

Keragaman Karakter Kualitatif dan Kuantitatif pada Populasi Tanaman Somaklon Kedelai dari Embrio Somatik Hasil Seleksi *In Vitro*

Variation in Qualitative and Quantitative Characters among Somaclones of Soybean derived from In Vitro Selected Somatic Embryo

WAHYU WIDORETNO^{1*}, SAID HARRAN², SUDARSONO^{1*}

¹Jurusan Budi Daya Pertanian, *Faperta, Institut Pertanian Bogor*, Kampus Dannaga, *Bogor 16680*

²Jurusan Biologi, FMZPA, *Institut Pertanian Bogor, Bogor 16144*

Diterima 7 Maret 2003/Disetujui 23 Juni 2003

The objectives of this experiment were to regenerate population of soybean somaclonal variants from somatic embryos (SE), evaluate the existence of variation on qualitative and quantitative characters, and identify the genetics or epigenetics nature of the variant phenotypes among population of somaclonal variants. Somatic embryos were induced on selective medium containing 20% polyethyleneglycol (PEG). The SE that was tolerance to stress due to PEG in the media was germinated and population of somaclonal variant lines derived from three soybean genotypes (B3731, **MLG2999**, and **MSC8606**) were developed. Various qualitative and quantitative characters were compared among population of the original lines and the **SC1** and **SC2** generation of somaclonal variants. The genetics and epigenetics nature controlling variant phenotypes were determined by comparing observation among **SC1** and **SC2** population. The results showed that large variation in qualitative and quantitative characters of **SC1** population originated from SE and **SC2** population from **selfing** of **SC1**. Among qualitative characters, rosette leaf, male sterility, leaf base fusion, and pentafoliate leaflets were genetically controlled while multiple shoots and difoliate leaflets were epigenetics. Most of somaclonal variant lines showed less value for various quantitative characters compared to original lines. However, a number of somaclonal variants showed relatively higher seed yield compared to the original lines.

PENDAHULUAN

Teknik kultur jaringan tanaman telah digunakan untuk memperbanyak tanaman secara klonal (George 1993; Raemakers *et al.* 1995). Tetapi kebanyakan vegetatif dengan teknik kultur jaringan tidak selalu menghasilkan populasi tanaman yang seragam (Claxton *et al.* 1998; Tremblay *et al.* 1999; Maralappanavar *et al.* 2000; Vidal & Garcia 2000). Keragaman yang diamati di antara populasi tanaman hasil kultur jaringan dikenal dengan istilah variasi somaklonal (Larkin & Scowcroft 1981). Untuk tujuan memperbanyak vegetatif, variasi somaklonal di antara populasi tanaman hasil kultur *in vitro* bersifat merugikan dan sangat tidak diinginkan. Tetapi kemunculan keragaman tersebut dapat menjadi sumber plasma nutfah baru yang berguna dalam program pemuliaan tanaman (Karp 1995; Maluszynski *et al.* 1995; Seliskar & Gallagher 2000).

Variasi somaklonal dapat menyebabkan keragaman untuk karakter kualitatif, kuantitatif, fisiologis, dan molekuler.

Berbagai karakter yang berubah akibat variasi somaklonal antara lain hasil biji (Bertin & Bouharmont 1997), defisiensi klorofil (Maralappanavar *et al.* 2000), kandungan protein dan minyak biji (Komatsuda 1991), tinggi tanaman, pola pertumbuhan memendek (kerdil), morfologi daun (Claxton *et al.* 1998; Tremblay *et al.* 1999), mandul jantan (Ilarslan *et al.* 1997; Maralappanavar *et al.* 2000), dan varian isozim baru (Amberger *et al.* 1992). Karakter varian yang didapat akibat variasi somaklonal dapat bersifat positif (lebih unggul dari tanaman asal) atau negatif (lebih jelek dari tanaman asal).

Dengan variasi somaklonal, karakter varian yang positif dapat dihasilkan dengan atau tanpa mengubah sejumlah karakter unggul yang telah ada pada tanaman asal, sehingga dengan variasi somaklonal dimungkinkan untuk menambahkan karakter varian unggul baru ke kultivar tanaman komersial tanpa mengubah sifat-sifat unggul kultivar. Selain itu, varian somaklonal yang diperoleh juga dapat digunakan sebagai donor sifat unggul tertentu yang dapat ditransfer ke kultivar lain melalui program pemuliaan tanaman.

Tanaman varian somaklonal hasil kultur *in vitro* secara umum dalam kondisi heterosigot sehingga zuriat dari tanaman

*Alamat kini: Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Jalan Veteran 16, Malang 65145

Penulis untuk korespondensi, Tel./Fax. +62-251-629353,
E-mail: pertaibp@bogor.indo.net.id

ini bersegregasi antara fenotipe varian dengan fenotipe tanaman kedelai awal. Sejumlah peneliti (Evans & Sharp 1986; Larkin 1987; Scowcroft *et al.* 1985) menganalogikan hal tersebut dengan tanaman F1 hasil persilangan antara tetua homosisot yang menyerbuk sendiri menghasilkan zuriat bersegregasi (populasi F2), sehingga identitas tanaman varian somaklonal hasil kultur *in vitro* disebut sebagai kedelai SC1 dan zuriat menyerbuk sendiri dari SC1 disebut sebagai SC2. Evaluasi keberadaan variasi somaklonal dapat dilakukan dengan membandingkan keragaman individu pada populasi tanaman kedelai awal yang tidak melewati tahapan kultur *in vitro* dengan keragaman di antara populasi tanaman varian SC1 atau zuriatnya. Dengan mengamati keragaman karakter pada kedelai SC1 dan zuriatnya dapat ditentukan apakah karakter variannya dikendalikan secara genetika atau epigenetika (Skirvin *et al.* 1993). Karakter varian yang dikendalikan secara epigenetika tidak diwariskan secara seksual sehingga tidak berguna untuk pemuliaan tanaman. Sebaliknya, karakter varian yang dikendalikan secara genetika bersifat stabil dan dapat diwariskan ke generasi selanjutnya secara seksual sehingga tanaman variannya dapat dimanfaatkan sebagai plasma nutfah baru.

Berbagai faktor dilaporkan dapat meningkatkan frekuensi terjadi variasi somaklonal, antara lain umur jaringan yang semakin lama dalam kondisi *in vitro*, metode regenerasi tanaman melalui pembentukan jaringan kalus atau jaringan embriogen, pemilihan tanaman asal yang sifatnya labil secara genetika, penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam media *in vitro*, dan penggunaan media selektif tertentu (seleksi *in vitro*) dalam proses regenerasi tanaman varian somaklonal (Nehra *et al.* 1992; Skirvin *et al.* 1993; Adkins *et al.* 1995; Claxton *et al.* 1998; Tremblay *et al.* 1999; Maralappanar *et al.* 2000; Mohamed *et al.* 2000; Skirvin *et al.* 2000).

Metode regenerasi plantlet kedelai dari embrio somatik (ES) sekunder dan kalus embriogen telah dibakukan dalam penelitian sebelumnya (Widoretno *et al.* 2003). Seleksi *in vitro* menggunakan media selektif dengan polietilena glikol (PEG) dan regenerasi ES yang toleran stres akibat perlakuan PEG juga telah dilakukan. Keberadaan variasi somaklonal di antara populasi tanaman kedelai hasil seleksi *in vitro* tersebut perlu dievaluasi. Tujuan dari penelitian ini adalah meregenerasikan populasi tanaman varian somaklonal kedelai yang berasal dari ES hasil seleksi *in vitro* dalam media yang mengandung PEG, dan mengidentifikasi keberadaan variasi somaklonal kedelai untuk berbagai karakter kualitatif dan kuantitatif yang dikendalikan secara genetika atau epigenetika pada populasi tanaman kedelai hasil seleksi *in vitro*. Evaluasi dilakukan terhadap populasi tanaman kedelai varian SC1 dan SC2.

BAHAN DAN METODE

Regenerasi Varian Kedelai Somaklonal Hasil Seleksi *In Vitro*. Embrio somatik hasil seleksi *in vitro* dalam media dengan penambahan PEG 20% telah diregenerasikan dalam percobaan sebelumnya dari genotipe kedelai B3731, MLG2999 dan MSC8606. Sejumlah ES kedelai yang toleran kondisi selektif akibat perlakuan PEG dalam media induksi

ES diregenerasikan menjadi tanaman kedelai varian SC1 melalui tahapan maturasi ES dalam media MS dengan arang aktif 1 g l⁻¹, pengecambahan ES dalam media MS yang mengandung BAP 2 mg l⁻¹ dan GA₃ 2 mg l⁻¹ dan pembentukan plantlet dalam media MS yang mengandung arang aktif. Regenerasi plantlet dari ES kedelai dilakukan mengikuti prosedur Widoretno *et al.* (2003).

Plantlet kedelai yang diperoleh dipindahkan ke media *green leaf*:arang sekam (1:1) steril dan diaklimatisasi dalam ruangan yang lembap selama dua minggu. Setelah periode aklimatisasi, bibit yang diperoleh dipindah ke pot berisi campuran tanah:pasir:pupuk kandang (1:1:1), selanjutnya dipindahkan ke rumah plastik dan dibiarkan menyerbuk sendiri hingga menghasilkan benih kedelai SC2. Benih SC2 (enam benih) ini ditanam dalam pot berisi campuran tanah, pasir, dan pupuk kandang. Tanaman kedelai SC2 dibiarkan menyerbuk sendiri hingga menghasilkan benih SC3.

Evaluasi Variasi Somaklonal Kedelai untuk Karakter Kualitatif dan Kuantitatif. Evaluasi dilakukan pada 70 galur kedelai varian SC1 yang terdiri atas 20 galur B3731, 41 galur MLG2999, dan 9 galur MSC8606. Tanaman kedelai awal B3731, MLG2999, dan MSC8606 yang tidak melewati seleksi *in vitro* juga dievaluasi dan digunakan sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan terhadap berbagai keragaman karakter kualitatif di antara populasi tanaman kedelai varian SC1 dan dibandingkan dengan populasi tanaman kedelai awalnya. Karakter kualitatif yang diamati meliputi morfologi daun, jumlah anak daun, bentuk percabangan, pola pertumbuhan, mandul jantan, morfologi bunga, dan polong.

Enam tanaman kedelai SC2 zuriat hasil menyerbuk sendiri dari masing-masing galur SC1 yang menghasilkan benih dan kontrol (tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan kultur jaringan) dievaluasi terhadap berbagai karakter kualitatifnya di rumah plastik bersama-sama. Keragaman karakter kualitatif pada populasi tanaman kedelai SC2 diamati sebagaimana yang dilakukan pada populasi kedelai SC1.

Evaluasi keragaman untuk berbagai karakter kuantitatif dilakukan pada populasi tanaman varian somaklonal kedelai generasi SC1 dan SC2. Populasi tanaman kedelai awal digunakan sebagai kontrol dalam masing-masing evaluasi populasi kedelai SC1 dan SC2. Karakter kuantitatif kedelai yang dievaluasi untuk populasi kedelai SC1 meliputi tinggi tanaman, jumlah cabang, jumlah buku pada batang utama dan buku total, jumlah polong, dan biji. Untuk kedelai SC2, selain berbagai karakter tersebut juga diamati bobot kering polong dan biji yang dihasilkan, bobot kering 100 biji, serta bobot kering akar dan batang.

HASIL

Regenerasi Plantlet Kedelai Hasil Seleksi *In Vitro*.

Setelah melalui tahapan maturasi, pengecambahan, dan regenerasi plantlet diperoleh 98 galur tanaman kedelai SC1 yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi *in vitro* dalam media selektif dengan penambahan PEG. Dari total 98 galur kedelai SC1 yang diperoleh, hanya 70 galur kedelai yang dievaluasi (20 galur B3731, 41 galur MLG2999, dan 9 galur MSC8606).

Karakter Kualitatif Tanaman Kedelai SC1.

Berdasarkan perbedaan karakter kualitatif dengan tanaman kedelai B3731, MLG2999 atau MSC8606 awal yang tidak melewati tahapan *in vitro*, tanaman kedelai SC1 dari masing-masing genotipe kedelai dikelompokkan dalam fenotipe varian: (i) morfologi daun abnormal seperti fusi pangkal daun, difoliata (dua anak daun), pentafoliata (lima anak daun), dan daun roset; (ii) fertilitas polen yang abnormal seperti: mandul jantan parsial dan mandul jantan total; atau (iii) pola pertumbuhan tanaman abnormal seperti pucuk ganda (lebih dari 1 batang utama) (Gambar 1). Persentase individu varian dan jenis fenotipe varian yang muncul pada populasi tanaman kedelai SC1 dari ketiga genotipe kedelai yang diuji tidak sama besar (Tabel 1).

Fenotipe varian fusi pangkal daun dicirikan oleh penyatuan pada perbatasan antara anak daun dan tangkai daun sehingga berbentuk seperti corong (Gambar 1a). Fenotipe fusi pangkal daun hanya diamati pada populasi tanaman kedelai SC1 dari genotipe MLG2999 dan tidak dijumpai pada dua genotipe yang lain.

Daun normal tanaman kedelai awal mempunyai tiga anak daun (trifoliata). Sedangkan pada tanaman kedelai SC1 dijumpai fenotipe varian difoliata (Gambar 1b). Difoliata muncul pada beberapa ruas pada tanaman kedelai SC1. Di antara total populasi tanaman kedelai yang dievaluasi, tidak dijumpai fenotipe varian pentafoliata.

Fenotipe varian kedelai daun roset mempunyai beberapa daun yang mengelompok dalam satu ruas (Gambar 1c). Karakteristik daun roset mempunyai tangkai daun yang pendek atau hampir tanpa tangkai daun. Daun roset muncul pada setiap ruas atau beberapa ruas pada tanaman kedelai SC1. Fenotipe varian daun roset tidak ditemukan di antara populasi tanaman kedelai SC1 dari MSC8606, tetapi muncul pada populasi tanaman kedelai SC1 dari dua genotipe yang lain. Hasil pengamatan yang dilakukan mengindikasikan hampir semua tanaman kedelai dengan daun roset biasanya juga mempunyai fenotipe mandul jantan parsial atau total (Gambar 1d & e). Fenotipe varian pucuk ganda dicirikan oleh kemunculan lebih dari satu cabang utama dari satu pangkal batang yang sama (Gambar 1f).

Fenotipe varian kedelai mandul jantan parsial atau total dijumpai pada populasi tanaman varian kedelai dari tiga genotipe yang diuji dengan frekuensi yang berbeda (Tabel 1). Tanaman kedelai mandul jantan total hanya menghasilkan bunga yang tidak pernah berkembang menjadi polong. Sedangkan tanaman kedelai mandul jantan parsial menghasilkan bunga yang banyak dan menggerombol pada masing-masing ruas, tetapi frekuensi pembentukan polong normal dari bunga yang ada sangat rendah (1-2 polong per ruas). Varian kedelai dengan karakteristik mandul jantan juga mempunyai fenotipe abnormal untuk perkembangan polong. Tanaman kedelai tersebut hanya membentuk struktur polong dengan biji kedelai yang tidak berkembang dan tidak pernah mencapai tahapan masak fisiologi. Organ reproduktif tanaman kedelai mandul jantan dan abnormalitas perkembangan polong dapat dilihat pada Gambar 2.

Karakter Kualitatif Tanaman Kedelai SC2. Tidak semua fenotipe varian yang dijumpai pada populasi tanaman kedelai SC1 muncul kembali pada populasi tanaman kedelai SC2. Hanya tiga fenotipe varian yang masih dapat dijumpai kembali pada populasi tanaman kedelai SC1, yaitu fenotipe varian mandul jantan parsial, daun roset, dan fusi pangkal daun. Karakter varian yang lain (varian pertumbuhan pucuk ganda dan difoliata) tidak lagi muncul di antara populasi tanaman kedelai SC2 yang dievaluasi.

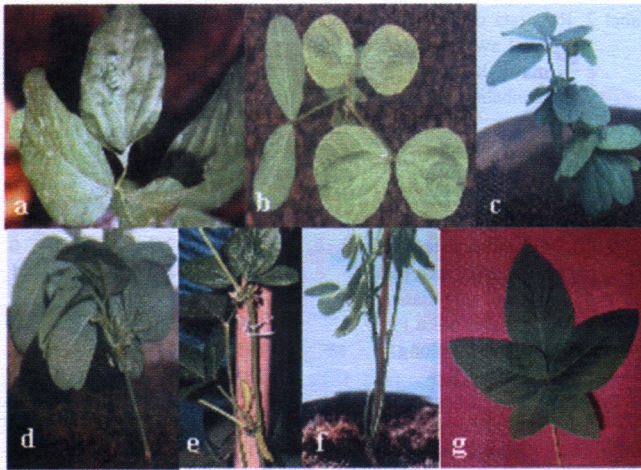
Kedelai fenotipe varian pentafoliata (Gambar 1g) yang tidak dijumpai di antara populasi tanaman kedelai SC1 muncul di antara populasi tanaman kedelai SC2 yang dievaluasi. Pada tanaman kedelai SC2 dengan fenotipe ini, pentafoliata muncul dari beberapa nodus dalam satu tanaman. Fenotipe ini ditemukan pada 4 tanaman kedelai SC2 yang berasal dari 3 tanaman kedelai SC1. Tanaman kedelai SC2 yang menunjukkan fenotipe varian ini dijumpai pada zuriat dari 2 tanaman kedelai SC1 galur B3731 dan satu dari kedelai galur MSC8606.

Fenotipe varian kedelai mandul jantan total tidak dapat dievaluasi pada generasi SC2 karena tanaman kedelai SC1-nya tidak menghasilkan biji. Tanaman kedelai SC2 yang mempunyai fenotipe varian daun roset biasanya juga mempunyai fenotipe mandul jantan parsial. Fenotipe varian mandul jantan parsial tersebut hanya dijumpai pada tanaman kedelai SC2 zuriat dari tanaman kedelai SC1 yang mandul jantan.

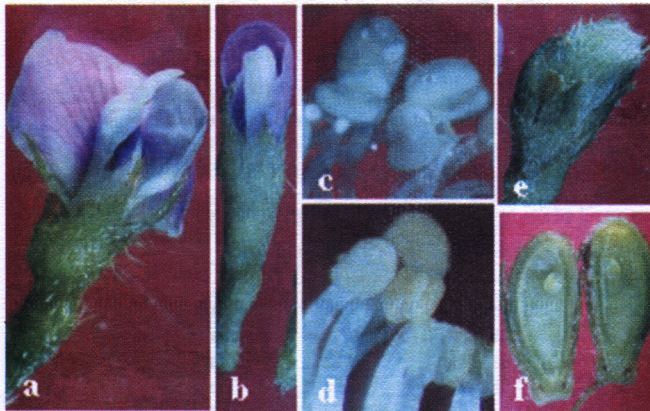
Karakter Kuantitatif Tanaman Kedelai SC1 dan SC2.

Fenotipe tanaman kedelai SC1 hasil kultur *in vitro* umumnya tumbuh kerdil dan telah mulai menghasilkan polong ketika tinggi tanaman masih di bawah ukuran normal tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan *in vitro*. Akibatnya, berbagai karakter kuantitatif lain dari tanaman kedelai SC1 yang diamati juga rendah dan rata-rata jauh lebih rendah dibandingkan dengan kontrol tanaman kedelai awal (Tabel 2). Akan tetapi, fenotipe kerdil tersebut lebih disebabkan oleh kondisi *in vitro* dan tidak semuanya akibat mutasi, karena tanaman kedelai SC2 zuriat dari tanaman kedelai SC1 yang ditanam umumnya kembali tumbuh normal. Sejumlah tanaman kedelai SC2 zuriat tanaman kedelai SC1 tetap mempunyai tinggi tanaman lebih rendah dibandingkan dengan kontrol tanaman kedelai awal (Gambar 3) sehingga sifat kerdilnya diduga terjadi akibat mutasi.

Karakter waktu berbunga juga beragam di antara populasi tanaman kedelai SC2. Kedelai SC2 galur MSC8606 berbunga 12 hari lebih cepat dibandingkan dengan populasi tanaman kedelai awal. Sedangkan waktu berbunga kedelai SC2 galur B3731 dan MLG2999 tidak berbeda dengan populasi tanaman kedelai awal. Sebagian galur kedelai SC2 galur MSC8606 tumbuh kerdil dan mempunyai pola tumbuh menyemak (Gambar 4), tetapi galur somaklon tersebut menghasilkan polong dan biji yang sama dengan tanaman kedelai awal. Di antara populasi tanaman kedelai yang dianalisis juga terdapat tanaman kedelai varian yang selalu menghasilkan polong dengan biji tunggal yang diregenerasikan dari ketiga genotipe kedelai. Fenotipe varian polong dengan biji tunggal dapat diamati di antara tanaman kedelai SC1 dan SC2.



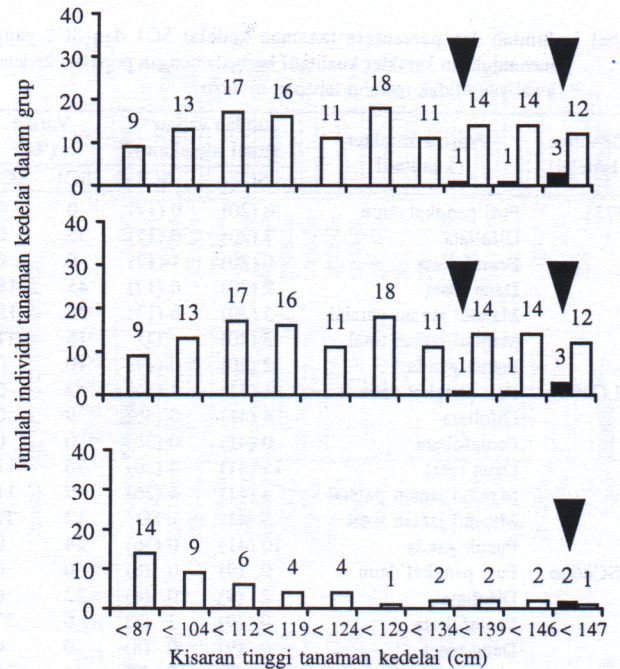
Gambar 1. Fenotipe varian untuk karakter kualitatif yang diamati di antara populasi tanaman kedelai SC1 dan SC2. a. fusi pangkal daun, b. daun dengan dua anak daun (difoliat), c. daun roset, d. jantan steril total, e. jantan steril parsial, f. pertumbuhan *multiple shot*, dan g. daun dengan lima anak daun (pentafoliat).



Gambar 2. Morfologi organ reproduktif tanaman kedelai awal dan tanaman kedelai varian somaklonal dengan fenotipe jantan steril. a. bunga normal dari tanaman kedelai awal, b. bunga abnormal dari tanaman kedelai SC1 dan SC2, c. antera normal tanaman kedelai awal, d. antera abnormal tanaman kedelai SC1 dan SC2, e. polong abnormal, dan f. biji yang tidak berkembang pada polong abnormal.

Meskipun ditanam dalam kondisi lingkungan yang sama, rata-rata jumlah dan bobot kering biji per tanaman kedelai SC2 dari genotipe B3731 tidak berbeda nyata dengan kontrol tanaman kedelai awal. Untuk genotipe MSC8606, rata-rata jumlah biji per tanamannya tidak berbeda nyata sedangkan rata-rata bobot kering bijinya lebih rendah dibandingkan dengan tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan *in vitro*. Rata-rata jumlah dan bobot kering biji kedelai MLG2999 lebih rendah dibandingkan dengan tanaman kedelai awal (Tabel 3).

Walaupun sebagian besar tanaman kedelai SC2 menghasilkan jumlah dan bobot kering biji lebih rendah dibandingkan dengan tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan *in vitro* (Gambar 5 & 6), ada tanaman kedelai somaklon yang mempunyai jumlah dan bobot kering biji sama atau lebih tinggi dibandingkan kontrol tanaman kedelai awalnya. Galur kedelai 3S3-1a dan 3S7-1a dari genotipe



Gambar 3. Pengelompokan individu tanaman kedelai berdasarkan pada kisaran tinggi tanaman di antara populasi tanaman kedelai awal dan varian SC2 yang berasal dari tiga genotipe kedelai (B3731, MLG2999, dan MSC8606). Tanda panah menunjukkan kisaran tinggi tanaman di antara individu dari populasi tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan seleksi *in vitro*.



Gambar 4. Tanaman kedelai genotipe MSC8606: a. tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan seleksi *in vitro* dan b. Tanaman kedelai SC2 dengan fenotipe kerdil.

B3731, 8B4-2a dan 8B10-3a dari genotipe MSC8606 mempunyai jumlah biji dan bobot kering biji per tanaman lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol tanaman kedelai awalnya (Gambar 7 & 8). Untuk genotipe MLG2999, galur kedelai 2B12-2a dan 2B30-2b mempunyai jumlah biji per tanaman lebih banyak (Gambar 7), sedangkan galur kedelai 2B3-1a dan 2B10-1a mempunyai bobot kering biji lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman kedelai awalnya (Gambar 8).

Tabel 1. Jumlah dan persentase tanaman kedelai SC1 dan SC2 yang menunjukkan karakter kualitatif berbeda dengan populasi kedelai awal yang tidak melalui tahapan *in vitro*

Genotipe kedelai	Varian karakter kualitatif	Jumlah varian (total somaklon)		Varian (%)	
		SC1	SC2	SC1	SC2
B3731	Fusi pangkal daun	0 (20)	0 (17)	0	0
	Difoliata	7 (20)	0 (17)	35	0
	Pentafoliata	0 (20)	1 (17)	0	6
	Daun roset	9 (20)	6 (17)	45	18
	Mandul jantan parsial	5 (20)	6 (17)	25	18
	Mandul jantan total	3 (20)	TD	15	TD
MLG2999	Pucuk ganda	2 (20)	0 (17)	10	0
	Fusi pangkal daun	1 (41)	1 (36)	2	3
	Difoliata	4 (41)	0 (36)	9	0
	Pentafoliata	0 (41)	0 (36)	0	0
	Daun roset	15 (41)	4 (36)	36	11
	Mandul jantan parsial	4 (41)	4 (36)	9	11
MSC8606	Mandul jantan total	5 (41)	TD	12	TD
	Pucuk ganda	10 (41)	0 (36)	24	0
	Fusi pangkal daun	0 (9)	0 (8)	0	0
	Difoliata	2 (9)	0 (8)	22	0
	Pentafoliata	0 (9)	3 (8)	0	37
	Daun roset	0 (9)	0 (8)	0	0
MSC8606	Mandul jantan parsial	4 (9)	2 (8)	44	25
	Mandul jantan total	1 (9)	TD	11	TD
	Pucuk ganda	1 (9)	0 (8)	11	0

TD: tidak dapat dievaluasi karena kedelai SC1 yang mandul jantan total tidak dapat menghasilkan benih kedelai SC2

Tabel 2. Rata-rata dan kisaran berbagai karakter kuantitatif dari populasi kedelai awal dan kedelai SC1 yang diregenerasikan dari embrio somatik hasil seleksi *in vitro* dalam media selektif dengan penambahan polietilena glikol (PEG)

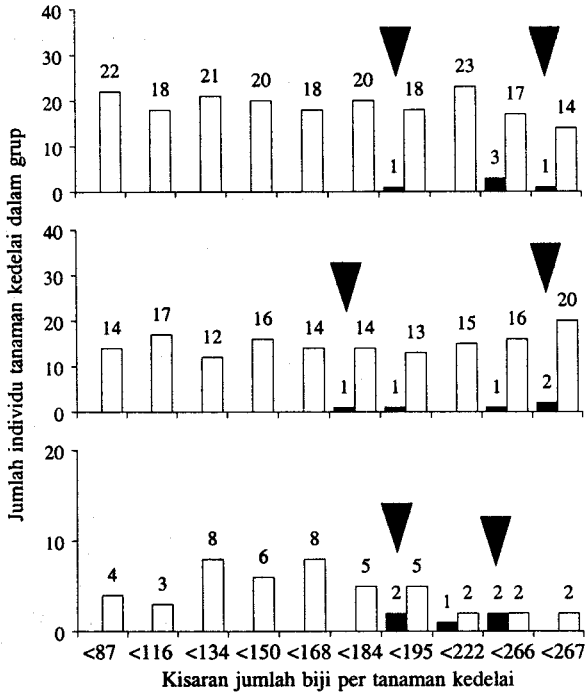
Genotipe kedelai	Karakter kuantitatif	Rata-rata populasi awal	Populasi tanaman kedelai SC1	
			Rata-rata	Kisaran
B3731	Tinggi tanaman (cm)	147	21.6 ± 9.5	6- 31
	Jumlah cabang	5	2.9 ± 2.3	0- 6
	Jumlah buku pada cabang utama	17	8.4 ± 1.5	6- 11
	Jumlah buku total	50	13.9 ± 5.4	6- 21
	Jumlah polong	105	17.4 ± 12.8	0- 52
	Jumlah biji	204	29.2 ± 24.3	0-101
MLG2999	Tinggi tanaman (cm)	136	21.1 ± 9.5	6- 35
	Jumlah cabang	4	3.1 ± 1.7	1- 6
	Jumlah buku pada cabang utama	15	8.2 ± 2.3	4- 12
	Jumlah buku total	28	14.9 ± 5.6	7- 25
	Jumlah polong	136	17.8 ± 12.5	0- 49
	Jumlah biji	233	27.7 ± 22.2	0- 89
MSC8606	Tinggi tanaman (cm)	164	23.5 ± 7.9	14- 44
	Jumlah cabang	3	1.9 ± 1.0	0- 6
	Jumlah buku pada cabang utama	17	7.9 ± 1.7	6- 10
	Jumlah buku total	31	11.8 ± 2.3	9- 15
	Jumlah polong	79	13.3 ± 8.3	0- 22
	Jumlah biji	106	19.3 ± 14.0	0- 46

Populasi awal: populasi tanaman yang tidak melalui tahapan *in vitro*

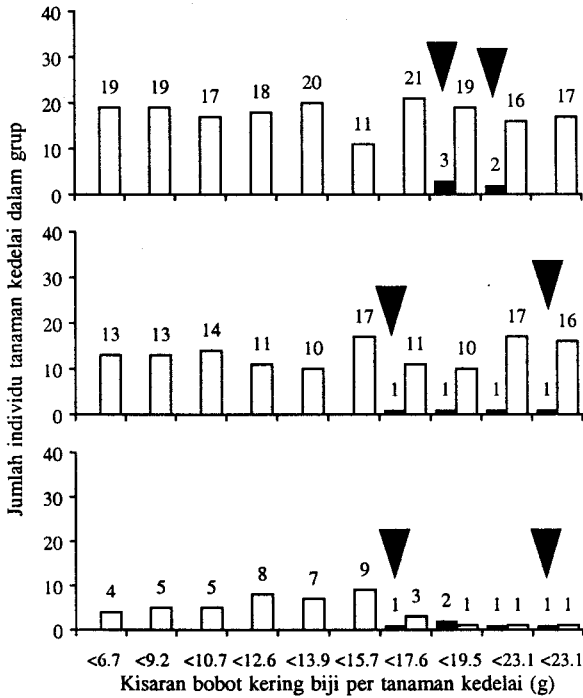
Tabel 3. Nilai rata-rata dan ragam untuk berbagai karakter kuantitatif populasi tanaman kedelai awal dan kedelai SC2 zuriat dari tanaman kedelai SC1

Genotipe kedelai	Karakter kualitatif	Rata-rata populasi		Ragam populasi		
		Awal	SC2	Awal	SC2	
B3731	Tinggi tanaman (cm)	147.3a	121.7b	73.7a	478.0a	
	Jumlah cabang	4.6a	3.7b	4.3a	3.3a	
	Jumlah buku pada cabang utama	17.4a	15.6a	0.8a	5.0a	
	Jumlah buku total	41.0a	29.9b	110.5a	137.3a	
	Jumlah polong	125.8a	94.6a	1544.7a	1439.0a	
	Jumlah biji	244.6a	179.6a	5929.3a	6292.0a	
	Bobot kering polong (g)	8.1a	5.7b	4.9a	6.9a	
	Bobot kering biji (g)	20.5a	15.3a	12.4a	57.5a	
	Bobot kering 100 (g)	9.6a	8.4a	0.2b	2.9a	
	Bobot kering batang (g)	7.4a	5.3b	5.4a	5.5a	
	Bobot kering akar (g)	1.8a	1.3a	0.5a	1.1a	
	MLG2999	Tinggi tanaman (cm)	143.5a	123.5a	151.8a	437.6a
		Jumlah cabang	3.5a	3.7a	1.5a	2.6a
		Jumlah buku pada cabang utama	15.7a	14.8a	0.4b	4.4a
Jumlah buku total		31.2a	28.1a	35.4a	96.3a	
Jumlah polong		140.7a	90.0b	538.3a	1216.2a	
Jumlah biji		247.7a	164.8b	2413.9a	4282.9a	
Bobot kering polong (g)		8.6a	5.4b	2.6a	5.1a	
Bobot kering biji (g)		21.3a	14.2b	13.2a	38.6a	
Bobot kering 100 (g)		8.7a	8.5a	0.4a	2.0a	
Bobot kering batang (g)		6.9a	4.9b	3.4a	3.9a	
Bobot kering akar (g)		2.7a	1.2b	3.9a	0.9b	
MSC8606		Tinggi tanaman (cm)	212.3a	102.9b	4560.1a	551.2b
		Jumlah cabang	4.5a	2.9b	4.5a	0.9a
		Jumlah buku pada cabang utama	18.5a	13.2b	4.5a	2.6a
	Jumlah buku total	37.0a	24.9b	72.0a	39.5a	
	Jumlah polong	106.2a	90.5a	1357.4a	775.1a	
	Jumlah biji	193.7a	155.8a	2384.3a	2882.7a	
	Bobot kering polong (g)	7.3a	5.7a	4.2a	4.4a	
	Bobot kering biji (g)	18.3a	12.5b	25.4a	20.9a	
	Bobot kering 100 (g)	9.5a	8.0b	1.4a	1.2a	
	Bobot kering batang (g)	10.3a	4.8b	4.2a	2.7a	
	Bobot kering akar (g)	2.7a	2.8a	0.4a	1.9a	

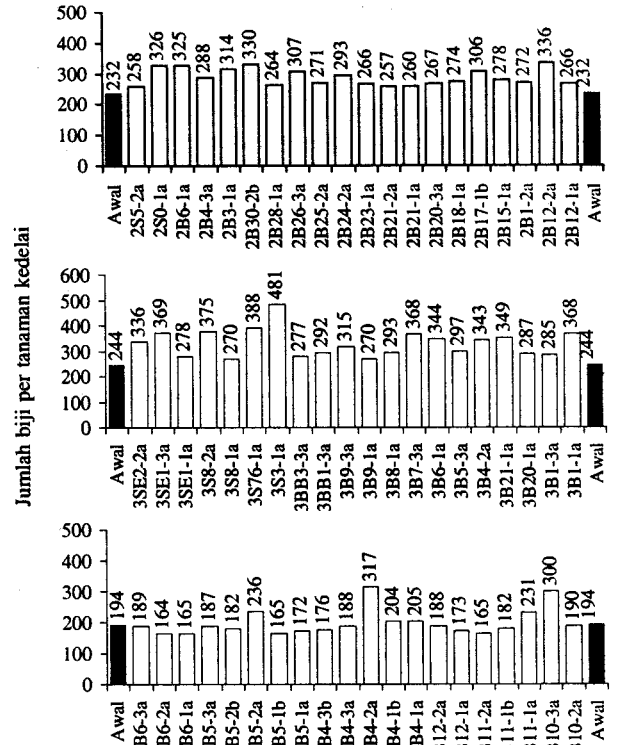
Nilai rata-rata atau ragam yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan antara populasi awal dan SC2 tidak berbeda nyata berdasarkan uji t pada taraf 5%



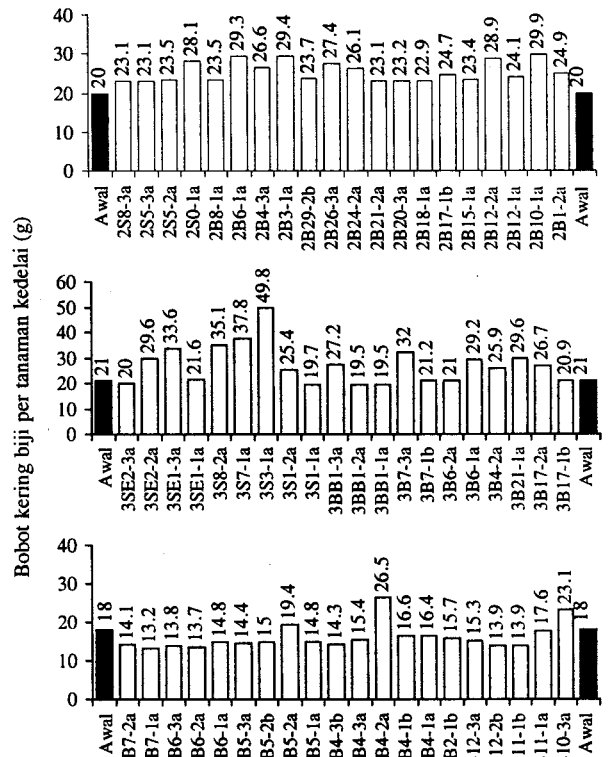
Gambar 5. Pengelompokan individu tanaman kedelai berdasarkan pada hasil jumlah biji per tanaman di antara populasi tanaman kedelai awal dan varian SC2 yang berasal dari tiga genotipe kedelai (B3731, MLG2999, dan MSC8606). Tanda panah menunjukkan kisaran hasil jumlah biji per tanaman di antara individu dari populasi tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan seleksi *in vitro*.



Gambar 6. Pengelompokan individu tanaman kedelai berdasarkan pada hasil bobot biji per tanaman di antara populasi tanaman kedelai awal dan varian SC2 yang berasal dari tiga genotipe kedelai (B3731, MLG2999, dan MSC8606). Tanda panah menunjukkan kisaran hasil bobot biji per tanaman di antara individu dari populasi tanaman kedelai awal yang tidak melalui tahapan seleksi *in vitro*.



Gambar 7. Nomer-nomer galur SC2 terpilih dari tiga genotipe kedelai (B3731, MLG2999, dan MSC8606) dengan hasil jumlah biji per tanaman sama atau lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata hasil populasi tanaman kedelai awalnya.



Gambar 8. Nomer-nomer galur SC2 terpilih dari tiga genotipe kedelai (B3731, MLG2999, dan MSC8606) dengan hasil bobot kering biji per tanaman sama atau lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata hasil populasi tanaman kedelai awalnya.

PEMBAHASAN

Hasil percobaan ini menunjukkan terdapat keragaman fenotipe (variasi somaklonal) di antara populasi tanaman kedelai hasil seleksi *in vitro* dalam media yang mengandung PEG. Dengan membandingkan fenotipe varian di antara tanaman kedelai SC1 dan SC2 zuriat dari masing-masing kedelai SC1 dapat ditentukan apakah fenotipe varian tersebut dikendalikan secara genetika atau epigenetika. Dua kelompok fenotipe varian tersebut dijumpai di antara populasi tanaman varian somaklonal kedelai hasil seleksi *in vitro* yang dievaluasi.

Fenotipe varian kedelai yang dikendalikan secara genetika diturunkan ke zuriatnya secara seksual sehingga fenotipe yang diamati pada individu varian kedelai SC1 tertentu kembali muncul di antara populasi zuriat kedelai SC2-nya. Fenotipe varian kedelai mandul jantan, morfologi daun abnormal (daun roset dan fusi pada pangkal daun) dapat diamati pada tanaman varian kedelai SC1 dan SC2. Fenotipe tersebut diwariskan dari generasi kedelai SC1 ke SC2, yang mengindikasikan varian ini dikendalikan secara genetika.

Sebaliknya, fenotipe varian kedelai yang dikendalikan secara epigenetika tidak akan diwariskan secara seksual ke generasi berikutnya sehingga fenotipe varian yang diamati pada populasi varian kedelai SC1 tidak ditemukan kembali di antara populasi varian kedelai SC2. Fenotipe varian pucuk ganda dan difoliata diamati pada populasi tanaman kedelai SC1 dan tidak diturunkan ke generasi kedelai SC2 yang mengindikasikan kedua fenotipe varian tersebut dikendalikan secara epigenetika.

Fenotipe mandul jantan persial dilaporkan dapat terjadi karena translokasi kromosom, penggandaan kromosom (polyploid) atau mutasi pada gen pengendali sifat fertilitas polen (Ilarslan *et al.* 1997). Dalam hal ini diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui secara pasti penyebab terjadi fenotipe mandul jantan pada tanaman kedelai SC1 dan SC2 yang dihasilkan dalam penelitian ini.

Fenotipe varian pentafoliata yang tidak diamati pada generasi kedelai SC1 ternyata muncul pada kedelai SC2. Varian pentafoliata diduga merupakan varian yang dikendalikan oleh gen resesif. Dalam hal fenotipe varian yang dikendalikan oleh gen resesif, fenotipenya tidak dijumpai pada generasi kedelai SC1 yang umumnya ada dalam kondisi heterozigot. Untuk itu, evaluasi harus dilakukan paling tidak pada populasi kedelai SC2 zuriat dari kedelai SC1. Fenotipe varian yang dikendalikan oleh gen resesif juga diamati di antara tanaman gandum hasil kultur *in vitro* (Larkin *et al.* 1984).

Hasil pengamatan terhadap berbagai karakter kuantitatif pada tanaman kedelai SC2 sangat beragam. Sebagian besar nilai karakter kuantitatif dari tanaman kedelai SC2 hasil *in vitro* lebih rendah dibandingkan dengan kontrol tanaman kedelai awalnya. Hal tersebut mengindikasikan bahwa seleksi *in vitro* pada kedelai menyebabkan muncul mutan yang bersifat negatif, tetapi beberapa galur tanaman kedelai hasil seleksi *in vitro* tetap mempunyai nilai karakter kuantitatif yang sama atau lebih besar dibandingkan dengan tanaman kedelai awal.

Keragaman yang tinggi antar-varian SC2 atau antar-individu dalam satu varian SC2 untuk sejumlah karakter kuantitatif juga diamati di antara populasi somaklon tanaman sorgum (Duncan *et al.* 1995; Maralappanavar *et al.* 2000).

Zuriat dari masing-masing genotipe kedelai awal (B3731, MLG2999, dan MSC8606) yang diuji mempunyai fenotipe yang seragam. Sebaliknya, populasi varian kedelai SC1 dan SC2 dari masing-masing genotipe tersebut mempunyai fenotipe yang beragam. Frekuensi dan macam fenotipe varian yang diamati pada populasi varian somaklonal kedelai MLG2999 lebih besar daripada B3731 dan MSC8606. Perbedaan tersebut diduga merupakan cerminan perbedaan stabilitas genetika dari ketiga genotipe kedelai awal yang digunakan. Frekuensi variasi somaklonal salah satunya dilaporkan dipengaruhi oleh genotipe tanaman (Adkins *et al.* 1995; Tremblay *et al.* 1999). Faktor lain yang berpengaruh adalah umur jaringan dalam kondisi *in vitro* (Tremblay *et al.* 1999), konsentrasi dan tipe auksin yang digunakan dalam media induksi (Shoemaker *et al.* 1991).

Hasil penelitian ini mendukung penelitian sebelumnya tentang pengaruh genotipe terhadap keberhasilan dalam mendapatkan tanaman kedelai varian somaklonal. Tanaman kedelai varian somaklonal yang diproses dalam penelitian ini diregenerasikan dari ES yang toleran terhadap kondisi stres akibat penambahan PEG dalam media selektif, diharapkan tanamannya akan menjadi galur kedelai varian somaklonal yang toleran atau meningkat toleransinya terhadap cekaman kekeringan. Namun demikian, uji lanjut masih perlu dilakukan untuk membuktikan hal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adkins SW, Kunanuvachaidah R, Godwin ID. 1995. Somaclonal variation in rice-drought tolerance and other agronomic characters. *Aust J Bot* 43:201-209.
- Amberger LA, Palmer RG, Shoemaker RC. 1992. Inheritance of two independent isozyme variants in soybean plants derived from tissue culture. *Theor Appl Genet* 84:600-607.
- Bertin P, Bouharmont J. 1997. Use of somaclonal variation and *in vitro* selection for chilling tolerance improvement in rice. *Euphytica* 96:135-142.
- Claxton JR, Arnold DL, Clarkson JM, Blakesley D. 1998. The regeneration and screening of watercress somaclones for resistance to *Spongospora subterranean* f. sp. *nasturtii* and measurement of somaclonal variation. *Plant Cell Tiss Org Cult* 52:155-164.
- Duncan RR, Waskom RM, Nabors MW. 1995. *In vitro* screening and field evaluation of tissue-culture-regenerated sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) for soil stress tolerance. *Euphytica* 85:373-380.
- Evans DA, Sharp WR. 1986. Somaclonal and gametoclonal variation. Di dalam: Evans DA, Sharp WR, Amirato PV (ed). *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol IV. New York: Macmillan Publ. Co. hlm 98-130.
- George EF. 1993. *Plant Propagation By Tissue Culture In Practice*. Ed ke-2. England: Exegetics Ltd.
- Ilarslan H, Skorupska HT, Horner HT, Palmer RG. 1997. Cytology and genetics of a tissue culture-derived soybean genic male-sterile, female-sterile. *J Hered* 88:129-138.
- Karp A. 1995. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. *Euphytica* 85:295-302.
- Komatsuda T. 1991. Somaclonal variation in soybean seed proteins. Biotechnology and mutation breeding. Di dalam: Proceedings Gamma-Field Symposia. Ibaraki, 17-18 Jul 1991. hlm 71-86.
- Larkin PJ. 1987. Somaclonal variation: history, methods and meaning. *Iowa State J Res* 61:393-434.

- Larkin PJ, Ryan SA, Brettell RIS, Scowcroft WR. 1984. Heritable somaclonal variation in wheat. *Theor Appl Genet* 67:443-455.
- Larkin PJ, Scowcroft WR. 1981. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor Appl Genet*. 60:197-214.
- Maluszynski M, Ahloowalia BS, Sigurbjoensson B. 1995. Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica* 85:303-315.
- Maralappanavar MS, Kuruvinashetti MS, Harti CC. 2000. Regeneration, establishment and evaluation of somaclones in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Euphytica* 115:173-180.
- Mohamed MAH, Harris PJC, Henderson J. 2000. *In vitro* selection and characterization of drought tolerant clone of *Tagetes minuta*. *Plant Sci* 159:213-222.
- Nehra NS, Kartha KK, Stushnoff C, Giles KL. 1992. The influence of plant growth regulator concentrations and callus age on somaclonal variation in callus culture regenerants of strawberry. *Plant Cell Tiss Org Cult* 29:257-268.
- Raemakers CJJM, Jacobsen E, Visser RGF. 1995. Secondary somatic embryogenesis and applications in plant breeding. *Euphytica* 81:93-107.
- Scowcroft WR, Davies P, Ryan SA, Brettell RIS, Pallotta MS, Larkin PJ. 1985. The analysis of somaclonal mutants. Di dalam: *Plant Genetics*. New York: Alan R. Liss, Inc. hlm 799-815.
- Seliskar DM, Gallagher JL. 2000. Exploiting wild population diversity and somaclonal variation in the salt marsh grass *Distichlis spicata* (Poaceae) for marsh creation and restoration. *Amer J Bot* 87:141-146.
- Skirvin RM, Coyner M, Norton MA, Motoike S, Gorvin D. 2000. Somaclonal variation: do we know what causes it? <http://www.agbiotechnet.com/review/Abstract.asp?> [6 Jun 2003].
- Skirvin RM, Norton M, McPheeters KD. 1993. Somaclonal variation: has it proved useful for plant improvement?. *Act Hort* 336:333-340.
- Tremblay L, Levasseur C, Tremblay FM. 1999. Frequency of somaclonal variation in plant of black spruce (*Picea mariana*, Pinaceae) and white spruce (*P. glauca*, Pinaceae) derived from somatic embryogenesis and identification of some factor involved in genetic instability. *Amer J Bot* 86:1373-1379.
- Vidal MDC, Garcia ED. 2000. Analysis of *Musa* spp. Somaclonal variant resistant to yellow sigatoka. *Plant Mol Biol Rep* 18:23-31.
- Widoretno W, Arumningtyas EL, Sudarsono. 2003. Metode induksi pembentukan embrio somatik dari kotiledon dan regenerasi plantlet kedelai secara *in vitro*. *Hayati* 10:19-24.