

ISBN 978-979-15649-6-0

PROSIDING



**SIMPOSIUM DAN SEMINAR BERSAMA
PERAGI-PERHORTI-PERIPHI-HIGI
MENDUKUNG KEDAULATAN PANGAN DAN
ENERGI YANG BERKELANJUTAN**

**IPB International Convention Center
Bogor, 1-2 Mei 2012**

**DEPARTEMEN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Bekerjasama dengan:



PROSIDING

Simposium dan Seminar Bersama
PERAGI-PERHORTI-PERIPHI-HIGI
Bogor, 1-2 Mei 2012

ISBN: 978-979-15649-6-0

Editor

Maya Melati

Sandra Arifin Aziz

Darda Efendi

Ni Made Armini

Sudarsono

Nita Ekana'ul

Syhabuddin Al Tapsi

Cover Desain : Shalati Febjislami

Layout : Nita Ekana'ul
Syhabuddin Al Tapsi

Penerbit

Departemen Agronomi dan Hortikultura

Bekerja sama dengan:

Perhimpunan Agronomi Indonesia

Perhimpunan Hortikultura Indonesia

Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia

Himpunan Ilmu Gulma Indonesia

Sekretariat

Departemen Agronomi dan Hortikultura

Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Jalan Meranti Kampus IPB Dramaga Bogor, 16680

Phone/fax: (0251) 8422-889/8629-353

INDUKSI MUTASI GENETIK MELALUI PENGGANDAAN KROMOSOM KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) VARIETAS WILIS DAN TANGGAMUS DENGAN KOLKISIN SECARA *IN VITRO*

Mastika Wardhani* dan Ni Made Armini Wiendi

Department of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University (IPB), Indonesia
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Tel.: +62 251 8629353; fax: +62 251 8629353.

* Corresponding author: mastika.wardhani@gmail.com

Abstract

The research aimed to study the in vitro genetic mutation induction through chromosome doubling of soybean (*Glycine max* L. Merr) using colchicine. This research was conducted from January 2011 to October 2011 at Biotechnology and Micro Technique Laboratory, Department of Agronomy and Horticulture, IPB, Bogor. The research was used factorial design which arranged with Completely Randomized Block Design, consisted of 2 experiments. The first experiment was consist of 2 factors, concentrations of colchicine (0.01, 0.02, 0.03, 0.04 and 0.05%) and the long immersion with colchicine (24, 48, and 72 hours). The second experiment was consist of 2 factors, varieties of *Glycine max* L. Merr (Wilis and Tanggamus), concentrations of colchicine (0.02, 0.04, and 0.05%). The first experiment showed that concentrations of colchicine (0.01, 0.02, 0.03, 0.04, and 0.05%) were significantly affected to induce percentage of callus from cotyledon on modified MS medium containing 10 mg 2,4-D. The second experiment showed that the concentrations of colchicine (0.02, 0.04 and 0.05%) were significantly affected to several variables (percentage of explant's life, the number of shoot, percentage of rooting, the number of chromosome, the number of stomata, the number of chloroplast, and the size of stomata). With a concentration of 0.04% colchicine was produced the highest yield number of chromosomes $2n=160-247$ than normal chromosomes $2n=40$ of both varieties of soybean.

Keywords: Glycine max L. Merr, colchicine, chromosome, Wilis, Tanggamus.

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L. Merr) merupakan salah satu komoditas pangan utama di Indonesia setelah padi dan jagung. Kebutuhan kedelai di Indonesia dari tahun ke tahun terus mengalami peningkatan, akan tetapi produksi kedelai dalam negeri menurun seiring dengan merosotnya areal tanam. Demi mencukupi permintaan kedelai dalam negeri yang terus meningkat, pemerintah melakukan impor (Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, 2009).

Produksi kedelai pada tahun 2004 mencapai 723.4 ribu ton dan mengalami peningkatan menjadi 808.3 ribu ton pada tahun 2005. Produksi mengalami penurunan pada tahun 2006 menjadi 747.6 ribu ton, bahkan mengalami penurunan drastis menjadi 592.5 ribu ton pada tahun 2007. Menurut Badan Pusat Statistik (2010) produksi kedelai mulai mengalami peningkatan kembali menjadi 775.7 ton pada tahun 2008 dan 974.5 ribu ton pada tahun 2009. Kebutuhan kedelai rata-rata Indonesia 2.2 juta ton/tahun. Dari jumlah tersebut, produksi kedelai dalam negeri hanya mampu mencukupi 35–40%, sedangkan 60–65% selebihnya dipenuhi dari impor.

Peningkatan produktivitas kedelai di Indonesia sangat membutuhkan ketersediaan varietas unggul yang berpotensi produksi tinggi dan responsif terhadap perbaikan kondisi lingkungan, serta memiliki sifat-sifat unggul lainnya (Arsyad, 2000). Upaya untuk mendapatkan kedelai berdaya hasil tinggi dapat ditempuh melalui kegiatan pemuliaan tanaman untuk memperoleh keragaman yang selanjutnya akan diseleksi.

Keragaman somaklonal adalah keragaman genetik yang dihasilkan melalui kultur jaringan (Larkin dan Scowcroft, 1981). Keragaman genetik yang terjadi didalam kultur jaringan disebabkan oleh penggandaan jumlah kromosom (fusi endomitosis), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen dan sitoplasma. Daud (1996) menyatakan bahwa mutasi spontan yang terjadi pada sel somatik antara 0.2-3%. Keragaman tersebut dapat ditingkatkan dengan pemberian mutagen fisik maupun mutagen kimia. Mutagen yang berasal dari bahan kimia telah lama digunakan dalam melaksanakan program

pemuliaan tanaman untuk mendapatkan mutasi. Kolkisin telah digunakan untuk induksi mutasi sejak ratusan tahun yang lalu.

Kolkisin dapat digunakan baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro*. Kolkisin akan lebih efektif pada kultur *in vitro* karena perlakuannya dapat dikenakan pada tingkat sel (Mariska, 2002). Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan keragaman somaklonal secara *in vitro* dengan induksi mutasi melalui penggandaan kromosom dengan mutagen kimia kolkisin sehingga diharapkan berpeluang untuk mendapatkan genotipe kedelai lokal baru yang unggul.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan penelitian dilaksanakan dari bulan Januari 2011 sampai Oktober 2011. Tempat pelaksanaan penelitian *in vitro* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB). Uji sitologi untuk menghitung jumlah kromosom dan stomata dilakukan di Laboratorium Micro Technique, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB.

Bahan tanam yang digunakan dalam percobaan 1 adalah eksplan hasil kultur *in vitro* berupa kotiledon *Glycine max* L. Merr varietas Wilis yang telah steril dan berumur 10 hari. Bahan tanam yang digunakan dalam percobaan 2 adalah eksplan hasil kultur *in vitro* berupa pucuk *Glycine max* L. Merr varietas Wilis dan Tanggamus yang telah steril dan berumur 10 hari. Bahan untuk media perkecambahan adalah komposisi media MS0 (Murashige dan Skoog tanpa zat pengatur tumbuh), Bahan untuk media percobaan 1 adalah komposisi media MS + zat pengatur tumbuh 2,4-D 10 mg/L, serta bahan untuk media percobaan 2 adalah media MS0.

Penelitian ini terdiri dari 2 percobaan menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) faktorial dimana pada percobaan pertama faktor pertama yaitu konsentrasi dengan 5 taraf: 0.01% (K1), 0.02% (K2), 0.03% (K3), 0.04% (K4), dan 0.05% (K5), dengan faktor kedua yaitu lama perendaman dengan 3 taraf perendaman selama 24 jam (P1), 48 jam (P2), dan 72 jam (P3). Percobaan diulang 3 kali, sehingga terdapat 45 satuan percobaan. Masing-masing perlakuan ditanam 18 eksplan kotiledon yang dibagi menjadi 6 eksplan per botol kultur. Percobaan kedua dimana faktor pertama yaitu konsentrasi dengan 3 taraf (0.02, 0.04, dan 0.05%) dan faktor kedua varietas dengan 2 taraf (Wilis dan Tanggamus).

Pengamatan yang dilakukan adalah persentase eksplan berkalus, persentase eksplan hidup, jumlah tunas, persentase tunas berakar, jumlah kromosom, jumlah stomata, jumlah kloroplas dalam sel penjaga stomata dan ukuran stomata. Pengamatan dilakukan dari 1 MST hingga 8 MST.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan 1. Perlakuan Lama Perendaman dan Konsentrasi Kolkisin

Persentase Eksplan Berkalus

Lama perendaman dan konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap persentase ekplan berkalus, seperti yang tercantum pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Pengaruh lama perendaman terhadap persentase eksplan berkalus *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan

Lama Perendaman	Rata-rata persentase eksplanberkalus (MST)				
	1	3	5	7	8
P0	0 ^c	5 ^c	16.6 ^d	53.3 ^c	60 ^c
P1	6.9 ^a	48.3 ^a	62.6 ^a	84.4 ^a	95 ^a
P2	6.6 ^a	47.7 ^a	58.8 ^b	79.6 ^b	87.5 ^b
P3	3.3 ^b	8.6 ^b	25.2 ^c	38.3 ^d	50 ^d
Uji F	**	**	**	**	**

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%. MST: Minggu Setelah Tanam. P0: Tanpa Perendaman, P1: Perendaman 24 jam, P2: Perendaman 48 jam, P3: Perendaman 72 jam. **: Sangat nyata pada taraf 0.01%.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap persentase eksplan berkalus *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan.

Konsentrasi Kolkisin	Rata-rata persentase eksplan berkalus (MST)				
	1	3	5	7	8
K0	0 ^d	6.2 ^f	11.6 ^c	39.1 ^f	52.5 ^c
K1	7.2 ^b	50 ^a	76.4 ^a	93.3 ^a	96.6 ^a
K2	11.1 ^a	43.3 ^b	66.6 ^b	77.7 ^c	85.5 ^c
K3	6.6 ^b	41.1 ^c	60 ^c	82.6 ^b	92.8 ^b
K4	3.3 ^c	35 ^d	41.6 ^d	56.6 ^c	70 ^d
K5	5.5 ^b	33.3 ^c	38.8 ^d	60 ^d	70 ^d
Uji F	**	**	**	**	**

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%. MST: Minggu Setelah Tanam. K0: Tanpa Kolkisin, K1: Konsentrasi 0.01%, K2: Konsentrasi 0.02%, K3: Konsentrasi 0.03%, K4: Konsentrasi 0.04%, K5: Konsentrasi 0.05%. **:sangat nyata pada taraf 0.01%.

Interaksi lama perendaman dan konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap persentase eksplan berkalus (Tabel 3). Persentase berkalus yang tertinggi terdapat pada lama perendaman yang rendah serta konsentrasi kolkisin yang rendah. Semakin lama perendaman maka semakin lama pula eksplan berkalus, hal ini diduga disebabkan menyerapnya kolkisin ke seluruh bagian eksplan sehingga proses pembelahan sel terganggu. Pembelahan sel menjadi lambat disebabkan oleh jumlah kromosom yang mengganda (Suryo, 2007). Perlakuan konsentrasi yang tinggi 0.05% menunjukkan persentase berkalus yang lebih rendah namun masih lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, hal ini diduga karena konsentrasi tinggi menyebabkan eksplan keracunan. Suryo (2007) melaporkan bahwa konsentrasi yang terlalu tinggi akan menyebabkan kematian pada tanaman.

Tabel 3. Pengaruh interaksi lama perendaman dan konsentrasi kolkisin terhadap persentase eksplan berakar *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan pada minggu ke-8.

Lama Perendaman	Konsentrasi Kolkisin				
	K0	K1	K2	K3	K4
P0	60 ^{Bb}	60 ^{Bb}	60 ^{Bb}	60 ^{Bb}	60 ^{Bb}
P1	70 ^{Ab}	100 ^{Aa}	100 ^{Aa}	100 ^{Aa}	100 ^{Aa}
P2	60 ^{Bd}	100 ^{Aa}	96.6 ^{Aa}	98.6 ^{Aa}	80 ^{Bc}
P3	20 ^{Cc}	90 ^{Ba}	60 ^{Bc}	80 ^{Bb}	30 ^{Cd}

Keterangan: Huruf besar pada kolom yang sama dan huruf kecil pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%.

Percobaan 2. Perlakuan Konsentrasi Kolkisin dan Varietas

Persentase Eksplan Hidup

Konsentrasi kolkisin tidak berpengaruh nyata pada minggu pertama sampai dengan minggu kelima setelah tanam, berpengaruh nyata pada minggu keenam setelah tanam, dan berpengaruh sangat nyata pada minggu ke-7 dan ke-8 setelah tanam terhadap persentase eksplan hidup. Kelompok dan varietas tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup. Perlakuan konsentrasi kolkisin menyebabkan jumlah eksplan yang hidup lebih kecil dibandingkan dengan kontrol, seperti yang tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap persentase eksplan hidup tanaman *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*.

Perlakuan Konsentrasi Kolkisin	Persentase (%) Eksplan Hidup pada Minggu ke- (MST)				
	1	3	5	7	8
Kontrol	94.4 ^a	94.4 ^a	94.4 ^a	94.4 ^a	94.4 ^a
0.02%	96.2 ^a	96.2 ^a	90.7 ^a	79.6 ^b	79.6 ^b
0.04%	100 ^a	100 ^a	100 ^a	90.7 ^{ab}	85.1 ^{ab}
0.05%	92.5 ^a	92.5 ^a	92.5 ^a	62.9 ^c	55.5 ^c

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%. MST: Minggu Setelah Tanam.

Jumlah Tunas

Tunas yang terbentuk merupakan tunas aksilar. Pengamatan visual jumlah tunas pada perlakuan kolkisin konsentrasi 0.05% menunjukkan jumlah tunas yang sangat sedikit, daun tidak berkembang sempurna, menunjukkan gejala kematian seperti daun menguning menjadi kecokelatan. Minggu ke-8 MST banyak terdapat planlet yang mati. Konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata pada jumlah tunas *Glycine max* L. Merr secara *in vitro*, seperti yang tercantum pada Tabel 5. Jumlah tunas semakin menurun dengan meningkatkan konsentrasi kolkisin yang diberikan hingga 0.05%.

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap jumlah tunas *Glycine max* L. Merr secara *in vitro* setelah perlakuan.

Perlakuan Konsentrasi Kolkisin	Jumlah Tunas pada Minggu ke-MST				
	1	3	5	7	8
Kontrol	0 ^a	2.3 ^a	3.5 ^a	4 ^a	4.3 ^a
0.02%	0 ^a	2.1 ^a	3 ^a	3.3 ^a	3.3 ^a
0.04%	0 ^a	2.6 ^a	4 ^a	4 ^a	4 ^a
0.05%	0 ^a	0 ^b	1 ^b	1.5 ^b	1.5 ^b

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%. MST: Minggu Setelah Tanam.

Persentase Tunas Berakar

Konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap persentase tunas berakar pada tanaman *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*, seperti yang tercantum pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap persentase tunas berakar *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*.

Kolkisin	Persentase (%) Planlet Berakar pada Minggu ke- (MST)		
	1	2	3
Kontrol	61.1 ^a	90.7 ^a	100
0.02%	51.8 ^a	79.6 ^b	100
0.04%	55.5 ^a	88.8 ^a	100
0.05%	42.5 ^b	75.9 ^b	100

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%. MST: Minggu Setelah Tanam.

Konsentrasi kolkisin menunjukkan persentase berakar yang berbeda nyata pada minggu ke-1 MST dan minggu ke-2 MST. Persentase tunas berakar pada konsentrasi 0.05% lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol, 0.02 dan 0.04%. Tanaman *Glycine max* L. Merr sudah mulai berakar pada minggu ke-1 MST. Perakaran terbaik dan menunjukkan persentase terbesar adalah kontrol. Konsentrasi kolkisin menghambat pertumbuhan akar pada tanaman *Glycine max* L. Merr. Hal ini diduga karena semakin tinggi konsentrasi kolkisin yang digunakan maka pertumbuhan akar semakin lambat yang ditunjukkan pada perlakuan konsentrasi 0.02% dengan persentase 79.6% sedangkan perlakuan konsentrasi 0.05% memiliki persentase berakar yang lebih kecil sebesar 75.9% pada minggu ke-2 MST. Nurwanti (2010) melaporkan konsentrasi kolkisin yang tinggi menyebabkan jumlah akar yang semakin rendah pada tanaman *Anthurium plowmanii*.

Jumlah Kromosom

Uji sitologi untuk menghitung jumlah kromosom dilakukan dengan menggunakan akar *Glycine max* L. Merr yang masih muda. Tanaman *Glycine max* L. Merr mengalami metafase pada pukul 10.00-10.15 WIB. Kromosom diamati dibawah mikroskop elektron dengan perbesaran 100x. Kromosom yang diamati pada mikroskop pada umumnya tampak berupa batang yang lurus atau bengkok (Suryo, 2007). Hasil uji sitologi yang dilakukan pada planlet menunjukkan konsentrasi kolkisin menyebabkan variasi terhadap jumlah kromosom pada kedua varietas *Glycine max* L. Merr (Tabel 7).

Tanaman *Glycine max* L. Merr memiliki jumlah kromosom normal sebanyak $2n=2x=40$, $x=20$ (Sastrosumarjo, 2006). Jumlah kromosom tanaman *Glycine max* L. Merr terbanyak setelah perlakuan dengan kolkisin adalah pada perlakuan 0.04% dengan rata-rata sebanyak $2n=229$. Jumlah tersebut menunjukkan bahwa jumlah kromosom *Glycine max* L. Merr mengganda 5 kali dari jumlah kromosom tanpa perlakuan

yaitu $2n=40$ kromosom. Perlakuan kolkisin dapat menghasilkan penambahan genom sebagai suatu deret ukur seperti 4x, 8x, 16x dan seterusnya.

Tabel 7. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap rata-rata jumlah kromosom *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*.

Konsentrasi Kolkisin (%)	Rata-rata Jumlah Kromosom
Kontrol	40.72 ^c
0.02	159.33 ^b
0.04	229 ^a
0.05	134.22 ^b

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%.

Hasil Uji F menunjukkan bahwa varietas dan interaksi kedua varietas *Glycine max* L. Merr dengan konsentrasi kolkisin pada penelitian ini tidak berpengaruh nyata (Tabel 8). Hal ini diduga disebabkan karena varietas Wilis dan Tanggamus memiliki sifat genetik yang hampir sama. Suryo (2007) melaporkan bahwa faktor internal penyebab terjadinya poliploidisasi pada suatu tanaman adalah tergantung genetik dari masing-masing tanaman.

Tabel 8. Rata-rata jumlah kromosom *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro* pada kedua varietas.

Perlakuan Kolkisin	Varietas	
	Wilis	Tanggamus
Kontrol	41.1 (37-46)	40.3 (36-45)
0.02%	161 (92-290)	157.6 (82-239)
0.04%	247.1 (176-485)	210.8 (139-266)
0.05%	161 (102-232)	107.4 (85-131)

Keterangan: Angka di dalam kurung menunjukkan variasi jumlah kromosom yang dihasilkan.

Perlakuan perendaman dengan kolkisin selain dapat menginduksi mutasi dengan menggandanya jumlah kromosom pada tanaman *Glycine max* L. Merr juga menyebabkan sel-sel nya berukuran lebih besar. Sel tanaman *Glycine max* L. Merr hasil perlakuan dengan perendaman konsentrasi 0.04% menunjukkan sel yang lebih besar dibandingkan dengan sel dari hasil perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar jumlah kromosom maka semakin besar pula sel pada tanaman *Glycine max* L. Merr. Menurut Suryo (2007) tanaman poliploid umumnya mempunyai sel yang lebih besar karena jumlah kromosomnya lebih banyak daripada tanaman diploid.

Sel hasil perlakuan yang diamati pada hasil dokumentasi mikroskopis melalui pembesaran 100x pada mikroskop elektron menunjukkan ukuran sel yang bervariasi, seiring dengan bervariasinya jumlah kromosom. Hal ini diduga karena penyerapan kolkisin yang berbeda pada masing-masing eksplan dan penyebaran ke bagian-bagian tanaman yang tidak merata pada jaringan. Kolkisin sangat cepat berdifusi ke dalam jaringan tanaman dan disebarluaskan ke beberapa bagian tanaman melalui jaringan pengangkut (Suryo, 2007).

Kerapatan Stomata

Kerapatan stomata dihitung berdasarkan jumlah stomata dibagi dengan luas bidang pandang mikroskop. Jumlah stomata dihitung pada luas bidang pandang dengan perbesaran 40 x 10. Penghitungan dilakukan dari hasil dokumentasi mikroskop dengan *software* DP25. Varietas memberikan pengaruh nyata terhadap kerapatan stomata *Glycine max* L. Merr (Tabel 9).

Konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap kerapatan stomata. Rata-rata kerapatan stomata terbesar terdapat pada perlakuan perendaman kolkisin pada konsentrasi 0.04% sebesar 442.10 stomata/mm². Sedangkan rata-rata kerapatan stomata terkecil terdapat pada perlakuan perendaman dengan kolkisin pada konsentrasi 0.02% sebesar 258.6 stomata/mm² (Tabel 10).

Tabel 9. Pengaruh varietas terhadap rata-rata kerapatan stomata *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*.

Varietas	Rata-rata Kerapatan Stomata (Stomata/mm ²)
Kontrol Wilis	195.67
Kontrol Tanggamus	434.67
Wilis	271.68 ^b
Tanggamus	381.38 ^a

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%.

Tabel 10. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap rata-rata kerapatan stomata setelah perlakuan secara *in vitro*.

Konsentrasi Kolkisin (%)	Rata-rata Kerapatan Stomata (Stomata/mm ²)
Kontrol	315.89 ^b
0.02	258.67 ^b
0.04	442.10 ^a
0.05	289.46 ^b

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%.

Jumlah Kloroplas

Pengamatan jumlah kloroplas dilakukan di daerah sel penjaga pada stomata. Kloroplas berbentuk bulat lonjong berwarna kehijauan. Kloroplas mengandung klorofil yang di dalamnya berlangsung fase terang dan fase gelap fotosintesis. Varietas berpengaruh nyata terhadap jumlah kloroplas. Konsentrasi kolkisin tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap jumlah kloroplas akan tetapi menunjukkan jumlah kloroplas yang bervariasi (Tabel 11).

Tabel 11. Rata-rata jumlah kloroplas *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*.

Perlakuan Kolkisin	Varietas	
	Wilis	Tanggamus
Kontrol	7	8.3
0.02%	6.3	10.8
0.04%	8.7	10.4
0.05%	6	9.2

Jumlah kloroplas pada perlakuan konsentrasi 0.04% pada varietas Wilis lebih banyak dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan perlakuan konsentrasi 0.02 dan 0.05% pada varietas Wilis menunjukkan jumlah kloroplas yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hal ini terjadi karena meningkatnya jumlah ploidi pada perlakuan konsentrasi 0.04% akan meningkatkan jumlah kloroplas pada tanaman *Glycine max* L. Merr. Nurwanti (2010) melaporkan bahwa sel yang mengalami penambahan jumlah kromosom akan mengalami penambahan jumlah kloroplas kromosom pada tanaman *Anthurium plowmanii*.

Ukuran Stomata

Kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap panjang dan lebar stomata. Rata-rata panjang stomata pada *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan baik pada perlakuan perendaman konsentrasi 0.02, 0.04, dan 0.05% lebih besar daripada kontrol (Tabel 12).

Tabel 12. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap rata-rata ukuran stomata *Glycine max* L. Merr setelah perlakuan secara *in vitro*.

Perlakuan Kolkisin	Rata-rata Panjang Stomata (µm)	Rata-rata Lebar Stomata (µm)
Kontrol	17.4 ^b	14.7 ^b
0.02%	22.8 ^a	18.1 ^a
0.04%	22.6 ^a	19.5 ^a
0.05%	23.7 ^a	19.9 ^a

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 0.05%.

KESIMPULAN

1. Perlakuan lama perendaman dengan kolkisin memberikan pengaruh sangat nyata terhadap induksi kalus *Glycine max* L. Merr varietas Wilis setelah perlakuan secara *in vitro*. Lama perendaman 72 jam menunjukkan persentase terbentuknya kalus terkecil sebesar 50%, sedangkan lama perendaman 24 menunjukkan persentase terbentuknya kalus terbesar sebesar 95% pada minggu ke-8 MST.
2. Konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap induksi kalus *Glycine max* L. Merr varietas Wilis setelah perlakuan secara *in vitro*. Konsentrasi 0.05% menunjukkan persentase eksplan berkalus terkecil sebesar 70%, sedangkan konsentrasi 0.01% menunjukkan persentase eksplan berkalus terbesar sebesar 96.6% pada minggu ke-8 MST. Ada interaksi yang nyata antara lama perendaman dan konsentrasi kolkisin terhadap persentase eksplan berkalus pada percobaan 1.
3. Perlakuan konsentrasi kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap penggandaan kromosom *Glycine max* L. Merr varietas Wilis dan Tanggamus secara *in vitro*. Perlakuan konsentrasi kolkisin dapat menginduksi penggandaan kromosom *Glycine max* L. Merr. Jumlah kromosom yang dihasilkan bervariasi, perlakuan perendaman kolkisin 0.04% menghasilkan tunas dengan jumlah kromosom sebanyak $2n=160-247$, yang lebih banyak dibandingkan kontrol, perlakuan konsentrasi 0.02%, dan konsentrasi 0.05%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyad, D.M. 2000. Varietas unggul dan strategi pemuliaan kedelai di Indonesia, hal 39-42. *Dalam*: L.W.Gunawan, N. Sunarlim, T. Handayani, B. Soegiharto, W. Adil, B. Priyanto, dan Suwarno (Eds). Penelitian dan Pengembangan Produksi Kedelai di Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Badan Pusat Statistik. 2010. Luas panen-produktivitas-produksi tanaman kedelai Indonesia. <http://www.bps.go.id>. [16 November 2010].
- Daud, M.E. 1996. Tissue culture and the selection of resistance to pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 24: 159-186.
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. 2009. Press release mentan pada panen kedelai. <http://ditjentan.deptan.go.id>. [29 September 2010].
- Larkin, P.J. and W.R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variant, a novel source of variability from cell culture improvement. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 49: 17-27.
- Mariska, I. 2002. Peningkatan ketahanan terhadap aluminium pada pertanaman kedelai melalui kultur *in vitro*. *Jurnal Litbang Pertanian* 23 (2):46-52.
- Nurwanti, L. 2010. Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin pada *Anthurium Wave of Love (Anthurium plowmanii* Croat.) secara *In Vitro*. Skripsi. Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 82 hal.
- Suryo, H. 2007. Sitogenetika. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 446 hal.