

EVALUASI DAN SELEKSI MUTAN ALFALFA HASIL IRADIASI SINAR GAMMA PADA CEKAMAN ABIOTIK

HARIANJA, D.N., P.D.M.H. KARTI, DAN I. PRIHANTORO

Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor
e-mail: desimaharianja7@gmail.com

ABSTRAK

Alfalfa merupakan leguminosa sumber protein bernutrisi tinggi dan bernilai ekonomis. Stres abiotik menghambat pertumbuhan dan menurunkan produksi alfalfa pada banyak sistem budidaya. Varietas baru dikembangkan dengan induksi mutasi sinar gamma. Seleksi dilakukan untuk mendapatkan tanaman unggul toleran stres abiotik. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi dan menyeleksi mutan alfalfa pada kondisi stres abiotik. Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama adalah jenis mutan toleran asam yaitu A44, A54, A35 dan A45. Faktor kedua adalah level PEG yaitu 10%, 15% dan 20%. Variabel yang diamati meliputi viabilitas, tinggi tanaman, jumlah daun, kelayuan daun, penyusutan media dan bobot basah. Mutan alfalfa hasil iradiasi sinar gamma toleran asam dievaluasi pada kondisi cekaman kering. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi mutasi menghasilkan respon yang bervariasi terhadap pertumbuhan. Iradiasi sinar gamma menghasilkan tanaman yang toleran pada kondisi stres abiotik. Dari hasil seleksi diperoleh kandidat-kandidat mutan unggul yang toleran pada kondisi tercekam asam dan kering. Mutan A44 memiliki toleransi yang lebih baik terhadap cekaman kering dibanding jenis mutan lainnya, dan menjadi mutan alfalfa toleran asam dan kering.

Kata kunci: alfalfa, sinar gamma, invitro, peg

EVALUATION AND SELECTION OF ALFALFA MUTANT RESULTS OF GAMMA RAY IRRADIATION ON ABIOTIC STRESS

ABSTRACT

Alfalfa is a leguminous protein source with high nutritional value and economic value. Abiotic stress inhibits growth and reduces alfalfa production in many aquaculture systems. New varieties were developed by gamma-ray mutation induction. The selection was carried out to obtain superior abiotic stress-tolerant plants. This study aims to evaluate and select alfalfa mutants under abiotic stress conditions. The design used in this study was a completely randomized design (CRD) with a factorial pattern. The first factor is the type of acid-tolerant mutants, namely A44, A54, A35, and A45. The second factor is the PEG level which is 10%, 15%, and 20%. The variables observed included viability, plant height, number of leaves, leaf wilting, leaf color, media shrinkage, and wet weight. Alfalfa mutants resulting from acid-tolerant gamma irradiation were evaluated under dry stress conditions. The results showed that mutation induction resulted in various responses to growth. Gamma-ray irradiation produces plants that are tolerant to abiotic stress conditions. From the selection results obtained superior mutant candidates that are tolerant of acid stress and dry conditions. The A44 mutant had better tolerance to dry stress than others and became an acid- and dry-tolerant alfalfa mutant.

Key words: alfalfa, gamma rays, invitro, peg

PENDAHULUAN

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) merupakan tanaman daerah subtropis yang tumbuh liar di pegunungan Mediterania di sebelah barat daya Asia, yang kemudian dikembangkan dan dibudidayakan di Amerika Serikat,

Jepang, Australia, dan Korea (Sajimin, 2011). Budidaya alfalfa telah menyebar ke lebih dari 80 negara di setiap benua dengan luas lahan mencapai 35 juta ha (Radović *et al.*, 2009). Sebagai tanaman sumber protein alfalfa mengandung protein sebesar 32,60% dari berat kering (Subantoro, 2009). Alfalfa juga memiliki nilai gizi dan

kecernaan tinggi, yang dapat meningkatkan produktivitas ternak sapi perah, sapi potong, kuda, domba, kambing dan kelas hewan domestik lainnya (Sajimin, 2011; Radović *et al.*, 2009). Dalam dunia peternakan alfalfa telah digunakan sebagai makanan ternak yang efektif dan bergizi. Nilai gizi yang tinggi dari alfalfa dapat meningkatkan produk susu yang lebih bermutu (Kumar, 2011). Sebagai tanaman daerah subtropis alfalfa dapat tumbuh optimal dengan suhu 20-30 °C, kondisi tanah dengan pH 6,5 dan drainase air yang baik. Sehingga pada kondisi normal tanpa perlakuan atau tekanan tanaman alfalfa mampu memberikan biomassa dengan hasil terbaik (Radović *et al.*, 2009).

Indonesia sebagai daerah tropis memiliki kondisi tanah kering asam seluas 108.8 juta ha yang tersebar di Sumatra, Kalimantan, dan Papua (Mulyani dan Sarwani, 2013). Keasaman yang tinggi mempengaruhi pertumbuhan dan produksi tanaman leguminosa pada banyak sistem budidaya, mengurangi ketersediaan fosfor dan meningkatkan kandungan aluminium yang mengakibatkan berkurangnya fiksasi nitrogen (Muthukumar *et al.*, 2014). Kekeringan adalah jenis stress air karena kurangnya curah hujan dan irigasi yang tidak memadai. Sekitar 60% dari semua tanaman mengalami kondisi kekeringan (Latefi *et al.*, 2015). Kekeringan memicu stres yang berdampak buruk pada biomassa total, jumlah biji, jumlah benih, berat dan kualitas benih, serta hasil benih per tanaman (Toker *et al.*, 2007). Menghadapi kondisi yang demikian upaya yang dapat dilakukan untuk mendapatkan tanaman alfalfa yang tahan kondisi asam dan kering yaitu pembentukan varietas baru. Seleksi genetik untuk toleransi asam dan kering dapat meningkatkan produktivitas alfalfa dan mengurangi biaya produksi.

Pengembangan tanaman yang dapat dibudidayakan pada kondisi keasaman yang tinggi dan kekeringan dapat dilakukan dengan rekayasa genetik melalui mutasi. Mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tiba-tiba dan acak serta merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (heritable). Mutasi dapat terjadi secara spontan di alam (spontaneous mutation) dan dapat terjadi melalui induksi (induced mutation) (Soeranto, 2003). Mutasi dapat dilakukan melalui mutagen kimia (chemical mutagen) dan mutagen fisik (physical mutagen) untuk perbaikan mutu genetik seperti meningkatkan produktivitas, ketahanan terhadap penyakit tertentu, umur panen yang lebih pendek, toleran terhadap pH tinggi dan kekeringan. Sinar gamma, sinar ultra violet ataupun sinar X merupakan mutagen fisik yang sering digunakan dalam peningkatan mutu tanaman. Pengaplikasian induksi mutasi melalui sinar gamma memiliki penetrasi yang baik, dapat diulang untuk mendapat hasil yang sama, penanganan limbah mudah dan frekuensi mutasi yang dihasilkan tinggi.

Induksi mutasi melalui sinar gamma memungkinkan terjadinya perubahan genetik pada tanaman di tingkat DNA berdasarkan interaksi antar atom atau molekul di dalam sel (Chahal dan Gosal, 2002). Kajian pemuliaan tanaman dengan sinar gamma telah dihasilkan kandidat mutan alfalfa toleran asam.

Kultur *in vitro* merupakan teknik menumbuhkan suatu vegetasi pada bagian tanaman berupa sel, jaringan dan organ dalam kondisi aseptik (steril). Teknik ini mampu memperbanyak tanaman dalam jumlah besar dan relatif singkat (Dwiyani, 2015). Riset berbasis kultur *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi dan menyeleksi mutan alfalfa terhadap stres abiotik. Teknik kultur *in vitro* memungkinkan adanya kontrol dan kendali dari hal-hal yang tidak diinginkan. Mengontrol lingkungan pada kondisi steril dan mengendalikan level cekaman asam dan kering untuk akurasi yang lebih baik. Keuntungan lainnya waktu mengembangbiakan relatif cepat, jumlah eksplan yang digunakan cenderung sedikit, bebas gangguan hama dan penyakit, tidak memerlukan lahan luas dan genotip yang sama dengan induknya (Zulkarnain, 2009). Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengevaluasi dan menyeleksi mutan alfalfa hasil iradiasi sinar gamma tahan kondisi asam pada kondisi cekaman kering, sehingga didapatkan kandidat mutan unggul toleran asam dan kering.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor pada bulan Desember 2020 hingga April 2021. Alat yang digunakan meliputi cawan petri, scalpel, pinset, botol kultur, laminar air flow, pembakar spiritus, aluminium foil, spon, beaker glass, labu erlenmeyer, spatula sendok, pipet tetes, pipet ukur, timbangan analitik, magnetic stirrer, autoklaf, kompor, gunting, neraca Ohaus digital dan penggaris. Bahan penelitian meliputi mutan alfalfa (*Medicago sativa* L.) toleran asam yaitu A44 (pH 2.5), A54 (pH 2.5), A35 (pH 2.0) dan A45 (pH 2.0) yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, MS (Murashige Skoog), agar, gula, NaOH 2%, TDZ (Thidiazuron), aquades dan PEG (Polyethylene glycol 6000).

Multiplikasi mutan

Multiplikasi mutan alfalfa toleran asam (A44, A54, A35 dan A45) dengan teknik subkultur (Yusnita, 2015) di dalam laminar air flow dalam kondisi steril secara aseptik. Mutan dipotong menjadi 4-5 bagian dan ditanam ke media kultur tanpa perlakuan (MSO), setiap botol kultur berisi 2-3 mutan. Pertumbuhan mutan di amati selama ±2 bulan didalam ruang kultur dengan

pencahayaan selama 16 jam intensitas cahaya 700 Lux cahaya putih dan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Mutan yang tidak kontaminasi digunakan sebagai bahan penelitian.

Pembuatan media

Media masing-masing berupa MS (Murashige Skoog) 4.43 g l⁻¹, agar rose 7 g l⁻¹, gula 30 g l⁻¹, NaOH 2% 0,2 ml, TDZ (Thidiazuron) 0,2 ml dan PEG 6000 dengan level 10% (-0.19 MPa), 15% (-0.41 MPa) dan 20% (-0.67 MPa). Semua bahan di campur dengan aquades sebanyak 1 liter dalam beaker glass. Larutan media diaduk dan dipanaskan menggunakan magnetic stirrer dengan suhu 380°C dan putaran 250 rpm. Selanjutnya botol kultur diisi dengan media ± 10 ml dan di tutup dengan aluminium foil. Botol kultur yang telah diisi media dan alat yang digunakan selama penelitian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 17.5 psi selama 15 menit. Media yang telah steril disusun dalam ruang kultur dan diamati untuk melihat kontaminasi, apabila tidak terjadi kontaminasi digunakan sebagai media.

Penanaman mutan

Mutan alfalfa toleran asam yang tumbuh baik selama proses multiplikasi dipindahkan ke media kering PEG 6000 sesuai level perlakuan. Mutan ditanam dengan bantuan spon untuk berdiri tegak. Setiap botol terdiri satu mutan. Mutan di tempatkan didalam ruang kultur dan diamati selama ± 2 bulan untuk dievaluasi dan diseleksi dengan variabel yang diamati meliputi viabilitas (%), tinggi tanaman (cm), jumlah daun (helai), kelayuan daun (helai), penyusutan media (gram) dan bobot basah (gram).

Analisis data

Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kepercayaan 5%, selanjutnya jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas (Tabel 1) menggambarkan kemampuan tanaman dalam beradaptasi dan bertahan hidup terhadap lingkungan, utamanya dalam merespon lingkungan abiotik dan biotik.

Hasil penelitian menunjukkan adanya interaksi viabilitas terhadap jenis mutan dan level PEG. Pengaruh iradiasi sinar gamma bersifat acak, yakni dapat bersifat positif dengan sifat karakter yang baik sesuai karakter yang diinginkan, maupun bersifat negatif dengan munculnya karakter yang tidak dikehendaki (Kadir dkk, 2007). Nilai viabilitas mutan tertinggi pada kondisi tercekam kering 20% PEG pada mutan A35 dan diikuti

Tabel 1. Viabilitas mutan alfalfa toleran asam pada cekaman kering umur 30 hst

Jenis Mutan	10%	15%	20%	Rataan
A44	46,67	73,33	80,00	66,67
A54	66,67	66,67	46,67	60,00
A35	66,67	46,67	66,67	60,00
A45	66,67	13,33	40,00	40,00
Rataan	61,67	50,00	58,33	

mutan A44. Viabilitas diatas 50 persen menunjukkan bahwa mutan dapat hidup dan beradaptasi. Tinggi dan rendahnya persen viabilitas mutan menunjukkan kemampuan sel dalam berkembang pada kondisi tercekam. Kekurangan air mengakibatkan proses fisiologis maupun morfologis tidak normal, yang menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat atau terhenti. Kondisi defisit air dapat menurunkan pertumbuhan diameter dan tinggi, serta dapat disebabkan karena turunnya tekanan turgor. Penurunan tekanan turgor mengakibatkan tanaman sulit mendapatkan air sehingga tanaman tidak mampu mencukupi kebutuhan dalam proses fotosintesis, stress dan akhirnya mati (Liu *et al.*, 2011; Sujinah *et al.*, 2016).

Tinggi tanaman (Tabel 2) merupakan ukuran tanaman yang sering diamati sebagai indikator pertumbuhan maupun sebagai parameter untuk mengukur pengaruh lingkungan atau perlakuan yang diterapkan. Hasil sidik ragam jenis mutan terhadap level PEG menunjukkan adanya proses adaptasi tanaman pada kondisi cekaman kering. Meski penambahan PEG sebagai simulasi cekaman kekeringan menurunkan pertumbuhan tinggi mutan, namun jenis mutan A44 menunjukkan pertumbuhan tinggi yang lebih baik dibanding mutan lainnya. Demikian hingga level PEG 20% mutan A44 menunjukkan pertumbuhan tinggi terbaik.

Tabel 2. Tinggi tanaman mutan alfalfa toleran asam pada cekaman kering umur 30 hst

Jenis Mutan	10%	15%	20%	Rataan
A44	2,25 \pm 0,26	1,67 \pm 0,28	1,47 \pm 0,34	1,80 \pm 0,29
A54	1,10 \pm 0,14	1,31 \pm 0,19	1,28 \pm 0,24	1,23 \pm 0,19
A35	1,39 \pm 0,20	1,24 \pm 0,18	1,08 \pm 0,32	1,24 \pm 0,24
A45	1,13 \pm 0,16	1,03 \pm 0,16	1,18 \pm 0,29	1,11 \pm 0,21
Rataan	1,47 \pm 0,19	1,41 \pm 0,20	1,28 \pm 0,29	

Toleransi terhadap kekeringan adalah sifat kuantitatif (quantitative traits) yang melibatkan satu set gen kompleks. Pada saat cekaman diterima tanaman, terjadi perubahan dalam pola ekspresi mulai dari gen yang produknya berperan dalam respons awal (early response genes) seperti sinyal transduksi, faktor transkripsi, dan translasi, sampai pada gen-gen yang responsnya di ujung (late response genes) seperti transpor air, keseimbangan osmotik, stres oksidatif, dan perbaikan dari kerusakan (Sopandie, 2013). Efek mutasi mem-

pengaruhi perkembangan jaringan meristematis karena pada bagian tersebut pembelahan sel aktif terjadi. Iradiasi mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan tanaman karena gen-gen pertumbuhan banyak yang termutasi pada saat pembelahan dan kebanyakan gen tersebut merupakan QTL (Quantitative Trait loci). Jika salah satu gen pengaktif termutasi atau rusak, maka akan menimbulkan efek simultan yang mempengaruhi seluruh aktivitas gen yang bersangkutan (Nurdik, 2015). Sebagai bentuk adaptasinya tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan berusaha melakukan perubahan-perubahan fisiologi dengan mempertahankan tekanan turgor atau penyesuaian osmotik. Sel yang mampu melakukan penyesuaian osmotik dalam kondisi tercekam diyakini sebagai varian yang membawa sifat toleransi terhadap cekaman (Khaerana *et al.*, 2008; Sutjahjo *et al.*, 2007).

Pertumbuhan vegetatif tanaman adalah pertumbuhan yang berhubungan dengan penambahan ukuran dan jumlah sel pada suatu tanaman, yang dapat dilihat pada jumlah daun (Tabel 3).

Tabel 3. Jumlah daun mutan alfalfa toleran asam pada cekaman kering umur 30 hst

Jenis Mutan	10%	15%	20%	Rataan
A44	4,80±3,38	4,07±1,91	3,13±2,23	4,00±2,62 ^b
A54	1,13±1,51	2,00±2,70	1,93±1,71	1,69±2,03 ^a
A35	2,27±1,39	2,00±1,19	1,87±1,30	2,04±1,28 ^a
A45	1,80±1,37	0,87±1,19	1,60±0,83	1,42±1,20 ^a
Rataan	2,50±2,47	2,23±2,15	2,13±1,67	

Keterangan:
 Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Hasil sidik ragam rata-rata jumlah daun terhadap level PEG menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) dengan nilai terbaik pada mutan A44 toleran asam pH 2.5. Induksi mutasi yang terjadi pada tanaman alfalfa tidak hanya meningkatkan toleransi cekaman asam, tapi juga meningkatkan toleransi cekaman kering. Mutasi dapat terjadi karena adanya perubahan komposisi basa dalam untai DNA akibat adanya ion radikal yang masuk ke dalam jaringan yang dapat menyebabkan perubahan susunan asam amino pada protein tertentu sehingga terjadi perubahan dengan protein baru yang terbentuk (Havidzati dkk, 2017). Ekspresi gen, metabolisme dan pertumbuhan menjadi respon tanaman dalam menghadapi cekaman kering. Tanaman yang beradaptasi akan mengupayakan pertumbuhan meski peningkatan level PEG menurunkan potensial air dan menghambat penyerapan nutrisi dalam membentuk tanaman. Penambahan PEG menurunkan jumlah daun dan gangguan pada proses pembelahan sel (Sikuku *et al.*, 2010).

Respon tanaman dalam mempertahankan kehidupan dan pertumbuhannya berbeda-beda, salah satunya

kerontokkan dan kelayuan daun (Tabel 4). Kelayuan daun menunjukkan kemampuan tanaman dalam menghadapi kondisi yang tidak biasa, seperti tercekam kering. Hasil sidik ragam persen kelayuan daun terhadap level PEG menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) terhadap jenis mutan. Semakin tinggi level PEG semakin tinggi jumlah kelayuan daun. Kelayuan daun tertinggi terdapat pada mutan A45.

Tabel 4. Kelayuan daun mutan alfalfa toleran asam pada cekaman kering umur 30 hst

Jenis Mutan	10%	15%	20%	Rataan
A44	54,25±26,62	57,33±18,23	66,79±25,20	59,46±23,71 ^a
A54	92,22±20,77	83,78±24,29	85,78±26,77	87,26±23,80 ^b
A35	82,22±30,52	81,78±21,51	83,80±21,85	82,59±24,42 ^b
A45	82,67±23,03	92,89±19,43	86,39±20,44	87,31±20,98 ^b
Rataan	77,84±28,67	78,94±24,38	80,68±24,49	

Keterangan:
 Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Hal ini menjelaskan bahwa mutan yang toleran asam pH 2.0 belum pasti tahan cekaman kering. Mutasi spontan yang terjadi secara acak keragamannya tidak dapat dipastikan. Iradiasi sinar gamma membentuk persenyawaan radikal hidroksil dan hidrogen peroksida yang menempel pada rantai nukleotida menyebabkan DNA patah dan mengalami perubahan genetik (Qosim *et al.*, 2007). Menurut Moore *et al.* (2008) stres air menghambat pembelahan dan perkembangan sel, serta akan menghentikan sintesis protein sehingga menyebabkan rontoknya bagian tanaman. Sebagai simulasi cekaman kekeringan PEG tidak dapat melakukan penetrasi dan menyebabkan sel mengalami suatu kondisi sel yang mengerut akibat perpindahan air dari dalam sel ke luar sel yang disebut cytorrhysis. Selain itu penggunaan PEG sebagai simulasi cekaman kekeringan dapat dikontrol dengan tepat (Savitri, 2010).

Penyusutan media (Tabel 5) menunjukkan adaptasi tanaman terhadap lingkungan dan mempengaruhi penyerapan tanaman dalam menyerap nutrisi dan air yang dibutuhkan bagi pertumbuhannya secara morfologi dan fisiologi.

Tabel 5. Penyusutan media mutan alfalfa toleran asam pada cekaman kering umur 30 hst

Jenis Mutan	10%	15%	20%	Rataan
A44	0,86±0,17	0,85±0,25	0,81±0,15	0,84±0,19 ^c
A54	0,57±0,17	0,79±0,12	0,73±0,25	0,70±0,21 ^b
A35	0,83±0,23	0,78±0,26	0,75±0,28	0,79±0,26 ^c
A45	0,63±0,14	0,48±0,26	0,61±0,18	0,57±0,21 ^a
Rataan	0,72±0,22	0,72±0,27	0,73±0,23	

Keterangan:
 Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Hasil sidik ragam penyusutan media menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap jenis mutan. Rataan penyusutan media tertinggi terjadi pada mutan A44 dan A35 yang mengindikasikan pertumbuhan morfologi yang baik pada kondisi tercekam kekeringan. Induksi mutasi meningkatkan keragaman mutan toleran asam dan kering. Iradiasi sinar gamma menghasilkan berbagai keragaman fenotipik (Kadir *et al.*, 2007). Semakin meningkatnya pertumbuhan maka penyusutan media akan meningkat, sebaliknya jika pertumbuhan menurun maka nilai penyusutan media akan rendah. Penambahan level PEG meningkatkan cekaman kekeringan pada mutan yang mengakibatkan mutan menjadi stres dan menghambat penyerapan nutrisi untuk tumbuh dan berkembang. Tanaman yang mengalami peningkatan dan penurunan dalam penyusutan media berhubungan dengan terganggunya proses pertumbuhan (Manpaki *et al.*, 2017).

Pertambahan bobot eksplan (Tabel 6) menunjukkan tingkat pertumbuhan yang dihasilkan eksplan selama pemberian perlakuan cekaman kekeringan. Hasil analisis ragam menunjukkan level PEG tidak berpengaruh nyata terhadap bobot basah mutan tetapi nyata ($P < 0,05$) dipengaruhi oleh jenis mutan. Bobot basah tertinggi pada mutan A44 diikuti jenis mutan A35, A54 dan A45.

Tabel 6. Bobot basah mutan alfalfa toleran asam pada cekaman kering umur 30 hst

Jenis Mutan	10%	15%	20%	Rataan
A44	0,47±0,14	0,41±0,25	0,37±0,16	0,42±0,19 ^c
A54	0,30±0,18	0,37±0,09	0,33±0,22	0,33±0,17 ^b
A35	0,35±0,14	0,28±0,10	0,27±0,07	0,30±0,11 ^b
A45	0,19±0,11	0,19±0,09	0,22±0,15	0,20±0,12 ^a
Rataan	0,33±0,17	0,31±0,17	0,30±0,17	

Dosis radiasi sinar gamma mempengaruhi ciri morfologi tanaman pisang raja bulu (kuantitatif dan kualitatif), sehingga berpotensi menghasilkan keragaman (Due *et al.*, 2019). Semakin tinggi pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah daun pada mutan A44 semakin tinggi rata-rata bobot basah. Nilai bobot tanaman yang semakin tinggi menunjukkan laju pertumbuhan yang tinggi (Sirait, 2006). Bobot basah menjadi indikator pertumbuhan karena nilai perubahan bobot basah menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan pada tanaman yang dapat dilihat dari tinggi tanaman dan jumlah daun. Menurut Liu *et al.* (2013) tanaman yang mengalami cekaman akan mengurangi penggunaan cadangan karbohidrat untuk mempertahankan proses metabolisme. Kekurangan karbon dalam proses metabolisme mengakibatkan rendahnya pertumbuhan dan tanaman akan mengalami kematian.

SIMPULAN

Evaluasi dengan PEG sebagai simulasi cekaman kering dihasilkan mutan toleran kekeringan. Induksi mutasi sinar gamma meningkatkan keragaman mutan toleran asam dan kering. Hingga level PEG 20% mutan alfalfa masih menunjukkan pertumbuhan yang baik. Hasil seleksi diperoleh kandidat-kandidat mutan unggul yang toleran pada kondisi tercekam asam dan kering. Mutan A44 memiliki toleransi yang lebih baik terhadap cekaman kering dibanding jenis mutan lainnya, dan menjadi mutan alfalfa toleran asam dan kering.

DAFTAR PUSTAKA

- Chahal, G.S, and S.S. Gosal. 2002. Principle and Procedures of Plant Breeding: Biotechnology and Conventional Approaches. Alpha Science Internasional, UK, 604.
- Due, M.S., A. Yunus, dan A. Susilowati. 2019. Keragaman pisang (*Musa spp.*) hasil iradiasi sinar gamma secara in vitro berdasarkan penanda morfologi. PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON Volume 5, Nomor 2. ISSN: 2407-8050 Halaman: 347-352. DOI: 10.13057/psnmbi/mo50236.
- Dwiyani, R. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Pelawa Sari Denpasar Barat.
- Havidzati, N., P.D.M.H. Karti, dan I. Prihantoro. 2017. Morphology Response of Alfalfa (*Medicago sativa L.*) based on Level Gamma Ray Irradiation with Tissue Culture Methods. Proceedings Book, 52.
- Hemon, F. 2009. Induksi Mutasi Dengan Iradiasi Sinar Gamma dan Seleksi In Vitro Untuk Mendapatkan Embrio Somatik Kacang Tanah Yang Toleran Polietilena Glikol. Jurnal Agrotropika 14(2): 67 – 72.
- Khaerana, K., M. Ghulamahdi, dan E.D. Purwakusumah. 2008. Pengaruh cekaman kekeringan dan umur panen terhadap pertumbuhan dan kandungan xanthorrhizol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza roxb.*). Indonesian Journal of Agronomy, 36(3), 8146.
- Kadir, A., S.H. Sutjahjo, G.A. Wattimena, dan I. Mariska. 2007. Pengaruh iradiasi sinar Gamma pada pertumbuhan kalus dan keragaman planlet tanaman nilam.
- Kumar, S. 2011. Biotechnological advancements in alfalfa improvement. Journal of applied genetics, 52(2), 111-124.
- Latefi, A.A.H.A, and P. Ahmad. 2015. Legumes and breeding under abiotic stress: An overview. In: Azooz MM, Ahmad P (eds). Legumes under Environmental Stress: Yield, Improvement and Adaptations. First Edition. John Wiley & Sons, Ltd.
- Liu, H., X. Wang, D. Wang, Z. Zou, and Z. Liang. 2011. Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge.

- Industrial Crops and Products, 33(1), 84-88.
- Liu, X., Y. Fan, J. Long, R. Wei, R. Kjelgren, C. Gong, and J. Zhao. 2013. Effects of soil water and nitrogen availability on photosynthesis and water use efficiency of Robinia pseudoacacia seedlings. *Journal of Environmental Sciences*, 25(3), 585-595.
- Manpaki, S.J., P.D.M. Karti, dan I. Prihantoro. 2017. Respon pertumbuhan eksplan tanaman Lamtoro (*Leucaena leucocephala* cv. Tarramba) terhadap cekaman kemasaman media dengan level pemberian aluminium melalui kultur jaringan. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 12(1), 71-82.
- Moore, J.P., M. Vitré, Gibouin, J.M. Farrant, and A. Driouch. 2008. Adaptations of higher plant cell walls to water loss: drought vs desiccation. *Physiologia plantarum*, 134(2), 237-245.
- Mulyani, A., dan M. Sarwani. 2013. Karakteristik dan potensi lahan sub optimal untuk pengembangan pertanian di Indonesia.
- Muthukumar, T., P. Priyadharsini, E. Uma, S. Jaison, and R.R. Pandey. 2014. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of acidity stress on plant growth. In: Miransari M (ed.), *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses*. Springer Science+Business Media, New York, pp. 43-71.
- Nur, A., K. Syaruhddin, dan Herawati. 2015. Pengaruh Radiosensivitas Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Perkembangan Kecambah dan Pertumbuhan Vegetatif Tanaman M1 Sorgum Manis (*Sorghum Bicolor* L.). *Prosiding Seminar Nasional Serealia*.
- Qosim, W.A., R. Purwanto, dan G.A. Wattimena. 2007. Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Kapasitas Regenerasi Kalus Nodular Tanaman Manggis. *Hayati Journal of Biosciences*, 14(4), 140-144.
- Radović, J., D. Sokolović, and J.J.B.A.H. Marković. 2009. Alfalfa-most important perennial forage legume in animal husbandry. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25(5-6-1), 465-475.
- Sajimin. 2011. *Medicago sativa* L (alfalfa) sebagai tanaman pakan ternak harapan di Indonesia. *J. Wartazoa* 2(21): 91-98.
- Savitri, E.S. 2010. Pengujian in vitro beberapa varietas kedelai (*Glycine max* L. merr) toleran kekeringan menggunakan polyethylene glikol (PEG) 6000 pada media padat dan cair. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 1(2).
- Sikuku, P.A., G.W. Netondo, J.C. Onyango, and D.M. Musyimi. 2010. Effects of water deficit on physiology and morphology of three varieties of nerica rainfed rice (*Oryza sativa* L.).
- Soeranto, H. 2003. Peran iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian. *Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN)*.
- Sopandie, D. 2013. *Fisiologi adaptasi tanaman terhadap cekaman abiotik pada agroekosistem tropika*. PT Penerbit IPB Press.
- Subantoro, R. 2009. Mengenal Karakter Mutan Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *MEDIAGRO*. Vol 5 (2): HAL 50 – 62.
- Sutjahjo, S.H., K. Abdul dan M. Ika. 2007. Effectiveness Of Polyethylene Glycol As A Selective Agent On Gamma Irradiated Patchouli Calii For Tolerance To Drought Stress. *JIPI*, 9(1), 48-57.
- Toker, C., H. Canci, and T. Yildirim. 2007. Evaluation of perennial wild Cicer species for drought resistance. *Genetic resources and crop evolution*, 54(8), 1781-1786.
- Yusnita, Y. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Aura Publishing Bandar Lampung.
- Zulkarnain, Z. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi perbanyak tanaman budi daya*. Bumi Aksara.