komposit per hektar sekitar 2,5-3 ton pipilan kering, sedangkan kultivar hibrida (import) dapat mencapai 8-10 ton pipilan kering per hektar.
- (3) Dihasilkannya kultivar hibrida nasional akan dapat mengurangi impor benih hibrida, dan juga akan mengurangi ketergantungan petani terhadap benih impor
- (4) Kultivar unggul jagung toleran kemasaman akan dapat meningkatkan pendapatan petani karena harga benih hibrida atau OP nasional lebih murah dibandingkan benih impor
- (5) Perakitan kultivar unggul toleran kemasaman melalui pemanfaatan teknik iradiasi dapat memperkaya khasanah ilmu pengetahuan. Metode dan hasil-hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan oleh para peneliti lain pada bidang kegiatannya masing-masing.
- (6) Mutan yang dihasilkan dalam penelitian ini akan memperkaya keragaman genetik plasma nutfah jagung yang sangat bermanfaat bagi program pemuliaan jagung

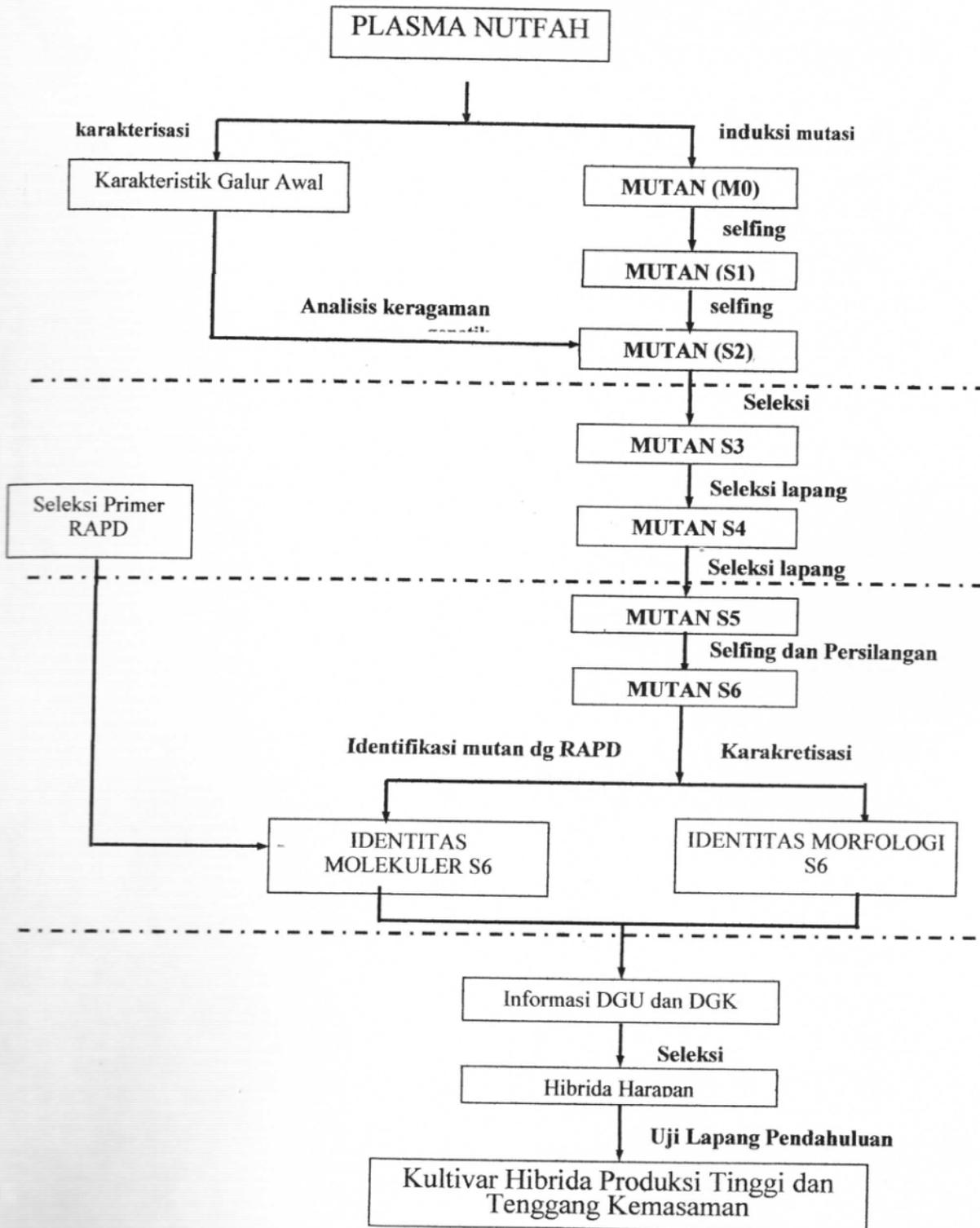
BAB IV. METODE PENELITIAN

Perakitan kultivar hibrida unggul jagung yang toleran terhadap cekaman kemasaman hanya dapat dilakukan jika terdapat keragaman genetik tanaman yang di dalamnya mengandung gen-gen pengendali ketenggangan terhadap cekaman kemasaman serta gen-gen potensial untuk daya hasil tinggi. Populasi yang memiliki keragaman genetik tinggi sebagai bahan baku utama program pemuliaan tanaman dapat berupa plasma nutfah dalam bentuk kerabat liar, landras lokal, kultivar komersial, atau dapat juga berupa mutan yang diinduksi secara buatan.

Keterbatasan plasma nutfah sumber gen ketenggangan terhadap cekaman kemasaman tanah menyebabkan upaya induksi mutan secara buatan menjadi salah satu alternatif yang harus ditempuh. Induksi mutan secara buatan dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain dengan mutagen kimiawi, radiasi, atau melalui kultur *in vitro*.

Penelitian Hibah Bersaing yang diusulkan ini akan memanfaatkan teknik induksi mutasi buatan melalui radiasi sinar gamma untuk mendapatkan varian mutan jagung yang memiliki potensi tenggang terhadap cekaman tanah masam. Varian mutan tersebut selanjutnya akan diseleksi di lapang untuk mendapatkan genotipe-genotipe yang berpotensi tenggang terhadap kemasaman sekaligus untuk mendapatkan karakterisasi agronomis dalam rangka mendapatkan genotipe yang berpotensi daya hasil tinggi.

Dalam skenario perakitan hibrida, akan dilakukan kajian genetik daya gabung umum dan daya gabung khusus sekaligus untuk memilih pasangan-pasangan tetua yang memiliki potensi hibrida. Pada tahap akhir, hibrida-hibrida harapan akan diuji-lapang untuk mendapatkan hibrida yang berdaya hasil tinggi dan toleran terhadap cekaman kemasaman tanah. Secara keseluruhan, skema bagan alir penelitian yang telah dan akan dilakukan dapat dilihat pada Gambar 2. Sasaran, luaran dan indikator capaian untuk setiap tahapan penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Skema bagan alir perakitan kultivar hibrida jagung

Tabel 1. Sasaran, luaran dan indikator capaian kegiatan penelitian selama 3 tahun

No	Kegiatan	Sasaran	Luaran	Capaian
Tahun I Pembentukan populasi generasi S3, S4 dan seleksi primer RAPD				
1	Seleksi mutan generasi S3 untuk ketenggangan terhadap kemasaman	Diperoleh genotipe tenggang kemasaman generasi S3	48 genotipe mutan tenggang AI generasi S3	100%
2	Seleksi mutan generasi S4 untuk ketenggangan terhadap kemasaman	Diperoleh genotipe tenggang kemasaman generasi S4	15 genotipe mutan generasi S3 hasil seleksi famili	100%
3	Seleksi primer RAPD untuk tanaman jagung	diperoleh informasi primer-primer RAPD yang dapat digunakan untuk uji keragaman genetik tanaman jagung	15 primer RAPD yang sesuai untuk tanaman jagung	100%
Tahun II: Pebentukan populasi generasi ke tujuh dan uji keragaman genetik mutan				
4	Seleksi mutan generasi S5 untuk ketenggangan terhadap kemasaman	Diperoleh galur mutan tenggang kemasaman generasi S5	6 galur mutan tenggang AI generasi S5	100%
5	Karakterisasi morfologi mutan generasi S6 hasil iradiasi sinar gamma	Diperoleh populasi mutan tenggang kemasaman generasi S6 Diperoleh karakter morfologi mutan S6	6 populasi galur mutan tenggang AI generasi S6 Deskripsi galur	100%
6	Identifikasi mutan S6 berdasarkan penanda RAPD	Teridentifikasi adanya mutasi dengan RAPD pada mutan S6 yang tenggang kemasaman	Identitas mutanr S6 berdasarkan pola pita RAPD	100%
Tahun III: Perakitan hibrida unggul produksi tinggi sekaligus tengang kemasaman				
7	Uji daya gabung umum dan daya gabung khusus mutan S6	Diketahui kemampuan heterosis galur-galur mutan	informasi daya gabung umum dan daya gabung khusus	100%
8	Uji lapang hibrida-hibrida harapan pada tanah masam	Diketahui daya adaptasi hibrida pada tanah masam	Diperoleh katrakter spesifik hibrida harapan	100%

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Seleksi lapang mutan generasi M3 ke arah ketenggangan terhadap kemasaman tanah

5.1.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran Penelitian

Tujuan penelitian tahap ini adalah untuk menyeleksi genotipe generasi ke-3 mutan hasil irradiasi dan mempelajari keragaan mutan di lapangan yang memiliki tingkat kemasaman tanah tinggi.

Sasaran yang ingin dicapai adalah membentuk genotipe yang memiliki gen homozigot secara keseluruhan di atas 90% dengan cara selfing individu dan menyeleksi setidaknya 10 genotipe terbaik pada setiap nomor galur awal yang dapat digunakan sebagai tetua hibrida harapan.

Luaran dari kegiatan ini adalah diperoleh mutan generasi M3 (biji M4) yang tenggang terhadap kemasaman tanah.

5.1.2. Metode Penelitian

Seleksi akan dilakukan di daerah yang memiliki tingkat kemasaman tinggi, yaitu pada tanah PMK. Bahan tanaman yang digunakan adalah biji generasi ke-3 mutan (M3) hasil irradiasi sinar gamma dari 6 galur yang dilakukan pada tahap sebelumnya.

Masing-masing tanaman mutan tersebut ditanam pada tanah Podsolik Merah Kuning yang merupakan tanah masam dengan konsentrasi Al_{dd} 4.1. Dari 6 genotipe awal tersebut telah diseleksi masing-masing 10 tanaman yang menunjukkan pertumbuhan terbaik pada generasi ke-2 sehingga diperoleh 60 tanaman. Semua biji yang ada pada 60 tanaman tersebut merupakan bahan untuk penelitian pada tahap ini. Biji ditanam dalam barisan (*ear to row selection*). Jarak tanam yang digunakan adalah 25 cm dalam barisan dan 75 cm antar barisan dengan 1 tanaman per lubang.

Penanaman dilakukan dengan menempatkan biji dalam lubang tanah sedalam 5 cm yang sebelumnya telah ditaburi Furadan 3G. Sebagai pupuk dasar digunakan urea 50 kg/ha,

TSP 200 kg/ha dan KCl 100 kg/ha, yang diberikan pada saat tanam. Pada umur 6 minggu setelah tanam (MST) dilakukan pemupukan kedua dengan dosis 50 kg/ha. Pemeliharaan dilakukan dengan pengendalian gulma pada umur 3 dan 6 MST; pembumbunan pada 6 MST, dan pengendalian hama dan penyakit pada umur 4, 8 dan 12 MST. Panen dilakukan ketika tongkol mengering.

Pengamatan dilakukan terhadap munculnya keragaman untuk karakter morfologis dan untuk berbagai karakter agronomis lainnya. Karakter morfologis yang diamati meliputi perubahan morfologi daun, fenotipe jantan steril, letak bunga jantan, letak bunga betina dan jumlah bunga betina. Sedangkan karakter agronomis yang dievaluasi meliputi variabel vegetatif (tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang dan lebar daun terlebar, panjang akar, bobot brangkasan segar dan kering), variabel generatif (umur munculnya bunga jantan, bunga betina, jumlah tongkol per tanaman, panjang tongkol, bobot tongkol berklot, bobot tongkol tanpa klobot, bobot dan jumlah biji per tongkol, bobot 100 biji, bobot biji per tanaman), dan pengamatan visual warna batang dan daun. Analisis data dilakukan dengan analisis deskriptif dengan parameter nilai rata-rata, nilai maksimum dan minimum. Seleksi dilakukan dengan metode seleksi pedigree dan penentuan tanaman terpilih menggunakan seleksi indeks berdasarkan pada karakter vegetatif dan generatif.

5.1.3. Hasil dan Pembahasan

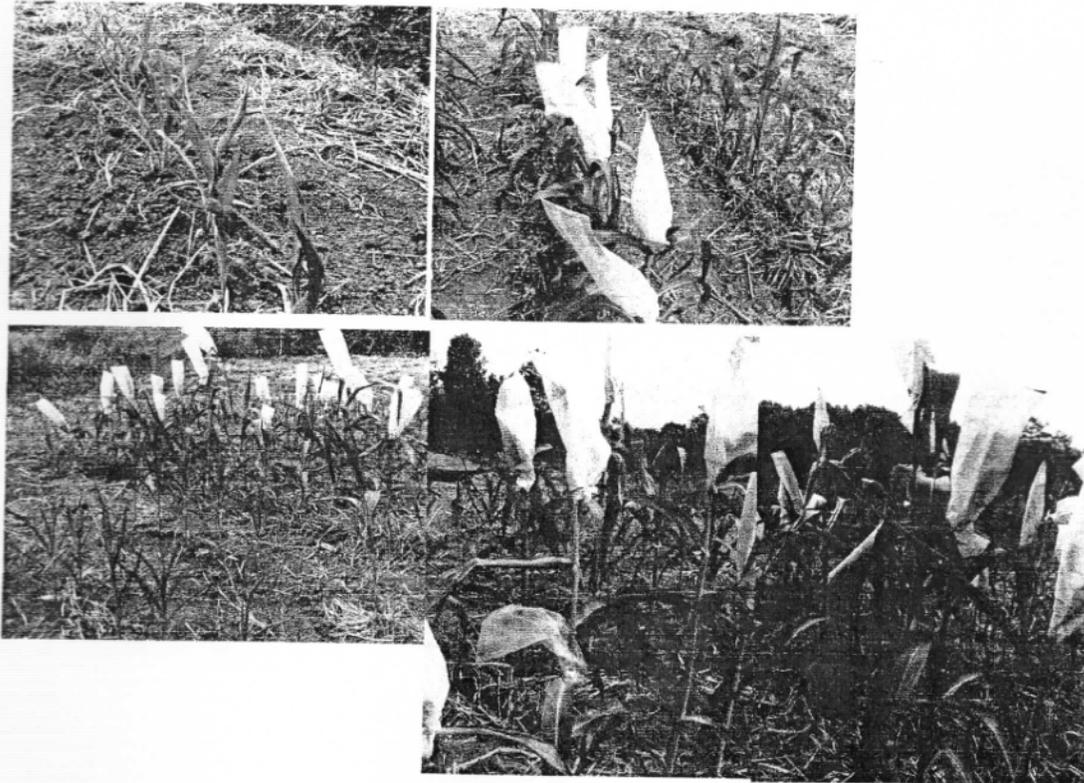
a. Pengamatan Vegetatif

Benih populasi mutan generasi M3 dihasilkan dari selfing tanaman mutan generasi M2. Diharapkan pada populasi mutan M3 terdapat varian yang menunjukkan sifat tenggang terhadap aluminium, sementara sifat yang lain adalah normal. Dalam penelitian tahap ini dilakukan di lahan petani di Jasinga pada jenis tanah PMK yang memiliki tingkat kemasaman tanah tinggi, yaitu pH 4.5 – 5.

Penanaman pada tahap ini bertepatan dengan awal musim kemarau, tetapi pada sebelum dan pada saat tanam masih terdapat hujan yang cukup besar. Pada pertumbuhan awal tanaman sedikit kekurangan air dan diatasi dengan penutupan mulsa jerami dan penyiraman setiap hari.. Perkecambahan awal cukup baik, mencapai lebih dari 80%

benih yang ditanam tumbuh. Pada perkembangan selanjutnya jumlah tanaman berkurang hingga pada umur 50 hari setelah tanam hanya tinggal 10% yang masih bertahan hidup sampai pertumbuhan generatif. Hal tersebut diduga disebabkan karena cekaman kemasaman tanah yang juga disertai dengan kondisi iklim mikro yang sangat panas, sehingga walaupun pasokan air terus diberikan setiap hari diduga juga berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Pada tahap ini tanaman telah melalui penyerbukan sendiri selama 6 kali, sehingga secara teoritis kondisi tanaman tumbuh kerdil dan lebih cepat berbunga, namun sebagian tanaman tumbuh tidak normal.

Tanaman yang bertahan hidup merupakan genotipe yang terseleksi untuk sifat tenggang masam. Dengan demikian maka penelitian dapat dilanjutkan pada tahap selanjutnya. Kondisi pertumbuhan tanaman dalam percobaan di lapangan ditunjukkan pada Gambar 3



Gambar 3. Kondisi pertumbuhan tanaman S3 pada 15 HST (kiri atas) dan 50 HST saat mulai penyungkupan bunga jantan

Dari data yang telah diamati untuk peubah vegetatif diambil beberapa sampel), tinggi tanaman yang teramati terendah adalah 31 cm dan tertinggi 172 cm dengan rata-rata berkisar antara 65.75 cm (G7M2-15-27) hingga 118.25 cm (G6M2-6-26). Variabilitas tinggi tanaman pada setiap populasi mutan cukup tinggi yaitu nilai KK berkisar antara 14.09% hingga 47.19% dengan sebagian besar > 20%. Diameter batang terkecil pada tanaman di lapangan adalah 5 mm dan maksimum 21 mm dengan rata-rata berkisar antara 8.83 mm hingga 18.88 mm. Variabilitas diameter batang relatif tinggi hingga mencapai 34.63% (G3M2-15-19), sekalipun ada beberapa populasi mutan yang relatif seragam.

Jumlah daun terendah pada 50 HST adalah 5 lembar, sementara yang tertinggi mencapai 13 lembar, dengan nilai rata-rata berkisar antara 7 lembar hingga 11 lembar. Variabilitas jumlah daun pada setiap populasi mutan M2 cukup tinggi, yaitu umumnya memiliki nilai KK > 15%. Sedangkan panjang daun terpendek adalah 26 cm dan terpanjang 79 cm, dengan nilai rata-rata pada masing-masing populasi mutan berkisar antara 36.85 cm hingga 64.46 cm.

Panjang daun dalam setiap populasi mutan relatif seragam, yang ditunjukkan dengan nilai KK rendah. Sementara itu untuk karakter lebar daun terlebar terendah adalah 2 cm dan tertinggi 8 cm, dengan rata-rata antara 3.6 cm sampai dengan 6.47 cm. Berbeda dengan panjang daun, keragaman lebar daun cukup tinggi, dengan nilai KK mencapai tertinggi 32.87% dan terendah 11.82%. Untuk parameter generatif saat silking dan tasseling terlihat bahwa pada setiap populasi mutan hampir seragam yang ditunjukkan oleh nilai KK yang sangat rendah, < 10% .

Berdasarkan hasil pengamatan tersebut maka menggunakan parameter pertumbuhan vegetatif tinggi tanaman, jumlah daun dan lebar daun dapat dilakukan seleksi terhadap individu dalam populasi mutan yang memiliki nilai KK tinggi. Nilai KK yang tinggi mencerminkan bahwa di dalam populasi yang diuji ada individu-individu yang memiliki keragaan baik, ada pula individu yang tidak baik sehingga mudah untuk diseleksi. Parameter yang sama dapat juga digunakan untuk menyeleksi

antar populasi mutan untuk menentukan populasi mana yang memiliki tingkat ketenggangan terbaik terhadap kemasaman lahan.

b. Pengamatan Generatif

Benih populasi mutan generasi M3 dihasilkan dari selfing tanaman mutan generasi M2. Diharapkan pada populasi mutan M3 terdapat varian yang menunjukkan sifat tenggang terhadap kemasaman. Untuk sifat-sifat yang lain yang akan dimunculkan pada hibrida belum dapat diprediksi pada tahap ini karena proses penggaluran sudah mencapai G7 sehingga kondisi tanaman semakin kecil.

Pertumbuhan tanaman di lapangan secara keseluruhan kurang begitu baik karena penanaman bertepatan dengan musim kemarau dan tanaman mengalami kekeringan mulai sehari setelah tanam. Akibatnya hanya sebagian kecil tanaman yang bisa tumbuh dengan baik dan berbuah. Sebagian besar tidak mampu tumbuh dengan baik, sangat kerdil dan tidak normal. Bunga jantan dan bunga betina dapat terbentuk, tetapi tidak dapat menghasilkan biji.

Pada kondisi yang demikian secara tidak sengaja ada dua jenis cekaman yang terjadi, yaitu cekaman kemasaman lahan dan cekaman kekeringan. Dengan demikian tanaman yang mampu tumbuh dengan baik pada kondisi tersebut maka dapat diindikasikan toleran terhadap cekaman kemasaman tanah sekaligus terhadap kekeringan.

Dari seluruh populasi tanaman terdapat sekitar 219 tanaman yang berhasil tumbuh dengan baik. Populasi tersebut menunjukkan keragaman pertumbuhan vegetatif dan generatif serta hasil yang sangat tinggi. Dari populasi tersebut tinggi tanaman rata-rata adalah 88,1 cm dengan tanaman terendah 33,5 cm dan tertinggi 176,2 cm. Jumlah daun rata-rata 8 helai dengan kisaran antara 5 hingga 13 helai. Diameter batang rata-rata adalah 10,5 mm, dengan diameter terkecil 4,2 mm dan terbesar 21,3 mm.

Selain memiliki pertumbuhan vegetatif yang relatif kecil, tanaman tersebut juga menunjukkan pertumbuhan generatif yang lebih cepat. Tanaman rata-rata memasuki masa generatif yang ditandai dengan munculnya bunga jantan pada umur 47 hari dengan yang paling cepat adalah umur 40 hari dan paling lambat 57 hari. Sedangkan bunga

betina mucul rata-rata pada umur 50 hari setelah tanam. Jumlah bunga betina paling banyak 4 bunga per tanaman, tetapi yang dapat berkembang menjadi tongkol produktif maksimal hanya 2. Akan tetapi sebagian besar tanaman hanya bertongkol satu.

Tongkol yang terbentuk umumnya relatif kecil dengan panjang rata-rata 9,4 cm dan diameter 22,1 mm. Panjang tongkol terpanjang adalah 19,6 cm dan terpendek 3,6 cm. Sedangkan diameter tongkol berkisar antara 7,1 mm hingga 38,9 mm. Panjang baris biji rata-rata 7,3 cm dengan jumlah biji per baris 10 butir. Jumlah biji per tongkol rata-rata adalah 108 butir dengan jumlah biji terendah 6 biji dan tertinggi 448 butir. Bobot 100 butir berkisar antara 3,5 g hingga 83,2 g dengan nilai rata-rata 12,6 g. Sedangkan bobot biji kering per tongkol rata-rata adalah 12,1 g dengan nilai terendah 0,2 g dan tertinggi 49,9 g.

Berdasarkan pada pertumbuhan vegetatif, generatif dan komponen hasil terlihat bahwa pertumbuhan tanaman secara umum kecil. Ada berapa faktor penyebab kerdilnya pertumbuhan tanaman tersebut, yaitu cekaman kemasaman tanah dan cekaman kekeringan, serta adanya inbreeding depression. Cekaman kemasaman tanah dan kekeringan menyebabkan perakaran tidak tumbuh dengan baik sehingga pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Inbreeding depression terjadi sebagai akibat dari proses penggaluran yang dilakukan hingga generasi M3, atau generasi ke tujuh dari seluruh proses penggaluran yang dilakukan.

Seleksi Indeks

Benih populasi mutan generasi M3 dihasilkan dari selfing tanaman mutan generasi M2. Diharapkan pada populasi mutan M3 terdapat varian yang menunjukkan sifat tenggang terhadap kemasaman. Untuk sifat-sifat yang lain yang akan dimunculkan pada hibrida belum dapat diprediksi pada tahap ini karena proses penggaluran sudah mencapai M6 sehingga kondisi tanaman semakin kecil

Untuk menentukan tanaman yang dilanjutkan pada tahap selanjutnya dilakukan seleksi dengan memperhatikan seluruh peubah vegetatif dan generatif yang diamati dengan pembobotan disesuaikan dengan nilai penting dan tujuan seleksi. Seleksi dilakukan menggunakan seleksi indeks dengan rumus sebagai berikut:

$$I = -UBB-UBJ+TT+JD+PD+LD+2PT+2DT+3PBJ+3JBBJ+ JBJ/B+JBJ/TK+ 3BB100BJ+BBJ+TK+4BBJ$$

Nilai pengamatan telah distandarisasii, peubah bobot biji per tongkol diberi bobot tertinggi karena seleksi terutama diarahkan pada genotype yang menunjukkan daya hasil tertinggi. Peubah seperti jumlah tongkol, panjang tongkol, panjang baris biji, jumlah biji per baris, dan bobot 100 biji diberi bobot lebih tinggi dibandingkan peubah lain karena seleksi diutamakan pada komponen hasil yang lebih baik.

Dengan intensitas seleksi 10% dari populasi yang terdiri atas 1241 genotype diperoleh 48 genotype yang menunjukkan indeks seleksi tertinggi. Genotype tersebut adalah (Tabel 5):

- G1M3-12-11-1A-5, G1M3-12-11-1b-7, G1M3-12-14-1-1, G1M3-12-14-1-15, , G1M3-12-18a-1-1, G1M3-12-18a-1-2, G1M3-12-18a-1-4, G1M3-12-18a-1-5, G1M3-12-18a-1-11, G1M3-12-18a-1-21, G1M3-12-18b-3-1
- G3M3-15-17-4-10, G3M3-15-17-4-12, G3M3-15-17-8-15, G3M3-15-18-9-2, G3M3-15-18-10-38, G3M3-15-19-5-4, G3M3-15-19-11-4, G3M3-16-27-2-9, G3M3-16-27-14-20, G3M3-16-27-16-14, G3M3-16-27-17-12
- G6M3-6-12-5-9, G6M3-6-12-7-3, G6M3-6-15-4-4, G6M3-6-17-4-3, G6M3-6-17-7-8, G6M3-6-19-9, G6M3-6-19-9-54, G6M3-6-19-19-4, G6M3-6-32-3a-12, G6M3-6-32-2a-23
- G7M3-8-3a-3-36, G7M3-15-9-1-3, G7M3-15-9-3-10, G7M3-15-27-1-8, G7M3-15-27-3a-12, G7M3-15-49-410, G7M3-15-49-8-8, G7M3-15-50-5a-17
- G8M3-4-8-2-5, G8M3-4-8-6-8, G8M3-30-2-1-1, G8M3-30-2-1-3
- G9M3-20-44-2-5, G9M3-20-44-2-8, G9M3-20-44-2-18, G9M3-20-44-2-21

Dari genotype terpilih tersebut tampak bahwa genotype mutan yang berasal dari G6 adalah yang paling banyak. Genotype terpilih menunjukkan tingkat toleransi yang paling baik terhadap kondisi cekaman kemasaman tanah, dan kemungkinan juga toleran terhadap cekaman kekeringan. Genotype tersebut diharapkan dapat menjadi donor gen pengendali sifat toleran terhadap cekaman dalam perakitan hibrida jagung toleran kemasaman tanah.



Gambar 4. Visualisasi mutan jagung generasi M3 hasil iradiasi sinar gamma

5.1.4. Kesimpulan

Dari 60 tongkol yang ditanam, taaman yang tumbuh berjumlah 1241. Hasil seleksi indeks dipeoleh 48 genotipe yang akan dilanjutkan pada penggaluran generasi M4. Genotipe tersebut adalah:

- G1M3-12-11-1A-5, G1M3-12-11-1b-7, G1M3-12-14-1-1, G1M3-12-14-1-15, G1M3-12-18a-1-1, G1M3-12-18a-1-2, G1M3-12-18a-1-4, G1M3-12-18a-1-5, G1M3-12-18a-1-11, G1M3-12-18a-1-21, G1M3-12-18b-3-1
- G3M3-15-17-4-10, G3M3-15-17-4-12, G3M3-15-17-8-15, G3M3-15-18-9-2, G3M3-15-18-10-38, G3M3-15-19-5-4, G3M3-15-19-11-4, G3M3-16-27-2-9, G3M3-16-27-14-20, G3M3-16-27-16-14, G3M3-16-27-17-12
- G6M3-6-12-5-9, G6M3-6-12-7-3, G6M3-6-15-4-4, G6M3-6-17-4-3, G6M3-6-17-7-8, G6M3-6-19-9, G6M3-6-19-9-54, G6M3-6-19-19-4, G6M3-6-32-3a-12, G6M3-6-32-2a-23
- G7M3-8-3a-3-36, G7M3-15-9-1-3, G7M3-15-9-3-10, G7M3-15-27-1-8, G7M3-15-27-3a-12, G7M3-15-49-410, G7M3-15-49-8-8, G7M3-15-50-5a-17
- G8M3-4-8-2-5, G8M3-4-8-6-8, G8M3-30-2-1-1, G8M3-30-2-1-3
- G9M3-20-44-2-5, G9M3-20-44-2-8, G9M3-20-44-2-18, G9M3-20-44-2-21

5.2. Seleksi lapang mutan generasi M4 ke arah ketenggangan terhadap kemasaman tanah

5.2.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran Penelitian

Tujuan penelitian tahap ini adalah untuk menyeleksi genotipe generasi ke-4 mutan hasil irradiasi dan mempelajari keragaan mutan di lapangan yang memiliki tingkat kemasaman tanah tinggi.

Sasaran yang ingin dicapai adalah membentuk genotipe yang memiliki gen homozigot secara keseluruhan di atas 90% dengan cara selfing individu dan menyeleksi setidaknya 10 genotipe terbaik berdasarkan seleksi famili yang selanjutnya dapat digunakan sebagai tetua hibrida harapan.

Luaran dari kegiatan ini adalah diperoleh mutan generasi M4 (biji M5) yang tenggang terhadap kemasaman tanah.

5.2.2. Metode Penelitian

Masing-masing tanaman mutan tersebut ditanam pada tanah Podsolik Merah Kuning Kelurahan Kandang Limun Kecamatan Muara Bangkahulu, Bengkulu. Dari 6 genotipe awal (Percobaan 5.1) tersebut telah diseleksi 48 tanaman yang menunjukkan pertumbuhan terbaik. Semua biji yang ada ditanam dalam barisan (ear to row selection). Jarak tanam yang digunakan adalah 25 cm dalam barisan dan 75 cm antar barisan dengan 1 tanaman per lubang.

Penanaman dilakukan dengan menempatkan biji dalam lubang tanah sedalam 5 cm yang sebelumnya telah ditaburi Furadan 3G. Sebagai pupuk dasar digunakan urea 50 kg/ha, TSP 200 kg/ha dan KCl 100 kg/ha, yang diberikan pada saat tanam. Pada umur 6 minggu setelah tanam (MST) dilakukan pemupukan kedua dengan dosis 50 kg/ha. Pemeliharaan dilakukan dengan pengendalian gulma pada umur 3 dan 6 MST; pembumbunan pada 6 MST, dan pengendalian hama dan penyakit pada umur 4, 8 dan 12 MST. Panen dilakukan ketika tongkol mengering.

Pengamatan dilakukan terhadap munculnya keragaman untuk karakter morfologis dan untuk berbagai karakter agronomis lainnya. Karakter morfologis yang diamati meliputi perubahan morfologi daun, fenotipe jantan steril, letak bunga jantan, letak bunga betina dan jumlah bunga betina. Sedangkan karakter agronomis yang dievaluasi meliputi variabel vegetatif (tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang dan lebar daun terlebar, panjang akar, bobot brangkasan segar dan kering), variabel generatif (umur munculnya bunga jantan, bunga betina, jumlah tongkol per tanaman, panjang tongkol, bobot tongkol berklobot, bobot tongkol tanpa klobot, bobot dan jumlah biji per tongkol, bobot 100 biji, bobot biji per tanaman), dan pengamatan visual warna batang dan daun. Analisis data dilakukan dengan analisis deskriptif dengan parameter nilai rata-rata, nilai maksimum dan minimum. Seleksi dilakukan menggunakan seleksi indeks dengan berdasarkan pada karakter morfologis untuk ketengangan terhadap kemasaman. Dari tahap ini diseleksi positif sebanyak 20 tanaman untuk selanjutnya digunakan sebagai tetua dalam perakitan hibrida.

5.2.3. Hasil dan pembahasan

Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan bahwa variasi antar famili generasi M4 cukup tinggi hampir di semua variabel yang diamati. Variasi dalam famili pada beberapa variabel relatif cukup rendah yang mengindikasikan galur tersebut sudah cukup seragam.



Gambar 5. Visualisasi mutan jagung generasi M4 hasil iradiasi sinar gamma Kiri: saat tanam, Kanan: saat 6 MST

Keragaan galur-galur mutan generasi ke 4 (M4) yang dihasilkan dari hasil selfing mutan generasi ke3 (M3) menunjukkan tingkat pertumbuhan yang relatif pendek dengan tinggi tanaman rata-rata kurang dari 1.5 m. Umur berbunga juga relatif singkat yaitu sekitar 45 hari setelah tanam. Demikian juga untuk karakter vegetatif lain, seperti panjang dan lebar daun (Tabel 2). Penurunan hasil pengukuran tersebut merupakan efek penggaluran yang dilakukan sehingga terjadi inbreeding depression.

Tabel 2. Nilai rata-rata dari beberapa parameter vegetatif dan produksi mutan M4

Galur Mutan M4	Rata-rata						
	Jumlah Daun	Lebar Daun	Panjang Daun	Diameter Batang	Diameter tongkol	Jumlah Baris	Jumlah biji/baris
G1M4 12-11-1A-3	8.4	53.9	45.8	9.4	32.2	9.2	13.2
G1M4 12-11-1A-5	9.1	56.6	43.9	10.2	30.7	10.3	11.3
G1M1 12-11-1A-15	9.3	46.6	41.2	8.4	31.1	8.4	9.9
G1M4 12-11-1A-20	9.2	50.7	40.6	12.4	31.3	9.2	10.1
G1M4 12-11-1B-3	9.7	50.7	42.2	9.2	31.0	8.8	10.6
G1M4 12-11-1B-5	8.9	64.5	36.6	8.7	31.7	8.5	10.6
G1M4 12-11-1B-7	9.8	49.1	41.5	9.8	31.2	8.0	10.5
G1M4 12-11-1B-10	9.1	55.5	39.9	9.6	29.7	7.0	11.3
G1M4 12-14-1-1	9.1	51.3	39.7	9.3	30.5	9.3	11.3
G3M4 15-19-11-1	7.8	41.0	50.0	9.0	27.4	5.0	3.2
G3M4 15-19-11-37	8.7	46.7	49.5	9.3	29.8	6.4	4.8
G3M4 16-27-17-12	9.2	47.4	52.8	9.5	31.9	10.4	11.8
G3M4 16-27-17-24	9.4	52.2	47.1	10.4	32.8	8.8	14.3
G6M4 6-15-4-3	10.0	58.8	61.4	11.5	37.7	7.0	11.3
G6M4 6-17-4-3	10.2	46.4	55.2	9.9	37.6	10.8	13.0
G6M4 6-19A-9-54	10.2	44.3	50.7	9.1	36.9	9.0	8.8
G6M4 6-26-6A-9	10.9	48.7	54.7	11.1	37.7	18.8	15.5
G6M4 6-17-2A-7	8.2	44.4	47.0	8.4	32.6	11.0	10.7
G6M4 6-27-2A-18A	9.0	43.4	45.3	8.5	31.9	12.0	12.3
G6M4 6-32-3A-12	10.1	45.9	52.8	9.4	42.7	13.3	17.0
G6M4 6-36-1-4	10.2	46.9	54.5	8.9	39.5	12.0	17.3
G6M4 6-36-1-21A	10.9	46.6	59.2	11.8	34.5	9.4	10.2
G6M4 6-12-5-5A	9.0	46.3	79.1	9.6	35.3	10.3	12.8
G7M4 15-27-1-5	9.8	52.3	51.9	8.6	36.6	10.7	12.6
G7M4 15-49-4-4	8.8	50.1	49.7	9.4	36.5	9.0	8.5
G7M4 15-49-4-7	8.3	44.8	44.9	7.6	29.1	8.3	12.5
G7M4 15-49-4-10	9.0	47.6	48.3	7.5	29.8	10.0	11.5
G7M4 15-49-8-8A	10.6	66.5	68.2	12.4	37.9	12.0	16.3

Variasi dalam galur untuk setiap variabel yang diamati dicantumkan pada Tabel 4. Varian dalam galur yang relatif kecil dari peubah jumlah daun yang diamati menandakan telah semakin seragam (Tabel 3). Pada pengamatan jumlah daun nilai variasi ragam baik pada G1, G3, G6 dan G7 sangat kecil yaitu berkisar antara 0.41 sampai 5.87. Hal ini menunjukkan adanya keseragaman. Namun untuk parameter yang lain seperti lebar daun, panjang daun, diameter batang diameter tongkol jumlah baris dan jumlah biji per baris menunjukkan nilai ragam yang bervariasi. Bahkan di dalam genotipe yang sama pun terjadi variasi yang tinggi. Oleh karena itu untuk menetapkan seleksi perlu dihitung nilai KK sehingga dapat diakumulaskan pada semua parameter.

Keseragaman dalam galur dapat dilihat dari nilai koefisien keragaman. Tabel 4 menunjukkan nilai koefisien keragaman dari mutan M4. Nilai KK rendah mengindikasikan bahwa di dalam famili yang ditanam dalam baris sudah menunjukkan keseragaman dari keseluruhan variabel. Keseragaman fenotipik yang terjadi diakibatkan adanya homozigositas yang tinggi akibat silang dalam. Oleh karena itu nilai KK total yang rendah yang dipilih untuk kemudian dilanjutkan. Genotipe yang akan dilanjutkan untuk penggaluran generasi M5 adalah G1M4 12-11-1A-5, G1M4 12-11-1B-7, G1M4 12-14-1-1, G1M4-12-18a-1-5, G3M4 16-27-17-12, G3M4-15-17-4-12 G6M4 6-19A-9-54, G6M4-6-19-19-4, G6M4 6-32-3A-12, G6M4 6-36-1-4, G7M4 15-49-4-10, G7M4 15-49-8-8, G7M4-15-9-3-10, G8M4-4-8-6-8, G9M4-20-44-2-8.



Gambar 6. Visualisasi mutan jagung generasi M4 hasil iradiasi sinar gamma saat pembungkusan bunga betina

Tabel 3. Nilai ragam dari beberapa parameter vegetatif dan produksi mutan M4

Galur Mutan M4	Ragam						
	Jumlah Daun	Lebar Daun	Panjang Daun	Diameter Batang	Diameter tongkol	Jumlah Baris	Jumlah biji/baris
G1M4 12-11-1A-3	1.30	267.44	146.20	6.02	9.82	3.20	2.70
G1M4 12-11-1A-5	0.41	59.17	19.27	4.40	0.60	4.33	24.33
G1M1 12-11-1A-15	1.73	163.66	121.65	5.74	6.88	6.29	9.14
G1M4 12-11-1A-20	1.00	114.83	56.36	308.01	11.66	1.65	7.93
G1M4 12-11-1B-3	1.24	61.95	33.40	4.65	12.96	2.43	21.58
G1M4 12-11-1B-5	1.99	9,529.00	29.71	5.52	8.40	2.47	18.27
G1M4 12-11-1B-7	0.92	91.00	120.44	2.44	2.87	2.17	17.27
G1M4 12-11-1B-10	1.09	127.53	22.89	3.17	10.11	4.67	24.92
G1M4 12-14-1-1	2.41	92.52	60.37	10.66	0.10	0.33	4.33
G3M4 15-19-11-1	1.89	84.87	59.44	4.54	14.83	2.00	1.70
G3M4 15-19-11-37	0.80	21.99	80.96	3.53	1.50	3.30	17.20
G3M4 16-27-17-12	1.54	72.03	93.70	5.08	9.70	5.96	19.41
G3M4 16-2717-24	1.81	117.59	79.69	5.71	6,904.80	3.94	58.50
G6M4 6-12-5-5A	0.96	44.08	13,967.00	5.69	37.22	10.79	44.50
G6M4 6-15-4-3	1.11	47.92	28.73	2.77	50.97	26.40	69.47
G6M4 6-17-4-3	0.83	100.55	165.70	3.06	18.78	3.94	38.00
G6M4 6-19A-9-54	2.06	70.04	48.01	3.25	4.43	2.50	4.70
G6M4 6-26-6A-9	1.25	75.50	73.33	4.38	27.91	822.60	47.60
G6M4 6-17-2A-7	5.87	53.73	68.33	5.32	21.18	15.00	39.90
G6M4 6-27-2A-18A	1.57	108.35	136.34	5.63	18.76	9.00	14.33
G6M4 6-32-3A-12	1.14	133.86	40.99	5.68	21.91	2.33	13.00
G6M4 6-36-1-4	2.03	32.27	44.27	5.18	14.07	4.00	21.33
G6M4 6-36-1-21A	1.17	27.34	106.57	6.01	26.50	2.30	19.70
G7M4 15-27-1-5	0.96	45.76	170.52	4.19	19.87	12.24	54.95
G7M4 15-49-4-4	2.70	12.62	50.69	3.61	0.05	2.00	24.50
G7M4 15-49-4-7	0.90	24.44	64.48	3.00	13.45	5.58	47.00
G7M4 15-49-4-10	1.00	31.49	28.20	3.30	11.52	-	4.50
G7M4 15-49-8-8A	2.62	272.31	212.43	16.92	2.28	4.00	2.33

Tabel 4. Nilai koefisien keragaman dari beberapa parameter vegetative dan produksi mutan M4

Galur Mutan	Koefisien Keragaman (KK)							Total nilai
	Jumlah Daun	Lebar Daun	Panjang Daun	Diameter Batang	Diameter Tongkol	Jumlah Baris	Jumlah Biji/baris	
G1M4 12-11-1A-3	0.14	0.30	0.26	0.26	0.11	0.19	0.12	1.52
G1M4 12-11-1A-5	0.07	0.14	0.10	0.21	0.03	0.20	0.44	1.18
G1M1 12-11-1A-15	0.14	0.27	0.27	0.28	0.10	0.30	0.31	1.78
G1M4 12-11-1A-20	0.11	0.21	0.19	1.41	0.12	0.14	0.28	2.56
G1M4 12-11-1B-3	0.12	0.16	0.14	0.24	0.14	0.18	0.44	1.46
G1M4 12-11-1B-5	0.16	1.51	0.15	0.27	0.11	0.19	0.41	2.92
G1M4 12-11-1B-7	0.10	0.19	0.26	0.16	0.07	0.18	0.40	1.45
G1M4 12-11-1B-10	0.11	0.20	0.12	0.19	0.12	0.31	0.44	1.59
G1M4 12-14-1-1	0.17	0.19	0.20	0.35	0.01	0.06	0.18	1.31
G3M4 15-19-11-1	0.18	0.27	0.32	0.11	0.16	0.28	0.41	1.90
G3M4 15-19-11-37	0.18	0.22	0.15	0.24	0.05	0.28	0.86	2.03
G3M4 16-27-17-12	0.10	0.10	0.18	0.20	0.11	0.23	0.37	1.43
G3M4 16-2717-24	0.14	0.16	0.18	0.21	1.45	0.23	0.53	3.00
G6M4 6-12-5-5A	0.11	0.14	1.49	0.25	0.20	0.32	0.52	3.17
G6M4 6-15-4-3	0.11	0.12	0.09	0.14	0.21	0.73	0.74	2.31
G6M4 6-17-4-3	0.09	0.22	0.23	0.18	0.13	0.18	0.47	1.62
G6M4 6-19A-9-54	0.14	0.19	0.14	0.20	0.07	0.18	0.25	1.35
G6M4 6-26-6A-9	0.10	0.18	0.16	0.19	0.16	1.53	0.45	2.89
G6M4 6-17-2A-7	0.30	0.17	0.18	0.28	0.15	0.35	0.59	2.14
G6M4 6-27-2A-18A	0.14	0.24	0.26	0.28	0.15	0.25	0.31	1.74
G6M4 6-32-3A-12	0.11	0.25	0.12	0.25	0.12	0.11	0.21	1.42
G6M4 6-36-1-4	0.14	0.12	0.12	0.26	0.11	0.17	0.27	1.36
G6M4 6-36-1-21A	0.10	0.11	0.17	0.21	0.17	0.16	0.44	1.54
G7M4 15-27-1-5	0.19	0.07	0.14	0.20	0.13	0.33	0.59	1.77
G7M4 15-49-4-4	0.14	0.19	0.27	0.33	0.01	0.16	0.58	1.67
G7M4 15-49-4-7	0.11	0.11	0.18	0.23	0.14	0.29	0.55	1.72
G7M4 15-49-4-10	0.11	0.12	0.11	0.24	0.13	-	0.18	0.94
G7M4 15-49-8-8A	0.15	0.25	0.21	0.33	0.04	0.17	0.09	1.33

5.2.4. Kesimpulan

Generasi M4 sudah semakin seragam yang diindikasikan dengan nilai varian dalam genotipe yang semakin kecil dibandingkan dengan generasi sebelumnya akibat

terjadinya depresi inbreeding. Genotipe yang akan dilanjutkan untuk penggaluran generasi M5 adalah G1M4 12-11-1A-5, G1M4 12-11-1B-7, G1M4 12-14-1-1, G1M4-12-18a-1-5, G3M4 16-27-17-12, G3 M4-15-17-4-12 G6M4 6-19A-9-54, G6M4-6-19-19-4, G6M4 6-32-3A-12, G6M4 6-36-1-4, G7M4 15-49-4-10, G7M4 15-49-8-8, G7M4-15-9-3-10, G8M4-4-8-6-8, G9M4-20-44-2-8.

5.3. Seleksi primer RAPD untuk tanaman jagung

5.3.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran

Tujuan penelitian tahap ini adalah menyeleksi primer-primer RAPD yang dapat digunakan untuk karakterisasi molekuler pada tanaman jagung. Sasaran kegiatan tahap ini adalah menguji sedikitnya 60 random primer pada DNA jagung. Sedangkan luarannya adalah informasi tentang kelompok primer yang menghasilkan pita DNA pada jagung

5.3.2. Metode Penelitian

Sampel daun untuk analisis RAPD diambil pada saat tanaman berumur 3 minggu. Ekstraksi DNA menggunakan KIT XNAP extract dari SIGMA. Berbagai teknik analisis dalam pemuliaan tanaman dan biologi molekuler yang berdasarkan pada hibridisasi molekuler atau polymerase chain reaction (PCR), membutuhkan DNA dalam jumlah yang cukup dan kualitas yang baik. Oleh karena kandungan senyawa sekunder dalam sel tanaman berbeda-beda, maka setiap tanaman membutuhkan prosedur isolasi yang optimum agar diperoleh DNA genom yang dapat digunakan sebagai bahan dalam analisis molekuler seperti finger printing, gene mapping atau tagging. Senyawa sekunder akan mengurangi kualitas dan kuantitas DNA genom yang diperoleh (Milligan, 1992). Prosedur lisis DNA nukelus yang reliable untuk tanaman padi dan prosedur untuk tanaman tomat ternyata tidak dapat diaplikasikan dengan baik pada jagung (Tanskley *et al.*, 1988; Tai dan Tanskley, 1990). Prosedur yang telah dilakukan untuk mapping tersebut menghasilkan DNA dalam jumlah yang sangat sedikit dan terpotong-potong dalam ukuran panjang yang bervariasi (Prince *et al.* 1992).

Isolasi DNA jagung menggunakan KIT XNAP yang dimodifikasi adalah sebagai berikut:

1. Buat leaf disk dengan microtube 500 μ l
2. Masukkan 100 μ l extraction solution ke tube 2 ml kemudian masukkan leaf disk. Pastikan leaf disk dalam kondisi terendam.
3. Inkubasi pada suhu 95°C, selama 10 menit
4. Tambahkan 100 μ l dilution solution, vortex
5. Ambil cairannya tambahkan 200 μ l aqua bidestilata dan 100 μ l CIA (kloroform:isoamil alkohol, 24:1), dan dikocok perlahan-lahan untuk mengoptimalkan ekstraksi.
6. Sentrifuse dengan kecepatan sentrifusi 10000 rpm, suhu 4°C, 10 menit untuk memisahkan DNA yang diekstrak dari bagian jaringan tanaman lainnya.
7. Supernatan (fase cair) tempat DNA terlarut pindahkan ke tube baru menggunakan pipet mikro.
8. Tambahkan 1 ml alkohol 95%, inkubasi pada suhu dingin (4°C) sekurang-kurangnya 30 menit. Tahap ini akan menghasilkan presipitan DNA genom yang secara visual dapat terlihat.
9. Sentrifuse dengan kecepatan sentrifusi 10000 rpm, suhu 4°C, 10 menit dan buang fase cair secara hati-hati. Keringkan dengan vacuum dryer.
10. Resuspensikan pellet DNA dalam air 100 μ l bebas ion steril, DNA siap disimpan jangka pendek untuk analisis selanjutnya.

Kuantitas dan kemurnian DNA dari masing-masing hasil ekstraksi selanjutnya diuji dengan menggunakan spektrofotometer dengan membaca absorban pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Pembacaan $A_{260} = 1$ berarti konsentrasi DNA yang didapat sebesar 50 μ g/ml. Konsentrasi DNA yang didapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{faktor pengenceran} \times 5$$

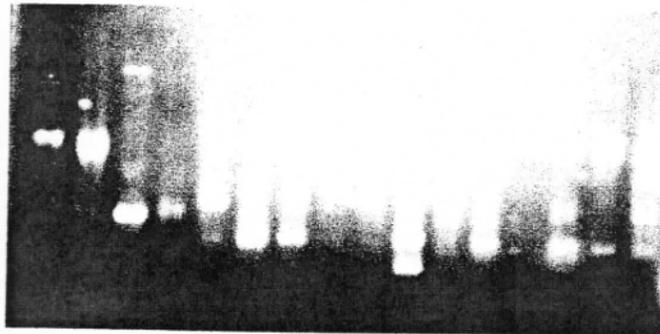
Kemurnian DNA ditetapkan berdasarkan nilai rasio A260/A280. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler mempunyai rasio A260/A280 sekitar 1.8-2.0 (Sambrook *et al.*, 1989). Kualitas DNA juga diuji elektroforesis untuk mengetahui kualitas pita yang terbentuk. Elektroforesis dilakukan pada gel agarose (0.8 b/v) menggunakan bufer TAE, voltase konstan sebesar 100 volt selama 25 menit. DNA yang telah dielektroforesis direndam dalam larutan etidium bromida (0.5 mg/l) selama 20 detik, dibilas dengan aquades secukupnya, divisualisasi di atas UV transiluminator, dan dipotret dengan menggunakan Camera Digital Canon P1000.

5.3.3. Hasil dan Pembahasan

Metode amplifikasi DNA dengan konsentrasi DNA digunakan antara 10 – 25 ng dan program PCR yang digunakan adalah sebagai berikut:

- Satu siklus - Pre PCR pada suhu 94°C selama 5 menit,
- 45 siklus - Denaturasi pada suhu 94°C selama 5 detik,
- Annealling pada suhu TM-4 selama 30 detik
- Elongation pada suhu 72°C selama 1 menit
- Satu siklus - Stop PCR pada suhu 72°C selama 10 menit.

Pada tahapan ini, random primer yang digunakan sebanyak 60 random primer dari operon technologies OPE, OPH dan OPM masing-masing 20 random primer. Dari 60 primer yang diuji diperoleh 15 primer yang menghasilkan produk amplifikasi (Gambar 7).



Gambar 7. Visualisasi pola pita hasil seleksi primer pada jagung

Urutan basa pada primer-primer yang dapat mengamplifikasi DNA jagung dan jumlah pita yang dihasilkan adalah sebagai berikut:

Tabel 5. Urutan basa primer yang dapat mengamplifikasi DNA jagung dan jumlah pita yang dihasilkan

No	OPERON	Urutan Basa	Jumlah Pita
1	OPE-7	AGATGCAGCC	5
2	OPE-8	TCACCACGGT	3
3	OPE-10	CACCAGGTGA	1
4	OPE-17	CTACTGCCGT	1
5	OPH-1	GGTCGGAGAA	1
6	OPH-6	ACGCATCGCA	2
7	OPH-7	CTGCATCGTG	3
8	OPH-8	GAAACACCCC	2
9	OPH-9	TGTAGCTGGG	2
10	OPH-16	TCTCAGCTGG	1
11	OPH-19	CTGACCAGCC	3
12	OPM-1	GTTGGTGGCT	1
13	OPM-2	ACAACGCCTC	2
14	OPM-7	CCGTGACTCA	1
15	OPM-20	AGGTCTTGGG	4

Kesimpulan

Dari 60 random primer yang diuji, diperoleh 15 primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi DNA jagung. Primer-primer yang memiliki pola pita diatas 2 adalah OPE-7, OPE-8, OPH-7, OPH-19, dan OPM-20.

5.4. Seleksi mutan generasi S5 hasil iradiasi sinar gamma pada tanah PMK

5.4.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran Penelitian

Tahap penelitian ini bertujuan untuk membentuk generasi S5 mutan hasil iradiasi sinar gamma. Hasil seleksi pada percobaan 5.2 diperoleh 15 galur selanjutnya akan diselfing dan diseleksi kembali pada tanah PMK. Sasaran kegiatan tahap ini adalah melakukan seleksi lapang generasi S5 sebagai bahan untuk diseleksi ke arah

ketenggangan terhadap kemasaman tanah. Luaran yang ingin dihasilkan adalah populasi mutan generasi S5.

5.4.2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di tanah masam PMK Desa Kandang Limun Kecamatan Muara Bangkahulu, Bengkulu. Bahan yang digunakan adalah populasi mutan generasi ke-4 hasil seleksi pada Percobaan 5.2. Galur tersebut adalah G1M5 12-11-1A-5, G1M5 12-11-1B-7, G1M5 12-14-1-1, G1M5-12-18a-1-5, G3M5 16-27-17-12, G3 M5-15-17-4-12 G6M5 6-19A-9-54, G6M5-6-19-19-4, G6M5 6-32-3A-12, G6M5 6-36-1-4, G7M5 15-49-4-10, G7M5 15-49-8-8, G7M5-15-9-3-10, G8M5-4-8-6-8, G9M5-20-44-2-8. Biji tiap-tiap tongkol ditanam dalam baris. Analisis data untuk seleksi adalah rata-rata dan varian dalam galur. Galur yang dipilih selanjutnya adalah yang memiliki varian terkecil. Jika dilihat dari ukuran vegetatif maupun tongkol, maka diperkirakan ukuran yang kecil menunjukkan terjadinya proses *inbreeding depression* tertinggi. Dari semua peubah yang diamati diakumulasikan dengan seleksi indeks. Dengan asumsi *inbreeding depression* terjadi pada semua peubah yang diamati, maka konstanta pada rumus seleksi indeks disamakan.

Pelaksanaan

Penanaman biji S5 dilakukan pada tanah podsolik merah kuning Kelurahan Kandang Limun, Kecamatan Muara Bangkahulu Bengkulu. Pupuk dasar diberikan sesuai dosis rekomendasi untuk jagung adalah urea 1 kw/ha, KCl 1 kw/ha dan TSP 1 kw/ha. Pupuk kandang juga diberikan untuk meningkatkan kesuburan dan bahan organik tanah sebanyak 5 ton/ha. Pemupukan urea ditambahkan lagi pada umur 1 bulan setelah tanam sebanyak 1 kw/ha bersamaan dengan pembumbunan tanaman. Pengendalian gulma, hama dan penyakit dilakukan sesuai dengan kebutuhan di lapang, dengan melihat insidensi jasad pengganggu tersebut. Jarak tanam dan metode penanaman mengikuti percobaan 5.2.

Pengamatan dilakukan terhadap karakter agronomis yang meliputi variabel vegetatif (tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang dan lebar daun terlebar, panjang akar, bobot brangkasan segar dan kering), variabel generatif (umur

munculnya bunga jantan, bunga betina, jumlah tongkol per tanaman, panjang tongkol, bobot tongkol berklobot, bobot tongkol tanpa klobot, bobot dan jumlah biji per tongkol, bobot 100 biji, bobot biji per tanaman.

5.4.3. Hasil dan Pembahasan

Dari 15 genotipe yang ditanam, jumlah tanaman dilapang sebanyak 176. Masing-masing genotipe ditanam dengan jumlah biji yang tidak sama tergantung jumlah biji tiap tongkol. Analisa data terhadap peubah yang diamati diutamakan pada nilai tara-rata dan varian dalam alur. Nilai rata-rata menunjukkan ukuran galur. Proses inbreedin depression menyebabkan ukuran semua peubah menjadi lebih kecil. Dengan demikian semakin kecil nilai rata-rata menunjukkan semakin besar peluang heterosis pada hibridanya.

Tabel 6. Rata-rata (m) dan varian (v) yang distandarisasi terhadap peubah tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun

Galur	Sampel	mTT	vTT	mDBT	vDBT	mJD	vJD	mPD	vPD	mLD	vLD
G1M5 12-11-1A-5	11	-0,01	0,00	0,76	-0,75	0,62	-0,73	-0,03	-0,01	-0,02	0,00
G1M5 12-11-1B-7	14	0,03	0,00	1,30	3,86	1,05	1,08	0,03	-0,01	-0,01	0,00
G1M5 12-14-1-1	10	-0,01	0,00	-0,23	-0,42	-0,21	0,60	-0,15	-0,01	-0,03	0,00
G1M5-12-18a-1-5	13	-0,03	0,00	-0,13	0,32	0,51	-0,56	-0,17	-0,02	-0,03	0,00
G3 M5-15-17-4-12	14	-0,01	0,00	-1,06	-0,90	0,14	-0,51	-0,02	0,00	-0,02	0,00
G3M5-16-27-17-12	12	0,01	0,00	1,06	0,35	-0,26	-0,47	0,07	0,00	-0,02	0,00
G6 M5-6-19-19-4	10	-0,01	0,00	-1,30	-0,90	-0,58	-1,05	-0,08	-0,02	-0,03	0,00
G6M5 6-19A-9-54	11	-0,01	0,00	0,34	0,29	-0,07	1,20	-0,04	0,01	-0,03	0,00
G6M5 6-32-3A-12	10	0,02	0,00	0,19	-0,18	-0,13	-0,42	0,06	-0,01	-0,02	0,00
G6M5 6-36-1-4	11	0,03	0,00	1,01	-0,09	-0,34	-0,10	0,07	0,00	-0,01	0,00
G7 M5-15-9-3-10	13	-0,01	0,00	-0,39	0,23	-0,54	-0,59	-0,10	0,03	-0,03	0,00
G7M5 15-49-4-10	13	0,00	0,00	-0,64	-0,39	-0,07	0,40	0,00	0,02	-0,01	0,00
G7M5 15-49-8-8	9	0,01	0,00	0,37	-0,03	-0,38	1,01	0,04	0,01	-0,01	0,00
G8 M5-4-8-6-8	8	0,06	0,00	-0,56	-0,96	-0,13	-0,97	0,29	0,00	-0,01	0,00
G9 M5-20-44-2-8	17	-0,01	0,00	-0,83	-0,24	0,27	-1,03	-0,02	-0,01	-0,01	0,00

Nilai varian diperlukan untuk melihat keseragaman galur. Jika varian masih diatas 10% maka dianggap belum sempurna proses penggaluran atau masih diperlukan selfing lagi. Pada sebagian besar peubah yang diamati nilai varian lebih kecil dari 10%. Namun untuk tinggi tanaman dan jumlah daun, beberapa galur memiliki varian lebih besar dari 10%. Pada Tabel 6, Tabel 7 dan Tabel 8 dicantumkan nilai rata-rata dan varian yang distandarisasi. Standarisasi diperlukan untuk menyamakan nilai pada semua peubah. Jumlah dari semua nilai terstandarisasi pada semua peubah menunjukkan nilai indeks. Rumus seleksi indeks mengikuti percobaan 5.1.

Tabel 7. Rata-rata (m) dan varian (v) yang distandarisasi terhadap panjang tongkol, panjang baris biji, diameter tongkol, jumlah baris biji dan jumlah baris per biji

Galur	mPT	vPT	mPBBJ	vPBBJ	mDT	vDT	mJBBJ	vJBBJ	mJBJPB	vJBJPB
G1M5 12-11-1A-5	-0,05	0,00	-0,15	0,00	-0,14	-0,01	-0,04	-0,07	-0,09	-0,02
G1M5 12-11-1B-7	0,07	0,00	0,34	0,00	0,12	-0,01	1,17	-0,06	0,20	-0,01
G1M5 12-14-1-1	-0,20	0,00	-0,29	0,00	-0,16	-0,01	0,24	0,10	-0,11	0,00
G1M5-12-18a-1-5	-0,13	0,00	-0,31	0,00	-0,24	-0,01	0,03	-0,04	-0,09	-0,04
G3 M5-15-17-4-12	-0,17	0,00	-0,44	0,00	-0,39	-0,01	-0,17	-0,02	-0,11	-0,06
G3M5 16-27-17-12	0,04	0,00	0,08	0,00	0,13	-0,01	0,59	-0,05	0,06	-0,05
G6 M5-6-19-19-4	-0,18	0,00	-0,47	0,00	-0,47	-0,01	-1,17	-0,05	-0,15	-0,03
G6M5 6-19A-9-54	0,02	0,00	0,08	0,00	-0,07	0,00	0,99	-0,03	0,14	0,01
G6M5 6-32-3A-12	0,06	0,00	0,22	0,00	0,11	-0,01	0,43	-0,06	0,14	0,07
G6M5 6-36-1-4	0,10	0,00	0,22	0,00	0,29	-0,01	0,99	-0,01	0,20	0,01
G7 M5-15-9-3-10	-0,14	0,00	-0,37	0,00	-0,53	-0,01	-1,41	0,01	-0,25	-0,05
G7M5 15-49-4-10	0,02	0,00	0,01	0,00	-0,02	-0,01	0,18	-0,02	-0,01	0,05
G7M5 15-49-8-8	0,12	0,00	0,36	0,00	0,00	-0,01	0,07	0,23	0,11	-0,01
G8 M5-4-8-6-8	0,05	0,00	0,03	0,00	-0,06	-0,01	0,08	-0,09	0,06	-0,03
G9 M5-20-44-2-8	-0,09	0,00	-0,12	0,00	-0,33	-0,01	-0,15	-0,06	-0,03	-0,04

Nilai indeks terkecil menunjukkan galur yang baik karena rata-rata kecil dan varian kecil untuk semua peubah. Pada penelitian ini diperoleh 6 galur terpilih yaitu

G1M5-12-18a-1-5, G3 M5-15-17-4-12, G6 M5-6-19-19-4, G7 M5-15-9-3-10, G8 M5-4-8-6-8, G9 M5-20-44-2-8. Galur tersebut selanjutnya akan dikarakterisasi secara morfologi sekaligus dilakukan selfing berikutnya sehingga diperoleh galur S6.

Tabel 8. Rata-rata (m) dan varian (v) yang distandarisasi terhadap jumlah biji per tongkol, bobot biji per tongkol dan nilai indeks dari semua peubah yang diamati

Galur	mJBPT	vJBPT	mBBJ	vBBJ	INDEKS*
G1M5 12-11-1A-5	0,00	0,00	-0,01	0,00	-0,73
G1M5 12-11-1B-7	0,02	0,00	0,02	0,00	9,19
G1M5 12-14-1-1	-0,01	0,00	-0,01	0,00	-0,92
G1M5-12-18a-1-5	-0,01	0,00	-0,02	0,00	-0,96
G3 M5-15-17-4-12	-0,01	0,00	-0,02	0,00	-3,78
G3M5 16-27-17-12	0,01	0,00	0,01	0,00	1,55
G6 M5-6-19-19-4	-0,01	0,00	-0,02	0,00	-6,54
G6M5 6-19A-9-54	0,01	0,00	0,01	0,00	2,85
G6M5 6-32-3A-12	0,01	0,00	0,01	0,00	0,49
G6M5 6-36-1-4	0,02	0,00	0,02	0,00	2,38
G7 M5-15-9-3-10	-0,02	0,00	-0,02	0,00	-4,19
G7M5 15-49-4-10	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,50
G7M5 15-49-8-8	0,01	0,00	0,01	0,00	1,90
G8 M5-4-8-6-8	0,00	0,00	0,00	0,00	-2,24
G9 M5-20-44-2-8	0,00	0,00	-0,01	0,00	-2,75

*indeks dihitung berdasarkan nilai rata-rata dan varian terstandarisasi terhadap 12 peubah yang diamati

Kesimpulan

Galur dengan famili terbaik ditunjukkan pada nilai indeks terkecil adalah G1M5-12-18a-1-5, G3 M5-15-17-4-12, G6 M5-6-19-19-4, G7 M5-15-9-3-10, G8 M5-4-8-6-8, G9 M5-20-44-2-8.

5.5. Karakterisasi morfologi mutan generasi S6 hasil iradiasi sinar gamma

5.5.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran Penelitian

Tahap penelitian ini bertujuan untuk membuat populasi generasi S6 yang cukup untuk tetua hibrida dan mengkarakterisasi mutan secara morfologi. Sasaran kegiatan tahap ini adalah mendapatkan jumlah generasi S6 sebagai bahan untuk perakitan hibrida dan karakter morfologi mutan. Luaran yang ingin dihasilkan adalah populasi mutan generasi S6.

5.5.2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di tanah masam PMK Desa Kandang Limun Kecamatan Muara Bangkahulu, Bengkulu. Bahan yang digunakan adalah populasi mutan generasi ke-5 hasil seleksi pada percobaan 5.4. Tiap tongkol terpilih ditanam dalam baris.

Pelaksanaan

Penanaman biji S5 dilakukan pada tanah podsolik merah kuning Kelurahan Kandang Limun, Kecamatan Muara Bangkahulu Bengkulu. Pupuk dasar diberikan sesuai dosis rekomendasi untuk jagung adalah urea 1 kw/ha, KCl 1 kw/ha dan TSP 1 kw/ha. Pupuk kandang juga diberikan untuk meningkatkan kesuburan dan bahan organik tanah sebanyak 5 ton/ha. Pemupukan urea ditambahkan lagi pada umur 1 bulan setelah tanam sebanyak 1 kw/ha bersamaan dengan pembumbunan tanaman. Pengendalian gulma, hama dan penyakit dilakukan sesuai dengan kebutuhan di lapang, dengan melihat insidensi jasad pengganggu tersebut.

Biji S5 ditanam dalam barisan dengan sistem tanam ear to row (satu tongkol menjadi satu baris). Jarak tanam antar tanaman dalam baris 25 cm dan antar baris 75 cm. Jumlah tanaman setiap baris adalah sesuai dengan biji yang diperoleh dalam satu tongkol. Jumlah baris dari setiap galur sesuai hasil seleksi pada generasi S4. Galur ditanam secara terpisah satu sama lain. Jarak antar galur dibuat parit selebar 1.5 m

Pengamatan dilakukan terhadap karakter agronomis yang meliputi variabel vegetatif (tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang dan lebar daun terlebar, panjang akar, bobot brangkasan segar dan kering), variabel generatif (jumlah tongkol per tanaman, panjang tongkol, bobot tongkol, bobot dan jumlah biji per tongkol, bobot 100 biji, bobot biji per tanaman).

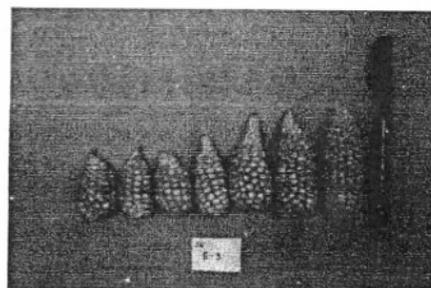
5.5.3. Hasil dan Pembahasan

Tetua terpilih berdasarkan seleksi indeks pada percobaan 5.4 adalah 6 galur yaitu G1M5-12-18a-1-5, G3 M5-15-17-4-12, G6 M5-6-19-19-4, G7 M5-15-9-3-10, G8 M5-4-8-6-8, G9 M5-20-44-2-8. Masing-masing galur dikarakterisasi secara morfologi baik pertumbuhan vegetatif maupun generatif. Berikut deskripsi galur S6 terdiri atas karakter morfologi hasil pengamatan vegetatif dan generative serta penampilan tongkol masing-masing galur.

Dapat dilihat bahwa penampilan morfologi tongkol sangat kecil. Standarisasi nilai semua peubah yang diamati menghasilkan angka yang negatif yang berarti bahwa rata-rata setiap galur terpilih lebih kecil dari rata-rata keseluruhan. Hal ini disebabkan karena adanya inbreeding depression pada proses penggaluran dengan selfing terus menerus. Semakin besar terjadi inbreeding depression maka jika disilangkan akan semakin besar kemungkinan terjadi heterosis pada hibrida.

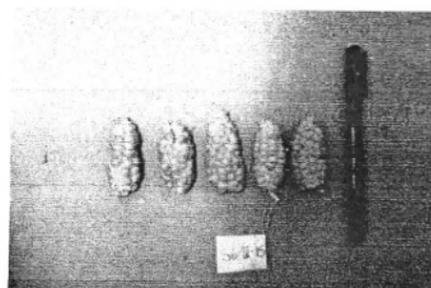
1. G1M6-12-18a-1-5

No	Karakter	Deskripsi
1	Tinggi tanaman	:101,5 cm
2	Diameter batang	:3,5 cm
3	Jumlah daun	:7,85
4	Panjang daun	:40.65 cm
5	Lebar daun	:4,5 cm
6	Panjang tongkol	:6,4 cm
7	Diameter tongkol	:2,8 cm
8	Panjang baris biji	:5,44 cm
9	Jumlah baris biji	:10,15
10	Jumlah biji per baris	:10,31
11	Jumlah biji per tongkol	:95.69
12	Bobot biji per tongkol	:12,81 g



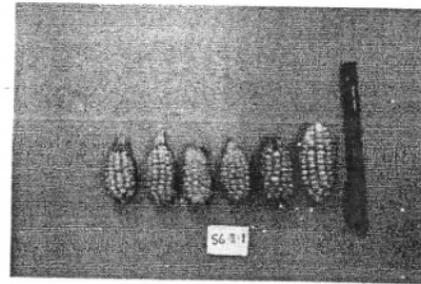
2. G3 M6-15-17-4-12

No	Karakter	Deskripsi
1	Tinggi tanaman	:112,96 cm
2	Diameter batang	:2,61cm
3	Jumlah daun	:7,36
4	Panjang daun	:70,63 cm
5	Lebar daun	:5.11 cm
6	Panjang tongkol	:5.56 cm
7	Diameter tongkol	:2,53 cm
8	Panjang baris biji	:4.55 cm
9	Jumlah baris biji	:9.71
10	Jumlah biji per baris	:9.43
11	Jumlah biji per tongkol	:65.14
12	Bobot biji per tongkol	:9.2 g



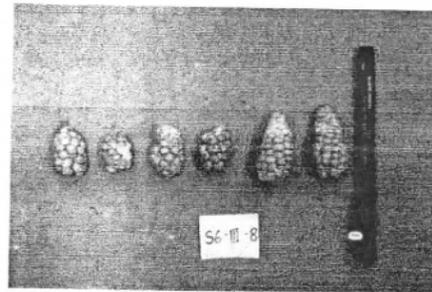
3. G6 M5-6-19-19-4

No	Karakter	Deskripsi
1	Tinggi tanaman	:119,96 cm
2	Diameter batang	:2,38 cm
3	Jumlah daun	:6,4
4	Panjang daun	:59,57 cm
5	Lebar daun	:4,56 cm
6	Panjang tongkol	:5,27 cm
7	Diameter tongkol	:2,39 cm
8	Panjang baris biji	:4,3 cm
9	Jumlah baris biji	:7,6
10	Jumlah biji per baris	:7,9
11	Jumlah biji per tongkol	:53,3
12	Bobot biji per tongkol	:5,36 g



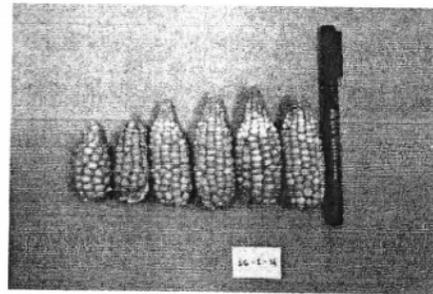
4. G7 M5-15-9-3-10

No	Karakter	Deskripsi
1	Tinggi tanaman	:115,94 cm
2	Diameter batang	:3,25 cm
3	Jumlah daun	:6,46
4	Panjang daun	:46,45 cm
5	Lebar daun	:4,73 cm
6	Panjang tongkol	:6,12 cm
7	Diameter tongkol	:2,28 cm
8	Panjang baris biji	:5,02 cm
9	Jumlah baris biji	:7,08
10	Jumlah biji per baris	:4,46
11	Jumlah biji per tongkol	:31,31
12	Bobot biji per tongkol	:5,28 g



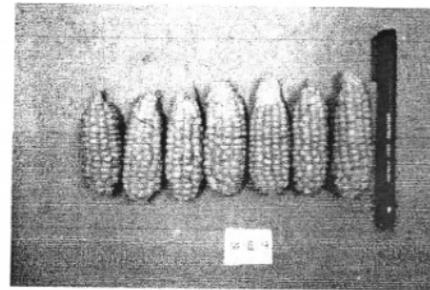
5. G8 M5-4-8-6-8

No	Karakter	Deskripsi
1	Tinggi tanaman	:182.13 cm
2	Diameter batang	:3.09 cm
3	Jumlah daun	:7
4	Panjang daun	:78.16 cm
5	Lebar daun	:6.04 cm
6	Panjang tongkol	:10,31 cm
7	Diameter tongkol	:3.13 cm
8	Panjang baris biji	:7,89 cm
9	Jumlah baris biji	:10,25
10	Jumlah biji per baris	:16
11	Jumlah biji per tongkol	:163
12	Bobot biji per tongkol	:27.29 g



6. G9 M5-20-44-2-8

No	Karakter	Deskripsi
1	Tinggi tanaman	:118.37 cm
2	Diameter batang	:2,83 cm
3	Jumlah daun	:7,53
4	Panjang daun	:52,63 cm
5	Lebar daun	:5,7 cm
6	Panjang tongkol	:7.25 cm
7	Diameter tongkol	:2,64 cm
8	Panjang baris biji	:6.84 cm
9	Jumlah baris biji	:9.76
10	Jumlah biji per baris	:12,76
11	Jumlah biji per tongkol	:108,18
12	Bobot biji per tongkol	:16,83 g



Kesimpulan

Sampai akhir tahun kedua ini telah diperoleh 6 galur S6 yang sudah dikarakterisasi secara morfologi. Selanjutnya benih digunakan untuk bahan persilangan dialel pada perakitan hibrida.

5.6. Identifikasi mutan berdasarkan penanda RAPD

5.6.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran Penelitian

Tujuan kegiatan tahap ini adalah menganalisis secara molekuler adanya mutasi pada galur S6 yang dihasilkan dari dua metode seleksi tahap sebelumnya. Sasarannya adalah mendapatkan polimorfisme mutan S6 dibandingkan tetua asalnya berdasarkan karakter molekuler. Luaran yang diharapkan adalah informasi secara molekuler mutasi pada mutan S6.

5.6.2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca dan Laboratorium Pusat Studi Pemuliaan Tanaman IPB. Bahan yang digunakan adalah generasi S6 dan tetua asalnya. Karakter molekuler yang diamati adalah pola pita DNA berdasarkan analisis RAPD.

Isolasi DNA Jagung

Isolasi DNA jagung menggunakan KIT Red EXTRACT DNA AMP yang dimodifikasi sesuai dengan percobaan 5.3. Sampel DNA diambil dari 6 mutan dan 6 tetua asalnya. Masing-masing disiapkan sebanyak 200 µg.

Kuantitas dan kemurnian DNA dari masing-masing hasil ekstraksi selanjutnya diuji dengan menggunakan spektrofotometer dengan membaca absorban pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Pembacaan $A_{260} = 1$ berarti konsentrasi DNA yang didapat sebesar 50 µg/ml. Konsentrasi DNA yang didapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{faktor pengenceran} \times 5$$

Kemurnian DNA ditetapkan berdasarkan nilai rasio A_{260}/A_{280} . Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler mempunyai rasio A_{260}/A_{280} sekitar 1.8-2.0 (Sambrook *et al.*, 1989). Kualitas DNA juga diuji elektroforesis untuk mengetahui kualitas pita yang terbentuk. Elektroforesis dilakukan pada gel agarose (0.8 b/v) menggunakan bufer TAE, voltase konstan sebesar 100 volt selama 25 menit. DNA yang telah dielektroforesis direndam dalam larutan etidium bromida (0.5

mg/l) selama 20 detik, dibilas dengan aquades secukupnya, divisualisasi di atas UV transiluminator, dan dipotret dengan menggunakan camera digital.

Analisis RAPD

Metode amplifikasi DNA dengan konsentrasi DNA digunakan antara 10 – 25 ng dan program PCR sama dengan percobaan 5.3. Random primer yang digunakan adalah primer yang menghasilkan pita lebih dari dua pada seleksi primer (Percobaan 5.3). Primer-primer tersebut adalah OPE-7, OPE-8, OPH-7, OPH-19, dan OPM-20.

5.6.3. Hasil dan Pembahasan

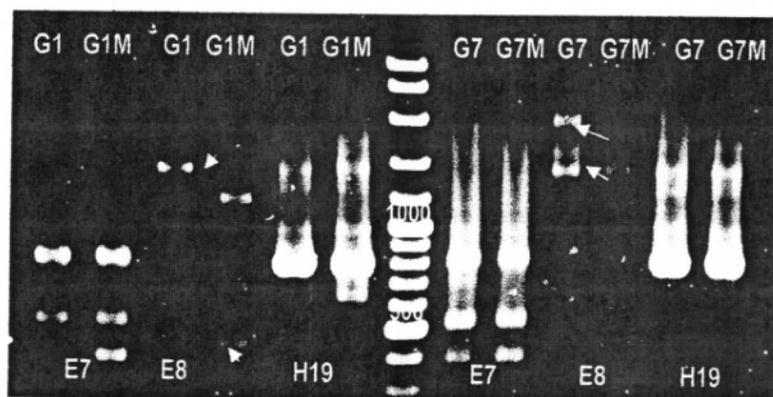
Teknik RAPD biasanya dipilih dengan alasan: hanya memerlukan DNA dalam jumlah nanogram, belum ada informasi sequen DNA tanaman, tidak menggunakan materi radioaktif, mudah dan murah. Random primer biasanya spesifik dalam spesies tanaman. Oleh karena itu daftar primer yang diperoleh pada penelitian ini dapat digunakan peneliti lain untuk amplifikasi DNA jagung sehingga mempercepat waktu dan menghemat biaya analisis RAPD.

Primer-primer yang dapat mengamplifikasi dengan jumlah pita lebih dari 2 sangat berpeluang menghasilkan polimorfisme pada tanaman yang dianalisis. Berdasarkan data di atas maka primer yang digunakan untuk identifikasi penanda RAPD mutan jagung adalah OPE-07, OPE-06, OPH7, OPH-19 dan OPM-20. OPE-07 dengan jumlah pita 4 sangat bagus untuk analisis polimorfisme.

Template PCR untuk identifikasi polimorfisme adalah DNA G1, G3, G6, G7, G* dan G9 baik dari tetua asal maupun setelah diradiasi sinar gamma. Masing-masing DNA diamplifikasi menggunakan 5 primer terseleksi. Visualisasi hasil PCR dielektroforesis bersamaan dengan marker 1 kb ladder. Marker diperlukan untuk kuantifikasi pita DNA berdasarkan panjang potongan. Gambar 8 dan Gambar 9 adalah sebagian data hasil amplifikasi. Polimorfisme pola pita antara mutan dan tetua asalnya ditunjukkan oleh tanda panah.

Pada G1 yang diamplifikasi dengan primer OPE-08 terdapat pita dengan ukuran 1500 bp, sedangkan G1M dengan primer yang sama tidak ada pita. Perbedaan pola

pita tersebut menunjukkan bahwa template DNA keduanya juga berbeda. Perbedaan ukuran pita DNA yang dihasilkan dari satu primer diasumsikan berasal dari lokus yang berbeda. Berdasarkan data hasil amplifikasi yang dilakukan, semua mutan irradiasi sinar gamma berbeda dengan tetua asalnya (Tabel 9).



Gambar 7. Hasil amplifikasi pada jagung galur G1 dan G7 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19



Gambar 8. Hasil amplifikasi pada jagung galur G8 dan G9 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19

Polimorfisme pola pita RAPD disebabkan oleh terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diiradiasi. Mutasi titik atau perubahan pada 1 basa DNA sudah dapat menyebabkan perbedaan *template* sehingga terjadi perbedaan pola pita RAPD. Micke dan Donini (1993) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma dapat mengionisasi atom-atom dalam jaringan dengan cara melepaskan elektron-elektron dari atomnya. Ionisasi dapat menyebabkan pengelompokkan molekul-molekul sepanjang jalur ion yang tertinggal karena iradiasi. Pengelompokkan baru seperti ini menyebabkan perubahan kimia yang mengarah pada kesalahan berpasangan dalam DNA. mutasi gen atau pada kerusakan atau pengaturan kembali kromosom.

Tabel 9. Polimorfisme pola pita RAPD pada DNA mutan iradiasi sinar gamma dan tetua asal

Primer	G1	G1 M	G3	G3 M	G6	G6 M	G7	G7 M	G8	G8 M	G9	G9 M
OPE07 ₅₀₀									+	-		
OPE08 ₄₅₀											-	+
OPE08 ₆₀₀									+	-	-	+
OPE08 ₁₅₀₀	+	-										
OPE08 ₁₆₀₀							+	-				
OPE08 ₂₀₀₀							+	-			+	-
OPH07 ₆₀₀					+	-						
OPM20 ₁₁₀₀			+	-								

Konsistensi pita RAPD sebagai penanda molekuler tanaman telah dibuktikan oleh Herison *et al.* (2010) dalam identifikasi pola pita tanaman BC2 cabai dengan tetua recurrent. Primer yang sama digunakan untuk identifikasi tanaman BC3 menghasilkan pola pita yang identik. Penanda RAPD juga telah digunakan untuk analisis keterpautan gen ketahanan terhadap CMV pada cabai (Rustikawati *et al.*, 2008).

Kesimpulan

Semua genotipe hasil iradiasi sinar gamma yang dianalisis memiliki polimorfisme pola pita DNA dengan tetua asalnya. Berdasarkan pola pita RAPD yang dihasilkan, polimorfisme pada mutan G1, G3 dan G6 terjadi pada 1 lokus, sedangkan G7, G8 dan G9 terjadi polimorfisme pada 2 lokus. Dengan demikian radiasi 275 Gy dapat menginduksi terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diteliti.

5.7. Uji daya gabung umum dan daya gabung khusus mutan S6

5..7.1. Tujuan, Sasaran dan Luaran Penelitian

Tahap awal dalam usaha perbaikan karakter tanaman melalui persilangan antar galur, adalah evaluasi daya gabung umum (DGU) dan daya gabung khusus (DGK). Pengetahuan ini diperlukan untuk mengidentifikasi kombinasi tetua yang akan menghasilkan turunan yang berpotensi hasil tinggi. Hasil tinggi dapat dicapai jika turunan dari kombinasi tetua tersebut memiliki heterosis positif dan daya gabung yang tinggi.

Daya gabung merupakan ukuran kemampuan dari suatu kombinasi untuk menghasilkan kombinasi turunan yang diharapkan. Populasi yang telah diidentifikasi memiliki DGU tinggi sering berpeluang memiliki DGK yang tinggi pula. Heterosis merupakan penampilan superioritas hibrida dibandingkan dengan tetuanya. menurut Whaley (1964) persilangan antara galur homozigot yang berbeda, dapat menyembunyikan sifat cacat yang resesif dan mengembalikan vigor hibrida.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari daya gabung umum dan daya gabung khusus serta efek heterosis beberapa galur yang berdaya hasil tinggi dalam rangka perakitan kultivar hibrida. Sasarannya adalah untuk menyeleksi pasangan tetua yang berpotensi menghasilkan kultivar hibrida harapan. Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah informasi DGU, DGK dan potensi heterosis.

5..7.2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Unib. Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian adalah 6 galur yang

terdiri dari ; G1M5-12-18-1-5, G3M5-15-17-4-12, G6M5 6-19-19-4, G7M5 15-9-3-10, G8M5 4-8-6-8, G9M5 20-44-2-8 dan lima belas hasil persilangan setengah dialel. Ke-enam galur tersebut adalah generasi S6 setelah induksi mutasi dengan radiasi sinar gamma. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok (RAKL) dengan 3 ulangan. Perlakuan terdiri atas 21 genotipe yang meliputi 6 tetua dan 15 hibrida. Petak percobaan berukuran 1,5 m x 3 m, biji ditanam dalam barisan dengan jarak tanam 75cm antar baris dan 30cm dalam baris.

Pengolahan tanah dilakukan menggunakan alat cangkul dengan kedalaman 20 cm, setelah itu tanah diratakan. Sebelum ditanam, biji direndam dengan fungisida *Ridomil* 5 gram/ liter selama 10 menit supaya bebas dari cendawan. Benih ditanam sebanyak 1 butir pada setiap lubang tanam yang telah dibuat dengan menggunakan tugal. Sebelum melakukan penanaman, diberikan *Carbofuran* 3% sebanyak 5 sampai 10 butir setara dengan dosis 20 kg.ha⁻¹ pada lubang tanam untuk mencegah gangguan serangga. Penyulaman dilakukan lima hari setelah tanam dengan menanam kembali di tempat yang tidak tumbuh tanaman pada setiap baris. Pemupukan dilakukan dua kali sesuai dengan anjuran untuk hibrida komersial. Sebagai pupuk dasar yang diberikan adalah urea 150 kg/ha, SP-36 100 kg/ha dan KCL 200 kg/ha. Pemupukan urea ditambahkan lagi pada umur 5 minggu setelah tanam dilakukan pemupukan urea sebanyak 150 kg/ha bersamaan dengan pembumbunan tanaman.

Pemeliharaan meliputi penyiraman, pengendalian gulma dan hama penyakit dilakukan sesuai kebutuhan di lapang. Penyiraman dilakukan dua hari sekali jika tidak turun hujan. Jika terjadi hujan lebat, maka air hujan dapat disalurkan melalui saluran drainase yang sudah disiapkan untuk menghindari tanaman jagung tergenang air.

Pengendalian gulma yang tumbuh pada petak percobaan dilakukan secara manual dengan menggunakan alat sabit dan cangkul. Pengendalian hama penyakit menggunakan pestisida *Deltrametrin* 25 g/l dengan dosis 2 ml/liter dan frekuensi pemakaian melihat pada tingkat serangan organisme pengganggu.

Pembubunan dilakukan pada saat tanaman jagung berumur 5 minggu setelah tanam yang bersamaan dengan pemupukan kedua. Tanah di antara tanaman digemburkan, kemudian ditimbunkan pada bidang pangkal batang tanaman jagung.

Pemanenan dilakukan pada saat tongkol masak fisiologis dengan ciri-ciri menurut (Adisarwanto dan Widyastuti, 2009) sebagai berikut:

- Tongkol jagung sudah berwarna kuning
- Jika tongkol di kupas tongkol akan tampak keras dan terdapat *black layer* pada ujung biji
- Bernas dan mengkilap
- Bila ditekan dengan kuku tangan tidak menunjukkan bekas tekanan

Variabel yang diamati

Pengamatan karakter morfologi mengikuti CYMMIT (1991) :

- (1) Tinggi Tanaman (cm)
Pengukuran menggunakan meteran yang diukur dari leher akar hingga ruas terakhir (muncul bunga jantan)
- (2) Diameter Batang (mm)
Pengukuran dilakukan pada ruas batang pertama di atas tanah setelah 2 minggu anthesis dengan menggunakan alat jangka sorong digital (*Krisbow KW 06-77*)
- (3) Jumlah Daun (helai)
Jumlah daun dihitung dengan menghitung seluruh daun yang telah membuka sempurna. Pengukuran jumlah dilakukan setiap minggu sejak tanaman berumur 2 MST hingga muncul bunga jantan.
- (4) Panjang Daun (cm)
Pengukuran dilakukan dengan menggunakan meteran yang diukur dari pangkal daun hingga ujung daun terpanjang
- (5) Lebar Daun (cm)
Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mistar pada bagian tengah daun terlebar
- (6) Umur Berbunga Jantan (hari)

Pengamatan dilakukan pada saat tanaman muncul bunga jantan 50% dari total populasi

(7) Umur Berbunga Betina (hari)

Pengamatan dilakukan pada saat tanaman muncul bunga betina 50% dari total populasi

(8) Umur Panen (hari)

Pengamatan dilakukan pada saat setiap tongkol sesuai kriteria menurut (Adisarwanto dan Widyastuti, 2009)

(9) Panjang Tongkol (cm)

Pengukuran menggunakan mistar yang diukur dari pangkal hingga pada ujung tongkol.

(10) Diameter Tongkol (mm)

Pengukuran dilakukan pada bagian tongkol terbesar dengan menggunakan jangka sorong digital (Krisbow KW 06-77)

(11) Panjang Baris Biji (cm)

Pengukuran menggunakan mistar yang diukur dari pangkal hingga ujung barisan biji pada tongkol

(12) Bobot Biji Kering (g)

Pengukuran dilakukan dengan menimbang biji kering (kadar air berkisar 15% sampai 17%) dengan menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P 12406736*).

(13) Bobot 100 biji (g)

Pengukuran dilakukan terhadap 100 biji pipilan kering dengan menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P 12406736*).

Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis secara statistik menggunakan analisis varians dengan uji F pada taraf 5 % dan bila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5 %.

Efek daya gabung diestimasi dengan rumus Griffing Metode 2 (Singh dan Chaudhary, 1979)

$$DGU = 1/(p+2)[\sum(y.i+y_{ii})-2y_{ij}/p+y_{..}]$$

$$DGK = Y_{ij} - 1/(p+2) (Y.i + Y_{ii} + Y.j + Y_{jj}) + 2Y_{..}/(p+1)(p+2)$$

Keterangan :

p = Tetua

y.i = Jumlah dan rata-rata persilangan ke-i

y_{ii} = Rata-rata persilangan ke- i x i

Y = Jumlah total

Y_{ij} = Rata-rata persilangan i x j

Y.j = Total rata-rata persilangan ke j

Y_{jj} = Rata- rata persilangan j x j

Perbedaan efek daya gabung di uji t (Singh dan Chaudhary, 1979).

PK = Galat baku x t.

5..7.3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian tahap ini diawali dengan persilangan dengan skema dialel lengkap menggunakan dari 6 galur tetua. Persilangan dilakukan untuk membentuk rekombinasi genetik antar tetua. Pada tanaman menyerbuk silang seperti jagung, persilangan antar galur murni dapat menghasilkan hibrida yang memiliki sifat lebih baik dari tetuanya karena efek heterosis. Pada penelitian ini, galur asal yang digunakan adalah biji selfing keempat (S4), dan setelah dimutasikan dengan radiasi sinar gamma dilakukan selfing lagi sampai turunan keenam (S6). Karena mutasi sinar gamma merupakan mutasi induksi spontan yang sering terjadi pada gen tertentu (*simple genik*) maka sebagian besar gen pada kromosom jagung diharapkan telah terjadi homozigotisasi sampai generasi ke-10 atau sekitar 99,9%. Oleh karena itu generasi tersebut telah cukup untuk tetua hibrida. Skema persilangan setengah dialel yang dilakukan adalah sebagai berikut:

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
P1		F1 (1-1)	F1 (1-3)	F1 (1-4)	F1 (1-5)	F1 (1-6)
P2			F1 (2-3)	F1 (2-4)	F1 (2-5)	F1 (2-6)
P3				F1 (3-4)	F1 (3-5)	F1 (3-6)
P4					F1 (4-5)	F1 (4-6)
P5						F1 (5-6)
P6						

Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa genotipe berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah daun, panjang daun dan lebar daun (Tabel 10). Tinggi tanaman dan diameter batang tidak berbeda antar genotype. Dari analisis lanjut dengan DMRT jumlah daun beberapa hibrida nyata berbeda dengan kedua tetuanya. Hibrida yang menunjukkan fenomena tersebut adalah G6XG1, G7XG1, G8XG7, dan G9XG1 yang memiliki jumlah daun lebih banyak. Sedangkan hibrida G9XG8 memiliki jumlah daun yang lebih sedikit dibandingkan dengan tetuanya. Namun jika dikaitkan dengan parameter panjang daun, hibrida G9XG8 justru memiliki daun terpanjang yaitu 85, 40 cm (Tabel 10).

Hibrida G7XG6 dan G8XG6 memiliki panjang daun yang lebih rendah dari kedua tetuanya. Untuk hibrida yang lain memiliki panjang daun yang tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf 5 %. Parameter lebar daun lebih bervariasi dibandingkan panjang daun. Hibrida dengan daun paling lebar adalah G9XG1. Sedangkan lebar daun paling kecil adalah G7XG1 dan G7XG3. Parameter panjang dan lebar daun adalah pendukung parameter produksi dalam hal kemampuan tanaman untuk berfotosintesis. Dalam pengamatan diatas, panjang dan lebar daun kurang menunjukkan konsistensi untuk ditarik kesimpulan sehingga diperlukan tambahan analisis untuk menghitung luas daun. Gambar 9 dan Gambar 10 menunjukkan kondisi pertanaman di lapang pada umur 5 dan 7 MST.

Tabel 10 Rata-rata tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun tetua dan persilangannya

GENOTIPE	Tinggi Tanaman	Diameter Batang	Jumlah Daun	Panjang Daun	Lebar Daun
G1	122,20 a	1,83 a	9,80 ab	77,73 ab	8,12 ab
G3	122,60 a	1,73 a	8,60 ab	75,40 ab	7,96 abc
G6	118,33 a	1,69 a	8,93 ab	76,20 ab	7,18 cd
G7	103,20 a	1,85 a	9,40 ab	73,80 ab	7,96 abc
G8	122,00 a	1,87 a	9,47 ab	77,13 ab	8,17 ab
G9	125,67 a	1,73 a	8,60 ab	75,20 ab	7,21 cd
G3XG1	111,93 a	1,66 a	9,47 ab	76,00 ab	7,58 bcd
G6XG1	115,73 a	1,70 a	10,13 a	80,20 ab	7,54 bcd
G6XG3	115,47 a	1,79 a	9,33 ab	74,13 ab	8,00 abc
G7XG1	126,47 a	1,77 a	10,20 a	75,00 ab	7,18 cd
G7XG3	108,40 a	1,81 a	8,93 ab	73,73 ab	7,23 cd
G7XG6	97,60 a	1,73 a	9,33 ab	71,53 b	7,43 bcd
G8XG1	125,00 a	1,74 a	9,40 ab	76,93 ab	7,85 abcd
G8XG3	129,47 a	1,89 a	9,07 ab	81,67 ab	7,97 abc
G8XG6	106,73 a	1,76 a	9,67 ab	71,53 b	7,35 bcd
G8XG7	127,80 a	1,75 a	10,07 a	76,07 ab	7,03 cd
G9XG1	106,60 a	1,73 a	10,07 a	73,13 ab	8,63 a
G9XG3	117,73 a	1,85 a	9,13 ab	77,07 ab	7,71 bcd
G9XG6	116,27 a	1,81 a	10,00 ab	74,93 ab	7,63 bcd
G9XG7	125,53 a	1,79 a	9,00 ab	73,27 ab	7,43 bcd
G9XG8	127,00 a	1,743 a	8,10 b	85,40 a	7,51 bcd

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf 5%



Gambar 9. Kondisi pertanaman uji daya gabung pada umur 5 MST



Gambar 10. Tetua G8 (kiri), hibrida 8X1(tengah) dan tetua G1(kanan) pada umur 7 MST

Pengaruh daya gabung umum (general combining ability) sangat signifikan yang mengindikasikan bahwa tetua-tetua hibrida yang digunakan memiliki keragaan menghasilkan hibrid yang berbeda-beda satu sama lain. Pengaruh pasangan tetua dalam menghasilkan hibrida juga berbeda secara signifikan yang mengindikasikan ada performa parameter vegetatif dari satu hibrida yang lebih baik dibandingkan dengan hibrida yang lain

Pengaruh ulangan, perlakuan, daya gabung umum, daya gabung khusus terhadap tinggi tanaman juga signifikan. Hal tersebut mengindikasikan terdapat perbedaan tinggi tanaman antar hybrid hasil berbagai kombinasi persilangan antar tetua. Daya gabung umum dan daya gabung khusus antar tetua hibrida juga tidak sama

Untuk variable tinggi tanaman, dengan harapan tanaman yang lebih tinggi lebih berpotensi menghasilkan biomas lebih baik yang selanjutnya berimplikasi hasil yang paling baik pula, maka nilai DGU tertinggi adalah yang paling baik. Daya gabung umum (DGU) terbaik adalah G8 dengan nilai estimasi 4,51, yang diikuti dengan G9 yaitu 2,57 (Tabel 11). Nilai positif tertinggi menunjukkan bahwa tetua tersebut cenderung menghasilkan rata-rata F1 dengan nilai yang lebih tinggi. Untuk tinggi tanaman, ideotipe hybrid yang diharapkan salah satunya adalah hybrid yang memiliki tinggi tanaman semakin tinggi dengan syarat diikuti oleh diameter tanaman tinggi juga. Oleh karena itu maka genotype G8 lebih bisa diharapkan menghasilkan hibrida yang cenderung paling tinggi dibandingkan dengan tetua lainnya. Sementara itu, pasangan tetua yang dapat diharapkan menghasilkan hibrid yang tinggi adalah G1 x G7, G8 x G7 dan G9 X G7 dengan nilai estimasi DGK berturut-turut 11,95119, 9,55119 dan 9,22619.

Sedangkan untuk diameter batang, dengan harapan tanaman yang lebih tinggi lebih akan menjaga tanaman dari kerebahan lebih baik, maka nilai DGU tertinggi adalah yang paling baik. Dari enam tetua yang diuji, tampak bahwa G8 memiliki DGU terbaik, dengan nilai estimasi berturut-turut 0,025639. Menggunakan tetua G8 untuk persilangan, dapat diharapkan akan diperoleh generasi keturunan dengan

diameter batang yang cenderung lebih baik dibandingkan dengan menggunakan tetua lainnya. Sedangkan pasangan tetua yang dapat diharapkan menghasilkan hibrida dengan diameter batang yang lebih baik adalah G8 x G3 dan G9 x G3 yang berturut-turut memiliki estimasi DGK tertinggi, yaitu 0,086875 dan 0,069792.

Jumlah daun berkorelasi positif dengan jumlah fotosintat yang dihasilkan tanaman, maka nilai DGU tertinggi adalah yang paling baik. Dari enam tetua yang diuji, tampak bahwa G6 dan G7 memiliki DGU terbaik, dengan nilai estimasi berturut-turut 0,095833. Sedangkan pasangan tetua yang dapat diharapkan menghasilkan hibrida dengan jumlah daun yang lebih banyak adalah G9 x G6 memiliki estimasi DGK tertinggi, yaitu 0,795833

Panjang daun sampai batas tertentu berkorelasi positif dengan produksi tanaman, maka nilai DGU tertinggi adalah yang paling baik. Dari enam tetua yang diuji, tampak bahwa G8 memiliki DGU terbaik, dengan nilai estimasi 1,730556. Sedangkan pasangan tetua yang dapat diharapkan menghasilkan hibrida dengan tinggi tanaman yang lebih baik adalah G9 x G8 memiliki estimasi DGK tertinggi, yaitu 7,394048

Lebar daun diharapkan merupakan salah satu faktor pendukung produksi tanaman, maka nilai DGU tertinggi adalah yang paling baik. Dari enam tetua yang diuji, tampak bahwa G1 DGU terbaik, dengan nilai estimasi 0,225972. Sedangkan pasangan tetua yang dapat diharapkan menghasilkan hibrida dengan tinggi tanaman yang lebih baik adalah G3 x G6 memiliki estimasi DGK tertinggi, yaitu 0,355952

Kesimpulan

Tetua yang mempunyai daya gabung umum terbaik dari parameter tinggi tanaman, diameter batang, dan panjang daun adalah G8, dari parameter jumlah daun adalah G6 dan G7 sedangkan untuk parameter lebar daun adalah G1. Pasangan hibrida yang menunjukkan kemampuan vigor yang baik pada tanah masam Podsolok Merah Kuning G1 x G7, G8 x G7, G9 x G7, G8 x G3, G9 x G3, G9 x G6, G9 x G8, dan G3 x G6

Tabel 11. Daya gabung umum dan daya gabng khusus parameter vegetatif

Tinggi Tanaman

DGK	G1	G3	G6	G7	G8	G9
G1		-7,08214	1,684524	11,95119	2,009524	-14,4488
G3			1,659524	-5,87381	6,717857	-3,07381
G6				-11,7071	-11,0488	0,42619
G7					9,55119	9,22619
G8						2,217857
DGU	0,777778	0,536111	-4,43056	-3,96389	4,511111	2,569444

Diameter batang

DGK	G1	G3	G6	G7	G8	G9
G1		-0,10275	-0,02192	0,0015	-0,04013	-0,01721
G3			0,042417	0,015167	0,086875	0,069792
G6				-0,034	-0,01229	0,067292
G7					-0,06887	0,007375
G8						-0,05125
DGU	-0,01807	0,008264	-0,02924	0,017347	0,025639	-0,00394

Jumlah Daun

DGK	G1	G3	G6	G7	G8	G9
G1		-0,00833	0,258333	0,325	-0,3375	0,545833
G3			0,175	-0,225	0,045833	0,329167
G6				-0,225	0,245833	0,795833
G7					0,645833	-0,20417
G8						-0,96667
DGU	0,4125	-0,30417	0,095833	0,095833	-0,04167	-0,25833

Panjang Daun

DGK	G1	G3	G6	G7	G8	G9
G1		-0,76429	4,519048	0,260714	-1,38929	-3,73095
G3			-1,13095	-0,58929	3,760714	0,619048
G6				-1,70595	-5,28929	-0,43095
G7					0,185714	-1,15595
G8						7,394048
DGU	0,588889	0,172222	-0,91111	-1,85278	1,730556	0,272222

Lebar Daun

DGK	G1	G3	G6	G7	G8	G9
G1		-0,06238	-0,31821	-0,11321	0,106369	-0,65946
G3			0,355952	0,134286	-0,38613	-0,39863
G6				0,178452	0,284702	0,018869
G7					-0,0903	-0,0628
G8						-0,25321
DGU	0,225972	0,145139	0,020972	-0,22403	0,016389	-0,18444

5.8. Uji lapang hibrida-hibrida harapan pada tanah masam

Tujuan, Sasaran dan Luaran

Tujuan tahap ini adalah untuk menguji 15 hibrida harapan untuk potensi daya hasil pada tanah PMK. Sasarannya adalah diperoleh informasi hibrida yang memiliki daya hasil tinggi dan tenggang terhadap kemasaman tanah. Luarannya adalah terpilihnya hibrida yang berpotensi daya hasil tinggi dan tenggang terhadap kemasaman tanah.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan pada tanah PMK di Desa Kandang Limun, Kecamatan Muara Bangkahulu, Bengkulu. Bahan yang digunakan adalah 15 hibrida harapan hasil seleksi pada penelitian sebelumnya. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak kelompok lengkap. Tiap perlakuan diulang 3 kali. Sebagai perlakuan adalah 15 hibrida harapan yang telah terseleksi dan 2 hibrida komersial Nusantara 1 dan SHS. Setiap genotipe ditanam dalam baris sebanyak 20 tanaman. Jarak tanam yang digunakan yaitu dalam baris 25 cm dan antar baris 75 cm. Sampel diambil acak 5 tanaman tiap genotype.

Pelaksanaan

Penelitian ini akan dilaksanakan pada tanah PMK di Kelurahan Kandang Limun Kecamatan Muara Bangkahulu, Kota Bengkulu. Penanaman dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan faktor tunggal 17 genotipe. Hibrida jagung yang diuji adalah hasil silang setengah dialel dari 6 tetua sepeerti diterangkan pada Percobaan 1.

Sebelum tanah diolah dilakukan pengambilan tanah secara komposit untuk dianalisis di Laboratorium. Setelah itu, dilakukan pengolahan tanah yang dimulai terlebih dahulu dengan membersihkan gulma yang ada. Selanjutnya tanah dicangkul dengan kedalaman 20 cm, bagian bawah tanah dibalik sedemikian rupa agar patogen-patogen yang berada dibagian bawah mati setelah itu kemudian diratakan. Sebelum ditanam, benih diberi fungisida Ridomil supaya bebas dari cendawan. Benih ditanam

sebanyak 1 butir pada setiap lubang tanam yang telah dibuat menggunakan tugal. Bersamaan penanaman, pada lubang tanam diberi carbofuran 3% sebanyak 5-10 butir setara dengan dosis 20 kg/ha-1. Penyulaman dilakukan lima hari setelah tanam dengan menanam kembali benih di tempat yang tidak tumbuh tanaman pada setiap baris. Pupuk dasar yang diberikan adalah urea 150 kg/ha, KCL 200 kg/ha dan SP-36 100 kg/ha. Pemupukan urea ditambahkan lagi pada umur 3 minggu setelah tanam sebanyak 150 kg/ha bersamaan dengan pembumbunan tanaman.

Penyiraman dilakukan dua hari sekali jika tidak turun hujan dengan menggunakan mesin dan selang plastik hingga tanah menjadi lembab. Jika terjadi hujan lebat, air hujan dapat disalurkan melalui saluran drainase yang sudah disiapkan untuk menghindari tanaman jagung dari genangan air.

Pengendalian gulma yang tumbuh pada petak percobaan dilakukan secara mekanik dengan menggunakan sabit dan cangkul. Pengendalian hama dan penyakit dilakukan sesuai dengan kebutuhan dilapangan, dengan melihat tingkat serangan jasad pengganggu.

Pembumbunan dilakukan pada saat tanaman jagung berumur 1 bulan setelah tanam bersamaan dengan pemupukan kedua. Tanah di sekitar tajuk tanaman digemburkan, kemudian ditimbunkan pada bidang pangkal batang tanaman jagung sehingga membentuk guludan kecil.

Pemanenan dilakukan pada stadium masak fisiologis dengan ciri-ciri tongkol jagung sudah berwarna kuning, jika tongkol dikupas biji akan tampak keras, bernas dan mengkilap serta bila ditekan dengan kuku tangan tidak menunjukkan bekas tekanan (Adisarwanto dan Widyastuti, 2009).

Variabel Pengamatan

1. Tinggi tanaman (cm)

Pengukuran menggunakan meteran mulai dari pangkal batang hingga ruas terakhir, dilakukan 2 minggu setelah anthesis (ketika malai telah menghasilkan serbuk sari yang berwarna kuning).

2. Diameter batang (mm)
Pengukuran dilakukan pada ruas batang pertama di atas tanah setelah 2 minggu anthesis dengan menggunakan jangka sorong digital (*Krisbow KW 06-77*).
3. Jumlah daun (helai)
Pengukuran dilakukan dengan menghitung jumlah daun yang ada pada tanaman dilakukan pada saat tanaman anthesis
4. Luas daun terbesar (cm²)
Pengukuran dilakukan dengan menentukan daun yang terpanjang dan terlebar kemudian mengukurnya menggunakan meteran. Dilakukan pada saat tanaman anthesis
5. bobot kering brangkasan (gram)
dilakukan pada saat panen dengan cara tanaman dipotong kemudian dijemur selama 3-4 hari kemudian dioven pada suhu 70-80°C dalam waktu 3x24 jam
6. Umur berbunga (hst)
Yaitu merupakan jumlah hari dari waktu tanam hingga anthesis (ketika malai telah menghasilkan serbuk sari yang berwarna kuning).
7. Bobot tongkol tanpa klobot (gram)
Tongkol yang dipanen dan dikeringkan kemudian ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P. 12406736*).
8. Panjang tongkol (cm)
Tongkol yang dipanen dikupas kelobotnya kemudian diukur menggunakan penggaris dari pangkal hingga ujung tongkol.
9. Diameter tongkol tanpa kelobot (mm)
Tongkol yang dipanen dikupas kelobotnya kemudian diukur bagian tengah tongkol menggunakan jangka sorong digital (*Krisbow KW 06-77*).

10. Bobot biji per tongkol (gram)
dilakukan dengan menimbang pipilan kering jagung dari satu tongkol menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P. 12406736*).
11. Jumlah biji per tongkol (butir) dilakukan setelah tongkol dipanen dengan menghitung jumlah biji dalam satu tongkol
12. Bobot biji per tanaman (gram)
dilakukan dengan menimbang pipilan kering jagung dari satu tanaman menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P. 12406736*).
13. indeks panen yaitu bobot pipilan kering dibagi dengan hasil bobot pipilan kering dan bobot brangkasan
14. hasil pipilan kering perpetak (gram)
dilakukan dengan menimbang pipilan kering jagung dari tanaman dalam satu petak menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P. 12406736*).
15. bobot 100 biji (gram)
Pengukuran dilakukan terhadap 100 biji pada kadar air 15%, menggunakan timbangan analitik (*Sartorius AG Gonttingen Germany B.P 3100 P. 12406736*).

Sebagai data pendukung dilakukan analisis tanah meliputi: Al_d, pH, N, P dan K

Analisis data

Data yang didapatkan dianalisis secara statistik menggunakan analisis varians dengan uji F pada taraf 5 % dan bila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5 %.

Hasil dan Pembahasan

Secara garis besar kondisi pertanaman di lapang cukup baik. Terdapat keragaman yang tinggi antar hibrida dan terdapat indikasi beberapa hibrida yang dirakit memiliki potensi yang lebih baik berdasarkan parameter vegetatif dari hibrida

pembandingan. Berdasarkan parameter tingg tanaman, hamper semua hibrida tidak beda nyata dengan hibrida pembandingan. Hibrida yang lebih rendah dari pembandingan adalah G7XG6. Demikian juga dengan diameter batang, sebagian besar tidak berbeda dengan hbrida pembandingan. Hibrida G7XG6 juga memiliki diameter batang paling kecil. Umur berbunga berhubungan dengan kegenjahan tanaman sehingga umur berbunga paling kecil berarti lebih baik. Hibrida pembandingan memiliki umur yang panjang yaitu 61 dan 66,33 masing-masing untuk Nusantara 1 dan SHS.

Tabel 12. Rata-rata tinggi tanaman, diameter batang, umur berbunga dan jumlah daun

Genotipe	Tinggi Tanaman (cm)	Diameter Batang (mm)	Umur Berbunga (hari)	Jumlah Daun
G3xG1	98.73 abc	15.52 abc	64.0 ab	108.667 bcde
G6xG1	110.33 abc	14.48 abcdef	53.66 cdef	97.333 efgh
G6xG3	141.33 a	15.38 abc	52.66 def	97.333 efgh
G7xG1	96.67 abc	12.83 cdef	59.0 bcd	114.667 abc
G7xG3	92.00 bc	13.33 bcdef	55.0 cdef	111.333 bcd
G7xG6	75.60 c	11.52 f	54.5 cdef	95.000 efgh
G8xG1	122.80 abc	15.04 abcd	58.33 bcde	104.000 cdefg
G8xG3	137.40 ab	15.51 abc	51.0 ef	104.667 cdefg
G8xG6	114.13 abc	15.38 abc	55.66 cdef	109.333 bcde
G8xG7	96.60 abc	13.46 bcdef	50.0 f	88.000 h
G9xG1	94.87 abc	12.18 def	53.33 cdef	100.667 defgh
G9xG3	94.93 abc	14.55 abcdef	55.33 cdef	102.667 cdefg
G9xG6	123.00 ab	14.84 abcde	55.66 cdef	100.000 defgh
G9xG7	101.07 abc	14.61 abcdef	53.0 def	99.333 defgh
G9xG8	129.87 ab	13.53 bcdef	51.0 ef	92.000 gh
G1	129.00 ab	16.40 ab	54.0 cdef	108.000 bcdef
G3	91.00 bc	13.89 bcdef	54.66 cdef	99.333 defgh
G6	110.40 abc	14.28 bcdef	54.0 cdef	93.333 gh
G7	96.07 abc	11.86 ef	58.33 bcde	104.667 cdefg
G8	124.13 ab	15.89 abc	58.33 bcde	110.667 bcde
G9	127.00 ab	15.78 abc	50.0 f	102.667 cdefg
NT	119.73 abc	17.53 a	61.0 abc	124.667 a
SHS	94.93 abc	15.52 abc	66.33 a	119.333 ab

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf 5%



Gambar 11. Hibrida G6XG1 (kiri) dan hibrida G7XG6 pada umur 7 MST



Gambar 12. Hibrida G8XG1 (kiri) dan hibrida pembanding Nusantera 1 pada umur 7 MST

BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Seleksi populasi M3 dilakukan terhadap 60 tongkol yang 1241. Hasil seleksi indeks dipeoleh 48 genotipe yang tenggang kemasaman.

Generasi M4 sudah semakin seragam yang diindikasikan dengan nilai varian dalam genotipe yang semakin kecil. Genotipe yang terseleksi tenggang kemasaman adalah berjumlah 15 genotipe.

Galur M5 dipilih dengan seleksi indeks. Galurdengan famili terbaik ditunjukkan pada nilai ideks terkecil adalah G1M5-12-18a-1-5, G3 M5-15-17-4-12, G6 M5-6-19-19-4, G7 M5-15-9-3-10, G8 M5-4-8-6-8, G9 M5-20-44-2-8.

Semua genotipe hasil irradiasi sinar gamma yang dianalisis memiliki polimorfisme pola pita DNA dengan tetua asalnya. Berdasarkan pola pita RAPD yang dihasilkan, polimorfisme pada mutan G1, G3 dan G6 terjadi pada 1 lokus, sedangkan G7, G8 dan G9 terjadi polimorfisme pada 2 lokus. Dengan demikian radiasi 275 Gy dapat menginduksi terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diteliti.

Berdasarkan hasil analisis daya gabung umum terhadap parameter vegetatif, genotipe yang secara umum memiliki DGU terbaik adalah G8, sedangkan hibrida dengan daya gabung khusus terbaik diantaranya adalah G1 x G7, G8 x G7, G9 X G7, G8 x G3, G9 x G3, G9 x G6, G9 x G8, dan G3 x G6

Saran

Penggaluran telah selesai dilakukan. Agar diperoleh hibrida unggul tenggang kemasaman perlu pengujian lapang pada skala yang lebih luas baik pada lahan Ultisol maupun Andosol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T dan Y.E Widyastuti. 2009. Meningkatkan Produksi Jagung di Lahan Kering, Sawah dan Pasang Surut. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Ahloowalia BS, Maluszynski and Nichterlein. 2004. Global impact of mutation-derived varieties. *Euphyica* 135: 187-204.
- Aisyah, S.I. Mutasi induksi fisik dan pengujian stabilitas mutan yang diprbanyak secara vegetatif pada anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.)
- Al-Safadi B and Simon PW, 1996. Gamma irradiation induced variation in carrots. *J. Amer Soc. Hort. Sci.* 121: 599-603.
- Becker, J. , P. Vos., M. Kuiper, F. Salamini, and M. Heun. 1995. Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol. Gen. Genet.* 249:65-73.
- BPS. 2010. Statistik Indonesia. Biro Pusat Statistik. Jakarta.
- Charbaji T, Nabulsi I. 1999. Effect of low doses of gamma irradiation on in vitro growth of grapevine. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.* 57:129-132.
- Devine, T. E. 1982. Genetic Fitting of Crops to Problem Soils. In: Breeding Plant for Less Favorable Environments. Christiansen, M. N. and C. F. Lewis (Eds). John Wiley and Sons. New York. p:143-174.
- Fehr, W.R. 1987. Principle of Cultivar Development. Theory and Technique. Vol. I. MacMillan Pub. Co. New York. 536p.
- Foy, C. D, W. H. Armiger, L. W. Briggie and D. A. Reid. 1965. Differential aluminum tolerance of wheat and barley varieties in acid soils. *Agron. J.* 57: 413-417.
- Gorsline, G. W. 1968. Major gene inheritance of Sr, Ca, Mg, K, P, Zn, Cu, B, Al, Fe and Mn concentration in corn (*Zea mays* L.). *Penn. State Univ. Bull.* 746.
- Gorsline, G. W., W. I. Thomas and D. E. Baker. 1964. Inheritance of P, K, Mg, Cu, B, Zn, Mn, Al, and Fe concentration by corn (*Zea mays* L.) leaves and grain. *Crop Sci.* 4: 207-210.
- Hallauer, A. R. 1981. Selection and breeding methods, pp. 3-5. In: Plant Breeding II. J. F. Kenneth (Ed.). Iowa State Univ. Press.
- Herison, C., Rustikawati, Eliyanti dan Sudarsono. 2003. Penentuan protokol yang tepat untuk menyiapkan DNA genom cabai (*Capsicum* sp). *Akta Agrosia* 6(2):38-43

- Herison, C., S. Winarsih, M. Handayaningsih, dan Rustikawati. 2010. Introgression of CMV tolerance genes to hybrid parent of hot pepper employing morphological and RAPD marker to identify recurrent parent characteristics in BC2 population. Proceeding International Seminar on Horticulture to Support Food Security, June 22-23, 2010. Pp: A174-A180.
- Ismachin, M. 1988. Pemuliaan Tanaman dengan Mutasi Buatan. Jakarta :Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Atom Nasional.
- Klein-Lankhorst, R.M., A. Vermunt, R. Weide, T. Liharska and P. Zabel. 1991. Isolation of molecular markers for tomato (*L. esculentum*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theor Appl Genet.* 83:108-114.
- Koornneef, M. 1991. Variation and mutan selection in plant cell and tissue culture. in *Biotechnological Innovations*. Di dalam: *Crop Improvement*. Open Universteit Nederland and Thames Polytechnic United Kingdom. Hlm 99-115.
- Kuksoca B. V., Piven M, Nicolai and Gleba Yu Yuri. 1997. Somaclonal Variation and In vitro Induced mutagenesis in Grapevine. *Plant Cell Tiss. and Org. Cult.* 49:17-27.
- Liu, Z. and G.R. Furnier. 1993. Comparison of allozyme, RFLP and RAPD markers for revealing genetic variation within and beetwen Trembling Aspen and Bigtooth Aspen. *Theor. Appl. Genet.* 87: 97-105.
- Lutz, J. A., J. R. G. W. Hawkins and C. F. Genter. 1971. Differential response of corn inbred and single crosses to certain properties of an acid soil. *Agron. J.* 63: 803-805.
- Malszynski MK, Nichterlein L, Van Zanten, Ahloowalia BS. 2000. Officially released mutant varieties – the FAO/IAEA database. *Mut Breed Rev* 12: 1-84.
- Mansfield, D.C., A.F. Brown, D.K. Green, A.D. Carothers, S.W. Morris, H.J. Evans, and A.F. Wright. 1994. Automation of genetic linkage analysis using flourescent microsatelite markers. *Genomics* 24:225-233.
- Mariska, Hobir, Gati E, Seswita. 1996. Peningkatan Keragaman genetik tanaman nilam melalui kultur kalus dan radiasi. *Pertemuan aplikasi isotop dan radiasi*. Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta 9 – 10 Januari 1996, 17 hlm.
- Meksem, K., D. Leister, J. Peleman, M. Zabeau, F. Salamini, and C. Gebhardt. 1995. A high resolution map of the vicinity of the R1 locus on chromosome V of potato based on RFLP and AFLP markers. *Mol. Gen. Genet.* 249:74-81.
- Micke A and Donini B. 1993. Induced mutation. Di dalam : Hayward MD, Bosemark NO, Romagosa I, editor. *Plant Breeding Principles and prospects*. Chapman & Hall. Hlm 52-77.
- Milligan, B.G. 1992. Plant DNA isolation. pp59-88. *In* A.R. Hoelzel (Ed). *Molecular Genetic Analysis of Populations. A Practical Approach*. Oxford Univ. Press. New York.

- Nagatomi S. 1996. Recent Progress on Crop Mutation Breeding in Japan. Prosiding of Plant Mutation Breeding Seminars. Beijing: Cina Agric. Sci. Press. 29-37.
- Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey and A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238.
- Prince J.P., F. Loaiza-Figueroa and S.D. Tanksley. 1992. Restriction fragment length polymorphism and genetic distance among Mexican accession of *Capsicum*. *Genome* 38:224-231.
- Rustikawati, C. Herison, Sudarsono, Eliyanti dan D. Suryati. 2008. Identification of DNA markers linked to CMV resistance gene(s) in hot pepper. *Akta Agrosia* 11:108-112
- Rustikawati, S.H. Sutjahjo, C. Herison, dan S.I. Aisyah. 2008. Induksi mutasi melalui iradiasi sinar gamma terhadap benih untuk meningkatkan keragaman populasi dasar jagung (*Zea mays* L.). *Akta Agrosia* 11(1):57-62
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Lab. Press. Cold Spring Harbor, New York. 489p.
- Sanghai-Marroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen, and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamic. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 36:186-192.
- Schondelmaier, J., G. Steinrücken and . Jung. 1996. Integration of AFLP markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Plant Breeding* 115: 231-237.
- Singh, R.K and B.D Chaudhary. 1979. *Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis*. New Delhi Soeranto H. 2003. Peran iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian. Jakarta : Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN).
- Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1981. *Principles and Procedure of Statistics. A Biometrical Approach*. 2nd Ed. McGraw-Hill Intl. Book Co. London. 633p.
- Sutjahjo, S.H. 1991. Pemuliaan tanaman jagung terhadap toleransi keracunan aluminium melalui seleksi in vitro: Studi Regenerasi. Laporan Penelitian LP IPB.
- Suzuki, D.T., A.J.F. Griffiths, J.H. Miller and R.C. Lewontin. 1993. *An Introduction to Genetic Analysis*. W.H. Freeman and Co. New York.

- Tanskley, S.D., R Bernatzky, N.L. Lapitan and J.P. Prince. 1988. Conservation of gene repertoire but not gene order, in pepper and tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6419-6423
- Thomes, D. T. 1985. Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in maize, rice, sorghum and millets. In: *Advances in, agricultural biotechnology cereal tissue and cell culture*. S. W. J. Bright, M. G. U. Jones (Eds.). Martinus Nijhoff Publ. p: 175-203.
- Towner, P. 1991. Purification of DNA. pp47-68. In T.A. Brown (Ed). *Essential Molecular Biology. A Practical Approach*. Oxford Univ. Press. New York.
- Van Harten A.M. 1998. *Mutation Breeding. Theory and Practical Application* New York. Cambridge University Press. Hlm 111-162.
- Wattimena, G. A. 1992. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat antar Universitas (PAU) Bekerjasama dengan Lembaga Sumberdaya Informasi IPB. 145p.
- Wechter, W.P., M.P. Whitehead, C.E. Thomas, and R.A. Dean. 1995. Identification of Randomly Amplified Polymorphic DNA marker linked to the Fom 2 Fusarium wilt resistance gene in muskmelon MR-1. *The American Phytopathological Society*. 1245-1249
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic penandas. *Nucleic Acid res.* 18:7213-7218.

lampiran

Lampiran 1. Instrumen Penelitian

No	Nama Alat	Kegunaan	Tempat	Jumlah
1	Oven	Mengeringkan	Lab Agronomi, Unib	2 bh
2	Timbangan analitik	Untuk menimbang zat yang beratnya miligram	Lab Agronomi, Unib	2 bh
3	Rumah Kaca (10 m x 20 m)	Tempat percobaan rumah kaca	Lab Agronomi, Unib	1 unit
4	Kebun Percobaan	Percobaan lapang	Faperta, Unib	4 ha
5	PCR	Amplifikasi DNA	Laboratrium molekuler Dep Agrohort IPB	1 nit
6	Elektroforesis chamber	Elektroforesis DNA hasil amplifikasi	Laboratrium molekuler Dep Agrohort IPB	4 nit

Lampiran 2. Personalia Tenaga Peneliti

No.	Nama dan gelar akademik	Bidang keahlian	Instansi	Tugas dalam Penelitian
1.	Dr. Ir. Rustikawati, Mi	Pemuliaan dan Bioteknologi	Fak.Pertanian Unib	Koordinasi seluruh kegiatan
2.	Ir. Atra Romeida, MSi.	Fisiologi Tanaman	Fak.Pertanian Unib	Membantu persilangan dan seleksi di lapang
3	Ir. Eko Suprijono, MS	Ekologi Tanaman	Fak.Pertanian Unib	Membantu pelaksanaan pengujian di lapang
4	Prof Dr Surjono H Sutjahjo MS	Pemuliaan Tanaman	Ak Pertanian IPB	Membantu pelaksanaan penelitian di labratorium
5	Akhmad Ansori	Agroekoteknologi	Fak.Pertanian Unib	Membantu pelaksanaan uji daya gabung
6	Mujianto	Agroekoteknologi	Fak.Pertanian Unib	Membantu pelaksanaan uji lapang pendahuluan

Hibah Bersaing: Seleksi Mutan Jagung Untuk Toleran Kemasaman 76

NO	UBB	UBJ	TT	JD	PD	LD	DBI	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh BBJ	Jmh BJB	Jmh BJT/k	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G1M3-12-18a-1	8	-0.12	-0.04	-0.53	-0.55	-0.78	0.29	-0.94	0.64	-0.04	0.80	0.70	1.06	1.13	0.12	0.29	-0.04	5.20
G1M3-12-18a-1	11	0.22	0.32	1.17	0.46	-1.01	0.29	-0.94	1.83	0.98	2.06	0.70	2.23	2.22	0.60	2.29	1.88	30.14
G1M3-12-18a-1	12	1.24	1.04	1.96	-0.55	-1.49	1.33	-0.94	0.37	0.15	-0.17	-0.71	-0.71	-0.80	0.36	-0.16	0.02	-3.59
G1M3-12-18a-1	13	0.90	1.04	1.41	-0.55	-0.89	1.04	0.44	-0.64	-2.15	-0.66	-0.71	-0.12	-0.35	0.60	2.41	2.22	2.97
G1M3-12-18a-1	15	0.56	1.39	-0.90	-1.55	-1.37	-0.63	-0.94	-0.29	-1.84	-0.66	-0.71	-0.12	-0.35	0.60	2.41	2.22	-4.22
G1M3-12-18a-1	17	-0.12	-0.04	1.32	-1.55	-0.18	0.71	-0.94	0.46	-0.16	0.70	-0.71	-0.12	-0.35	-0.35	-0.36	-0.42	-2.34
G1M3-12-18a-1	21	-0.12	-0.04	1.13	-1.55	0.05	1.04	1.81	1.61	0.67	1.87	0.70	1.84	1.86	-0.59	1.53	1.35	24.95
G1M3-12-18a-1	22	-0.12	-0.04	1.01	0.46	-0.18	1.50	-0.94	0.51	1.17	0.65	0.70	-0.31	-0.14	0.12	0.64	0.49	12.96
G1M3-12-18a-1	24	-0.12	-0.04	0.55	-0.55	-0.66	-0.21	-0.94	-1.61	-1.77	-1.97	-0.71	-1.10	-1.10	-1.06	-1.18	-1.15	-26.87
G1M3-12-18a-1	26	-0.12	-0.04	-1.17	0.46	-1.37	-0.59	-0.94	0.33	1.06	0.41	0.70	0.86	0.95	-0.59	0.16	0.03	2.10
G1M3-12-18b-3	1	0.56	0.68	0.89	-1.55	0.94	-1.12	-0.09	0.44	0.95	1.63	0.75	1.06	1.13	-0.59	1.48	1.55	18.10
G3M3-15-17-4	3	-1.23	-0.80	0.65	0.93	-0.45	1.33	-1.16	0.20	-0.28	-0.13	-0.80	-1.04	-0.91	-0.29	-0.58	-0.69	-5.68
G3M3-15-17-4	5	-0.79	-0.49	1.31	0.32	0.96	0.62	-1.07	-0.24	-0.30	-0.09	0.06	0.34	0.17	0.11	0.22	0.24	4.66
G3M3-15-17-4	7	-0.79	-0.49	0.82	0.93	1.44	0.42	0.20	-0.74	1.06	-0.32	0.85	-0.35	-0.13	-0.19	-0.45	-0.37	4.47
G3M3-15-17-4	9	-0.34	-0.17	0.34	0.93	-0.40	1.44	2.51	-1.07	-2.67	-0.10	-2.66	-1.91	-1.59	-0.69	-1.08	-0.97	-25.08
G3M3-15-17-4	10	-1.23	-0.80	1.04	0.32	0.03	1.65	2.38	0.14	1.72	0.03	1.64	0.61	1.16	0.77	2.47	2.99	34.91
G3M3-15-17-4	11	0.11	-0.17	1.13	0.32	0.90	-0.72	1.64	0.10	0.54	-0.05	0.06	-0.08	-0.15	0.51	0.74	0.89	11.71
G3M3-15-17-4	12	-1.23	-0.80	1.33	0.32	1.02	-0.18	1.67	1.41	0.85	1.62	0.85	1.72	1.80	0.91	3.13	3.40	42.56
G3M3-15-17-4a	34	-0.34	0.15	-0.61	-0.28	-0.40	-0.32	-1.07	-1.32	0.33	-0.52	0.85	-0.21	0.00	-0.09	-0.04	0.21	-3.43
G3M3-15-17-4a	36	-0.34	-0.17	-0.19	0.93	0.48	0.46	0.02	-1.07	-0.05	-0.52	0.85	-0.35	-0.13	-0.26	-0.07	0.10	-0.77
G3M3-15-17-8	1	-0.34	-0.49	1.59	1.53	0.89	0.25	2.51	0.20	0.87	-1.16	1.64	-0.49	-0.05	0.51	-0.04	-0.37	13.33
G3M3-15-17-8	4	-0.34	-0.17	1.00	0.93	0.93	-0.62	1.74	0.20	0.68	1.18	1.64	1.72	2.36	0.34	1.30	1.60	28.84
G3M3-15-17-8	6	-0.34	0.78	0.85	-1.49	0.57	-0.51	-1.40	0.20	-0.24	1.01	-0.88	-0.08	0.13	0.04	-0.11	-0.11	-1.16
G3M3-15-17-8	11	-1.23	-0.80	-0.62	0.93	1.08	1.54	0.89	1.46	0.56	0.71	0.85	0.06	0.25	0.14	-0.35	-0.51	12.21
G3M3-15-17-8	12	-0.34	-0.49	0.59	-0.88	0.40	-0.51	-0.25	-1.07	0.41	1.30	0.85	1.72	1.80	-0.42	0.36	0.51	12.77
G3M3-15-17-8	13	-0.34	-0.49	1.35	0.32	1.14	0.25	0.08	0.83	0.90	0.86	0.85	1.44	1.55	-0.46	0.28	0.26	15.75
G3M3-15-17-8	15	-0.34	-0.80	0.90	0.32	1.23	1.44	0.35	0.20	0.83	1.93	1.64	2.27	2.97	0.01	1.97	2.41	38.21
G3M3-15-17-8	22	-0.34	-0.80	-0.71	0.93	1.02	-0.83	0.72	0.20	3.00	0.47	1.64	1.44	2.06	0.51	1.78	2.31	31.16

Hibah Bersaing: Seleksi Mutan Jagung Untuk Toleran Kemasaman 77

NO	UBB	UBU	TT	JD	PD	LD	DBt	JBB	PT	DT	PBBJ	Jmh BBj	Jmh Bj/B	Jmlh Bj/Tk	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G3M3-15-17-8	23	0.11	-0.17	0.45	1.53	0.93	-0.72	-0.69	0.20	0.10	0.04	0.19	-0.21	-0.26	0.04	-0.07	-0.20	1.60
G3M3-15-17-8	24	-0.34	-0.49	-0.54	-1.49	0.34	-1.48	-0.32	-1.07	-0.74	-0.40	-0.52	-0.21	-0.26	-0.42	-0.51	-0.45	-11.46
G3M3-15-17-8	25	-0.79	-0.49	-1.11	-0.28	0.13	-0.72	-1.06	0.20	-0.71	0.22	-0.68	-0.08	-0.15	-0.09	-0.22	-0.16	-5.75
G3M3-15-17-8	27	-0.34	-0.17	0.40	-0.28	0.11	-0.72	-0.46	-1.07	-0.21	-1.03	0.85	0.89	1.03	-0.06	-0.10	0.00	-0.15
G3M3-15-18-9	1	-0.34	-0.49	0.90	1.53	0.84	-1.16	1.70	1.46	1.07	-0.83	-3.10	-1.46	-1.49	-1.02	-0.63	-1.09	-18.15
G3M3-15-18-9	2	-0.34	-0.49	1.35	0.93	1.03	1.44	1.23	0.20	1.10	2.02	1.22	1.58	1.14	0.81	3.27	3.85	40.91
G3M3-15-18-9	5	-0.79	-0.80	0.47	-0.28	0.52	0.57	-0.73	0.20	-1.05	-0.24	-0.92	-0.49	-0.48	-0.09	-0.75	-0.58	-7.12
G3M3-15-18-9	6	-0.79	-0.80	-0.21	-0.28	0.40	-1.05	-0.29	2.72	-0.13	-0.12	-0.05	-0.90	-0.80	-0.39	-0.84	-0.81	-4.52
G3M3-15-18-9	7	0.11	1.41	-1.32	-1.49	-0.18	-1.80	-0.69	-1.07	-0.17	1.31	0.39	1.30	0.92	0.14	1.18	1.40	5.01
G3M3-15-18-9	8	1.89	-0.17	0.48	-0.28	0.23	-0.29	0.69	0.20	0.33	1.15	-0.29	-0.49	-0.48	1.21	0.22	0.21	5.31
G3M3-15-18-9	9	-0.34	0.78	0.85	0.83	0.47	-0.40	0.86	-1.07	0.49	1.17	0.11	0.61	0.38	0.67	0.92	1.13	13.50
G3M3-15-18-9	10	-0.34	-0.17	0.11	-0.88	0.75	-0.72	-0.66	0.20	1.07	0.06	-0.09	-1.12	-0.49	-0.80	-0.21	-0.58	-1.45
G3M3-15-18-10	33	0.11	0.15	-0.58	-0.28	0.21	0.57	-0.46	-1.07	2.53	1.49	2.33	1.25	2.08	-0.09	1.32	1.19	26.51
G3M3-15-18-10	38	-1.23	-0.80	2.00	0.93	1.20	1.00	2.04	1.46	3.03	1.31	2.37	0.85	1.72	-0.06	0.30	0.32	33.96
G3M3-15-19-5	4	1.00	0.78	0.11	-0.28	0.61	0.90	-0.66	0.20	-0.40	0.60	0.35	-0.73	-0.63	15.58	-0.43	-0.37	41.78
G3M3-15-19-5	6	-0.34	0.15	0.38	0.32	0.96	0.36	0.69	-1.07	-0.63	0.79	0.07	-0.33	-0.49	-0.58	-0.12	-0.39	-2.10
G3M3-15-19-5	7	-0.34	0.78	-0.11	0.93	-0.11	-0.94	-0.25	-1.07	-0.01	0.61	0.90	0.46	-0.63	-0.49	0.09	0.28	2.92
G3M3-15-19-5	8	0.11	-0.17	-0.24	-0.28	0.40	-1.80	-0.32	0.20	-0.24	0.33	0.51	-0.33	-0.35	0.08	-0.04	0.14	-1.38
G3M3-15-19-11	1	0.11	0.15	1.30	0.93	0.11	1.00	0.08	-1.07	0.87	1.19	0.43	0.66	1.44	1.03	1.83	0.80	14.24
G3M3-15-19-11	2	1.00	0.78	1.25	0.32	0.03	1.44	0.02	-1.07	0.03	0.63	-0.29	0.06	0.20	0.06	0.26	0.43	3.62
G3M3-15-19-11	3	-0.79	-0.49	1.64	0.93	-0.49	1.44	1.74	0.20	2.10	0.97	1.30	0.61	0.38	-0.22	0.58	-0.36	16.43
G3M3-15-19-11	4	-0.79	-0.49	1.35	1.53	1.05	0.90	1.70	0.20	2.10	1.67	2.65	0.06	0.92	1.11	2.83	3.73	46.97
G3M3-15-19-11	5	-0.79	-0.17	0.44	0.32	0.83	0.36	-0.32	-1.07	-1.13	0.06	-1.24	-0.33	-0.63	-0.68	-0.85	-0.85	-11.07
G3M3-15-19-11	6	2.34	2.36	0.98	-0.28	-0.58	1.00	-0.32	-1.07	0.45	1.49	1.14	0.85	1.72	0.44	1.74	2.29	20.66
G3M3-15-19-11	8	-1.23	-0.80	0.63	0.32	-3.12	0.57	1.33	1.46	0.80	0.60	0.90	0.85	1.58	-0.29	0.70	0.23	15.30
G3M3-15-19-11	9	1.00	1.72	-0.24	-0.88	-2.76	0.36	-0.93	-1.07	1.18	0.61	1.78	-0.73	1.99	0.44	0.63	0.31	4.53
G3M3-16-27-2	1	1.00	0.78	-0.67	0.32	0.58	-0.51	1.43	2.72	-0.24	-0.67	0.27	0.85	-1.04	-0.78	-0.95	-0.82	-4.57
G3M3-16-27-2	3	-0.34	-0.17	0.22	-1.49	-1.89	0.36	-1.00	-1.07	-0.09	-0.28	0.59	0.85	-1.32	-1.04	-0.62	-0.75	-8.87

NO	UBB	UBJ	TT	JD	PD	LD	DBI	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh BBj	Jmh Bj/B	Jmh Bj/Tk	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G3M3-16-27-2	7	1.00	0.78	0.28	0.93	0.62	-0.72	-1.33	1.46	-1.75	-0.90	-0.73	-1.32	-1.21	-0.39	-1.03	-0.93	-20.88
G3M3-16-27-2	8	1.89	1.41	0.57	0.93	0.69	0.57	1.33	1.46	-1.94	-1.54	-1.91	-1.59	-1.45	-0.69	-1.06	-0.88	-26.35
G3M3-16-27-2	9	2.34	1.41	-1.02	0.93	1.22	1.76	2.17	1.46	1.53	2.56	1.64	1.86	2.51	-0.19	2.10	2.58	37.32
G3M3-16-27-14	6	0.11	-0.17	0.22	-0.88	0.59	0.36	-0.69	1.46	0.41	-0.92	0.06	-1.04	-0.91	-0.39	-1.03	-0.93	-7.97
G3M3-16-27-14	9	1.45	0.78	-0.54	-0.28	-0.17	-0.51	-0.62	0.20	-1.01	-2.88	0.85	-0.63	-0.39	-0.69	-1.01	-0.85	-19.30
G3M3-16-27-14	10	0.11	-0.17	-0.46	0.32	0.38	1.33	0.02	0.20	-0.86	-0.83	0.85	-0.08	0.13	-0.36	-0.72	-0.65	-4.86
G3M3-16-27-14	11	-1.68	-0.49	0.69	0.93	0.47	1.44	1.40	1.46	0.49	0.90	0.06	-0.90	-0.80	1.01	0.09	0.18	12.79
G3M3-16-27-14	16	1.45	1.09	-0.69	-0.28	-0.18	-0.62	-0.25	0.20	-0.67	-1.35	0.85	0.20	0.38	-0.59	-0.64	-0.57	-10.18
G3M3-16-27-14	19	0.11	0.15	-0.75	0.32	0.55	-0.40	-1.00	1.46	-1.55	-0.49	0.85	-1.18	-0.91	-0.36	-0.85	-0.74	-14.16
G3M3-16-27-14	20	2.79	-0.17	1.43	1.53	1.19	0.36	2.24	0.20	2.03	1.76	2.89	1.86	2.51	0.81	4.04	2.82	47.60
G3M3-16-27-16	5	1.89	1.41	-0.46	1.53	0.10	-0.51	-1.00	1.46	-0.86	-1.38	-0.36	0.06	0.25	0.28	-0.80	-0.75	-7.85
G3M3-16-27-16	8	0.11	-0.17	-0.34	-0.28	-0.15	0.46	1.03	0.20	1.45	-1.15	1.25	0.75	1.10	0.61	1.26	0.80	19.76
G3M3-16-27-16	10	1.00	0.78	-0.67	-0.28	-0.59	-1.26	0.66	0.20	-0.28	-0.12	-0.25	-0.73	-0.63	-0.78	-0.44	-0.67	-11.05
G3M3-16-27-16	11	-1.23	-0.80	0.39	0.32	0.19	-0.72	0.76	-1.07	0.87	1.85	0.06	0.20	0.06	0.97	1.25	1.24	16.41
G3M3-16-27-16	12	0.11	0.15	-1.88	-0.88	-3.07	0.36	-0.66	2.72	-0.86	-0.37	-0.25	-0.08	0.13	0.94	0.13	0.31	-0.04
G3M3-16-27-16	13	1.00	0.78	0.26	1.53	0.50	-0.18	0.99	-1.07	-1.36	0.86	0.85	0.20	0.38	0.34	-0.43	-0.11	0.75
G3M3-16-27-16	14	1.00	1.72	0.37	-0.28	0.40	-0.72	0.42	0.20	1.30	2.38	1.58	0.06	1.78	0.54	3.36	3.80	34.31
G3M3-16-27-16	19	-0.79	-0.80	-0.94	0.32	-0.02	0.90	0.02	-1.07	0.03	0.28	-0.17	0.85	0.75	-0.46	-0.06	0.09	4.04
G3M3-16-27-16	20	0.55	-0.17	-1.03	0.32	-1.06	0.36	-0.93	1.46	-1.24	-2.04	-0.48	-0.73	-0.63	-0.78	-0.46	-0.88	-18.23
G3M3-16-27-16	12	3.23	2.04	-0.05	0.93	-1.95	1.44	0.76	0.20	1.18	2.59	2.09	1.64	2.27	2.97	2.45	2.67	33.61
G3M3-16-27-17	13	0.11	-0.49	-1.47	-1.49	-1.47	0.14	-1.53	0.20	-1.90	-0.47	-0.96	0.85	0.20	0.38	-0.65	-0.62	-14.54
G3M3-16-27-17	19	3.23	2.04	-0.49	-0.28	-0.24	0.14	-0.66	0.20	-1.82	-1.19	-1.16	0.06	-0.49	-0.46	-0.94	-0.83	-22.49
G3M3-16-27-17	23	-0.34	-0.17	-1.34	0.93	0.84	-0.72	-1.00	0.20	-1.01	-0.62	-0.68	-0.08	-0.01	-0.59	-0.66	-0.73	-9.95
G3M3-16-27-17	24	1.00	1.72	-0.76	-1.49	-1.41	-0.83	-0.62	0.20	0.80	0.60	1.10	1.99	1.46	-0.09	0.96	1.48	8.71
G3M3-16-27-17	29	-0.34	0.15	-1.16	-0.88	0.80	-0.08	-0.79	0.20	0.56	0.99	0.47	1.64	2.13	2.82	-0.49	0.37	0.61
G3M3-16-27-17	31	0.11	2.36	-0.13	-0.88	0.81	-1.16	-0.19	0.20	0.22	1.67	0.03	0.85	0.75	0.90	1.13	1.30	10.73
G3M3-16-27-17	32	0.11	-0.17	-0.16	-0.88	0.01	0.57	-0.42	0.20	-1.06	-1.74	-0.29	-0.73	-0.77	-0.86	-0.91	-0.88	-17.07
G3M3-16-27-17	34	2.79	0.15	-0.36	-0.28	1.03	-1.16	-0.32	0.20	-0.55	-1.54	-0.29	-1.52	-0.63	-0.97	0.14	-0.76	-18.31

Hibah Bersaing: Seleksi Mutan Jagung Untuk Toleran Kemasaman 79

NO	UBB	UBJ	TT	JD	PD	LD	DBI	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh BBJ	Jmh Bj/B	Jmh Bj/Tk	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G6M3-30-1-1	1.45	1.41	-0.35	0.32	0.95	0.36	-0.62	-1.07	0.37	-1.10	0.15	0.85	0.20	0.38	-0.24	-0.92	-0.76	-5.79
G6M3-6-12-5	-1.06	-0.87	-0.05	-2.03	-0.40	-0.66	-0.64	-1.36	0.49	1.63	0.57	-0.02	0.85	0.63	-0.90	0.21	0.22	2.55
G6M3-6-12-5	-0.22	-0.38	-0.04	-1.41	0.55	-0.35	0.30	0.23	0.98	0.43	1.17	-0.02	1.27	0.98	0.15	1.02	0.37	11.34
G6M3-6-12-5	-0.22	-0.38	-0.04	-1.41	1.08	0.11	-0.36	0.23	2.98	0.43	1.93	-0.82	0.57	0.01	1.83	0.40	-0.36	15.38
G6M3-6-12-5	-1.91	-1.60	-0.04	-0.15	1.22	0.18	0.64	0.23	0.83	1.43	0.89	0.77	0.30	0.52	1.73	1.85	1.78	30.08
G6M3-6-12-5	-0.78	-0.87	-0.05	-0.78	-0.48	-0.97	0.61	0.23	0.98	0.22	1.49	-0.02	0.57	0.40	-0.69	0.85	0.97	10.65
G6M3-6-12-5	-0.22	-0.14	-0.04	1.11	1.00	0.11	0.93	1.82	2.00	1.08	2.49	0.77	1.40	1.60	0.68	1.53	1.93	35.50
G6M3-6-12-7	-0.78	-0.38	-0.05	0.48	0.85	1.65	0.05	0.23	2.00	0.87	0.97	-0.02	0.16	0.05	2.57	0.87	0.91	25.37
G6M3-6-12-7	-0.22	-0.14	-0.05	-0.15	-0.55	0.80	-1.58	0.23	0.07	-0.28	-0.42	-0.02	-0.39	-0.41	0.05	-0.27	0.00	-3.82
G6M3-6-12-7	-0.22	-0.14	-0.04	1.11	1.09	1.19	0.33	1.82	2.19	1.29	2.45	-0.02	0.85	0.63	1.52	2.86	3.06	41.23
G6M3-6-15-4	0.35	0.35	-0.04	-1.41	0.42	-0.12	-0.04	1.82	0.37	0.55	0.69	-0.02	-0.26	-0.29	-0.06	0.47	-0.34	2.15
G6M3-6-15-4	-1.63	-1.36	-0.04	-0.78	1.08	0.88	-0.01	-1.36	1.13	1.38	0.57	0.77	0.30	0.52	1.62	1.86	2.57	29.65
G6M3-6-15-4	-1.06	-0.87	-0.04	-0.15	0.96	0.88	0.33	0.23	1.92	1.96	2.09	0.77	1.40	1.60	2.04	3.66	1.62	39.78
G6M3-6-15-4	-1.34	-1.36	-0.04	-0.15	0.81	0.49	-0.01	1.82	0.49	1.48	0.77	-0.02	0.99	0.75	-0.48	1.36	0.84	16.85
G6M3-6-15-4	0.07	0.11	-0.04	0.48	1.17	1.19	0.27	0.23	0.45	0.29	0.69	0.77	0.85	1.06	-0.27	0.44	0.68	13.28
G6M3-6-17-4	-1.34	-1.11	-0.04	1.74	1.15	1.65	0.68	0.23	2.00	1.34	2.09	0.77	1.27	1.47	2.04	3.34	3.32	48.63
G6M3-6-17-4	-0.50	-0.38	-0.04	1.11	0.53	1.19	0.96	0.23	1.32	0.82	1.29	-0.02	2.65	2.14	-1.01	0.90	1.04	19.78
G6M3-6-17-4	-0.22	0.11	-0.04	-2.03	0.91	-0.35	-1.27	3.41	0.22	0.57	0.10	-0.02	0.99	0.75	0.15	0.34	0.46	6.92
G6M3-6-17-4	-1.06	-1.11	-0.04	-0.15	0.42	1.57	-0.26	0.23	0.68	0.62	0.29	-0.02	0.71	0.52	-0.27	0.50	0.57	10.55
G6M3-6-17-4	0.35	0.59	-0.04	-0.15	0.01	1.11	-0.36	0.23	0.30	0.13	0.53	-0.02	1.27	0.98	-0.37	0.28	0.28	4.76
G6M3-6-17-7	-1.06	-0.87	-0.04	-0.15	1.25	1.50	0.02	0.23	2.94	1.87	2.81	0.77	1.13	1.33	2.25	3.04	3.13	49.89
G6M3-6-17-7	0.07	-0.14	-0.04	-0.78	1.08	1.03	0.14	0.23	-1.06	-0.58	-0.62	-0.02	-0.81	-0.76	0.15	-0.69	-0.49	-7.22
G6M3-6-19-9	-1.06	-1.11	-0.04	0.48	0.24	0.34	0.27	1.82	0.60	0.33	0.18	-0.02	-0.81	-0.76	1.20	-0.09	-0.24	8.67
G6M3-6-19-9	-1.06	-1.11	-0.05	0.48	-0.02	0.72	-0.33	0.23	0.03	0.82	0.41	-0.02	0.85	0.63	0.47	0.66	0.97	13.53
G6M3-6-19-9	-0.50	-0.38	-0.05	-0.15	0.57	0.11	-0.36	0.23	2.38	2.05	1.81	-0.02	0.85	0.63	0.89	2.62	2.99	34.15
G6M3-6-19-9	-0.22	-0.14	-0.04	-0.78	1.00	0.80	-0.30	-1.36	1.02	1.34	0.29	-0.02	0.85	0.63	1.20	1.37	1.44	17.43
G6M3-6-19-9	-1.34	-0.87	-0.04	-5.81	0.66	0.88	0.33	0.23	0.60	0.90	0.29	0.77	0.99	1.19	0.99	1.06	1.55	17.28

Hibah Bersaing: Seleksi Mutan Jagung Untuk Toleran Kemasaman 80

NO	UBB	UBJ	TT	JD	PD	LD	DBt	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh BBj	Jmh Bj/B	Jmh Bj/Tk	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G6M3-6-19-9	8	-1.34	-0.87	-0.04	0.48	0.76	-0.12	-0.08	0.49	1.47	0.41	0.77	0.44	0.65	0.68	1.41	1.60	20.26
G6M3-6-19-9	9	0.07	0.11	-0.04	0.48	1.14	0.11	0.05	1.70	0.59	1.97	0.77	1.54	1.74	2.04	2.58	2.60	37.10
G6M3-6-19-9	11	-1.63	-1.11	-0.04	-0.15	0.91	0.88	0.33	1.24	0.74	1.09	-0.02	1.40	1.10	0.68	1.14	1.30	22.97
G6M3-6-19-9	12	-1.63	-1.60	-0.04	-0.78	0.78	0.11	0.61	1.13	0.60	1.65	-0.02	1.96	1.56	1.20	1.51	1.86	26.98
G6M3-6-19-9	13	0.07	0.11	-0.04	-0.78	0.96	0.34	0.71	1.82	0.68	1.17	-0.02	1.54	1.21	-0.69	0.13	-0.03	8.94
G6M3-6-19-9	14	0.07	0.11	-0.04	-0.78	1.25	0.72	0.33	1.55	0.34	1.93	-0.02	1.13	0.87	0.68	0.75	1.02	19.89
G6M3-6-19-9	54	0.07	0.11	-0.05	-0.78	0.32	-0.05	-0.04	1.82	2.07	1.43	-0.02	1.40	1.10	1.83	2.59	3.05	37.88
G6M3-6-19-9	4	-1.91	-1.60	-0.04	1.74	0.49	0.34	1.65	1.82	2.53	2.49	-0.02	1.54	1.21	1.62	1.98	1.86	42.36
G6M3-6-32-2a	1	0.91	0.84	-0.04	-0.15	0.80	0.03	2.18	1.82	-0.23	1.15	0.10	0.77	0.02	0.47	0.46	0.48	11.41
G6M3-6-32-2a	2	0.35	0.35	-0.04	0.48	0.21	-0.20	1.30	0.23	-0.57	-0.30	0.77	-0.12	0.11	0.68	0.19	0.24	6.90
G6M3-6-32-2a	3	0.35	0.35	-0.04	0.48	0.70	0.72	1.58	0.23	0.83	0.37	0.77	0.71	0.92	1.20	1.44	1.50	23.05
G6M3-6-32-2a	4	-1.06	-0.63	-0.04	0.48	0.94	0.88	1.58	-1.36	-0.12	-1.62	-2.42	-1.64	-1.69	0.05	-1.08	-1.13	-17.46
G6M3-6-32-2a	7	1.76	1.57	-0.04	0.48	1.17	0.96	2.15	0.23	-0.53	0.13	0.77	0.44	0.65	0.15	-0.36	-0.40	2.03
G6M3-6-32-2a	9	0.91	0.59	-0.04	1.11	1.22	0.72	2.52	0.22	1.17	-0.02	-0.02	0.44	0.29	0.68	0.55	0.74	13.16
G6M3-6-32-2a	10	1.48	1.33	-0.04	1.74	0.52	-0.35	2.46	0.23	0.87	0.85	0.77	1.13	1.33	0.88	1.53	1.33	22.95
G6M3-6-32-2a	11	0.07	0.11	-0.04	1.74	0.91	0.88	2.18	0.23	0.49	0.20	0.89	1.54	1.74	-0.90	0.29	-0.27	11.91
G6M3-6-32-2a	12	0.07	0.11	-0.04	1.11	0.55	1.73	1.87	3.06	2.72	2.88	1.57	2.37	3.19	1.62	5.20	4.91	65.47
G6M3-6-32-2a	13	1.48	1.08	-0.04	1.74	0.91	0.42	2.24	-1.02	-0.14	-1.46	-0.82	-1.50	-1.44	-0.69	-0.96	-0.88	-15.69
G6M3-6-32-2a	14	0.91	0.59	-0.04	1.11	1.24	0.34	2.21	1.09	-1.21	2.17	-0.02	2.10	1.68	-1.01	0.12	0.03	9.17
G6M3-6-32-2a	17	1.19	0.59	-0.04	1.11	1.33	-0.20	1.55	3.09	0.78	0.45	1.57	1.68	2.41	-1.95	0.09	-0.60	10.35
G6M3-6-32-2a	18	1.76	1.33	-0.04	0.48	1.02	-0.05	1.55	-1.02	-1.03	-0.70	-0.02	-1.09	-0.99	-1.11	-1.17	-1.09	-17.12
G6M3-6-32-2a	20	1.48	0.59	-0.05	-0.15	0.49	-0.35	1.30	-0.23	0.32	0.10	1.17	0.71	1.13	-0.37	0.06	-0.45	0.79
G6M3-6-32-2a	21	1.48	1.33	-0.05	1.74	0.91	-0.97	0.96	-1.36	-0.23	-0.66	-0.02	-1.78	-1.57	-0.80	-0.97	-0.92	-16.31
G6M3-6-32-2a	23	0.91	1.33	-0.05	0.48	-0.64	1.03	0.49	0.83	2.33	1.01	1.57	1.68	2.41	1.31	2.53	3.18	35.04
G7M3-6-3a-3	33	0.81	-0.13	1.04	-1.58	1.45	0.00	1.10	0.85	-0.24	0.06	0.32	-0.02	0.02	0.92	0.02	0.11	5.16
G7M3-6-3a-3	34	-0.23	1.96	0.44	-1.58	0.82	0.01	0.27	0.85	-0.63	-0.31	0.32	-0.02	0.02	-1.32	-0.70	-0.89	-11.02
G7M3-6-3a-3	35	1.50	-0.13	0.64	-0.91	0.88	-0.01	0.20	0.85	1.12	0.00	1.23	0.67	1.06	-0.36	0.34	-0.35	9.40
G7M3-6-3a-3	36	0.12	-0.13	2.55	2.43	1.38	0.04	1.86	1.42	0.60	1.94	0.32	0.84	0.80	2.09	1.72	1.79	36.72

Hibah Bersaing: Seleksi Mutan Jagung Untuk Toleran Kemasaman 81

NO	UBB	UBJ	TT	JD	PD	LD	DBI	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh BBj	Jmh Bj/B	Jmlh Bj/Tk	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G7M3-8-3a-3	0.81	0.57	-0.67	-0.24	-1.68	-0.13	-0.07	0.85	-0.63	0.06	-0.37	-0.57	-0.89	-0.94	1.87	-0.30	-0.06	-4.03
G7M3-15-9-1	-0.57	-0.48	-0.80	-0.24	-0.76	-0.04	0.41	-0.99	0.42	0.13	-0.28	-1.45	-1.24	-1.32	0.38	-0.50	-0.56	-9.81
G7M3-15-9-1	-0.23	-0.48	0.94	1.09	0.41	-0.03	0.34	0.85	1.86	0.65	1.23	0.32	1.71	1.58	1.45	2.38	3.01	36.03
G7M3-15-9-1	-0.23	-0.48	-0.19	-0.24	0.53	-0.02	-0.28	0.85	-0.33	-0.23	0.15	0.32	0.50	0.49	-0.47	-0.68	-0.86	-2.11
G7M3-15-9-1	0.81	0.57	0.79	0.42	0.45	-0.02	-0.07	-0.99	0.15	-0.07	0.52	0.32	-0.54	-0.44	-0.36	-0.59	-0.45	-2.55
G7M3-15-9-3	0.81	0.92	-0.14	0.42	-0.11	-0.02	0.96	-0.99	1.20	0.61	0.52	1.20	1.19	1.60	0.60	1.75	2.21	22.36
G7M3-15-9-3	-0.23	-0.13	0.17	0.42	0.20	-0.03	1.31	-0.99	1.90	0.43	1.99	0.32	1.19	1.11	-0.15	1.57	1.66	23.10
G7M3-15-9-3	-1.26	-0.83	1.39	1.09	0.55	-0.03	-0.14	-0.98	1.16	0.42	0.29	0.32	-0.20	-0.13	1.66	0.57	0.94	17.91
G7M3-15-9-3	-0.23	-0.13	1.25	1.76	1.35	-0.01	1.51	0.85	0.77	-0.11	-0.56	-0.57	-1.24	-1.19	-0.25	-0.76	-0.84	-2.33
G7M3-15-9-3	-0.92	-0.83	1.08	1.09	-4.58	-0.01	0.20	-0.99	2.91	0.42	3.12	0.32	3.44	3.13	0.17	3.81	4.02	42.50
G7M3-15-27-1	-0.23	0.57	1.15	1.76	1.48	-0.03	3.03	0.85	1.90	0.43	1.99	0.32	1.19	1.11	-0.15	1.57	1.66	29.55
G7M3-15-27-1	0.46	0.22	0.87	0.42	0.77	-0.01	0.34	0.85	0.77	-0.11	-0.56	-0.57	-1.24	-1.19	-0.25	-0.76	-0.84	-6.82
G7M3-15-27-1	-1.96	-2.22	0.19	0.42	0.37	0.01	3.10	0.85	2.91	0.42	3.12	0.32	3.44	3.13	0.17	3.81	4.02	53.08
G7M3-15-27-3a	-0.57	-0.83	0.16	0.42	0.25	-0.01	0.06	-0.99	-0.59	-0.28	-0.14	0.32	-0.02	0.02	-0.79	-0.16	-0.26	-3.45
G7M3-15-27-3a	0.81	0.92	0.63	1.09	1.18	18.64	0.96	0.85	-0.28	0.46	-0.18	1.20	-0.20	0.15	1.87	0.36	0.61	33.41
G7M3-15-27-3a	-0.23	-0.48	-0.54	-0.24	-0.94	-0.08	-0.07	-0.99	-0.63	0.13	-0.37	-0.57	0.32	-0.03	0.17	0.23	0.37	-3.49
G7M3-15-27-3a	-0.92	-0.83	-0.70	0.42	-1.08	-0.09	-0.28	-0.99	0.90	-0.09	1.42	0.32	-0.37	-0.29	0.28	-0.24	-0.40	4.18
G7M3-15-27-3a	0.81	0.92	2.34	1.76	1.43	0.00	0.48	0.85	1.77	0.61	2.46	1.20	0.67	1.06	1.98	1.82	1.95	38.16
G7M3-15-27-3a	-1.26	-1.87	0.64	1.08	1.19	-0.02	2.48	0.85	1.42	0.21	1.94	0.32	1.19	1.11	1.02	0.69	1.01	29.51
G7M3-15-49-4	-1.26	-1.17	-1.55	-0.91	-0.94	-0.10	-2.14	-0.99	-1.64	-0.47	-1.22	-1.90	-1.06	-1.30	-0.47	-1.12	-0.91	-26.30
G7M3-15-49-4	-1.26	-1.17	-0.58	-0.24	-0.62	-0.07	-1.80	-0.99	-0.63	-0.23	-0.32	0.32	-0.72	-0.60	-0.47	-0.83	-0.88	-10.66
G7M3-15-49-4	0.81	0.92	-0.02	0.42	0.42	-0.02	-0.35	-0.99	-0.33	0.16	-0.66	0.32	0.67	0.64	-0.47	0.11	-0.10	-3.99
G7M3-15-49-4	-0.23	-0.13	-0.55	-0.91	-1.08	-0.09	-0.76	-0.99	-0.41	-0.13	-0.94	0.32	-0.72	-0.60	0.28	-0.70	-0.64	-10.72
G7M3-15-49-4	-0.57	-0.48	-0.39	-0.91	-0.62	-0.09	-1.25	-0.99	0.59	0.24	1.47	-0.13	0.67	0.44	1.98	0.31	0.27	10.96
G7M3-15-49-4	1.15	0.92	-0.48	-0.24	-0.89	-0.08	-2.21	-0.99	-0.11	-0.31	-0.56	0.32	-0.89	-0.75	1.34	-0.70	-0.71	-9.68
G7M3-15-49-4	-0.23	-0.48	1.43	1.09	1.38	0.01	-1.32	-0.99	1.51	0.63	1.37	0.32	2.06	1.89	1.55	3.35	3.29	36.78
G7M3-15-49-8	-1.96	-1.87	-0.47	-0.91	0.26	-0.07	0.41	-0.99	-0.24	-0.35	-0.09	0.32	-0.89	-0.75	-0.36	-1.01	-0.85	-5.58
G7M3-15-49-8	0.81	0.92	-0.60	-2.24	-0.94	-0.09	0.06	-0.99	-1.29	-0.45	-0.99	0.32	-0.54	-0.44	-0.89	-0.91	-0.82	-19.85

Hibah Bersaing: Seleksi Mutuan Jagung Untuk Toleran Kemusaman 82

	NO	UBB	UBU	TT	JD	PD	LD	DBI	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh Bbj	Jmh Bj/B	Jmlh Bj/Tk	BB 100 Bj	BBj+Tk	BBj	INDEKS
		W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
G7M3-15-49-8	3	0.46	0.57	0.07	-1.58	0.21	-0.05	1.58	-0.99	1.12	0.18	-0.66	0.32	-0.37	-0.29	1.23	-0.42	-0.12	1.95
G7M3-15-49-8	6	-0.57	-0.48	-0.65	-0.24	-1.09	-0.07	-0.14	0.85	0.90	-0.11	1.37	-0.57	1.02	0.49	0.06	0.34	0.49	7.68
G7M3-15-49-8	8	-0.92	-0.83	0.11	-0.24	0.53	-0.04	1.10	0.85	2.03	0.71	1.85	1.20	1.19	1.60	2.40	3.50	3.07	44.48
G7M3-15-50-5a	9	1.84	1.96	0.81	-0.91	-0.62	-0.10	-1.32	-0.99	0.02	-0.07	-0.23	1.20	0.32	0.70	-0.79	-0.42	-0.52	-9.55
G7M3-15-50-5a	13	-1.61	-1.52	-0.40	-0.24	-0.13	-0.08	-0.28	0.85	-0.11	-0.27	0.19	0.32	-0.20	-0.13	-0.89	-0.87	-0.95	4.03
G7M3-15-50-5a	15	1.84	1.61	0.87	1.09	0.32	-0.05	1.65	0.85	0.11	0.07	0.43	0.32	1.88	1.73	-0.57	0.22	-0.10	5.57
G7M3-15-50-5a	17	0.46	0.57	0.21	0.42	0.53	-0.06	-0.21	0.85	0.46	17.30	0.43	1.20	0.50	0.88	-0.79	0.03	-0.31	38.96
G7M3-15-50-5a	19	1.50	1.27	0.26	0.42	0.47	-0.06	0.27	-0.99	-0.81	-0.50	-1.50	2.78	-1.41	-1.58	-0.47	-0.75	-0.70	-25.81
G7M3-15-50-5a	20	1.50	1.61	1.01	1.09	0.90	-0.06	0.13	0.85	1.51	0.71	-0.18	1.20	0.50	0.98	2.40	1.70	1.31	23.81
G8M3-4-8-2	3	-1.00	-0.71	-0.14	-0.10	-0.22	-0.31	0.52	2.25	-0.19	-0.29	0.05	-0.65	0.00	-0.07	-0.32	-0.09	-0.05	-0.37
G8M3-4-8-2	4	-2.04	-1.59	-0.17	-0.64	-0.31	-0.45	-0.22	-2.78	-0.19	-0.26	0.00	0.67	0.03	-0.05	-0.50	-0.12	-0.26	-2.50
G8M3-4-8-2	5	-2.04	-1.73	-0.14	0.45	-0.20	-0.32	-0.13	2.25	-0.08	-0.25	0.15	-0.36	0.07	-0.06	0.09	-0.03	-0.04	4.48
G8M3-4-8-2	7	-2.04	-1.73	-0.15	-0.10	-0.19	-0.32	0.22	-2.78	-0.05	-0.23	0.05	-0.06	0.03	-0.06	-0.08	-0.08	-0.07	3.00
G8M3-4-8-6	8	-1.18	-0.86	-0.09	-0.64	-0.28	-0.35	0.44	2.25	-0.19	-0.22	-0.13	-0.06	-0.16	-0.07	0.61	-0.11	-0.11	4.83
G8M3-4-8-6	11	-1.52	-1.29	-0.18	-1.73	-0.34	-0.43	-0.65	2.25	-0.89	-0.26	-0.77	-0.06	-0.26	-0.08	-0.12	-0.10	-0.25	1.35
G8M3-4-8-6	12	-1.00	-0.86	-0.13	-1.73	-0.23	-0.37	0.39	2.25	-0.13	-0.22	0.07	-0.06	0.03	-0.06	0.09	-0.07	-0.05	11.72
G8M3-30-2-1	1	-1.35	-1.15	-0.10	1.53	-0.18	-0.28	1.00	2.25	0.32	-0.13	0.61	-0.06	0.07	-0.06	0.47	0.11	0.36	11.72
G8M3-30-2-1	2	-1.00	-0.86	-0.18	-0.64	-0.37	-0.48	-0.22	2.25	-0.44	-0.23	-0.30	-0.36	-0.26	-0.08	0.40	-0.12	-0.10	-0.75
G8M3-30-2-1	3	-1.00	-0.86	-0.17	-0.64	-0.32	-0.44	-0.30	2.25	0.21	-0.19	0.31	-0.06	0.20	-0.05	0.09	0.08	-0.04	3.38
G9M3-20-44-2	1	-0.80	-0.58	-0.68	-1.20	-0.71	-0.84	-0.73	-0.62	1.19	1.26	1.30	0.34	0.68	0.61	0.28	0.79	0.01	9.37
G9M3-20-44-2	5	-1.02	-1.02	1.62	1.50	1.42	1.98	-0.86	-0.62	0.13	1.53	0.48	1.17	0.50	0.82	-0.29	1.04	-0.13	16.36
G9M3-20-44-2	6	-0.59	-0.58	1.82	0.60	1.52	1.56	1.18	-0.62	-0.36	0.54	-0.38	0.34	0.12	0.11	0.47	0.29	0.71	12.23
G9M3-20-44-2	8	0.28	0.51	-0.25	0.60	-0.41	-0.63	0.52	1.54	1.45	1.58	0.43	0.34	0.68	0.61	0.66	1.11	1.44	19.12
G9M3-20-44-2	9	2.01	2.04	1.46	0.60	1.12	1.34	0.26	-0.62	-0.85	-0.80	-0.65	-0.50	-0.43	-0.63	-0.48	-1.06	-0.90	-13.79
G9M3-20-44-2	11	2.01	2.04	-0.19	0.60	0.24	-0.25	-0.20	-0.62	0.44	0.62	1.03	1.17	0.68	1.02	-0.10	0.65	0.59	8.62
G9M3-20-44-2	18	-0.80	-0.80	0.44	-2.10	1.06	1.13	1.11	1.54	2.29	-0.50	2.49	0.34	2.36	2.08	3.32	2.40	2.83	44.99
G9M3-20-44-2	20	0.28	0.07	-0.28	-0.30	0.09	-0.68	-0.13	1.54	-0.85	-1.20	-0.92	-0.50	-0.43	-0.63	-1.05	-1.01	-0.64	-16.25
G9M3-20-44-2	21	-0.37	-0.58	-0.50	-0.30	-0.24	-0.57	1.57	-0.62	0.88	2.28	-0.27	0.34	-0.43	-0.38	1.61	1.23	1.64	18.60

Hibah Bersaing: Seleksi Mutan Jagung Untuk Toleran Kemassaman 83

NO	UBB	UBJ	TT	JD	PD	LD	DBt	JBB	PT	DT	PBBj	Jmh Bbj	Jmh Bj/B	Jmlh Bj/Tk	BB 100 Bj	Bbj+Tk	Bbj	INDEKS	
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16	W17		
G9M3-20-44-2	22	0.71	0.51	1.48	0.60	1.37	0.92	1.18	-0.62	-0.23	0.14	-0.06	0.34	-0.06	-0.05	-1.05	-0.54	-0.23	-0.32
G9M3-20-44-2	24	0.06	0.07	-0.33	-0.30	-0.13	-0.47	0.52	1.54	-0.80	-0.87	-0.76	0.34	-0.43	-0.38	-0.67	-0.87	-0.68	-10.35

TT = tinggi tanaman, JD = jumlah daun, PD = panjang daun, LD = lebar daun, DBt = diameter batang, UBB = umur berbunga betina, UBJ = umur berbunga jantan, JT = jumlah tongkol per tanaman, PT = panjang tongkol, DT = diameter tongkol, PBBj = panjang bars biji, JBBj = jumlah biji bars, JBj_B = jumlah biji per bars, JBj_T = jumlah biji per tongkol, B100 = bobot 100 biji, BBjnt = bobot tongkol berisi, BBj_t = bobot biji per tongkol

B. DRAF ARTIKEL ILMIAH

Identifikasi Mutan Jagung M4 Hasil Irradiasi Sinar Gamma Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD

(Identification of M4 Gamma Irradiated Maize Mutant Based on RAPD Markers)

Rustikawati*

*Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.

Abstract

Gamma irradiation to induce mutation in plant has been used intensively since several decades ago. On maize, 275 Gy gamma irradiation have been known to increase genetic variability indicated by their morphological variation. Identification on genetic changes by molecular technique is important to answer whether there is mutation happening on DNA level of the plants. The objective of this research is to identify RAPD marker polymorphism on gamma irradiation mutants compare to their parents. The initial step of the research was to select random primers could positively amplify the maize DNA. The result showed that selection on 60 random primers yielded 15 primers that positively amplified the maize DNA. Amplification on both mutants and their parent by those 15 selected primers indicated that only 5 primers yielding polymorphism between mutants and their parents. Polymorphism on mutant G1, G3 and G6 were detected on one locus, meanwhile on mutant G7, G8 and G9 were on two loci.

Keyword: maize, mutation, RAPD

Abstrak

Teknik iradiasi sinar gamma untuk menginduksi mutasi pada tanaman telah lama dilakukan. Pada tanaman jagung, iradiasi dengan dosis 275 Gy dapat meningkatkan keragaman genetik secara morfologi. Identifikasi perubahan genetik secara molekuler perlu dilakukan untuk memastikan dugaan terjadinya mutasi pada DNA tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme marka RAPD pada mutan iradiasi sinar gamma dibandingkan dengan tetua asalnya. Pada tahap awal dilakukan seleksi primer RAPD yang positif mengamplifikasi DNA jagung. Hasil seleksi 60 random primer diperoleh 15 primer dari 3 operon, Amplifikasi kelimabelas random primer pada mutan dan tetua asalnya menunjukkan hanya 5 primer yang terjadi polimorfisme. Berdasarkan pola pita RAPD yang dihasilkan, polimorfisme pada mutan G1, G3 dan G6 terjadi pada 1 lokus, sedangkan G7, G8 dan G9 terjadi polimorfisme pada 2 lokus.

Kata kunci: jagung, mutasi, RAPD

Pendahuluan

Di Indonesia, pembentukan kultivar- kultivar dari mutasi induksi telah lama dilakukan melalui kerja sama dengan PATIR BATAN. Pada tahun 1972 telah dirilis varietas padi 'Atomita' hasil irradiasi sinar gamma (BATAN 1996). Berikutnya menyusul 6 varietas padi yang tahan wereng coklat (biotype 2 dan 3) serta tahan terhadap bercak daun, 1 varietas kacang merah tahan terhadap kekeringan dan bercak *Cercospora*, serta 3 varietas kedelai toleran lahan masam dan keracunan aluminium. Penelitian pada cabai untuk mencari varietas tahan antraknosa, pada kapas untuk memperoleh ketahanan terhadap pengerek buah dan pada nilam untuk meningkatkan kandungan minyak nilam juga telah dilakukan (P3TIR BATAN 2000).

Induksi mutasi secara fisik dengan iradiasi sinar gamma dapat dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik populasi dasar (Micke dan Donini, 1993). Keberhasilan upaya irradiasi untuk meningkatkan keragaman populasi sangat ditentukan oleh radiosensitivitas genotipe. Tingkat sensitivitas tanaman sangat bervariasi antarjenis tanaman dan antargenotipe (Banerji dan Datta 1992). Kehadiran oksigen sangat berperan penting untuk merubah dan meningkatkan efek radiasi dalam sistem biologi. Pada jaringan yang mengandung kadar air rendah, seperti biji-bijian kering, radikal-radikal yang diinduksi dari iradiasi akan merusak dengan sangat lambat. Sebaliknya, jika kandungan air tinggi, maka radikal tersebut akan membuat kerusakan dengan cepat.

Radiosensitivitas dapat diukur berdasarkan nilai LD50 yaitu dosis yang menyebabkan kematian 50% populasi tanaman. Dalam induksi mutasi, beberapa studi menunjukkan bahwa dosis optimum yang dapat menghasilkan mutan terbanyak biasanya terjadi di sekitar LD50 (Ibrahim 1999). Selain dengan LD50, radiosensitivitas juga dapat diamati dari adanya hambatan pertumbuhan atau letalitas, mutasi somatik, patahan kromosom, serta jumlah dan ukuran kromosom (Datta 2001). Pada tanaman jagung, irradiasi dengan dosis 275 Gy dapat meningkatkan

keragaman karakter jumlah daun, panjang daun dan lebar daun antara 30% - 80%, sedangkan tinggi tanaman meningkat 250% - 1300% (Rustikawati, *et al.*, 2008).

Identifikasi tanaman yang diinduksi mutasi dapat dilakukan secara morfologi, enzimatik atau molekuler. Identifikasi secara morfologi paling mudah dan mudah dilakukan namun sering terjadi kesalahan terhadap sifat-sifat epigenetik yang tidak diwariskan. Identifikasi secara enzimatik anyelir hasil induksi mutasi dengan sinar gamma menghasilkan lima mutan anyelir. Enzim peroksidase (PER), enzim esterase (EST) dan enzim acid phosphatase (ACP) dapat menunjukkan pola pita yang berbeda antar lima genotipe anyelir yang diuji (Aisyah, 2006). Beberapa tahun terakhir penanda molekuler telah banyak digunakan sebagai alat bantu dalam genetika dasar maupun aplikasinya. Berbagai ukuran potongan DNA hasil amplifikasi dapat dengan mudah dipisahkan berdasarkan ukurannya dengan menggunakan teknik elektroforesis dan hasilnya dapat dilihat sebagai pita-pita DNA dengan berbagai ukuran (Griffin and Griffin, 1994). Penanda DNA lebih akurat karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan maupun fase pertumbuhan tanaman. Diantara penanda DNA, RAPD adalah yang paling mudah dilakukan, oleh karena itu dalam penelitian ini identifikasi mutan hasil induksi mutasi dengan sinar gamma pada jagung dilakukan dengan penanda molekuler RAPD.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan September 2009 sampai Agustus 2010. Bahan tanaman yang digunakan adalah 6 galur mutan S4 hasil induksi mutasi dengan sinar gamma dan 6 genotipe tetua asalnya. Keenam galur tersebut adalah G1M, 3M, G6M, G7M, G8M, dan G9M. Sampel DNA diisolasi dari daun tanaman berumur 2 minggu. Analisis RAPD dilakukan di Laboratorium Molekuler dan Seluler Departemen Agrohort, Faperta IPB.

Isolasi DNA Jagung

Metode isolasi DNA jagung mengikuti prosedur pada KIT RED-EXTRACT DNA AMP. Pemurnian dilakukan dengan penambahan CIA dan presipitasi DNA menggunakan alkohol 95% (Herison, *et al.*, 2003). Kuantitas dan kemurnian DNA

diuji dengan spektrofotometer. Kemurnian DNA ditetapkan berdasarkan nilai rasio A260/A280. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler mempunyai rasio A260/A280 sekitar 1.8-2.0.

Seleksi Primer dan Identifikasi Penanda RAPD

Primer yang diseleksi sebanyak 60 random primer dari Operon Tecknologies OPE, OPH dan OPM yang masing-masing terdiri atas 20 random primer. Limabelas random primer hasil seleksi selanjutnya digunakan untuk amplifikasi DNA mutan dan tetua. Polimorfisme pola pita DNA mutan dan tetuanya digunakan untuk menetapkan terjadinya mutasi pada DNA jagung.

Metode amplifikasi dengan konsentrasi DNA antara 10 – 25 ng dan program PCR berdasarkan hasil optimasi adalah satu siklus pre PCR (94°C, 5 menit), 45 siklus {denaturasi (94°C, 5 detik), annealing (suhu T_M-4 , 30 detik), elongation (72°C, 1 menit)}, satu siklus stop PCR (72°C, 10 menit.).

Hasil amplifikasi divisualisasi dengan elektroforesis gel agarose. Elektroforesis dilakukan pada gel agarose (0.8 b/v) menggunakan bufer TAE, voltase konstan sebesar 100 volt selama 25 menit. DNA yang telah dielektroforesis direndam dalam larutan etidium bromida (0.5 mg/l) selama 20 detik, dibilas dengan aquades secukupnya, divisualisasi di atas UV transiluminator, dan dipotret dengan kamera digital.

Hasil dan Pembahasan

Seleksi Primer RAPD

Pada tahap seleksi primer, DNA yang digunakan sebagai *template* berasal dari G1 tetua asal. Informasi yang ingin diperoleh adalah daftar primer-primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi DNA jagung. Dari 60 random primer yang diuji diperoleh 15 primer yang sesuai untuk DNA jagung. Urutan basa dari masing-masing primer dan jumlah pita yang dihasilkan dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Urutan basa primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi DNA jagung dan jumlah pita yang dihasilkan

No	Operon	Urutan Basa	Jumlah Pita
1	OPE-7	AGATGCAGCC	4
2	OPE-8	TCACCACGGT	1
3	OPE-10	CACCAGGTGA	1
4	OPE-17	CTACTGCCGT	1
5	OPH-1	GGTCGGAGAA	1
6	OPH-6	ACGCATCGCA	2
7	OPH-7	CTGCATCGTG	3
8	OPH-8	GAAACACCCC	2
9	OPH-9	TGTAGCTGGG	2
10	OPH-16	TCTCAGCTGG	1
11	OPH-19	CTGACCAGCC	3
12	OPM-1	GTTGGTGGCT	1
13	OPM-2	ACAACGCCTC	2
14	OPM-7	CCGTGACTCA	1
15	OPM-20	AGGTCTTGGG	3

Teknik RAPD biasanya dipilih dengan alasan: hanya memerlukan DNA dalam jumlah nanogram, belum ada informasi sequen DNA tanaman, tidak menggunakan materi radioaktif, mudah dan murah. Random primer biasanya spesifik dalam spesies tanaman. Oleh karena itu daftar primer yang diperoleh pada penelitian ini dapat digunakan peneliti lain untuk amplifikasi DNA jagung sehingga mempercepat waktu dan menghemat biaya analisis RAPD.

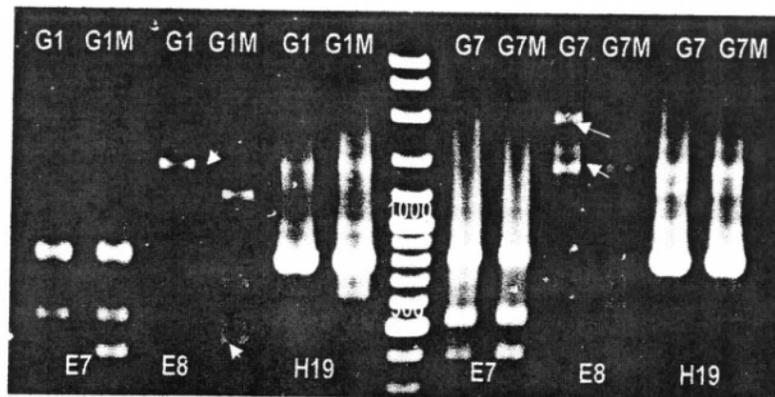
Primer-primer yang dapat mengamplifikasi dengan jumlah pita lebih dari 2 sangat berpeluang menghasilkan polimorfisme pada tanaman yang dianalisis. Berdasarkan data di atas maka primer yang digunakan untuk identifikasi penanda

RAPD mutan jagung adalah OPE-07, OPE-06, OPH7, OPH-19 dan OPM-20. OPE-07 dengan jumlah pita 4 sangat bagus untuk analisis polimorfisme.

Identifikasi penanda RAPD

Template PCR untuk identifikasi polimorfisme adalah DNA G1, G3, G6, G7, G* dan G9 baik dari tetua asal maupun setelah diradiasi sinar gamma. Masing-masing DNA diamplifikasi menggunakan 5 primer terseleksi. Visualisasi hasil PCR dielektroforesis bersamaan dengan marker 1 kb ladder. Marker diperlukan untuk kuantifikasi pita DNA berdasarkan panjang potongan. Gambar 1 dan Gambar 2 adalah sebagian data hasil amplifikasi. Polimorfisme pola pita antara mutan dan tetua asalnya ditunjukkan oleh tanda panah.

Pada G1 yang diamplifikasi dengan primer OPE-08 terdapat pita dengan ukuran 1500 bp, sedangkan G1M dengan primer yang sama tidak ada pita. Perbedaan pola pita tersebut menunjukkan bahwa template DNA keduanya juga berbeda. Perbedaan ukuran pita DNA yang dihasilkan dari satu primer diasumsikan berasal dari lokus yang berbeda. Berdasarkan data hasil amplifikasi yang dilakukan, semua mutan irradiasi sinar gamma berbeda dengan tetua asalnya (Tabel 2).



Gambar 1. Hasil amplifikasi pada jagung galur G1 dan G7 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19



Gambar 2. Hasil amplifikasi pada jagung galur G8 dan G9 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19

Polimorfisme pola pita RAPD disebabkan oleh terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diiradiasi. Mutasi titik atau perubahan pada 1 basa DNA sudah dapat menyebabkan perbedaan *template* sehingga terjadi perbedaan pola pita RAPD. Micke dan Donini (1993) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma dapat mengionisasi atom-atom dalam jaringan dengan cara melepaskan elektron-elektron dari atomnya. Ionisasi dapat menyebabkan pengelompokkan molekul-molekul sepanjang jalur ion yang tertinggal karena iradiasi. Pengelompokkan baru seperti ini menyebabkan perubahan kimia yang mengarah pada kesalahan berpasangan dalam DNA. mutasi gen atau pada kerusakan atau pengaturan kembali kromosom.

Konsistensi pita RAPD sebagai penanda molekuler tanaman telah dibuktikan oleh Herison *et al.* (2010) dalam identifikasi pola pita tanaman BC2 cabai dengan tetua recurrent. Primer yang sama digunakan untuk identifikasi tanaman BC3 menghasilkan pola pita yang identik. Penanda RAPD juga telah digunakan untuk analisis keterpautan gen ketahanan terhadap CMV pada cabai (Rustikawati *et al.*, 2008).

Tabel 2. Polimorfisme pola pita RAPD pada DNA mutan irradiasi sinar gamma dan tetua asal

Primer	G1	G1 M	G3	G3 M	G6	G6 M	G7	G7 M	G8	G8 M	G9	G9 M
OPE07 ₅₀₀									+	-		
OPE08 ₄₅₀											-	+
OPE08 ₆₀₀									+	-	-	+
OPE08 ₁₅₀₀	+	-										
OPE08 ₁₆₀₀							+	-				
OPE08 ₂₀₀₀							+	-			+	-
OPH07 ₆₀₀					+	-						
OPM20 ₁₁₀₀			+	-								

Kesimpulan

Semua genotipe hasil irradiasi sinar gamma yang dianalisis memiliki polimorfisme pola pita DNA dengan tetua asalnya. Berdasarkan pola pita RAPD yang dihasilkan, polimorfisme pada mutan G1, G3 dan G6 terjadi pada 1 lokus, sedangkan G7, G8 dan G9 terjadi polimorfisme pada 2 lokus. Dengan demikian radiasi 275 Gy dapat menginduksi terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diteliti.

Daftar Pustaka

- Aisyah, S.I. 2006. Mutasi induksi fisik dan pengujian stabilitas mutan yang diperbanyak secara vegetatif pada anyelir (*Dianthus caryophyllus* Lin.) Disertasi. Program Studi Agronomi Sekolah Pascasarjana IPB.
- Badan Tenaga Atom Nasional. 1996. Radiasi dalam Bahasa Sehari-hari. Yogyakarta. Terjemahan dari W.Bjorn, Radiation in Everyday Language. 91 p.
- Banerji B.K. and S.K. Datta. 1992. Gamma ray induced flower shape mutation in chrysanthemum cv 'Java'. J. Nuclear Agric. Biol. 21(2): 73-79.
- Datta, S.K.. 2001. Mutation studies on garden chrysanthemum : A review. Scientific Horticulture 7:159-199.

- Griffin, H., and A. Griffin. 1994. PCR Technology, current innovations. CRC Press. London
- Herison, C., Rustikawati, Eliyanti dan Sudarsono. 2003. Penentuan protokol yang tepat untuk menyiapkan DNA genom cabai (*Capsicum* sp). Akta Agrosia 6(2):38-43
- Herison, C., S. Winarsih, M. Handayaningsih, dan Rustikawati. 2010. Introgression of CMV tolerance genes to hybrid parent of hot pepper employing morphological and RAPD marker to identify recurrent parent characteristics in BC2 polulation. Proceeding International Seminar on Horticulture to Support Food Security, June 22-23, 2010. Pp: A174-A180.
- Ibrahim, R. 1999. In vitro mutagenesis in roses. Phd Thesis. Applied Biological Sci. Cell and Gene Biotechnology Fac. Univ Gent. Belgium. 162p (unpublished)
- Micke, A. and B. Donini. 1993. Induced Mutations. In M.D. Hayward, N.O. Bosemark and I. Romagosa (eds.). Plant Breeding: Principles and Prospects. Chapman and Hall. London. 550 p.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi . Badan Tenaga Atom Nasional. 2000. Present and future activities of mutation breeding in CRDIRT, Country: Indonesia. FNCA Report. Jakarta: BATAN.
- Rustikawati, C. Herison, Sudarsono, Eliyanti dan D. Suryati. 2008. Identification of DNA markers linked to CMV resistance gene(s) in hot pepper. Akta Agrosia 11:108-112
- Rustikawati, S.H. Sutjahjo, C. Herison, dan S.I. Aisyah. 2008. Induksi mutasi melalui iradiasi sinar gamma terhadap benih untuk meningkatkan keragaman populasi dasar jagung (*Zea mays* L.). Akta Agrosia 11(1):57-62

**LAPORAN EKSEKUTIF
HIBAH BERSAING**



**SELEKSI MUTAN IRADIASI SINAR GAMMA
DALAM RANGKA PERAKITAN KULTIVAR UNGGUL JAGUNG
TENGGANG KEMASAMAN**

PENELITI

Ketua : Dr. Ir. Rustikawati, M.Si.
Anggota : 1. Ir. Atra Romeida, MSi.
2. Ir. Eko Suprijono, MP.

Dibiayai oleh DIPA UNIB No 0824/023-04.2.16/08/2011 Tanggal 20 Desember 2011
Dengan Surat Perjanjian No. 1714/430.10.06.01/HK/2011 Tanggal 17 Februari 2011

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BENGKULU
NOVEMBER 2011**

I. PERMASALAHAN DAN TUJUAN PENELITIAN

Kondisi masam dan keracunan Al merupakan stres abiotik yang selalu dijumpai pada tanah-tanah marginal, dimana pada tanah tersebut ekstensifikasi penanaman jagung harus dilakukan untuk meningkatkan produksi nasional. Dalam rangka ikut mensukseskan program swa sembada jagung yang dicanangkan pemerintah, peneliti membuat root map penelitian untuk memperoleh galur yang tenggang terhadap kemasaman tanah. Tujuan penelitian Hibah Bersaing yang telah dilaksanakan dan diusulkan untuk dilanjutkan adalah untuk menghasilkan kultivar hibrida jagung unggul berdaya hasil tinggi dan tenggang terhadap kemasaman tanah.

II. INOVASI IPTEKS

a.. Kontribusi terhadap pembaharuan dan pengembangan ipteks

Perakitan kultivar unggul toleran kemasaman melalui pemanfaatan teknik iradiasi dapat memperkaya khasanah ilmu pengetahuan. Metode dan hasil-hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan oleh para peneliti lain pada bidang kegiatannya masing-masing. Pada tanaman jagung, irradiasi sinar gamma dengan dosis 275 Gy dapat menghasilkan mutan yang stabil sampai generasi S6.

b. Perluasan cakupan penelitian

Mutan hasil penelitian ini akan memperkaya keragaman genetik plasma nutfah jagung yang sangat bermanfaat bagi program pemuliaan. Mutan S6 yang dihasilkan telah diuji secara molekuler terdapat perbedaan pola pita RAPD sehingga merupakan sumber genetik baru dalam program perakitan hibrida jagung yang direncanakan.

III. KONTRIBUSI TERHADAP PEMBANGUNAN

a.. Dalam mengatasi masalah pembangunan

Kultivar unggul jagung toleran kemasaman sangat penting dalam peningkatan produksi jagung nasional sehingga dapat menambah optimisme pemerintah untuk mencapai swasembada jagung. Dalam penelitian ini perlu waktu satu tahun lagi untuk mendapatkan hibrida unggul jagung harapan yang telah diuji lapang..

b. Penerapan teknologi kearah komersial

Benih hibrida yang dihasilkan dai penelitian ini akan sangat mebanu meningkatkan pendapatan petani karena harga benih nasional lebih murah dibandingkan benih impor. Jika telah dilakukan pengujian yang cukup maka benih hibrida unggul dapat dikomersialkan kepada petani.

c. Alih teknologi: tidak ada

IV. MANFAAT BAGI INSTITUSI

a.. Keterlibatan unit-unit lain di Universitas Bengkulu: tidak ada

b. Keteribatan mahasiswa

Saat ini telah terdaftar 4 orang mahasiswa yang ikut terlibat dalam penelitian untuk penyelesaian tugas akhir yaitu:

No	Nama	Judul Skripsi
1	Mujianto/ E1J008039	Daya Gabung Umum dan Daya Gabung Khusus 6 Galur S6 Jagung Mutan Iradiasi Sinar Gamma
2	Ahmad Ansori E1J008015	Kajian Heterosis dan Keragaan Hibrida Beberapa Persilangan Galur S6 Jagung Mutan Iradiasi Sinar Gamma

c. Keteribatan dengan pihak lain

Analisis RAPD dilakukan di Laboratorium Seluler dan Molekuler Dept. Agrohort, Faperta IPB yang sekaligus menjadi mitra untuk pengembangan Devisi Bioteknologi Laboratorium Agronomi, Faperta Universitas Bengkulu.

V. PUBLIKASI ILMIAH

Artikel terlampir telah dikirim ke Jurnal terakreditasi Agrivita. Saat ini sedang disiapkan artikel ke 2 dengan judul: Daya Gabung Umum dan Daya Gabung Khusus 6 Galur S6 Jagung Mutan Iradiasi Sinar Gamma (Rustikawati, E. Suprijono, A Romeida dan Mujianto).

Identifikasi Mutan Jagung M4 Hasil Irradiasi Sinar Gamma Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD

(Identification of M4 Gamma Irradiated Maize Mutant Based on RAPD Markers)

Rustikawati

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu. tika_ngrh@yahoo.com

Abstract

Gamma irradiation to induce mutation in plant has been used intensively since several decades ago. On maize, 275 Gy gamma irradiation have been known to increase genetic variability indicated by their morphological variation. Identification on genetic changes by molecular technique is important to answer whether there is mutation happening on DNA level of the plants. The objective of this research is to identify RAPD marker polymorphism on gamma irradiation mutants compare to their parents. The initial step of the research was to select random primers could positively amplify the maize DNA. The result showed that selection on 60 random primers yielded 15 primers that positively amplified the maize DNA. Amplification on both mutants and their parent by those 15 selected primers indicated that only 5 primers yielding polymorphism between mutants and their parents. Polymorphism on mutant G1, G3 and G6 were detected on one locus, meanwhile on mutant G7, G8 and G9 were on two loci.

Keyword: maize, mutation, RAPD

Abstrak

Teknik iradiasi sinar gamma untuk menginduksi mutasi pada tanaman telah lama dilakukan. Pada tanaman jagung, iradiasi dengan dosis 275 Gy dapat meningkatkan keragaman genetik secara morfologi. Identifikasi perubahan genetik secara molekuler perlu dilakukan untuk memastikan dugaan terjadinya mutasi pada DNA tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme marka RAPD pada mutan iradiasi sinar gamma dibandingkan dengan tetua asalnya. Pada tahap awal dilakukan seleksi primer RAPD yang positif mengamplifikasi DNA jagung. Hasil seleksi 60 random primer diperoleh 15 primer dari 3 operon. Amplifikasi kelimabelas random primer pada mutan dan tetua asalnya menunjukkan hanya 5 primer yang terjadi polimorfisme. Berdasarkan pola pita RAPD yang dihasilkan, polimorfisme pada mutan G1, G3 dan G6 terjadi pada 1 lokus, sedangkan G7, G8 dan G9 terjadi polimorfisme pada 2 lokus.

Kata kunci: jagung, mutasi, RAPD

Pendahuluan

Di Indonesia, pembentukan kultivar- kultivar dari mutasi induksi telah lama dilakukan melalui kerja sama dengan PATIR BATAN. Pada tahun 1972 telah dirilis varietas padi 'Atomita' hasil irradiasi sinar gamma (BATAN 1996). Berikutnya menyusul 6 varietas padi yang tahan wereng coklat (biotype 2 dan 3) serta tahan terhadap bercak daun, 1 varietas kacang merah tahan terhadap kekeringan dan bercak *Cercospora*, serta 3 varietas kedelai toleran lahan masam dan keracunan aluminium. Penelitian pada cabai untuk mencari varietas tahan antraknosa, pada kapas untuk memperoleh ketahanan terhadap pengerek buah dan pada nilam untuk meningkatkan kandungan minyak nilam juga telah dilakukan (P3TIR BATAN 2000).

Induksi mutasi secara fisik dengan iradiasi sinar gamma dapat dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik populasi dasar (Mickey dan Donini, 1993). Keberhasilan upaya irradiasi untuk meningkatkan keragaman populasi sangat ditentukan oleh radiosensitivitas genotipe. Tingkat sensitivitas tanaman sangat bervariasi antarjenis tanaman dan antargenotipe (Banerji dan Datta 1992). Kehadiran oksigen sangat berperan penting untuk merubah dan meningkatkan efek radiasi dalam sistem biologi. Pada jaringan yang mengandung kadar air rendah, seperti biji-bijian kering, radikal-radikal yang diinduksi dari iradiasi akan merusak dengan sangat lambat. Sebaliknya, jika kandungan air tinggi, maka radikal tersebut akan membuat kerusakan dengan cepat.

Radiosensitivitas dapat diukur berdasarkan nilai LD50 yaitu dosis yang menyebabkan kematian 50% populasi tanaman. Dalam induksi mutasi, beberapa studi menunjukkan bahwa dosis optimum yang dapat menghasilkan mutan terbanyak biasanya terjadi di sekitar LD50 (Ibrahim 1999). Selain dengan LD50, radiosensitivitas juga dapat diamati dari adanya hambatan pertumbuhan atau letalitas, mutasi somatik, patahan kromosom, serta jumlah dan ukuran kromosom (Datta 2001). Pada tanaman jagung, irradiasi dengan dosis 275 Gy dapat meningkatkan

keragaman karakter jumlah daun, panjang daun dan lebar daun antara 30% - 80%, sedangkan tinggi tanaman meningkat 250% - 1300% (Rustikawati, *et al.*, 2008).

Identifikasi tanaman yang diinduksi mutasi dapat dilakukan secara morfologi, enzimatik atau molekuler. Identifikasi secara morfologi paling murah dan mudah dilakukan namun sering terjadi kesalahan terhadap sifat-sifat epigenetik yang tidak diwariskan. Identifikasi secara enzimatik anyelir hasil induksi mutasi dengan sinar gamma menghasilkan lima mutan anyelir. Enzim peroksidase (PER), enzim esterase (EST) dan enzim acid phosphatase (ACP) dapat menunjukkan pola pita yang berbeda antar lima genotipe anyelir yang diuji (Aisyah, 2006). Beberapa tahun terakhir penanda molekuler telah banyak digunakan sebagai alat bantu dalam genetika dasar maupun aplikasinya. Berbagai ukuran potongan DNA hasil amplifikasi dapat dengan mudah dipisahkan berdasarkan ukurannya dengan menggunakan teknik elektroforesis dan hasilnya dapat dilihat sebagai pita-pita DNA dengan berbagai ukuran (Griffin and Griffin, 1994). Penanda DNA lebih akurat karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan maupun fase pertumbuhan tanaman. Diantara penanda DNA, RAPD adalah yang paling mudah dilakukan, oleh karena itu dalam penelitian ini identifikasi mutan hasil induksi mutasi dengan sinar gamma pada jagung dilakukan dengan penanda molekuler RAPD.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan September 2009 sampai Agustus 2010. Bahan tanaman yang digunakan adalah 6 galur mutan S4 hasil induksi mutasi dengan sinar gamma dan 6 genotipe tetua asalnya. Keenam galur tersebut adalah G1M, 3M, G6M, G7M, G8M, dan G9M. Sampel DNA diisolasi dari daun tanaman berumur 2 minggu. Analisis RAPD dilakukan di Laboratorium Molekuler dan Seluler Departemen Agrohort, Faperta IPB.

Isolasi DNA Jagung

Metode isolasi DNA jagung mengikuti prosedur pada KIT RED-EXTRACT DNA AMP. Pemurnian dilakukan dengan penambahan CIA dan presipitasi DNA menggunakan alkohol 95% (Herison, *et al.*, 2003). Kuantitas dan kemurnian DNA

diuji dengan spektrofotometer. Kemurnian DNA ditetapkan berdasarkan nilai rasio A260/A280. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler mempunyai rasio A260/A280 sekitar 1.8-2.0.

Seleksi Primer dan Identifikasi Penanda RAPD

Primer yang diseleksi sebanyak 60 random primer dari Operon Tecknologies OPE, OPH dan OPM yang masing-masing terdiri atas 20 random primer. Limabelas random primer hasil seleksi selanjutnya digunakan untuk amplifikasi DNA mutan dan tetua. Polimorfisme pola pita DNA mutan dan tetuanya digunakan untuk menetapkan terjadinya mutasi pada DNA jagung.

Metode amplifikasi dengan konsentrasi DNA antara 10 – 25 ng dan program PCR berdasarkan hasil optimasi adalah satu siklus pre PCR (94°C, 5 menit), 45 siklus {denaturasi (94°C, 5 detik), annealling (suhu T_M-4 , 30 detik), elongation (72°C, 1 menit)}, satu siklus stop PCR (72°C, 10 menit.).

Hasil amplifikasi divisualisasi dengan elektroforesis gel agarose. Elektroforesis dilakukan pada gel agarose (0.8 b/v) menggunakan bufer TAE, voltase konstan sebesar 100 volt selama 25 menit. DNA yang telah dielektroforesis direndam dalam larutan etidium bromida (0.5 mg/l) selama 20 detik, dibilas dengan aquades secukupnya, divisualisasi di atas UV transiluminator, dan dipotret dengan kamera digital.

Hasil dan Pembahasan

Seleksi Primer RAPD

Pada tahap seleksi primer, DNA yang digunakan sebagai *template* berasal dari G1 tetua asal. Informasi yang ingin diperoleh adalah daftar primer-primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi DNA jagung. Dari 60 random primer yang diuji diperoleh 15 primer yang sesuai untuk DNA jagung. Urutan basa dari masing-masing primer dan jumlah pita yang dihasilkan dicantumkan pada Tabel 1.

Teknik RAPD biasanya dipilih dengan alasan: hanya memerlukan DNA dalam jumlah nanogram, belum ada informasi sequen DNA tanaman, tidak menggunakan

materi radioaktif, mudah dan murah. Random primer biasanya spesifik dalam spesies tanaman. Oleh karena itu daftar primer yang diperoleh pada penelitian ini dapat digunakan peneliti lain untuk amplifikasi DNA jagung sehingga mempercepat waktu dan menghemat biaya analisis RAPD.

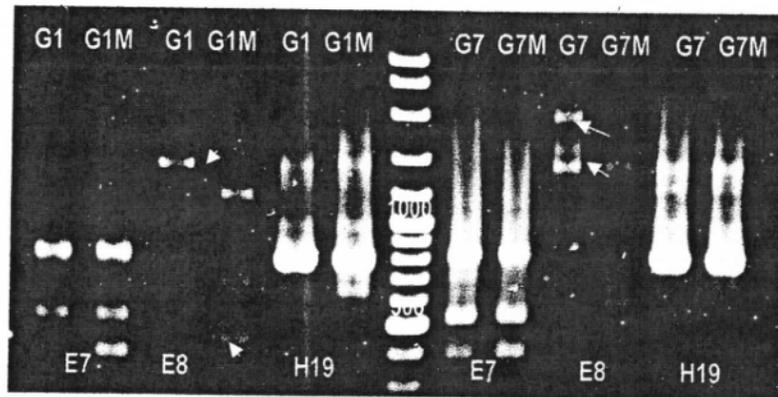
Primer-primer yang dapat mengamplifikasi dengan jumlah pita lebih dari 2 sangat berpeluang menghasilkan polimorfisme pada tanaman yang dianalisis. Berdasarkan data di atas maka primer yang digunakan untuk identifikasi penanda RAPD mutan jagung adalah OPE-07, OPE-06, OPH7, OPH-19 dan OPM-20. OPE-07 dengan jumlah pita 4 sangat bagus untuk analisis polimorfisme.

Tabel 1. Urutan basa primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi DNA jagung dan jumlah pita yang dihasilkan

No	Operon	Urutan Basa	Jumlah Pita
1	OPE-7	AGATGCAGCC	4
2	OPE-8	TCACCACGGT	1
3	OPE-10	CACCAGGTGA	1
4	OPE-17	CTACTGCCGT	1
5	OPH-1	GGTCGGAGAA	1
6	OPH-6	ACGCATCGCA	2
7	OPH-7	CTGCATCGTG	3
8	OPH-8	GAAACACCCC	2
9	OPH-9	TGTAGCTGGG	2
10	OPH-16	TCTCAGCTGG	1
11	OPH-19	CTGACCAGCC	3
12	OPM-1	GTTGGTGGCT	1
13	OPM-2	ACAACGCCTC	2
14	OPM-7	CCGTGACTCA	1
15	OPM-20	AGGTCTTGGG	3

Identifikasi penanda RAPD

Template PCR untuk identifikasi polimorfisme adalah DNA G1, G3, G6, G7, G* dan G9 baik dari tetua asal maupun setelah diradiasi sinar gamma. Masing-masing DNA diamplifikasi menggunakan 5 primer terseleksi. Visualisasi hasil PCR dielektroforesis bersamaan dengan marker 1 kb ladder. Marker diperlukan untuk kuantifikasi pita DNA berdasarkan panjang potongan. Gambar 1 dan Gambar 2 adalah sebagian data hasil amplifikasi. Polimorfisme pola pita antara mutan dan tetua asalnya ditunjukkan oleh tanda panah.



Gambar 1. Hasil amplifikasi pada jagung galur G1 dan G7 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19



Gambar 2. Hasil amplifikasi pada jagung galur G8 dan G9 menggunakan primer OPE-07, OPE-08 dan OPH-19

Polimorfisme pola pita RAPD disebabkan oleh terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diiradiasi. Mutasi titik atau perubahan pada 1 basa DNA sudah dapat menyebabkan perbedaan *template* sehingga terjadi perbedaan pola pita RAPD. Micke dan Donini (1993) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma dapat mengionisasi atom-atom dalam jaringan dengan cara melepaskan elektron-elektron dari atomnya. Ionisasi dapat menyebabkan pengelompokan molekul-molekul sepanjang jalur ion yang tertinggal karena iradiasi. Pengelompokan baru seperti ini menyebabkan perubahan kimia yang mengarah pada kesalahan berpasangan dalam DNA. mutasi gen atau pada kerusakan atau pengaturan kembali kromosom.

Tabel 2. Polimorfisme pola pita RAPD pada DNA mutan irradiasi sinar gamma dan tetua asal

Primer	G1	G1 M	G3	G3 M	G6	G6 M	G7	G7 M	G8	G8 M	G9	G9 M
OPE07 ₅₀₀									+	-		
OPE08 ₄₅₀											-	+
OPE08 ₆₀₀									+	-	-	+
OPE08 ₁₅₀₀	+	-										
OPE08 ₁₆₀₀							+	-				
OPE08 ₂₀₀₀							+	-			+	-
OPH07 ₆₀₀					+	-						
OPM20 ₁₁₀₀			+	-								

Konsistensi pita RAPD sebagai penanda molekuler tanaman telah dibuktikan oleh Herison *et al.* (2010) dalam identifikasi pola pita tanaman BC2 cabai dengan tetua recurrent. Primer yang sama digunakan untuk identifikasi tanaman BC3 menghasilkan pola pita yang identik. Penanda RAPD juga telah digunakan untuk analisis keterpautan gen ketahanan terhadap CMV pada cabai (Rustikawati *et al.*, 2008).

Kesimpulan

Semua genotipe hasil irradiasi sinar gamma yang dianalisis memiliki polimorfisme pola pita DNA dengan tetua asalnya. Berdasarkan pola pita RAPD yang dihasilkan, polimorfisme pada mutan G1, G3 dan G6 terjadi pada 1 lokus, sedangkan G7, G8 dan G9 terjadi polimorfisme pada 2 lokus. Dengan demikian radiasi 275 Gy dapat menginduksi terjadinya mutasi pada DNA jagung yang diteliti.

Daftar Pustaka

- Aisyah, S.I. 2006. Mutasi induksi fisik dan pengujian stabilitas mutan yang diperbanyak secara vegetatif pada anyelir (*Dianthus caryophyllus* Lin.) Disertasi. Program Studi Agronomi Sekolah Pascasarjana IPB.
- Badan Tenaga Atom Nasional. 1996. Radiasi dalam Bahasa Sehari-hari. Yogyakarta. Terjemahan dari W.Bjorn, Radiation in Everyday Language. 91 p.
- Banerji B.K. and S.K. Datta. 1992. Gamma ray induced flower shape mutation in chrysanthemum cv 'Java'. J. Nuclear Agric. Biol. 21(2): 73-79.
- Datta, S.K.. 2001. Mutation studies on garden chrysanthemum : A review. Scientific Horticulture 7:159-199.
- Griffin, H., and A. Griffin. 1994. PCR Technology, current innovations. CRC Press. London
- Herison, C., Rustikawati, Eliyanti dan Sudarsono. 2003. Penentuan protokol yang tepat untuk menyiapkan DNA genom cabai (*Capsicum* sp). Akta Agrosia 6(2):38-43
- Herison, C., S. Winarsih, M. Handayaningsih, dan Rustikawati. 2010. Introgression of CMV tolerance genes to hybrid parent of hot pepper employing morphological and RAPD marker to identify recurrent parent characteristics in BC2 polulation. Proceeding International Seminar on Horticulture to Support Food Security, June 22-23, 2010. Pp: A174-A180.
- Ibrahim, R. 1999. In vitro mutagenesis in roses. Phd Thesis. Aplied Biological Sci. Cell and Gene Biotechnology Fac. Univ Gent. Belgium. 162p (unpublished)
- Micke, A. and B. Donini. 1993. Induced Mutations. In M.D. Hayward, N.O. Bosemark and I. Romagosa (eds.). Plant Breeding: Principles and Prospects. Chapman and Hall. London. 550 p.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi . Badan Tenaga Atom Nasional. 2000. Present and future activities of mutation breeding in CRDIRT, Country: Indonesia. FNCA Report. Jakarta: BATAN.
- Rustikawati, C. Herison, Sudarsono, Eliyanti dan D. Suryati. 2008. Identification of DNA markers linked to CMV resistance gene(s) in hot pepper. Akta Agrosia 11:108-112
- Rustikawati, S.H. Sutjahjo, C. Herison, dan S.I. Aisyah. 2008. Induksi mutasi melalui iradiasi sinar gamma terhadap benih untuk meningkatkan keragaman populasi dasar jagung (*Zea mays* L.). Akta Agrosia 11(1):57-62