

# Pemuliaan Tanaman Kacang-kacangan melalui hibridisasi antar spesie

*by* Lestari Ujjianto

---

**Submission date:** 30-Jun-2023 08:18AM (UTC-0500)

**Submission ID:** 2124756046

**File name:** Buku\_Pemuliaan\_kacang\_ml\_persil\_antar\_spesies\_03-final.pdf (925.83K)

**Word count:** 37903

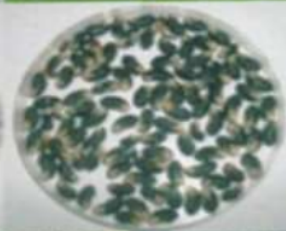
**Character count:** 224717

DR. IR. LESTARI UJIANTO, M.Sc.

*Pemuliaan*  
**TANAMAN**  
**KACANG - KACANGAN**



Melalui  
**HIBRIDISASI**  
antar **SPESES**



**2**  
**PEMULIAAN TANAMAN  
KACANG-KACANGAN  
MELALUI HIBRIDISASI  
ANTAR SPESES**

**Penulis:**  
**Dr. Ir. LESTARI UJIANTO, M.Sc**

**Penerbit Mataram University Press**

**2**  
**Pemuliaan Tanaman Kacang-Kacangan Melalui  
Hibridisasi Antar Spesies**

**Penulis:**  
**Dr. Ir. Lestari Ujianto, M.Sc.**

**Penyunting:**  
**Prof. Dr. Ir. I Gusti Putu Muliarta Aryana, MP.**

**Lay Out:**  
**Ali Imran**

**Desain Sampul:**  
**M. Tahir**

**Penerbit Mataram University Press**

**Cetakan Kedua, Februari 2014**

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang  
All Right Reserved



## KATA PENGANTAR

Buku ini disusun berdasarkan hasil-hasil penelitian penulis tentang pemuliaan tanaman kacang-kacangan terutama yang terkait dengan hibridisasi antar spesies. Penulis mulai menekuni kegiatan pemuliaan kacang-kacangan ini sejak tahun 2002. Kegiatan penelitian dimulai dari kegiatan eksplorasi dan koleksi plasma nutfah tanaman kacang-kacangan di wilayah Nusa Tenggara Barat. Kegiatan penelitian berikutnya yaitu evaluasi potensi plasma nutfah kacang-kacangan baik sifat kualitatif, sifat kuantitatif, ketahanan terhadap kekeringan dan kemasaman, ketahanan terhadap hama dan penyakit, kandungan nutrisi terutama protein, karbohidrat dan anthosianin. Penulis melakukan persilangan-persilangan baik intraspecies maupun antarspecies untuk plasma nutfah yang memiliki keunggulan-keunggulan tertentu. Dari hasil-hasil penelitian ini penulis banyak mendapatkan ilmu pengetahuan dan pengalaman. Untuk membagi pengetahuan dan pengalaman ini penulis memberanikan diri untuk menyusun buku ini.

Buku ini disusun untuk bahan acuan atau referensi baik oleh mahasiswa maupun dosen Fakultas Pertanian khususnya dan peneliti kacang-kacangan pada umumnya. Buku ini berisikan tentang hal-hal yang terkait dengan program pemuliaan tanaman kacang-kacangan terutama yang berhubungan dengan hibridisasi antar spesies pada genus *Vigna*. Kaidah dan metode pemuliaan dalam buku ini juga dapat diterapkan pada tanaman menyerbuk sendiri terutama dari jenis kacang-kacangan.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih terutama kepada Direktur Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Dirjen Dikti Depdiknas yang telah membantu pendanaan dalam penelitian maupun penulisan buku ini. Terima kasih saya sampaikan kepada Bapak Prof. Dr. Ir. I Gusti Putu Muliarta Aryana, MP yang telah bersedia menjadi penyunting buku ini. Terima kasih saya sampaikan kepada Tim Peneliti terutama Bapak Ir. Idris, MP., Ibu Dra. Tri Mulyaningsih, M.Si, Bapak Ir. Uyek Malik Yakop, M.Sc., Ph.D. dan para mahasiswa yang telah banyak bekerja sama dalam penelitian yang penulis lakukan, Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Nur Basuki, Prof. Kuswanto, Prof. Astanto Kasno atas bimbingannya selama menempuh Program Doktor serta serta semua

pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan kegiatan penelitian hingga penulisan buku ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan buku edisi yang pertama ini masih banyak kekurangannya. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan masukan agar dalam penulisan edisi berikutnya menjadi lebih baik. Semoga penyusunan buku ini bermanfaat bagi pembacanya.

Penulis,

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
I PENDAHULUAN .....	1
II KARAKTERISTIK TANAMAN KACANG-KACANGAN.....	6
2.1. Karakteristik Kacang Hijau .....	6
2.2. Karakteristik Kacang Beras .....	7
2.3. Karakteristik Kacang Tunggak .....	8
2.4. Karakteristik Kacang Panjang .....	12
III PLASMA NUTFAH DAN KERAGAMAN GENETIK .....	15
3.1. Keragaman Genetik .....	15
3.2. Eksplorasi Plasma Nutfah .....	16
3.3. Evaluasi Keunggulan Potensi Plasma Nutfah .....	18
IV HIBRIDISASI DAN KOMBINASI GEN .....	20
4.1. Pemilihan Tetua .....	21
4.2. Pelaksanaan Hibridisasi .....	23
4.3. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Hibridisasi .....	25
4.3.1. Respon tanaman terhadap lingkungan .....	25
4.3.2. Fase perkembangan tanaman .....	26
4.3.3. Panjang hari .....	28
4.3.4. Temperatur .....	29
4.3.5. Kelembaban .....	30
4.3.6. Kesuburan Tanah .....	31
4.4. Faktor-faktor Genetik .....	32
4.4.1. Jumlah alel pada setiap lokus .....	32
4.4.2. Keterkaitan (Linkage) .....	32
4.4.3. Perbedaan-perbedaan struktur dalam kromosom .....	34
4.4.4. Frekuensi Gen .....	34
4.4.5. Homosigositas .....	34
4.4.6. Genotipe yang homosigot .....	35
V HIBRIDISASI ANTAR SPESIES UNTUK PERBAIKAN SIFAT TANAMAN .....	36

5.1. Pendahuluan .....	36
5.2. Tujuan Hibridisasi antar Spesies .....	37
5.3. Hambatan-hambatan dalam Hibridisasi antar Spesies .....	38
5.4. Upaya Mengatasi Hambatan Hibridisasi antar Spesies .....	41
5.5. Pemilihan Tetua untuk Hibridisasi Antar Spesies .....	42
5.6. Hibridisasi antara Kacang Tunggak dengan Spesies Lainnya	44
5.7. Hibridisasi antar Spesies untuk Manipulasi Kromosom .....	46
5.8. Aplikasi Fusi Protoplas pada Hibridisasi antar Spesies Tanaman.....	49
5.9. Pemanfaatan Hasil Hibridisasi .....	50
VI EVALUASI HASIL HIBRIDISASI .....	52
6.1. Evaluasi Keberhasilan Hibridisasi Antar Spesies .....	52
6.2. Evaluasi Sifat Kualitatif dan Kuantitatif .....	58
6.3. Evaluasi Kandungan Protein dan Karbohidrat .....	63
6.4. Evaluasi Ketahanan Hama .....	68
VII ANALISIS GENETIK .....	74
7.1. Pendugaan Heterosis dan Heterobeltiosis .....	74
7.2. Pendugaan Peran Gen.....	76
7.3. Keragaman Genetik dan Heritabilitas .....	82
7.4. Pewarisan Sifat Kuantitatif .....	83
7.5. Pendugaan Jumlah Gen .....	88
VIII EVALUASI VIABILITAS BENIH DAN STERILITAS .....	90
IX PROGRAM PEMULIAAN TANAMAN KACANG- KACANGAN .....	98
9.1. Seleksi Silsilah .....	98
9.2. Seleksi Galur Murni .....	101
X TEMUAN BARU DAN IMPLIKASI PERSILANGAN ANTAR SPESIES PADA PEMULIAAN TANAMAN .....	104
XI KESIMPULAN .....	107
DAFTAR PUSTAKA .....	109
LAMPIRAN .....	120

## **BAB I.**

### **PENDAHULUAN**

---

Kacang-kacangan merupakan tanaman yang penting di Indonesia karena komoditas tersebut mempunyai banyak manfaat, kandungan gizi dan nilai ekonomisnya tinggi, dan sangat potensial untuk dikembangkan melalui program pemuliaan tanaman. Setiap jenis atau spesies tanaman kacang-kacangan selalu memiliki kelebihan dan kekurangan. Tugas pemulia tanaman adalah memanfaatkan keunggulan suatu spesies tanaman untuk memperbaiki kelemahan sifat spesies tanaman lainnya. Agar keunggulan sifat suatu spesies tanaman dapat dipindahkan atau ditransfer ke spesies lain, salah satu cara yang dapat dilakukan adalah melalui persilangan atau hibridisasi antar spesies tanaman (*interspecific hybridization*). Dengan persilangan antar spesies tanaman diharapkan gen-gen yang mengendalikan keunggulan suatu sifat tanaman dapat ditransfer ke spesies tanaman yang lain. Disamping itu persilangan antar spesies dapat meningkatkan keragaman genetik.

Keragaman genetik plasma nutfah tanaman kacang-kacangan di Indonesia adalah sangat besar. Baik sifat kualitatif maupun kuantitatif. Keragaman genetik merupakan hal yang sangat penting dalam program pemuliaan tanaman. Menurut Fasoula dan Fasoula (2002), salah satu hal yang sangat penting dalam program pemuliaan tanaman yaitu

3 adanya keragaman genetik terhadap sifat yang akan diperbaiki. Pemulia tanaman sulit mendapat<sup>3</sup> kemajuan genetik tanpa adanya keragaman genetik yang berarti. Oleh karena itu upaya-upaya untuk meningkatkan keragaman genetik perlu terus dikembangkan. Salah satu caranya yaitu dengan hibridisasi baik pada varietas beda spesies yang sama maupun antar spesies yang berbeda. Dalam pemilihan tetua untuk persilangan sebaiknya didahulukan tanaman yang spesiesnya sama. Persilangan antar spesies biasanya dilakukan jika sifat yang diharapkan tidak terdapat pada spesies yang sama. Persilangan antar spesies memiliki peluang keberhasilan yang lebih tinggi jika spesies yang berbeda tersebut memiliki jumlah kromosom yang sama. Pemulia tanaman melakukan persilangan antar spesies sangat tergantung pada tujuannya (Fehr, 1994; Payan dan Martin, 1975).

Tujuan dari persil<sup>4</sup>ngan antar spesies pada tanaman yaitu untuk:

1. memperbaiki suatu spesies dengan cara memindahkan satu atau beberapa sifat dari spesies lain,
2. menambah keragaman genetik atau untuk menimbulkan keragaman baru sehingga memperbesar keragaman di alam atau koleksi yang sudah ada serta memperbanyak materi pemuliaan,
3. mendapatkan ekspresi karakter baru yang tidak nampak pada kedua spesies,
4. mendapatkan keturunan yang steril (Chen, *et al.*, 1983; Choudary, *et al.*, 2000).

Tujuan lain untuk persilangan antar spesies adalah sebagai kajian akademik dan penelitian, dijadikan obyek studi yang sangat menarik dan tidak harus menghasilkan sesuatu yang menguntungkan. Pemulia tidak perlu merasa bersalah jika didapatkan hasil tidak seperti diharapkan, karena hal ini justru merupakan bagian dari kemajuan ilmu pengetahuan untuk mengkaji lebih jauh mengapa terjadi demikian (Gomathinayagam *et al.*, 1998; Hadley dan Openshaw, 1980). Tujuan persilangan antar spesies tergantung pada tujuan program pemuliaan yang ingin dicapai.

Inkompatibilitas, viabilitas, dan sterilitas merupakan masalah utama dalam persilangan antar spesies. Oleh karena itu beberapa cara perlu dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut antara lain dengan menggunakan kolkisin atau GA3. Penggunaan kolkisin atau GA3 akan dapat menyebabkan perubahan morfologi pada tanaman akibat adanya perubahan jumlah kromosom (Anggraito, 2004; Hartati, 2000). Persilangan antar spesies yang memiliki gen-gen berbeda akan dapat menghasilkan populasi keturunan yang beragam baik karakter yang diharapkan maupun yang tidak diharapkan. Beberapa gen komplemen akibat persilangan antar spesies ini dapat menghasilkan tipe-tipe yang

berkisar diantara kedua tetua terutama untuk sifat-sifat kuantitatif (Chen, *et al.*, 1983; Choudary, *et al.*, 2000). Untuk itu perlu adanya karakterisasi populasi keturunan persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras agar didapatkan gambaran yang jelas tentang perubahan-perubahan karakter dari kedua tetuanya. Hal ini akan dapat membantu pemulia untuk mengambil langkah-langkah berikutnya dengan tepat, efisien dan efektif.

Persilangan antar spesies sering terjadi adanya inkompatibilitas. Selain disebabkan oleh perbedaan jumlah dan ukuran kromosom, inkompatibilitas juga disebabkan oleh perbedaan biologi bunga, ketidakmampuan tabung polen menembus kepala putik atau dapat menembus tetapi pertumbuhannya lambat sehingga terlambat atau tidak mencapai ovule. Ukuran stilus kacang hijau adalah 23 mm, sedangkan kacang beras adalah 19 mm. Kacang beras waktu antesisnya antara 5 – 10 jam, pecahnya kantong sari sekitar 8-10 jam sebelum anthesis, dan daya reseptivitasnya sampai sekitar 10 jam setelah anthesis. Kacang hijau memiliki waktu anthesis sekitar 4 – 7 jam, pecahnya kantong sari sekitar 5 - 8 jam sebelum anthesis (mekarnya bunga) dan daya penerimaan polen pada kepala putik sekitar 6 jam setelah anthesis. Walaupun antara kacang beras dengan kacang hijau jumlah kromosomnya sama tetapi belum tentu bentuk dan ukurannya sama. Panjang kromosom kacang hijau bervariasi antara 28,1 sampai 73,3  $\mu$ , dengan posisi sentromernya juga beragam. Perbedaan biologi bunga, keberagaman panjang kromosom dan letak sentromer memungkinkan adanya keragaman dalam inkompatibilitas dan perbedaan tingkat keberhasilan persilangan antara pasangan persilangan yang satu dengan yang lain.

Benih hasil persilangan antar spesies seringkali tingkat viabilitas dan fertilitasnya rendah bahkan bisa steril sempurna. Viabilitas merupakan kemampuan benih untuk berkecambah dan menghasilkan bibit yang normal. Keturunan hasil persilangan antar spesies belum tentu dapat tumbuh dan berkembang dengan normal. Tingkat keberhasilan persilangan tidak selalu berhubungan dengan viabilitas dan fertilitas benih yang dihasilkan. Tingkat viabilitas benih lebih ditentukan oleh proses embriogenesis dan pembelahan inti endosperm. Dengan persilangan antar spesies dimungkinkan adanya gen pengendali sterilitas pada keturunan F1 baik dalam inti sel maupun di luar inti sel, sehingga sulit untuk mendapatkan keturunan F2 atau untuk silang baliknya.



Persilangan antar spesies dapat menyebabkan perubahan karakter pada keturunannya baik kualitatif maupun kuantitatif. Akibat adanya persilangan antar spesies, maka karakteristik keturunannya akan beragam antara pasangan persilangan yang satu dengan yang lain. Keragaman keturunan hasil persilangan ini disebabkan oleh peran gen yang berbeda-beda. Tingkat keragaman peran gen pada karakter keturunan sangat dipengaruhi oleh tetua yang digunakan. Disamping dapat meningkatkan keragaman genetik, persilangan antar spesies dapat menghasilkan hibrida yang unggul sebagai bahan dasar dalam program pemuliaan kacang-kacangan untuk merakit varietas unggul baru.

Program pemuliaan tanaman kacang-kacangan di Indonesia masih memprioritasnya untuk memperbaiki daya hasil, ketahanan terhadap faktor biotik terutama hama penyakit penting dan faktor abiotik terutama kekeringan dan kemasaman. Dalam buku ini program pemuliaan tanaman kacang-kacangan dibatasi pada 4 spesies yang berbeda karakternya tetapi masih satu genus *Vigna* yaitu tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walph.), tanaman kacang panjang (*Vigna sesquipedalis* L. Fruwirth), tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* L. Wilczek) dan kacang beras (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi). Keempat spesies tanaman ini memiliki keunggulan dan kelemahan masing-masing sehingga sangat potensial untuk saling disilangkan dalam rangka menggabungkan keunggulan karakter masing-masing spesies melalui hibridisasi.

Dalam rangka perakitan varietas unggul baru yang berdaya hasil tinggi, pemulia dapat melakukan perbaikan hasil melalui perbaikan komponen hasil. Salah satu komponen hasil kacang-kacangan yang penting adalah jumlah polong per tanaman. Dengan perbaikan jumlah polong per tanaman diharapkan akan terjadi perbaikan daya hasil jika komponen hasil yang lain dapat dipertahankan (Arshad, *et al.*, 2009; Ghafar *et al.*, 2002). Untuk itu pemulia perlu sumber plasma nutfah yang memiliki jumlah polong per tanaman tinggi. Kacang beras yang dikenal dengan *rice bean* memiliki jumlah polong per tanaman yang tinggi. Selain memiliki jumlah polong yang tinggi, kacang beras tahan terhadap beberapa hama penting tanaman kacang-kacangan seperti hama gudang bruchus atau kumbang bubuk (Ullah, *et al.*, 2007; Somta, *et al.*, 2006). Oleh karena itu kacang beras cocok dijadikan tetua untuk perakitan kacang-kacangan yang berdaya hasil tinggi dan tahan terhadap hama penting. Disamping kelebihan kacang beras memiliki kelemahan yaitu kandungan proteinnya tidak setinggi



tanaman kacang-kacangan lainnya. Kacang hijau mempunyai daya cerna dan kandungan protein yang tinggi tetapi jumlah polongnya tidak banyak dan kurang tahan terhadap hama dan penyakit. Tanaman kacang tunggak memiliki polong yang pendek dan kaku tetapi toleran terhadap kekeringan. Kacang panjang memiliki polong yang panjang dan lunak tetapi kurang tahan terhadap kekeringan dan membutuhkan anjir dalam sistem budidayanya. Untuk meningkatkan keragaman genetik dan menggabungkan keunggulan sifat-sifat tersebut perlu dilakukan persilangan antar spesies dalam rangka merakit varietas unggul baru tanaman kacang-kacangan melalui program pemuliaan tanaman.

## **BAB II.**

### **KARAKTERISTIK TANAMAN KACANG-KACANGAN**

---

#### **2.1. Karakteristik Kacang Hijau**

Kacang hijau mempunyai karakteristik yaitu bunganya tersusun dalam bentuk tandan yang timbul dari ketiak daun. Setiap tandan mengandung 5-25 kuncup bunga dengan ukuran yang cukup besar, berdiameter 1-2 cm. Tanaman ini memiliki bunga yang lengkung, terdiri dari: kelopak yang berbentuk lonceng berwarna hijau, tajuk atau mahkota bunga terdiri dari 5 helai yang berwarna kuning cerah. Bakal buah terdiri dari beberapa ruang. Umumnya bunga akan mekar pada pagi hari sekitar pukul 06.00 dan menutup sekitar pukul 10.00 tetapi pada keadaan mendung bunga mekar atau menutup lebih siang. Pemasakan serbuk sari terjadi pada malam hari sekitar pukul 22.00 – 02.00 setelah itu kepala sari akan pecah (Rehman, 2004; Cupka dan Edwards, 1986; Anggarwal dan Poehlman, 1977).

Tanaman kacang hijau tergolong tanaman yang menyerbuk sendiri dan kleistogam yaitu proses penyerbukan terjadi sebelum bunga mekar. Penyerbukan silang biasanya kurang dari 5% tergantung pada kultivar dan keberadaan agen penyerbukan terutama populasi lebah. Penyerbukan terjadi pada pagi hari dan diikuti dengan perkecambahan serbuk sari setelah kira-kira 3-4 jam. Tabung serbuk sari akan menuju

bakal buah setelah mencapai dasar putik. Proses berikutnya yaitu perkembangan embrio dan endosperm (Khattak, *et al.*, 2004; Oplinger *et al.*, 1997).



Gambar 1. Tanaman dan Biji Kacang Hijau Varietas Unggul Merak

Daun kaca<sup>5</sup> hijau terdiri atas tiga helaian daun yang letaknya berselang-seling, berwarna hijau, berbentuk oval ataupun lanset dengan panjang daun antara 4,6 – 12 cm dan lebar daun 2-8 cm. Bentuk daun ditentukan berdasarkan perbandingan panjang dan lebar daun. Daun termasuk bentuk ov<sup>5</sup> jika perbandingan panjang dan lebar daun berkisar 1,5-2 : 1, dan bila perbandingannya 3-5 : 1 digolongkan berbentuk lanset. Bentuk daun lanset pada kacang hijau adalah dominan terhadap bentuk daun oval yang pewarisannya dikendalikan oleh gen dominan tunggal (Avenido dan Hattori, 1999; Bisht, *et al.*, 2005).

## 2.2. Karakteristik Kacang Beras<sup>3</sup>

Karakter tanaman kacang beras (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi dan Ohashi) disamping memiliki beberapa kesamaan dengan kacang hijau juga memiliki beberapa perbedaan. Keunggulan<sup>5</sup> karakter kacang beras yaitu jumlah polong per tanamannya banyak, relatif tahan terhadap hampir semua hama dan beberapa penyakit, dan relatif toleran terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Van der Maesen dan Somaatmadja, 1989; Smart, 1981).

Menurut Somta *et al.* (2006), kacang beras adalah sangat tahan terhadap hama kumbang bubuk. Karakteristik kacang beras yaitu batangnya ada yang berwarna hijau atau merah, sedang warna daunnya umumnya hijau. Jumlah polong per tanaman biasanya lebih dari 25 dengan panjang polong 7-9 cm dan jumlah biji per polong rata-rata

sekitar 10. Warna bijinya beragam, umumnya kuning, kuning muda, coklat, hitam, hitam keabu-abuan, dan merah tua.

Tanaman kacang beras merupakan tanaman yang merambat dengan batang tegak, agak tegak atau melentur. Batang biasanya ditutupi dengan rambut halus yang terkeluk turun dan mudah rontok. Batang beralur dengan panjang 1-3 m. Karakteristik daun kacang beras yaitu berdaun tiga, berbentuk bundar telur lebar hingga bundar telur-melanset, menyelaput, agak gundul. Tepi daun biasanya rata tetapi kadang-kadang bercuping tiga.



Gambar 2. Tanaman dan Biji Kacang Beras

Perbungaan kacang beras membentuk tandan yang muncul di ketiak daun dengan 5-20 bunga per tandan. Bunga berwarna kuning terang dalam kumpulan 2-3 bunga, berdiameter hingga 2 cm, dengan daun gantilan besar. Karakteristik polongnya yaitu panjang dan lampai, gundul, berisi 6-16 biji yang berbentuk lonjong hingga memanjang, berwarna merah gelap, hijau, kuning, coklat, hitam, berlekeh atau loreng (Van der Maesen dan Somaatmadja, 1989; Ullah *et al.*, 2007).

### 2.3. Karakteristik Kacang Tunggak

Tanaman kacang tunggak seperti pada tanam<sup>5</sup> kacang-kacangan lainnya termasuk tanaman yang menyerbuk sendiri dan bunganya termasuk kleistogam yaitu penyerbukan terjadi pada pagi hari sebelum bunga mekar. Perkecambahan serbuk sari terjadi sekitar 3 jam setelah penyerbukan dan setelah 6 jam tabung serbuk sari sudah mencapai dasar putik serta 12 jam baru mencapai bakal buah. Perkembangan embrio dan endosperm sudah dapat terlihat 24 jam setelah penyerbukan, semakin lama bentuknya semakin jelas. Kacang

tunggak mulai menghasilkan bunga umumnya agak lebih lama dibandingkan kacang panjang. Kacang panjang umumnya berbunga sekitar 5 minggu setelah tanam dan kacang tunggak umumnya berbunga pada minggu keenam setelah tanam tergantung varietasnya, ada varietas yang sudah berbunga pada minggu keempat, tetapi ada juga varietas kacang tunggak baru berbunga setelah delapan minggu bahkan lebih setelah tanam (Sarutayophat, 2007; Trustinah, 1998; Blackhrust dan Miller, 1980).

Bunga merupakan fase penting dalam proses pembentukan biji. Pada dasarnya bunga terdiri dari beberapa organ namun hanya dua organ saja yang terlibat dalam pembentukan biji yaitu benang sari (stamen) dan putik (pistil). Benang sari menghasilkan serbuk sari yang masing-masing membentuk gamet jantan sedangkan putik akan membentuk bakal biji (ovulum) yang mengandung telur. Pada waktu proses penyerbukan yaitu jatuhnya serbuk sari pada kepala putik, terbentuklah tabung yang serbuk sari, kemudian berlangsung pembuahan antara sperma dengan telur. Proses akhir dari pembuahan ini adalah terbentuknya biji (Hanum, 2008). Bunga kacang tunggak tersusun dalam bentuk tandan (*raceme*) yang terdapat pada ujung poros bunga (*pedunculus*) yang muncul dari ketiak daun dan masing-masing tandan mengandung 6 – 12 kuncup bunga dengan tangkai bunga (*pedicle*) yang pendek. Bunga terdiri dari: (1) kelopak (*calyx*) yang berbentuk lonceng berwarna hijau, (2) tajuk atau mahkota bunga (*corolla*) terdiri dari 5 helai (1 helai bendera, 2 helai sayap dan 2 helai cakar) yang berwarna putih, kuning, atau ungu, (3) benang sari (*stamen*) berjumlah 10 buah yang terkumpul menjadi 2 kelompok (*diadelphous*) yaitu 1 bebas dan 9 lainnya bersatu, dengan kepala sari yang sama. Bakal buah (*ovarium*) terdiri dari beberapa ruang. Beberapa bunga akan mekar sekitar pukul 06.00 dan menutup sekitar pukul 10.00 tetapi pada keadaan mendung bunga mekar atau menutup lebih siang. Pemasakan serbukuksari terjadi sekitar pukul 20.00 – 01.00 kemudian kepala sari akan pecah (Prabowo, 2007; Trustinah, 1998; Blackhrust dan Miller, 1980).

Kacang tunggak seperti kacang hijau dan kacang beras memiliki jumlah kromosom ( $2n = 2x = 22$ ) yang terdiri dari 11 bivalen dengan panjang kromosom dan letak sentromer yang bervariasi. Untuk kacang tunggak, dari 11 kromosom yang bivalen tersebut terdapat 1 kromosom yang terpanjang yaitu  $85,5 \mu\text{m}$  dan 1 kromosom yang terpendek yaitu  $14,1 \mu\text{m}$ . Dengan peta kromosom ini diharapkan

berguna didalam mempelajari kesamaan dan perbedaan di antara *Vigna unguiculata* maupun dengan spesies liar lainnya. Persilangan antar spesies atau dengan spesies liarnya dilakukan jika ingin mentransfer satu atau beberapa gen yang mengontrol sifat-sifat tertentu. Persilangan antar spesies atau dengan kerabat liarnya sering sulit dilakukan karena sejumlah masalah terutama inkompatibilitas dan sterilitas (Trustinah, 1998; Blackhurst dan Miller, 1980; Fery, 1985)

Tipe pertumbuhan kacang tunggak umumnya dapat dibedakan menjadi tipe determinit, semideterminit, dan indeterminate dengan sifat pertumbuhan yang tegak, agak tegak ataupun menyebar. Tipe determinit adalah tipe tanaman yang ujung batangnya tidak melilit, pembungaannya singkat, serempak dan pertumbuhannya berhenti setelah tanaman berbunga. Semi indeterminit ditandai dengan ujung batang yang melilit, pertumbuhannya berlangsung terus walaupun tanaman telah berbunga, pembungaannya berangsur-angsur dari pangkal ke bagian pucuk. Untuk tanaman yang semideterminit yaitu tanaman yang pertumbuhannya seperti indeterminit, tetapi jika kondisi lingkungannya tidak memungkinkan seperti pada musim kemarau pertumbuhannya seperti determinit. Tanaman kacang tunggak tergolong tanaman herba semusim. Tipe pertumbuhan kacang panjang umumnya adalah indeterminit dengan pertumbuhan yang merambat dan melilit, sehingga membutuhkan lanjaran dalam sistem budidayanya (Blackhurst dan Miller, 1980; Prabowo, 2007; Trustinah, 1998).

Kacang tunggak memiliki batang yang pendek, tegak dan tidak merambat. Batang kacang tunggak terdiri dari beberapa buku, tiap buku tersebut menghasilkan satu tangkai daun. Batang kacang tunggak terdiri dari beberapa buku, di mana tiap buku menghasilkan satu tangkai daun. Kacang panjang memiliki ruas yang lebih panjang dibandingkan kacang tunggak. Pada batang utama kacang tunggak terdapat beberapa cabang yang biasanya muncul dari buku bagian bawah. Bunga terdapat pada batang utama ataupun pada cabang. Berdasarkan posisi cabang primer terhadap batang utama dapat dibedakan menjadi beberapa tipe yaitu tegak (batang lateralnya tegak), agak tegak atau cabangnya menjalar (procumbent). Tanaman kacang tunggak termasuk tanaman yang toleran terhadap kekeringan dan sangat responsif terhadap pemberian air sehingga pada kondisi tanah yang subur dan ketersediaan air yang cukup, pertumbuhan vegetatifnya menjadi sangat subur yang mengakibatkan hasil bijinya menjadi rendah (Sarutayophat, 2007; Blackhurst dan Miller, 1980; Trustinah, 1998)



5 Sistem perakaran kacang tunggak berupa akar tunggang dengan akar-akar lateral yang berkembang baik. Sistem perakaran kacang tunggak umumnya berkembang lebih luas dan lebih dalam dibandingkan kacang panjang. Perkembangan sistem perakaran yang baik sangat diperlukan karena karakter tersebut merupakan salah satu kriteria yang berhubungan dengan meningkatnya ketahanan terhadap kekeringan. Disamping sistem perakarannya yang berkembang baik, kacang tunggak dikenal pula sebagai tanaman kacang-kacangan yang efisien menggunakan nitrogen dari udara melalui bakteri *Rhizobium*. Kacang ini memiliki bintil akar yang besar berbentuk bulat seperti biji kacang kapri (Prabowo, 2007; Anyia dan Herzog, 2004; Blackhurst dan Miller, 1980; Trustinah, 1998).

Daun kacang tunggak terdiri atas tiga helaian daun (trifoliolate) yang letaknya berseling. Daunnya berwarna hijau, berbentuk oval (ovate) ataupun lanset (lanceolate) dengan panjang daun berkisar antara 6,5 – 16 cm dan lebar daun 4-10 cm dengan panjang tangkai daun (petiole) antara 5-15 cm. Bentuk daun ditentukan berdasarkan perbandingan panjang dan lebar daun, yakni jika perbandingan panjang dan lebar daun berkisar 1,5-2 : 1, daun tersebut termasuk bentuk oval dan bila perbandingannya 3-5 : 1 digolongkan berbentuk lanset. Bentuk daun lanset pada kacang tunggak adalah dominan terhadap bentuk daun oval yang pewarisannya dikendalikan oleh gen dominan tunggal (Sarutayophat, 2007; Blackhurst dan Miller, 1980; Trustinah, 1998).



Gambar 3. Tanaman dan Biji Kacang Tunggak

5 Buah kacang tunggak berbentuk polong yang pada saat masih muda umumnya berwarna hijau muda atau hijau kelam dan setelah tua

berwarna kuning, krem, coklat muda dan coklat, keunguan dan hitam. Ukuran polong untuk kacang tunggak yaitu panjang sekitar 10 cm dan diameter sekitar 0,8 cm yang berisi 8 hingga 20 tergantung varietasnya. Ukuran polong kacang panjang yaitu umumnya sekitar 40-80cm tergantung varietasnya, ada yang kurang ada juga yang lebih dari itu. Di samping beragam warna dan ukurannya, polong kacang tunggak dan kacang panjang dapat dibedakan berdasarkan kekerasannya, yakni kacang tunggak memiliki polong keras seperti kacang hijau, sedangkan kacang panjang polongnya lunak dan renyah terutama kalau masih muda, tetapi kalau sudah tua agak liat. Sudut antar polong kacang tunggak bervariasi dari yang sempit hingga yang lebar. Karakteristik polong yang demikian berhubungan dengan ketahanan terhadap hama, terutama tanaman-tanaman dengan polong yang keras dan sudut antar polong yang lebar lebih tahan terhadap hama penggerek polong. Letak polong kacang tunggak juga bervariasi, ada yang tangkai polongnya tidak panjang sehingga polong-polong yang terbentuk terletak di dalam tanaman dan ada pula yang tangkai polongnya panjang sehingga polong terlihat di atas tanaman dengan posisi polong yang berdiri atau menghadap ke atas ataupun menghadap ke bawah, sedangkan kacang panjang posisi polongnya menghadap ke bawah (Sarutayophat, 2007; Blackhurst dan Miller, 1980; Trustinah, 1998).

Biji kacang tunggak bervariasi dalam warna, ukuran, bentuk maupun beratnya. Warna biji adalah sangat beragam mulai dari putih cerah, putih kusam, coklat kekuningan, krem, coklat muda, coklat, coklat tua, burik dengan berbagai macam kombinasi, keunguan dan hitam. Panjang biji umumnya berkisar antar 2 hingga 12 mm. Bentuk biji juga beragam mulai dari agak bulat, oval, pipih, agak lonjong dan lonjong. Berat biji yang biasanya ditunjukkan oleh berat 100 biji yaitu umumnya berkisar 10 hingga 25 g. (Blackhurst dan Miller, 1980; Abbo, *et al.*, 2000; Trustinah, 1998).

#### 2.4. Karakteristik Kacang Panjang

Karakteristik kacang panjang hampir sama dengan karakteristik kacang tunggak, kecuali karakteristik polong struktur batangnya. Kacang panjang memiliki polong yang panjang dan lunak, sedangkan kacang tunggak memiliki polong yang pendek dan kaku. Kacang panjang merupakan tanaman dengan batang panjang dan membelit. Kacang tunggak umumnya memiliki batang yang keras dan tegak



sehingga dalam system budidayanya tidak membutuhkan lanjaran atau anjir. Bunga kacang panjang mulai tampak pada umur 4-6 minggu setelah kecambah muncul (Suryanegara, 2010). Bunga kacang panjang terbentuk kupu-kupu. Tangkai bunga keluar dari ketiak daun. Setiap ketiak bunga majemuk mempunyai 3-5 bunga. Tidak setiap bunga dapat menjadi buah, hanya 1-4 bunga yang dapat menjadi buah. Warna bunga ada yang putih, biru atau ungu. Bunga kacang panjang menyerbuk sendiri.

Bunga tanaman kacang panjang termasuk jenis bunga sempurna, yaitu dalam satu bunga terdapat bunga jantan (serbuk sari) dan bunga betina (putik). Penyerbukan pada bunga kacang panjang terjadi secara kleistogami artinya penyerbukan terjadi sebelum mekarnya bunga. Oleh karena itu kemungkinan terjadinya persilangan alami sangat kecil. Bunga kacang panjang berbentuk kupu-kupu. Warna mahkota bunga bervariasi dari putih, kuning, biru dan ungu. Bunga keluar dari ketiak daun. Sebelum mekar bunga berwarna hijau atau kehijauan, sedikit demi sedikit warnanya memudar sejalan dengan penuaan umur bunga dan menjelang mekar berwarna kuning atau putih kekuningan. Bunga tumbuh menyebar sepanjang ibu tulang bunga. panjang bunga antara 2-2,5 cm, tumbuh pada tiap-tiap ketiak tangkai daun. Pada tanaman kacang panjang, dalam setangkai terdapat 3-5 bunga. hanya 2-4 bunga yang berkembang menjadi buah pada tiap tangkainya. Tanaman kacang panjang memiliki bunga sempurna, bunga mekar setelah terjadi pembuahan. Bunga kacang panjang termasuk jenis kleistogami sehingga untuk melakukan persilangan perlu dilakukan emaskulasi yaitu pengebirian atau pembuangan bunga jantan (serbuk sari) pada induk betina. emaskulasi dilakukan pada sore hari sekitar jam 15.30, hingga jam 18.00. Pada saat emaskulasi ini pembuangan serbuk sari harus dilakuan dengan bersih sehingga tidak ada serbuk sari yang masih menempel pada bunga (Syukur *et al.* 2012).

Bunga kacang panjang tidak tumbuh dan mekar secara serentak. Ragam waktu mekarnya bunga kacang panjang adalah sebagai berikut:

1. Daun bunga yang terletak paling bawah dan bersebelahan terkadang mekar hampir bersamaan (mekar bergantian dengan selang waktu yang relative singkat ).
2. Bunga berikutnya muncul dan mekar setelah satu atau dua polong mencapai panjang 5-10 cm atau bahkan lebih. Beberapa diantaranya dapat menjadi buah, namun pertumbuhannya tidak sekuat buah yang pertama kali muncul.

Bunga kacang panjang mekar pada pagi hari selama sekitar tiga jam, mulai pukul 06.00 dan menutup kembali sekitar pukul 09.00. Jika mekar kacang panjang sering didatangi oleh kumbang dan kupu-kupu. Kedua serangga tersebut membantu terjadinya proses penyerbukan. Bunga mekar dan menutup selama lima hari, selanjutnya kelopak bunga gugur kemudian layu dan mengering, ada yang gugur dan ada yang tetap melekat pada ujung buah muda hingga buah menjadi tua. Bunga-bunga yang muncul awal biasanya dapat berlanjut menjadi buah, namun ada juga di antaranya yang gagal. Dengan keragaman mekanisme mekarnya bunga tersebut, pada tangkai buah terdapat beragam buah. Ada tangkai yang tidak mendukung buah, ada yang dengan 1 buah, 2 buah, kadang-kadang 3 buah, dan relative jarang yang memiliki 4 buah ( Pitojo. 2006 ).

Kacang panjang juga memiliki batang yang liat dan sedikit berbulu. Daunnya majemuk tersusun atas tiga helai. Buah kacang panjang berbentuk polong, bulat, dan ramping dengan ukuran panjang sekitar 10 cm sampai 80 cm. polong muda berwarna hijau sampai keputih-putihan, sedangkan polong yang telah tua berwarna kekuning-kuningan. Setiap polong berisi 8 biji sampai 20 biji. Polongnya berwarna hijau saat masih muda, dan menjadi agak putih setelah tua dengan panjang 40 cm. Polong yang bisa dimakan terbentuk sekitar 2 minggu setelah antesis (Samadi, 2003; Suryanegara, 2010). Polong kacang panjang tampak agak pipih dan pada waktu biji matang polong cenderung menjadi bulat. Polong yang muda sifatnya renyah dan mudah patah, setelah tua polong menjadi liat. Biji berbentuk bulat panjang, agak pipih, dan kadang agak melengkung (Suryanegara, 2010). Akar kacang panjang mempunyai bintil yang dapat mengikat nitrogen (N) bebas dari udara kacang panjang merupakan tanaman setahun yang memiliki akar tunggang yang kuat dengan banyak akar lateral.



Gambar 4. Tanaman dan Biji Kacang Panjang

## **BAB III.**

### **PLASMA NUTFAH DAN KERAGAMAN GENETIK**

---

#### **3.1. Keragaman Genetik**

Sebelum melaksanakan kegiatan hibridisasi atau seleksi perlu dikaji dahulu tentang keragaman genetik plasma nutfah karena tanpa keragaman genetik ini tujuan hibridisasi atau seleksi dalam program pemuliaan tanaman sulit tercapai. Plasma nutfah kacang-kacangan di Indonesia mempunyai keragaman yang tinggi baik sifat kualitatif maupun kuantitatifnya. Keragaman sifat kualitatif yang menonjol yaitu warna biji, warna polong, bentuk polong, bentuk dan besarnya biji. Demikian juga sifat kuantitatif sangat beragam terutama umur panen, tinggi tanaman, jumlah jabang produktif, banyaknya polong per tanaman, dan banyaknya biji per polong dan ketahanan terhadap kekeringan.

Menurut Fasoula dan Fasoula (2002), dalam setiap kegiatan pemuliaan yang penting adalah adanya keragaman terutama keragaman yang menurun yaitu keragaman yang bersumber pada keragaman genetik. Keragaman genetik merupakan perbedaan-perbedaan sifat tertentu yang terdapat pada suatu tanaman dalam suatu spesies. Secara

genetik, perbedaan ini disebabkan oleh adanya perbedaan dalam peran gen serta kemungkinan interaksinya (Fery, 1985). Oleh karena itu tidak akan sama tanggapan genetik antara tanaman terhadap lingkungan sehingga terdapat perbedaan penampilan. Perbedaan-perbedaan penampilan tersebut akan lebih besar apabila varietas tanaman berbeda, daerah penanaman berbeda dan besarnya perubahan perbedaan penampilan ini tidak sama antara satu tanaman dengan tanaman lainnya (Adam, 2003). Hal ini tampak jelas pada varietas-varietas lokal kacang tunggak yang banyak mempunyai keragaman baik keragaman sifat kualitatif maupun sifat kuantitatif.

Keragaman sifat kualitatif kacang-kacangan umumnya dapat dengan mudah dibedakan dalam kelas-kelas tertentu. Perbedaan-perbedaan tadi dapat berhubungan dengan warna, bentuk, tekstur dan ada tidaknya sifat-sifat tertentu. Keragaman sifat kualitatif biasanya dikendalikan oleh gen mayor atau gen sederhana dan sedikit dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Sedangkan keragaman sifat kuantitatif umumnya dikendalikan oleh gen ganda dan mudah dipengaruhi oleh lingkungan. Keragaman kuantitatif bersifat kontinyu dan tidak mudah membedakan dalam kelas-kelas. Banyak sifat-sifat yang memiliki nilai ekonomis penting yang secara alami adalah sifat kuantitatif, misalnya daya hasil. Varietas lokal umumnya kaya akan keragaman baik keragaman sifat kualitatif maupun kuantitatif (Hall *et al.*, 2003).

### **3.2. Eksplorasi Plasma Nutfah**

Sebelum eksplorasi plasma nutfah dimulai, terlebih dahulu mengumpulkan sebanyak-banyaknya informasi yang terkait dengan plasma nutfah kacang-kacangan baik tentang ciri-ciri maupun keberadaan melalui pustaka, Dinas Pertanian Tanaman Pangan, maupun Kelompok Tani. Eksplorasi dan koleksi plasma nutfah kacang-kacangan ini mencakup enam kabupaten yaitu Kabupaten Lombok Barat, Kabupaten Lombok Tengah, Kabupaten Lombok Timur, Kabupaten Sumbawa, Kabupaten Dompu, Kabupaten Bima, dan Kota Mataram. Plasma nutfah yang berhasil dieksplorasi yaitu varietas liar, varietas lokal, dan varietas unggul yang sudah lama ditanam oleh petani, sehingga sudah banyak mengalami perubahan dari varietas aslinya. Menurut Mahalakshmi *et al.* (2007), di dalam kegiatan eksplorasi perlu adanya pendataan tentang morfologi tanaman dan kondisi lingkungan tumbuhnya baik lingkungan biotik maupun

lingkungan abiotiknya dilakukan untuk memudahkan dalam proses koleksi dan evaluasi, dan dokumentasinya.

Hasil eksplorasi plasma nutfah kacang-kacangan tersebut selanjutnya dikoleksi dan disimpan di ruang simpan benih Fakultas Pertanian Universitas Mataram. Plasma nutfah kacang-kacangan yang bisa dikoleksi, masing-masing aksesori memiliki karakteristik dan keragaman baik sifat kualitatif maupun kuantitatif. Kebanyakan jenis kacang-kacangan yang ditemukan berada di daerah yang kondisinya kering. Tidak semua varietas dilakukan evaluasi terutama karena sifatnya tidak berbeda jauh dengan varietas lokal yang lain, sehingga hanya varietas lokal yang menunjukkan keragaman sifat yang dilakukan evaluasi.

Dari hasil eksplorasi, koleksi dan evaluasi plasma nutfah kacang-kacangan di Pulau Lombok didapatkan bahwa kacang tunggak mempunyai keragaman yang lebih tinggi dibandingkan jenis kacang-kacangan lainnya. Kacang tunggak varietas lokal Lombok mempunyai banyak keragaman baik keragaman sifat kualitatif maupun kuantitatif, sehingga mempunyai prospek yang baik untuk kajian genetik dan mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi varietas unggul baru melalui program pemuliaan tanaman. Keragaman yang sangat berbeda nyata antara varietas lokal yang satu dengan varietas lokal yang lainnya yaitu umur berbunga dan umur panen, jumlah polong per tanaman, berat dan ukuran biji, ukuran polong, jumlah biji per polong, warna biji, dan ketahanan terhadap kekeringan. Oleh karena itu, kacang tunggak varietas lokal Lombok mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan menjadi varietas unggul baru yang umurnya genjah, hasilnya tinggi, dan tahan terhadap kondisi kekeringan.

Menurut Blackhurt dan Miller (1980), keunggulan-keunggulan sifat antara varietas lokal yang satu dengan yang lainnya dapat digabungkan melalui hibridisasi. Untuk mendapatkan penggabungan sifat-sifat unggul tersebut telah dilakukan hibridisasi sistem dialel lengkap yaitu dengan cara saling silang antar tetua terpilih yang memungkinkan. Sistem persilangan ini dipilih agar semua tetua terpilih memiliki peluang yang sama untuk disilangkan dengan tetua terpilih lainnya. Tetua dipilih atas dasar keunggulan sifatnya. Dengan sistem persilangan ini dapat dianalisis daya gabung umum dan khususnya, ragam genetik dan heritabilitas, dan ada tidaknya pengaruh tetua betina. Dari tipe-tipe persilangan terpilih dilakukan persilangan lanjutan dengan silang balik untuk mengetahui pola pewarisan sifat dan kajian



genetik lainnya yang akhirnya digunakan untuk menentukan metode pemuliaan yang sesuai. Pada kesempatan ini akan kami uraian tentang hal-hal yang terkait dengan hibridisasi kacang tunggak mulai dari tujuan dan sasaran hibridisasi, keragaman genetik, biologi kacang tunggak, pemilihan tetua, pelaksanaan hibridisasi yang terdiri dari emaskulasi dan polinasi serta upaya-upaya memanfaatkan hasil hibridisasi.

### **3.3. Evaluasi Keunggulan Potensi Plasma Nutfah**

Hasil dari evaluasi 15 varietas lokal kacang tunggak dari 21 kultivar lokal yang dapat dikoleksi dapat disimpulkan bahwa: 1). Terdapat keragaman sifat kualitatif dan kuantitatif antar varietas lokal yang dievaluasi, sehingga terdapat peluang yang besar untuk diperbaiki melalui program pemuliaan tanaman, 2). Kacang tunggak varietas lokal Pamenang (KT-LB2) mempunyai jumlah biji per polong yang lebih banyak dibandingkan varietas lokal lainnya, tetapi mempunyai luas anak daun yang lebih sedikit dibandingkan varietas lainnya. Varietas lokal Narmada (KT-LB1) mempunyai umur yang lebih genjah (52 – 56 hari) dibandingkan varietas lokal lainnya, Varietas lokal Praya (KT-LB3) jumlah biji per polongnya banyak, dan varietas lokal Gerung (KT-LB4) memiliki biji besar dan berat biji yang tinggi.

Untuk evaluasi ketahanan kacang tunggak terhadap kekeringan dan kegeraman dilakukan di pot dalam rumah kaca. Media tanam yang digunakan adalah tanah regosol yang berada disekitar Fakultas Pertanian UNRAM. Tanah tersebut dijemur, kemudian dihaluskan, di ayak terlebih dahulu dengan ayakan berdiameter 2 mm. Setelah itu dicampur secara merata dan dimasukkan dalam pot. Setiap pot diisi dengan 7 kg tanah. Tanah yang digunakan adalah campuran antara kompos, tanah dan pasir dengan perbandinagn 1:1:1. Tiap pot ditanami 2 biji dan setelah 2 minggu disisakan satu tanaman yang baik. Pemeliharaan dilakukan seperti anjuran. Kelembaban tanah pada saat penanaman hingga panen dipertahankan seperti kelembaban awal dengan menambah air pertama kali sebanyak 50 % air tersedia.

Untuk menentukan tingkat salinitas dipergunakan “electrical conductivity meter”. Tiap pot ditanam 2 benih kacang tanah dengan jarak antar tanaman 3 cm dan dengan kedalaman 3 cm. Selama percobaan berlangsung tingkat salinitas tetap dipertahankan dengan jalan mengecek setiap tiga hari sekali sampai umur 21 hst. Bilamana konsentrasinya kurang dari perlakuan yang telah ditetapkan, maka

dilakukan penambahan larutan garam NaCl sampai mencapai tingkat salinitas yang telah ditentukan. Untuk pengairan selanjutnya setelah tanaman berumur 21 hst, penyiraman hanya dilakukan dengan menggunakan aquades sesuai kapasitas lapang. Dari hasil evaluasi dapat disimpulkan bahwa varietas lokal Pamenang-2 (KT-LB2) dan varietas lokal Gerung (KT-LB4) mempunyai ketahanan terhadap kekeringan dibandingkan varietas lokal lainnya. Semua varietas lokal yang diuji mempunyai ketahanan terhadap kegaramanya yang tidak berbeda nyata.

## **BAB IV.**

### **HIBRIDISASI DAN KOMBINASI GEN**

---

Hibridisasi merupakan teknik menggabungkan atau mengkombinasikan beberapa karakter melalui persilangan dua tetua atau lebih yang memiliki karakter berbeda untuk menghasilkan hibrida. Perubahan karakter pada hibrida diakibatkan oleh adanya tranfer gen dari tetua jantan kepada tetua betina. Pada tanaman menyerbuk sendiri seperti tanaman kacang-kacangan, hibridisasi dikatakan berhasil jika pada hibrida terdapat perbedaan karakter dengan tetua betinanya. Apabila karakter hibrida sama dengan tetua betina dikatakan tidak berhasil karena kemungkinan telah terjadi persilangan sendiri (selfing). Tujuan utama hibridisasi pada tanaman kacang-kacangan atau tanaman menyerbuk sendiri lainnya adalah untuk memindahkan gen-gen yang mengendalikan karakter-karakter unggul pada tetua jantan pada keturunan hasil hibridisasi.

Hibridisasi telah lama digunakan oleh Pemuulia tanaman dengan sangat intensif untuk mendapatkan tipe yang lebih baik atau tipe baru melalui persilangan antara varietas atau spesies yang berbeda. Keturunan hibridisasi yang terencana antara tetua terpilih merupakan metode yang dominan dalam program pemuliaan tanaman. Dalam hibridisasi tanaman menyerbuk sendiri pemulia tanaman sangat



memperhatikan tentang: 1). keterbatasan dan susunan segregasi alamiah pada F2 atau generasi segregasi pertama, 2). kemajuan populasi hibrid ke arah homosigotas lengkap; 3). sifat alamiah kombinasi gen yang berhasil.

Gen-gen yang mengendalikan karakter pada tanaman kacang-kacangan merupakan unit kromosom. Oleh karena itu hibridisasi juga merupakan teknik untuk merekombinasi kromosom. Terdapat tiga faktor yang mempengaruhi jumlah rekombinasi gen yang diperoleh melalui hibridisasi yaitu: 1). jumlah gen yang membedakan tetua; 2). keterkaitan gen pada kromosom yang sama; 3). jumlah alel pada setiap gen. Istilah rekombinasi dalam hal ini termasuk rekombinasi gen pada kromosom yang sama ataupun berbeda.

Pada tanaman kacang-kacangan, masalah rekombinasi dan segregasi gen bebas akibat suatu persilangan antara dua tetua tanaman yang berbeda karakternya merupakan hal yang menarik untuk dipahami terutama untuk gen-gen pada banyak lokus. Jumlah gen tersebut akan menentukan jumlah genotip dan fenotip yang diperoleh dari persilangan dengan asumsi tidak ada keterkaitan. Masalah pemulia tanaman adalah menangani jumlah genotip dan fenotip yang sangat banyak yang terjadi pada generasi segregasi walaupun ketika varietas tetua hanya berbeda dalam sedikit gen. Suatu contoh, persilangan dua spesies tanaman kacang-kacangan yang mempunyai 4 gen yang berbeda, maka terbentuk 256 genotipe pada F2 nya. Oleh karena itu untuk pengujian populasi F2 dibutuhkan populasi tanaman yang banyak yaitu minimal 256 tanaman agar semua genotipe yang terbentuk dapat terwakili. Apabila jumlah populasinya kecil maka akan banyak genotipe yang tidak terwakili, sehingga terjadi penghanyutan genetik (genetic drift). Dari 256 genotipe yang terbentuk, semua merepresentasikan genotipe baru yang potensial kecuali dua tetua. Jumlah ini memberikan ide yang realistis pada penanganan populasi pada F2 dan menggambarkan pentingnya teknik yang efisien dalam penyaringan populasi-populasi ini.

#### 4.1. Pemilihan Tetua

Menurut Aremu *et al.* (2007), pemilihan tetua untuk disilangkan merupakan suatu hal yang sangat penting bagi pemuliaan tanaman. Kesalahan dalam memilih tetua bisa mengakibatkan kegagalan dalam program pemuliaan tanaman. Keputusan untuk memilih tetua dipengaruhi oleh tujuan pemuliaan jangka pendek, tujuan jangka

panjang dan metode pemuliaan yang diinginkan. Informasi dan pengetahuan tentang sumber plasma nutfah yang akan dijadikan tetua adalah sangat penting. Informasi dan pengetahuan ini dapat diperoleh oleh pemulia tanaman melalui evaluasi plasma nutfah yang ada atau melalui data-data yang tersedia. Evaluasi plasma nutfah ditujukan untuk mengetahui keunggulan sifat-sifat agronomi dan ketahanan dari tetua yang potensial pada agroklimat yang akan digunakan. Berdasarkan hasil evaluasi plasma nutfah dilakukan penyaringan dan pengelompokan sesuai dengan tujuan program pemuliaannya. Tetua yang akan digunakan untuk hibridisasi harus mengandung keunggulan sifat yang diinginkan.

Hibridisasi tanaman kacang-kacangan dilakukan terhadap kultivar yang mempunyai satu atau lebih sifat yang diharapkan. Tetua yang baik adalah tetua yang sejenis tetapi berkerabat jauh serta mempunyai daya gabung umum yang tinggi. Kemampuan daya gabung umum sangat diperlukan dalam proses hibridisasi karena umumnya persilangan antara tetua yang memiliki daya gabung umum tinggi dapat menghasilkan keturunan yang memiliki daya gabung khusus yang tinggi. Tetua-tetua yang disilangkan adalah tetua-tetua yang memiliki sifat potensi produksinya tinggi, umur genjah, tahan terhadap hama/penyakit, atau tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Kacang-kacangan varietas lokal umumnya memiliki kelebihan yaitu toleran terhadap lingkungan biotik dan abiotik setempat. Varietas lokal ini sering digunakan sebagai tetua jantan agar dapat ditransfer gen yang mengendalikan ketahanan kepada keturunannya. Kacang tunggak lokal lombok yang toleran terhadap kekeringan disilangkan dengan kacang panjang dalam rangka memperbaiki karakteristik polongnya. Hasil persilangan ini merupakan bahan dasar perakitan kacang sayur hibrida yang produksinya tinggi, toleran kekeringan, polongnya ungu dan lunak.

Perakitan varietas unggul baru biasanya ditujukan untuk menggantikan varietas yang sudah ada karena memiliki kelemahan sifat tertentu, sebagai konsekuensinya adalah memilih varietas tersebut sebagai salah satu tetua. Pemulia memilih tetua yang lain dengan memperhatikan sifat yang akan diperbaiki atau komplemen sifatnya. Ketika terdapat beberapa pilihan, varietas yang menunjukkan karakter yang diinginkan pemulia akan digunakan sebagai tetua. Jadi pemilihan tetua harus sejalan dengan tujuan dari program pemuliaan. Kadang-kadang tetua ketiga dan keempat diperlukan untuk mencukupi sifat

yang diinginkan. Ini merupakan usaha untuk meningkatkan keragaman genetik, yang tentunya pengelolaan generasi segregasi menjadi lebih rumit atau sulit.

#### 4.2. Pelaksanaan Hibridisasi

Hibridisasi pada tanaman kacang-kacangan pada dasarnya tidak berbeda jauh dengan tanaman menyerbuk sendiri pada umumnya. Kegiatan hibridisasi pada tanaman kacang-kacangan terdiri atas dua tahap yaitu emaskulasi dan polinasi. Setiap varietas lokal ditanam dalam waktu yang tidak bersamaan agar didapatkan periode pembungaan yang sama, varietas yang waktu berbunganya panjang ditanam lebih awal dari yang berbunganya lebih pendek. Penanaman juga dilakukan secara periodik, disamping untuk sinkronisasi pembungaan juga agar proses hibridisasi dapat berlangsung lama untuk menghasilkan hibrida yang banyak.



Gambar 5. Tahapan Proses Hibridisasi

Penanaman dilakukan di pot untuk memudahkan pelaksanaan hibridisasi. Sebelum penanaman, dilakukan persiapan media. Tanah yang digunakan adalah tanah regosol. Tanah dikering-anginkan selama

1 minggu kemudian dilembutkan, selanjutnya dimasukkan dalam pot. Setiap pot diisi dengan tanah sebanyak 9 kg. Setiap pot ditanami dengan dua benih. Pemupukan dilakukan pada awal penanaman dengan dosis 1 g Urea, 2 g SP36, dan 1 g KCl per tanaman yang diberikan secara bersamaan dengan jarak 5 cm dari lubang tanam. Setelah umur 2 minggu dilakukan penjarangan dengan menyisakan 1 tanaman yang sehat per pot. Pemeliharaan meliputi penyiangan setiap minggu, pengairan disesuaikan dengan kebutuhan tanaman, biasanya 4 hari sekali, dan pemberantasan hama dengan menggunakan Mipcin dengan konsentrasi 2 g per liter.

Sebelum melakukan hibridisasi harus dipilih tanaman yang betul-betul sehat, kuncup bunganya sudah dewasa dimana kepala putik sudah siap diserbuki kemudian dilakukan kastrasi untuk menghilangkan tepungsari pada tetua betina. Pada satu tangkai umumnya terdiri dari beberapa kuncup bunga, tetapi sebaiknya hanya dipilih salah satu yang sudah dewasa kemudian kuncup bunga yang lain dibuang. Kegiatan hibridisasi dilakukan setelah tanaman berbunga, yang diawali dengan kegiatan kastrasi kemudian dilanjutkan kegiatan persarian. Kastrasi terdiri dari beberapa kegiatan yaitu:

1. Memilih kuncup bunga yang belum mekar dan diperkirakan akan mekar besok pagi harinya
2. Membuang mahkota bunga dengan pinset yang runcing hingga tampak kepala putiknya.
3. Membuang semua tangkai sari dengan pinset
4. Memeriksa dengan kaca pembesar untuk melihat bahwa semua tangkai sari telah terbuang dan kepala putik tidak rusak
5. Mengisolasi atau menutup bunga yang telah dikastrasi dengan kantung kertas minyak yang telah berlabel
6. Membuang bunga yang tidak dikastrasi pada cabang yang bersangkutan.

Kegiatan persarian juga terdiri dari beberapa kegiatan yaitu:

1. Mengumpulkan kepala sari (anthera) yang telah masak dari tetua jantan pada cawan /petridis dan pecahkan dengan pinset hingga diperoleh tepung sari.
2. Melakukan persarian dengan kuas kecil dengan cara mencelupkan kuas pada cawan, kemudian mengoleskan pada kepala putik bunga yang telah dikastrasi.
3. Mengisolasi atau menutup bunga yang telah diserbuki dengan kantung kertas minyak atau kantung plastik.

4. Memberi label pada bunga yang telah mengalami persarian. Label terutama mengenai tanggal persarian dan asal tertua jantan dan betina.

Sistem persarian atau persilangan yang digunakan adalah Metode Diallel I dari Griffing yaitu saling menyilangkan tetua yang digunakan sehingga diperoleh keturunan pertama (F1) dan resiproknya. Metode ini digunakan untuk menggabungkan perbedaan sifat dari tetuanya, menguji daya gabung umum, daya gabung khusus, menentukan ada tidaknya pengaruh tetua betina (maternal effects), dan menentukan ada tidaknya heterosis (vigor hibrid). Kegiatan persarian dilakukan pada pagi hari antara jam 06.00 – 08.00 Wita. Benih yang diperoleh dari hibridisasi ini disebut benih F1.

Untuk keperluan analisis genetik ataupun untuk perbaikan sifat yang dikendalikan oleh gen sederhana, persilangan sering dilanjutkan dengan melakukan silang balik (backcross). Silang balik umumnya dilakukan persilangan antara keturunan hasil persilangan (F1) dengan tetua betinanya. Untuk keperluan analisis genetik juga sering dilakukan silang balik antara F1 dengan tetua jantannya..

#### **4.3. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Hibridisasi**

Menurut Hadley dan Openshaw (1980) banyak faktor lingkungan yang mempengaruhi tingkat keberhasilan hibridisasi yaitu panjang hari, juga mengacu pada fotoperiode dan temperatur,

##### **4.3.1. Respon tanaman terhadap lingkungan**

Tanaman budidaya berbeda secara luas dalam responnya terhadap faktor lingkungan. Mereka berbeda antar spesies, antar kultivar dalam spesies, and antar fase perkembangan tanaman dalam kultivar. Respon mencerminkan perbedaan-perbedaan dalam daerah adaptasi dan dalam mekanisme biologi yang terlibat untuk mengatasi perubahan lingkungan.

Faktor lingkungan utama yang mempengaruhi pembungaan adalah panjang hari, juga mengacu pada fotoperiode dan temperatur. Spesies biasanya diklasifikasikan sebagai tipe hari pendek dan hari panjang. Tanaman hari pendek berbunga ketika panjang hari adalah kurang dari panjang kritisnya dan tanaman hari panjang berbunga ketika panjang hari adalah lebih lama dari panjang kritisnya. Beberapa spesies diklasifikasikan tanaman hari netral, tetapi itu tidak mungkin bahwa semua kultivar dari suatu spesies tidak terpengaruh secara



sempurna oleh panjang hari. Jagung disebut spesies hari netral tetapi respon hari pendek telah ditemukan walaupun pada jagung hibrida genjah.

Temperatur mempengaruhi rata-rata perkembangan dan jumlah bunga yang menghasilkan biji-biji masak. Tanaman-tanaman musim dingin seperti oat dan baeley menghasilkan biji minimum pada suhu 25<sup>0</sup>C, sementara tanaman tropis seperti kacang-kacangan mempunyai produksi maksimum di atas 30<sup>0</sup>C.

Keragaman genetik dalam respon terhadap panjang hari dan temperatur telah mengijinkan banyak spesies untuk beradaptasi terhadap rentang yang luas dari garis lintang dan garis bujur. Kedelai, spesies hari pendek, ditumbuhkan dari daerah tropis sampai 50<sup>0</sup> Utara. Kultivar kedelai yang diadaptasikan ke daerah tropis tidak akan berbunga pada panjang hari 14 jam, sedangkan kultivar yang ditumbuhkan pada garis lintang yang lebih tinggi akan berbunga di bawah penyinaran yang terus menerus. Genotip dari garis lintang yang tinggi cenderung tumbuh baik pada temperatur dingin.

Tanaman juga dipengaruhi oleh lingkungan pada berbagai fase pertumbuhan tanaman. Sebagai contoh, panjang hari mungkin mempengaruhi awal pembungaan pada tanaman, tetapi tidak pada fase setelah pembungaan. Beberapa kultivar kedelai berbunga dengan cepat di bawah penyinaran yang terus menerus pada 14 jam penyinaran tetapi pemasakan biji ditunda oleh penyinaran yang terus menerus. Jumlah hari dari panjang hari yang benar yang diperlukan untuk mendorong pembungaan pada beberapa spesies menurun karena tanaman makin tua.

#### **4.3.2. Fase perkembangan tanaman**

Perkecambahan biji merupakan mulainya siklus kehidupan tanaman budidaya. Temperatur dan kelembaban yang cukup merupakan persyaratan yang universal untuk perkecambahan, walaupun banyak spesies juga menunjukkan beberapa bentuk dormansi yang harus diatasi. Dormansi dapat diasosiasikan dengan kulit biji yang keras, sensitivitas panjang hari, keperluan untuk proses setelah pemasakan, atau keperluan untuk melindungi temperatur rendah.

Fase juvenil meliputi periode dari perkecambahan sampai pembentukan tunas bunga. Rata-rata bunga terbentuk merupakan fungsi dari temperatur, tetapi waktu dari munculnya awal bunga dipengaruhi oleh panjang hari. Ukuran tanaman dewasa sering ditentukan oleh masa fase juvenil karena tanaman yang berbunga terlambat mempunyai

bunga yang lebih banyak, karena tanaman tersebut memiliki buku lebih banyak, dan lebih tinggi dibanding yang berbunga lebih awal. Rata-rata perkembangan juga dipengaruhi oleh kelembaban tanah, tipe tanah, dan kesuburan.

Pembentukan tunas bunga memulai fase reproduktif. Untuk menentukan spesies dan kultivar, pembentukan daun-daun baru berhenti ketika pembungaan mulai, walaupun daun dan batang mungkin terus membesar. Jagung, tanaman determinit tidak membentuk daun baru setelah bunga jantan terbentuk. Untuk tanaman indetermit, daun baru terbentuk setelah bunga terakhir terbentuk. Kacang hijau dan kacang tunggak merupakan kultivar determinit, sedangkan kacang panjang dan kacang beras cenderung termasuk tanaman semideterminit atau bahkan indetermit.

Fase reproduktif berakhir dari pembentukan bunga sampai pembuahan bunga. Panjang dari fase ini ditentukan oleh panjang hari pada beberapa spesies. Sebagai contoh, primordia reproduktif padi dapat berubah ke primordia vegetatif jika fotoinduksi tanaman tidak sempurna; pemunculan penikel dapat ditunda atau dicegah jika panjang hari adalah terlalu panjang setelah pembentukan bunga atau waktu dari pembentukan bunga sampai antesis untuk sorgum dan kedelai dapat ditunda dengan panjang hari yang lama.

Waktu dari pembuahan bunga sampai pemasakan biji disebut fase pemasakan. Ini dapat dibagi menjadi 3 periode, sesuai rata-rata akumulasi berat kering dalam biji yaitu periode lambat, periode linier, dan periode ketika rata-rata level off sebelum masak. Periode lambat dapat 1 minggu pada gandum atau 20 hari pada kedelai. Lamanya juga dipengaruhi oleh panjang hari dan temperatur. Hari pendek dan temperatur hangat memperpendek periode lambat pada kedelai, spesies hari pendek.

Pengisian biji yang cepat terjadi selama periode linier, rata-rata dan lamanya dipengaruhi oleh panjang hari dan temperatur. Temperatur yang tinggi memperpendek lama pengisian biji dan meningkatkan rata-rata pengisian biji pada sorgum, padi, dan gandum. Pada tanaman hari pendek, pengaruh penundaan temperatur dingin pada musim gugur mungkin mengganti kerugian dengan memperpendek panjang hari.

#### 4.3.3. Panjang hari

Setelah tanaman melengkapi fase vegetatif dasar (BVP), pembentukan bunga seringkali tergantung pada panjang hari. Fotoperiod kritis didefinisikan sebagai panjang hari maksimum yang mana tanaman hari pendek akan berbunga dan panjang hari minimum yang mana tanaman hari panjang akan berbunga. Fotoperiode optimum adalah panjang hari yang mana tanaman akan berbunga dalam waktu paling pendek setelah BVP dilengkapi.

Pengetahuan fotoperiode kritis adalah hal yang penting ketika panjang hari digunakan untuk menunda pembungaan kultivar. Fotoperiode kritis kedelai Biloxi, tanaman hari pendek, adalah 13,5 jam. Pemulia dapat menggunakan 14 jam untuk mencegah pembungaan dari kultivar ini sampai tetua yang lain tersedia untuk hibridisasi.

Periode kritis dapat berbeda antar kultivar suatu spesies dan seringkali dihubungkan dengan keleluasaan (garis lintang) adaptasi. Kultivar dari garis lintang rendah mempunyai periode kritis yang lebih pendek dari pada garis lintang tinggi. Kultivar kedelai yang beradaptasi ke Amerika bagian selatan mempunyai periode kritis 13,5 jam; yang beradaptasi di Minnesota bagian utara dan Kanada bagian selatan tidak mempunyai periode kritis. Periode kritis sorgum yang diadaptasikan ke Amerika adalah lebih lama dari pada di tropis.

Pengetahuan fotoperiode optimum untuk spesies adalah berguna untuk memperoleh pembungaan dan perkembangan biji dalam waktu terpendek. Fotoperiode optimum tidak diketahui untuk sebagian besar spesies tanaman; bagaimanapun juga; pemulia umumnya menggunakan sekitar 12 jam sehari untuk memperoleh pembungaan yang cepat dari spesies hari pendek dan 20 – 24 jam untuk tipe hari panjang. Pengurangan dalam jumlah hari untuk pembungaan kemungkinan linier untuk tiap jam perubahan dalam panjang hari dari periode kritis ke optimum. Kurve respon panjang hari adalah berguna dalam menduga kapan pembentukan bunga akan terjadi pada berbagai panjang hari.

Fotoperiode optimum untuk pembungaan cepat mungkin tidak optimal mungkin tidak optimal untuk mendapatkan bunga-bunga yang diharapkan untuk hibridisasi karena pada fotoperiode optimum terdapat bunga-bunga yang lebih sedikit, yang mempunyai polen lebih sedikit, dan yang mungkin lebih kleistogam dari pada panjang hari lebih dekat ke fotoperiode kritis. Penyinaran buatan dapat digunakan untuk memperpanjang panjang hari tanaman hari pendek untuk mendapatkan bunga yang cocok untuk hibridisasi terutama yang waktu



pembungaannya berbeda. Faktor yang perlu diperhatikan dalam mengkreasi panjang hari buatan dengan penyinaran adalah waktunya, lamanya, tingkatnya, dan kualitasnya.

Mendung mempengaruhi tingkat penyinaran dan temperatur, pengaruh yang mempertinggi hibridisasi dari beberapa spesies dan menghambat hibridisasi untuk spesies yang lain. Bunga ketela rambat tetap terbuka lebih lama pada saat mendung dari pada saat panas, dan hibridisasi kacang pea lebih berhasil ketika harinya adalah dingin dan terang dari pada ketika panas, kering dan berangin. Tetapi pada kacang lebei kondisi mendung, cuaca lembab dapat menyebabkan keguguran bunga dan polong. Efisiensi penyinaran buatan dapat diasosiasikan dengan kualitas sinar. Sebagai contoh, sinar merah adalah paling sedikit 30 kali lebih efisien untuk mengontrol pembungaan kedelai dari pada sinar biru.

#### **4.3.4. Temperatur**

Temperatur berpengaruh besar pada perkembangan semua spesies, tetapi pengaruh langsungnya pada pembentukan dan perkembangan bunga adalah sangat beragam antar dan dalam spesies. Ketika setiap respon tanaman secara simultan terhadap temperatur dan fotoperiode, tingkat respon pada setiap stimulus adalah juga beragam.

Keperluan vernalisasi untuk pembungaan tanaman musiman atau tahunan secara langsung berhubungan dengan temperatur. Temperatur juga merupakan faktor utama yang menentukan pembentukan bunga pada spesies dengan respon panjang hari yang terbatas. Jagung, sebagai contoh, mempunyai respon terhadap panjang hari untuk hanya 15 sampai 25 hari setelah berkecambah (emergence) pada daerah sedang (temperate), sehingga pengaruh temperatur lebih penting dibandingkan panjang hari. Pembungaan dan pemasakan jagung dapat diprediksi dengan akumulasi catatan temperatur antara 10 – 30<sup>0</sup>C selama musim pertumbuhan.

Terdapat temperatur kritis minimum dan maksimum untuk pembentukan dan perkembangan bunga pada sebagian besar tanaman. Temperatur kritis minimum untuk deferensiasi penikel (malai) padi adalah 15 – 18<sup>0</sup>C, temperatur di bawah 21<sup>0</sup>C atau di atas 32<sup>0</sup>C akan menunda pembentukan bunga dan mengurangi biji kedelai dan temperatur kritis minimum dan maksimum untuk pembentukan dan perkembangan bunga kacang tanah adalah 21 dan 33<sup>0</sup>C.

Temperatur kritis untuk hibridisasi adalah lebih terbatas dari pada untuk pembentukan dan perkembangan bunga. Temperatur dingin meningkatkan kecenderungan untuk berbunga pada tanaman menyerbuk sendiri sebelum mereka cukup besar untuk manipulasi, dan kedinginan mengurangi jumlah tepung sari. Pada sisi lain, temperatur tinggi memperpendek lama reseptif putik, lama dan viability polen. Temperatur 33<sup>0</sup>C menghasilkan viability yang rendah pada polen kacang tanah. Temperatur tanah dalam daerah podding merupakan temperatur kritis untuk perkembangan kacang tanah; temperatur minimum adalah 15-17<sup>0</sup>C dan maksimum 37-39<sup>0</sup>C dan optimum 31-33<sup>0</sup>C.

Respon banyak tanaman terhadap panjang hari dipengaruhi oleh temperatur. Pentingnya temperatur relatif malam dan siang untuk mengubah respon panjang hari tidak sama pada beberapa kajian. Temperatur malam yang dingin menghambat pembungaan padi pada hari pendek. Temperatur malam yang dikendalikan lingkungan adalah lebih penting dari pada temperatur siang untuk merubah fotoperiode kritis kacang tunggak dan kedelai. Temperatur optimum untuk hibridisasi adalah lebih rendah untuk tanaman yang diadaptasikan ke daerah sedang dari pada daerah tropis. Temperatur optimum adalah 19<sup>0</sup>C untuk kentang dan kacang pea yang merupakan tanaman musim dingin. Hibridisasi tanaman lebei berhasil pada suhu sampai 40<sup>0</sup>C.

#### **4.3.5. Kelembaban**

Kelembaban tanah yang cukup adalah sangat penting untuk mendapatkan tanaman yang vigor yang akan mempunyai jumlah minimum keguguran bunga dan biji. Sebagian besar spesies dan kultivar tumbuh baik pada tanah yang drainasenya baik dan kapasitas yang baik untuk menjaga air.

Spesies dan kultivar berbeda dalam kemampuan untuk menjaga kelebihan dan kekurangan kelembaban. Persentase yang tinggi keguguran bunga pada tembakau pada cekaman kekeringan, dan tanaman dapat dirusak atau dimatikan dalam 24 – 48 jam ketika temperatur tinggi dan tanah tergenang. Sebagian besar spesies mengurangi produksi biji ketika stres kelembaban terjadi selama pembungaan dan pengisian biji awal. Hal yang sangat penting adalah pemberian air selama periode kritis untuk hibridisasi. Jika irigasi tidak

tersedia, stres kelembaban dapat dikurangi dengan pengadaaan area lahan yang lebih per tanaman dan mengurangi bunga yang berlebih dari tanaman.

Temperatur tanah dapat mempengaruhi set biji spesies yang buahnya berkembang di bawah tanah. Kandungan kelembaban tanah optimum dalam daerah polong kacang tanah kira-kira 40 % dari total volume tanah di lahan. 80 – 85 % kapasitas tanah merupakan kondisi terbaik penanaman kacang tanah di rumah kaca. Pemasakan dapat dihambat dengan mengurangi ketersediaan air pada akhir musim pertumbuhan. Jika suplai air dikurangi, pemeliharaan harus dilaksanakan dengan baik untuk menjamin bahwa biji diperoleh adalah cukup besar untuk mendapatkan viabilitas yang cukup.

Kelembaban relatif merupakan hal penting pada waktu hibridisasi tanaman menyerbuk sendiri. Terdapat batas atas kelembaban relatif untuk semua tanaman karena perlahan-lahan tepung sari akan layu dan sulit ditangani atau infestasi penyakit terjadi. Ketika kelembaban relatif terlalu tinggi, bunga beberapa spesies dapat dikumpulkan dan dikeringkan. Kelembaban relatif yang terlalu rendah dapat mengakibatkan kegagalan tepung sari untuk berkecambah pada putik. Penutupan putik pada bagian bunga atau menutupi bunga dengan kantong mungkin meningkatkan kelembaban relatif dan memperbaiki persentase pembentukan biji.

#### **4.3.6. Kesuburan Tanah**

Hibridisasi dan pembentukan biji yang berhasil terjadi jika dijaga agar tanaman tetap sehat dan hijau. Uji tanah berguna untuk menentukan jumlah unsur yang akan ditambahkan.

Pemupukan N yang tinggi diharapkan pada beberapa spesies dan kultivar tetapi tidak untuk yang lain. Ketela rambat dan kacang tunggak akan menghasilkan pertumbuhan vegetatif yang berlebih jika kandungan N tanah tinggi. Pertumbuhan vegetatif yang berlebih dapat menyebabkan kerebahan, keguguran bunga, dan penundaan pemasakan. Sebaliknya pemupukan N dua kali normal meningkatkan produksi biji tembakau.

Beberapa spesies mempunyai persyaratan tertentu untuk perkembangan biji. Kacang tanah memerlukan jumlah Ca yang tinggi untuk menghindari banyaknya polong yang kosong atau mengandung biji yang layu.

Pembatasan pada pemupukan dan perkembangan menguntungkan untuk pembungaan beberapa spesies tanaman. Pembatasan pertumbuhan akar ketela rambat dengan menanam di pot dapat meningkatkan pembungaan.

#### **4.4. Faktor-faktor Genetik**

##### **4.4.1. Jumlah alel pada setiap lokus**

Pada persilangan antara dua varietas galur murni atau galur inbrida, setiap lokus akan mempunyai maksimum dua alel yang berbeda, satu dari setiap varietas. Dengan persilangan yang sesuai dari sejumlah varietas galur murni, dan tentunya dalam persilangan tanaman-tanaman yang berbeda dari dua varietas menyerbuk silang, hal itu memungkinkan untuk mempunyai banyak lokus yang direpresentasikan oleh sejumlah alel yang berbeda. Jumlah genotipe meningkat dengan pesat karena lebih banyak lokus direpresentasikan oleh lebih dari dua alel yang berbeda. Sebagai contoh, dengan hanya dua pada setiap dari tiga lokus, 27 genotipe adalah mungkin, tetapi 4 alel yang berbeda pada lokus-lokus ini membuat 1000 genotip berbeda yang mungkin. Untuk keturunan tanaman diploid F1 tunggal, jumlah maksimum alel yang berbeda untuk satu lokus manapun adalah dua. Situasi pada poliploid, dimana lebih dari dua alel mungkin merepresentasikan pada tanaman tunggal akan dipertimbangkan kemudian.

##### **4.4.2. Keterkaitan (Linkage)**

Dalam hubungannya dengan hasil rekombinasi sejumlah besar gen, itu hampir pasti bahwa beberapa gen akan terkait. Pengaruh keterkaitan frekuensi kombinasi gen. Besarnya pengaruh akan tergantung pada tingkat keterkaitan. Keterkaitan tidak mempengaruhi rata-rata homisigositas hasil dari inbreeding. Pengaruh dari keterkaitan digambarkan oleh gen T dan R untuk ketahanan terhadap penyakit tular tanah pada gandum. Gen-gen ini telah ditemukan terkait dengan sekitar 15% pindah silang dan terjadi secara tunggal pada varietas gandum Turki 3005 dan Rio. Gen-gen tersebut terjadi bersama-sama pada Turki 10016. Jika Turki 10016 digunakan sebagai sumber ketahanan pada persilangan dengan varietas rentan (ttr), 81,9 % dari tanaman F2 akan tahan karena kehadiran salah satu atau kedua gen ketahanan. Lebih jauh 22 % nya akan homisigot untuk kedua gen tahan. Jika gen-gen ini bebas (tidak terkait), 93,75 % tanaman akan tahan pada F2 tetapi hanya

60% akan mempunyai kedua gen untuk ketahanan dan hanya 6,25 % akan homosisgot untuk kedua gen. Jika gen tahan berasal dari dua tetua, seperti Turkey 3005 (TTrr) dan Rio (ttRR), rekombinasi akan mengikuti pola yang lain. Kira-kira 99,5 % tanaman F2 akan tahan, dengan hampir setengah mempunyai dua gen tetapi hanya 0,6 % akan homosisgot untuk kedua gen ketahanan.

Pada situasi lain suatu gen yang diharapkan maupun tidak mungkin terkait. Sebagai contoh gen yang mengatur ketahanan thd karat daun pada gandum terkait dengan gen tingkat kemasakan yang lama (umur panjang). Hal ini menyulitkan pemulia untuk mendapatkan varietas yang tahan terhadap penyakit karat dan berumur genjah. Setelah menumbuhkan populasi yang sangat besar, strain yang tahan dengan umur panen yang relatif pendek akhirnya didapatkan. Sekali crossover didapatkan, pemulia tanaman pada posisi yang baik karena kegenjahan dikaitkan dengan ketahanan.

Hal penting untuk dinyatakan ketika dua varietas galur murni disilangkan, jumlah maksimum kombinasi gen berbeda dicapai pada F2; sebenarnya kombinasi terjadi pada tanaman F1 pada waktu pembuahan. Oleh karena itu populasi F2 harus sebesar mungkin, konsisten dengan tujuan dari program dan ketersediaan lahan dan tenaga. Populasi yang besar pada generasi berikutnya akan sedikit pengaruhnya untuk meningkatkan jumlah gen kombinasi gen yang berbeda. Alasannya adalah bahwa sebagian besar tanaman akan menjadi homosisgot, ketika pematangan keterkaitan tidak menghasilkan kombinasi gen baru.

Terdapat beberapa bukti bahwa keterkaitan gen-gen tertentu mungkin disukai pada evolusi. Efektivitas gen atau sejumlah gen nampaknya ditambah dalam kehadiran gen lain. Seleksi alam akan menyukai pergantian dalam struktur kromosom komplemen yang membawa bersama-sama gen-gen yang bergabung dengan berhasil. Jika diasumsikan gen-gen yang bergabung baik pada kromosom yang sama, inversi akan mempengaruhi hubungan spasialnya dan derajat gabungannya. Inversi yang membawa gen-gen tersebut bersama-sama lebih dekat akan disenangi oleh seleksi alam karena mereka akan diwariskan sebagai satu kesatuan, pindah silang akan menjadi jarang diantara mereka. Karena seleksi menyukai perubahan dalam hubungannya dengan keterkaitan pada populasi alamiah, pemulia tanaman mungkin dapat memperoleh keuntungan dengan mengeksplor kemungkinan perubahan dalam susunan gen agar produksi tanaman lebih efisien.



#### **4.4.3. Perbedaan-perbedaan struktur dalam kromosom.**

Jika dua varietas berbeda dalam struktur dari (atau susunan gen pada) kromosom mereka, rekombinasi gen mungkin dipengaruhi. Translokasi resiprokal hasil dari keterkaitan baru gen-gen, tetapi mereka tidak menempatkan hambatan untuk pindah silang kecuali dalam sekitar daerah translokasi pemecahan kromosom yang terikut. Hambatan pindah silang mungkin diperluas dari titik translokasi terhadap sentromer pada spesies dengan ekse segregasi kromosom pada meiosis.

Pada tanaman-tanaman yang heterosigot untuk inversi yang besar, pindah silang pada segmen yang diinversi biasanya hasil dari defisiensi, duplikasi, fragmen (penggalan), atau disentrik kromosom, dan gamet-gamet yang memproses mereka adalah sebegini besar tidak berfungsi. Dengan kata lain, gen-gen dalam inversi diwariskan sebagai satu kesatuan. Pada inversi homosigot, tentu saja, pindah silang akan terjadi dalam bagian yang diinversi, tetapi ketika dua varietas yang berbeda akibat inversi disilangkan, gen-gen dari bagian yang diinversi diwariskan sebagai kelompok.

#### **4.4.4. Frekuensi Gen**

Hal penting untuk diingat bahwa frekuensi gen populasi F1 akan tetap sama dalam generasi-generasi berikutnya dari populasi hibrida, walaupun frekuensi genotipe akan berubah. Frekuensi gen yang stabil akan berubah jika ada seleksi genotip, mutasi, introduksi, atau jika beberapa genotip kurang produktif dibandingkan yang lain. Pemulia tanaman akan mengelola populasi untuk meningkatkan frekuensi gen yang diinginkan sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai.

#### **4.4.5. Homosigositas**

Mendel telah menyadari pengaruh penyerbukan sendiri dan menunjukkan bahwa pengaruhnya pada lokus heterosigot Aa adalah untuk mengurangi heterosigositas dengan 50 % setiap generasi. Keturunan Aa akan menjadi AA : 2Aa : aa, yaitu setengah akan heterosigot. Homosigot AA dan aa tidak akan segregasi pada generasi berikutnya, sedangkan 2Aa akan memberikan 50 % homosigot dan 50 % heterosigot, sehingga pada generasi berikutnya heterosigot akan berkurang setengahnya dan homosigot akan meningkat. Proporsi



homosigositas untuk lokus ini diberikan dengan rumus  $(2^m - 1) / 2^m$ , dimana m merupakan jumlah generasi segregasi, sehingga rumus ini akan memberikan proporsi homosigositas, tidak masalah berapa banyak lokus adalah heterosigot awalnya. Perlu diperhatikan bahwa rumus tersebut mengacu pada lokus, hal itu tidak memberikan jumlah tanaman yang akan menjadi homosigot.

#### 4.4.6. Genotipe yang homosigot

Proporsi tanaman homosigot bagaimanapun merupakan hal yang lebih menarik bagi pemulia karena tipe demikian biasanya melayani sebagai dasar varietas baru. Jumlah genotip homosigot diberikan dengan rumus  $[(2^m - 1) / 2^n]^n$  dimana m jumlah generasi segregasi dan n jumlah lokus segregasi. Jika diasumsikan bahwa 2 lokus adalah heterosigot pada tanaman F3, nilai akan menjadi 9/16; pada F4 = 49/64; dst. Perlu dicatat bahwa untuk satu lokus, terdapat 2 genotip homosigot; untuk 2 lokus terdapat 4 genotip homosigot dan untuk n lokus akan terdapat  $2^n$  genotipe homosigot.

Keterkaitan tidak akan mempengaruhi level heterosigositas yang mengacu pada lokus, tetapi hal ini akan mempengaruhi proporsi genotip homosigot dalam 2 hal: 1). keterkaitan mempunyai pengaruh mengurangi n dalam rumus, dengan 2 gen terkait akan mempunyai seperti jika dua gen terpaut tadi pada satu lokus; 2). genotip homosigot yang berbeda tidak akan hadir dalam proporsi yang sama, sehingga gen-gen terkait akan lebih sering.

Komposisi gen pada berbagai generasi inbrid dapat diperoleh dengan memperluas binomial  $[1 + (2^n - 1)]^n$  dimana n adalah jumlah pasang gen yang terlibat dan m adalah jumlah generasi menyerbuk sendiri.

## **BAB V.**

### **HIBRIDISASI ANTAR SPESIES UNTUK PERBAIKAN SIFAT TANAMAN**

---

#### **5.1. Pendahuluan**

Hibridisasi antar spesies memainkan peranan penting dalam perbaikan sifat tanaman melalui program pemuliaan. Teknik ini digunakan jika keragaman genetik yang diinginkan tidak ditemukan pada spesies yang dibudidayakan, tetapi berada pada kerabat liarnya yang berbeda spesiesnya. Sebagian besar pemulia tanaman lebih menyukai bahwa tetua-tetua yang digunakan berasal dari spesies yang sama, karena mewakili spesies yang sama biasanya hibridisasi dapat menghasilkan hibrida yang fertil dan sedikit atau tidak ada hambatan untuk kombinasi genetiknya (Belanger *et al.*, 2003). Pada kondisi tertentu, bagaimanapun masalah pemuliaan tanaman tertentu dapat diselesaikan hanya dengan menggunakan persilangan yang luas, yang berasal dari spesies atau genus yang berbeda. Menurut (Fatakun dan Singh, 1987), sering persilangan semacam ini mengalami hambatan, walaupun mungkin hibridisasinya berhasil tetapi hibrida yang didapatkan tidak viabel atau steril. Situasi ini akan menghambat transfer gen dari suatu tetua ke tetua yang lain. Pemulia akan melakukan hibridisasi antar spesies jika ada jaminan bahwa ada cara-cara yang dapat membantu untuk mentransfer gen dari spesies atau genus yang berbeda ini.

Persilangan antar spesies sampai saat ini masih terfokus pada upaya perbaikan sifat ketahanan terutama terhadap hama, penyakit, dan kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Pada artikel ini akan diuraikan hal-hal yang terkait dengan hibridisasi antar spesies terutama dalam hubungannya dengan perbaikan sifat yaitu: tujuan hibridisasi antar spesies, hambatan-hambatan dalam hibridisasi antar spesies, upaya mengatasi hambatan hibridisasi antar spesies, pemilihan tetua, hibridisasi antara kacang tunggak dengan spesies lainnya, hibridisasi antar spesies untuk manipulasi kromosom, dan aplikasi fusi protoplas pada hibridisasi antar spesies tanaman.

## 5.2. Tujuan Hibridisasi antar Spesies

Hibridisasi antar spesies pada tanaman mempunyai beberapa tujuan. Tujuan pertama yaitu untuk memperbaiki suatu spesies dengan cara memindahkan satu atau beberapa sifat dari spesies lain, baik dari spesies tanaman budidaya maupun spesies liar. Pindahan satu atau beberapa sifat lebih diarahkan pada sifat yang memiliki nilai ekonomi penting. Tujuan kedua yaitu untuk menambah keragaman genetik atau untuk menimbulkan keragaman baru sehingga memperbesar keragaman di alam atau koleksi yang sudah ada serta memperbanyak materi pemuliaan. Tujuan ketiga yaitu untuk mendapatkan ekspresi karakter baru yang tidak nampak pada kedua spesies. Ekspresi karakter baru telah berhasil dicapai diantara tanaman-tanaman hias. Tujuan keempat yaitu untuk mendapatkan keturunan yang steril. Keturunan yang steril ini kemudian diperlakukan dengan colchicine untuk menggandakan jumlah kromosom dan kemudian mendapatkan spesies dengan allopoloid baru (Stoskopf, 1994; Compinhos *et al.*, 1998). Sedangkan menurut Briggs dan Knowles (1967) terdapat 4 alasan untuk membuat hibrida hasil hibridisasi antar spesies: 1) untuk mentransfer satu atau beberapa gen dari satu spesies ke spesies yang lain, 2) untuk mendapatkan ekspresi karakter baru yang tidak ditemukan pada tetuanya, 3) untuk menghasilkan spesies allopoloid baru, dan 4) untuk menentukan hubungan spesies satu dengan spesies lainnya. Pemulia dalam membuat hibridisasi untuk alasan-alasan ini harus mengeksplor jalur dalam spesies yang lebih mudah untuk mencapai tujuan sebelum mendapat jalur antar spesies yang lebih sulit.

Tujuan lain untuk hibridisasi antar spesies adalah sebagai kajian akademik dan penelitian, dijadikan obyek studi yang sangat menarik dan tidak harus menghasilkan sesuatu yang menguntungkan. Pemulia

tanaman biasanya memiliki keinginan yang tinggi tentang apa yang akan terjadi jika spesies yang berbeda disilangkan. Pemulia memiliki keinginan untuk mengkaji faktor-faktor genetik yang terjadi akibat hibridisasi ini dan hubungan antara spesies yang satu dengan spesies yang lain. Pemulia tidak perlu merasa bersalah jika karena akibat keingintahuan ini didapatkan hasil tidak seperti diharapkan, karena hal ini justru merupakan bagian dari kemajuan ilmu pengetahuan untuk mengkaji lebih jauh mengapa terjadi demikian (Gomathinayagam *et al.*, 1998; Nielsen *et al.*, 1999 ).

### 5.3. Hambatan-hambatan dalam Hibridisasi antar Spesies

4 masalah utama dalam menggunakan hibridisasi antar spesies dalam program pemuliaan tanaman adalah rendahnya kemungkinan untuk mendapatkan satu kombinasi gen-gen yang diharapkan dari spesies tetuanya. Secara umum dapat dikatakan bahwa makin jauh hubungan kekerabatan ak<sup>4</sup> semakin meningkatkan kegagalan untuk mendapatkan tanaman F<sub>1</sub> yang fertil dan normal. Kegagalan ini lebih banyak disebabkan oleh ketidakmampuan tanaman yang memiliki polen dan ovule normal dalam membentuk benih karena gangguan genetik dan fisiologis yang menghalangi fertilisasi yang sering disebut dengan inkompatibilitas. Menurut Hadley dan Openshaw (1980), hambatan-hambatan dalam hibridisasi antar spesies dapat digolongkan menjadi dua yaitu eksternal dan internal dan hambatan internal lebih dominan dibanding hambatan eksternal. Hambatan eksternal yaitu berupa hambatan geografi, ekologi dan musim.

Kombinasi hambatan seperti geografi dan ekologi atau ekologi dan musim adalah lebih umum dari pada hambatan individual dan cenderung memaksa ketidak kontinyuan antar populasi. Hambatan isolasi tempat adalah seringkali mudah untuk diatasi. Pada hambatan ekologi, dua populasi walaupun daerah geografinya sama, mungkin dipisahkan oleh adaptasi terhadap habitat yang berbeda atau tempat secara ekologi. Pemisahan semacam ini mungkin tidak lengkap karena habitat-habitat dapat bertemu dalam daerah tertentu dalam rentang kedua populasi, maka memungkinkan mereka mengadakan hibridisasi (Richards *et al.*, 2004; Hadley dan Openshaw 1980). Dengan demikian pada hibrida F<sub>1</sub> dan generasi berikutnya memungkinkan terjadinya introgresi (penyatuan) gen dari satu populasi ke populasi lainnya. Jika populasi yang berhubungan tadi keduanya spesies liar maka hubungan ini kurang menjadi perhatian pemulia kecuali jika

keduanya mempunyai hubungan yang dekat dengan kultigen. Hambatan internal berupa hambatan terhadap pertukaran genetik antara populasi yang terkait terjadi melalui ketidak harmonisan antara sistem tanaman secara sitologi atau fisiologi dari populasi yang berbeda. Hambatan-hambatan dalam ini mungkin: 1) mencegah produksi zigot  $F_1$  walaupun jika polen dari bunga-bunga dalam satu populasi jatuh ke stigma bunga yang lain, 2) menghasilkan hibrida  $F_1$  yang tidak viabel, lemah, atau steril, atau 3) menyebabkan rusaknya hibrida dalam  $F_1$  atau generasi berikutnya (Hadley dan Openshaw 1980).

Pencegahan pembentukan zigot  $F_1$  mengarah ke inkompatibilitas silang yang disebabkan oleh ketidakharmonisan antara jaringan-jaringan reproduktif tanaman dari populasi tua yang berbeda. Polen tidak berkecambah pada stigma; tabung polen tidak dapat melewati style secara sempurna atau gamet jantan tidak dapat bergabung dengan telur walaupun tabung polen mencapai ovary. Kegagalan ekspresi untuk terjadi fertilisasi atau pembuahan ini adalah serupa dengan yang ditemukan dalam spesies inkompatibel sendiri. Satu hipotesis untuk menerangkan inkompatibilitas silang antar spesies mengasumsikan bahwa gen-gen pada lokus S mempunyai dua fungsi yaitu mencegah fertilisasi sendiri dalam suatu spesies dan mencegah fertilisasi silang antara dua spesies. Ketika satu spesies adalah inkompatibel sendiri dan yang lain juga inkompatibel sendiri, hibridisasi kedua spesies ini sering menghasilkan fertilisasi, namun persilangan resiproknya tidak. Fenomena ini dikenal sebagai inkompatibilitas unilateral (Hadley dan Openshaw 1980). Bukti lain menunjukkan bahwa inkompatibilitas unilateral juga terjadi pada beberapa hibridisasi dimana kedua tua adalah spesies inkompatibel sendiri atau keduanya adalah kompatibel sendiri (Belanger *et al.*, 2003).

Beberapa spesies dapat disilangkan untuk menghasilkan zigot hibrida, tetapi  $F_1$ -nya adalah tidak viabel atau terlalu lemah untuk digunakan oleh pemulia tanaman. Penyebab lemahnya atau tidak viabelnya hibrida ini dapat dikelompokkan dalam tiga kategori: 1) ketidak harmonisan antara genom dari spesies tua, 2) ketidak harmonisan antara genom dari satu spesies dan sitoplasma dari spesies yang lain, dan 3) ketidak harmonisan antara genotip zigot  $F_1$  dan genotip endosperm atau jaringan tua betina yang mana pengembangan embrio  $F_1$  diasosiasikan. Interaksi antara genom tua mungkin mempunyai dasar poligenik dan sulit dianalisa (Tyagi dan Singh, 1998).

Menurut Rawal (1975) usaha-usaha untuk menyilangkan dua spesies mungkin berhasil dalam menghasilkan  $F_1$  yang vigor dan viabel, tetapi tidak harmonis antara genom-genom tetua atau antara genom dari satu tetua dan sitoplasma dari tetua yang lain mungkin menyebabkan  $F_1$  menjadi steril. Ekspresi seperti ini disebut mandul kromosom jika disebabkan oleh perbedaan struktural antara kromosom-kromosom tetua yang bercampur dengan pasangannya dan tidak menyimpang pada meiosis. Jika sterilitas disebabkan oleh gen-gen khusus yang kompleks dikenal sebagai sterilitas genik (sterilitas hibrid genik). Sterilitas genik biasanya adalah karena genotip dari organisme seperti diekspresikan dalam fase sporopitik, tetapi mungkin juga termasuk kombinasi-kombinasi genetik yang tidak harmonis dalam fase genotipik dari siklus hidupnya. Dalam persilangan yang luas, sterilitas  $F_1$  sering diasosiasikan dengan kegagalan kromosom berpasangan selama prophase akhir dan awal metafase (Sain *et al.*, 2000).

Beberapa hibrida  $F_1$  hasil hibridisasi antar spesies adalah vigor dan vertil, namun memberikan tanaman  $F_2$  yang lemah atau steril. Situasi seperti ini dirujuk sebagai ketidak mampuan genetik. Ilustrasi dari fenomena ini terjadi pada generasi  $F_2$  dari hibridisasi antara kapas budidaya tetraploid *Gossypium hirsutum* dan *G. barbadense*. Hibrida  $F_1$  antara kapas-kapas ini mudah dibuat, cukup vigor, dan fertil normal. Beberapa pemulia tertarik dalam eksploitasi dari  $F_1$  sebagai hibrida yang komersial sebab efek heterosis yang ditunjukkannya. Pada generasi  $F_2$  ternyata sebagian besar individu adalah lemah, steril, dan umumnya tidak memenuhi sifat agronomi yang diinginkan. Hasil ini tidak mencapuri penggunaan secara komersial hibrida  $F_1$ , tetapi dapat menyebabkan ketidak nyamanan dalam program pemuliaan dengan tujuan untuk mendapatkan galur inbrida dengan kombinasi gen-gen dari kedua spesies (Payan dan Martin, 1975). Dua penjelasan telah ditawarkan untuk tipe kejadian ini. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan-perbedaan struktural yang kecil antara kromosom-kromosom genom dalam dua spesies. Yang lain mengasumsikan sistem-sistem genetik yang komplemen seperti genotip AABB telah dipilih pada satu spesies dan aabb pada spesies yang lain. Pada generasi  $F_2$ , rekombinasi genetik akan menghasilkan genotipe yang tidak diharapkan. Jika banyak lokus terlibat dalam sistem semacam ini, maka akan mudah untuk melihat bagaimana beberapa  $F_2$  akan sukses secara fenotipik (Richard, *et al.*, 2004).



#### 5.4. Upaya Mengatasi Hambatan Hibridisasi antar Spesies

Beberapa upaya perlu dilakukan apabila hibridisasi antar spesies mengalami hambatan agar didapatkan hibrida  $F_1$  yang diharapkan atau generasi berikutnya normal. Usaha-usaha yang dapat dilakukan tergantung pada tingkat dan jenis hambatannya. Menurut Hadley dan Openshaw (1980), upaya untuk mengatasi hambatan hibridisasi antar spesies dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu sebelum dan sesudah fertilisasi. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi hambatan sebelum fertilisasi antara lain: pemilihan tetua dan pengambilan sampel yang tepat, manipulasi dan modifikasi tanaman-tanaman tetua, melakukan persilangan antara, dan pemilihan prosedur kastrasi dan polinasi yang sesuai. Hambatan hibridisasi antar spesies lebih sering terjadi setelah fertilisasi. Oleh karena itu upaya untuk mengatasi hambatan setelah fertilisasi terus mendapat perhatian antara lain melalui kultur *in vitro* terutama untuk penyelamatan embrio, penggandaan kromosom buatan dengan pemberian senyawa kimia seperti kolkisin atau  $GA_3$ , penggunaan zat pengatur tumbuh, atau mengadakan polinasi campuran.

Persilangan antara kacang hijau (*Vigna radiata*) dengan kacang hitam (*Vigna mungo*) telah dilakukan di India dan Amerika untuk memperbaiki sifat ketahanan terhadap penyakit. Hasil persilangan menunjukkan keguguran embrio yang cukup tinggi dan kegagalan perkecambahan. Untuk menyelamatkan embrio dan meningkatkan daya kecambah biji  $F_1$  dilakukan dengan kultur *in vitro*. Tanaman  $F_1$  yang fertil dapat diperoleh bila terbentuk amphidiploid atau allotetraploid dengan jalan menggandakan genom tanaman  $F_1$  dan genom tetua yang akan disilangkan serta melakukan hibridisasi somatik atau fusi protoplas dari kedua tetua. Penggandaan kromosom buatan dapat dilakukan dengan penambahan senyawa kolkisin. Hasil penelitian Kosmiatin dan Mariska (2005) menunjukkan bahwa penggandaan kromosom amphidiploid diperoleh dengan mengkulturkan embrio pada media dengan penambahan kolkisin 0,15 % dan inkubasi 2 hari.

Beberapa pemulia telah berhasil dalam mempertahankan bunga dan buah dengan mengaplikasikan zat pengatur tumbuh segera setelah polinasi. Dalam beberapa kasus, walaupun buah diperoleh dengan aplikasi ini, embrio gagal untuk berkembang. Dalam kasus lain, buah dipertahankan cukup lama bagi embrio untuk tumbuh cukup besar untuk dikulturkan. Al-Yasiri dan Coyne (1964) mampu mempertahankan persentase yang tinggi dari perkembangan polong

selama 30 hari dari hibridisasi antar spesies pada *Phaseolus* dibandingkan dengan kontrol yang gugur pada hari ke-15 setelah polinasi. Tiga puluh hari adalah cukup lama bagi embrio untuk menjadi besar untuk budidaya. Payan dan Martin (1975) menguji gibberellic acid, alphanaphthalene acetamide, dan indole butyric acid untuk keefektifan dalam mencegah absisi bunga dan buah pada *Passiflora*. Setiap zat pengatur tumbuh dicampur dengan lanolin dengan konsentrasi 1 % dan 0,1 %. Pasta yang dihasilkan diaplikasikan secara langsung ke ovary segera setelah polinasi. Aplikasi GA 1 % adalah paling efektif dalam memacu pembentukan buah.

Polinasi campuran telah digunakan untuk menyelesaikan masalah penting seperti halnya tujuan aplikasi zat pengatur tumbuh. Para peneliti melakukan hibridisasi antar spesies pada kapas dengan mencampurkan 6 – 12 tepung sari dari tetua betina dengan tepung sari dari tetua jantan dalam jumlah yang sangat banyak. Buah yang dihasilkan dari polinasi dengan tepung sari campuran ini mengandung beberapa biji yang besar dari tetua betina (menyerbuk sendiri) dan beberapa biji kecil yang merupakan hibrida. Payan dan Martin (1975) hibrida hasil hibridisasi antar spesies pada *Passiflora*, genus dengan 3 stigma per bunga, dengan mempolinasi dua dari stigma dengan tepung sari dari spesies yang berbeda dan satu dengan tepung sari dari tanaman yang kompatibel (cocok) pada spesies yang sama.

### **5.5. Pemilihan Tetua untuk Hibridisasi Antar Spesies**

Pemilihan tetua untuk disilangkan merupakan suatu hal yang sangat penting bagi pemuliaan tanaman. Kesalahan dalam memilih tetua bisa mengakibatkan kegagalan dalam program pemuliaan tanaman. Keputusan untuk memilih tetua dipengaruhi oleh tujuan pemuliaan jangka pendek, tujuan jangka panjang dan metode pemuliaan yang diinginkan. Informasi dan pengetahuan tentang sumber plasma nutfah yang akan dijadikan tetua adalah sangat penting. Informasi dan pengetahuan ini dapat diperoleh oleh pemulia tanaman melalui evaluasi plasma nutfah yang ada atau melalui data-data yang tersedia. Evaluasi plasma nutfah ditujukan untuk mengetahui keunggulan sifat-sifat agronomi dan ketahanan dari tetua yang potensial pada agroklimat yang akan digunakan. Berdasarkan hasil evaluasi plasma nutfah dilakukan penyaringan dan pengelompokan sesuai dengan tujuan program pemuliaannya. Tetua yang akan digunakan untuk hibridisasi harus mengandung keunggulan sifat yang diinginkan

(Trustinah, dkk. 2001). Menurut Hardley dan Openshaw (1980) agar tujuan program pemuliaan tercapai pemulia dalam memilih tetua terutama untuk persilangan antar spesies harus dengan pertimbangan yang hati-hati dan matang dengan selalu memperhatikan tujuan dan bahan tetua yang diperlukan. Paling tidak satu tetua merupakan kultivar dari tanaman yang sudah relatif berhasil (kultigen) untuk diperbaiki, khususnya jika banyak usaha pemuliaan tanaman telah diteliti pada kultigen.



Gambar 6. Tanaman Hasil Persilangan antara Kacang Hijau dan Kacang Beras.

Tetua yang baik adalah tetua yang sejenis tetapi berkerabat jauh serta mempunyai daya gabung umum yang tinggi. Kemampuan daya gabung umum sangat diperlukan dalam proses hibridisasi karena umumnya persilangan antara tetua yang memiliki daya gabung umum tinggi dapat menghasilkan keturunan yang memiliki daya gabung khusus yang tinggi. Tetua-tetua yang disilangkan adalah tetua-tetua yang memiliki sifat potensi produksinya tinggi, umur genjah, tahan terhadap hama/penyakit, atau tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Walter dan Henry, 1994; Stoskoff, 1994).

Menurut Hardley dan Openshaw (1980), pemilihan tetua merupakan kesempatan pertama bagi pemulia untuk mempengaruhi kemungkinan keberhasilan dengan persilangan antar spesies. Pemilihan tetua akan beragam tergantung pada tujuan pemuliaan dan karakteristik fenotip dari bahan tetua yang potensial. Pemulia membuat persilangan antar spesies untuk alasan-alasan yang berbeda. Beberapa hambatan isolasi reproduktif mungkin dapat ditoleransi, walaupun disenangi untuk tujuan tertentu, sedangkan yang lain tidak. Pemulia pertama memerlukan untuk menskrining populasi tetua yang potensial untuk

ekspresi sifat yang diharapkan. Jika pemilihan ini adalah mungkin, individu akan dipilih dari populasi yang paling berhubungan dengan kultigen. Pemulia tidak dapat selalu menentukan kedekatan hubungan antar kultigen dan kerabatnya. Kasifikasi atas dasar taksonomi yang mendasarkan pada karakteristik morfologi mungkin merupakan bantuan terbaik yang tersedia, tetapi sering tidak akurat dalam merefeksikan hubungan secara genetik. Data dari percobaan-percobaan penyilangan adalah lebih berguna.

### 5.6. Hibridisasi antara Kacang Tunggak dengan Spesies Lainnya

Hibridisasi kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp.) tidak hanya dilakukan antar varietas dalam satu spesies, tetapi juga dapat disilangkan dengan spesies lain tapi masih satu genus *Vigna*. Hibridisasi antar spesies akan lebih baik jika sudah diketahui peta kromosomnya, sehingga dapat diperkirakan tingkat kesulitan yang akan dihadapi. Peta kromosom kacang tunggak ini diharapkan bermanfaat dalam mempelajari persamaan dan perbedaan *Vigna unguiculata* dengan spesies lain sehingga bisa menjadi acuan jika ingin melakukan hibridisasi (Walker dan Miller, 1986). Hibridisasi antar spesies atau antar genus biasanya dibuat jika ingin mentransfer satu atau beberapa gen yang mengontrol sifat-sifat tertentu dan ini biasanya sulit dilakukan karena sejumlah masalah seperti incompatibilitas atau hibrida yang steril.

Hibridisasi interspesifik pada kacang tunggak telah dilakukan terutama dengan *Vigna vexillata* ( $2n=22$ ) yang merupakan spesies liar dan memiliki ketahanan terhadap hama penghisap polong dan penggerek polong. Namun hal tersebut belum memberikan hasil yang menggembirakan seperti halnya dengan kacang hijau yang dapat disilangkan dengan *Vigna mungo*, *Vigna umbellata*. Pada hibridisasi interspesifik ini perkecambahan serbuk sari sangat lambat dan perkembangan tabung serbuk sari tertahan sehingga pembuahan tidak terjadi. Dilaporkan hanya sekitar 12 % yang memiliki tabung serbuk sari normal dan dapat mencapai bakal buah 12 jam setelah penyerbukan. Pada persilangan *Vigna unguiculata* x *Vigna vexillata*, 25 % putik menunjukkan perkembangan tabung sari yang normal 24 jam setelah penyerbukan. Pada persilangan resiproknya, hanya 9,5 % putik yang memiliki perkembangan tabung serbuk sari normal yang dicapai 48 jam setelah penyerbukan. Lambatnya pertumbuhan tabung serbuk sari merupakan suatu pertanda pada hibridisasi interspesifik

4 yang merupakan interaksi antara substansi yang dihasilkan oleh kantung embrio dan tabung serbuk sari yang dapat mempengaruhi persentase pembuahan (Singh, *et al.*, 1990). Selanjutnya beberapa abnormalitas sitologi dapat terjadi seperti serbuk sari tidak dapat berkembang pada kepala putik, serbuk sari dapat tumbuh tetapi dihambat oleh penetrasi jaringan stigmatik atau tabung serbuk sa 5 tidak lurus tetapi berkelok-kelok (Fatakun, 1991). Hibridisasi pada tingkat spesies unguilata tel 5 dilakukan antara jenis yang telah dibudidayakan maupun jenis liar. Dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa anggota dari kulti-group (cv-gr) kacang dapat disilangkan dan pertukaran gen dapat dilakukan, namun hibridisasi tidak terlalu mudah dan dapat menghasilkan hibrida yang sebagian fertil.

Fatakun 4 dan Singh dalam Fatakun *et al.* (1977) telah berhasil menyilangkan kacang tunggak yang dibudidayakan dengan jenis liar yang relatif berbulu (*V. unguiculata ssp. dekindiana var pubescens*). Tujuannya untuk mentransfer bulu yang merupakan suatu sifat dari *pubescens* yang diharapkan dapat meningkatkan ketahanan terhadap serangga. Persilangan dan pembuahan telah berhasil dilakukan, namun polong dan biji gugur 12 hari setelah persilangan sehingga untuk menyelamatkan embrio hibridanya digunakan teknik kultur jaringan. Tanaman F1 yang dihasilkan menunjukkan pertumbuhan yang baik tetapi hanya sekitar 32% serbuk sari 4 yang tumbuh. Hasil pengujian sitologis dari tanaman F1 menunjukkan adanya normalitas meiotik pada sel induk serbuk sari, tercermin dari sedikitnya univalen dan kuadriValen yang mengakibatkan diferensiasi struktural dalam kromosom.

Pada hibridisasi antara *V. unguiculata ssp. unguiculata* dengan *V. unguiculata ssp. protacta var. rhomboidea*, hibrida F1 yang dihasilkan sebagian fertil. Pada kondisi rumah kaca, tanaman F1 berbunga banyak tetapi bunga tersebut gugur setelah anthesis sehingga tidak menghasilkan polong ( McComb., 1975). Hasil penelitian Rawal (1975) menunjukkan bahwa pada keadaan kelembaban yang tinggi dan temperatur yang rendah tanaman F1 menghasilkan polong pada frekuensi yang lebih tinggi dan polong yang dihasilkan rata-rata berisi 3 biji. Hampir 30 % tanaman F2 tidak berpolong meskipun seluruhnya berbunga. Hibridisasi antara kacang panjang (*V. unguiculata ssp sesquipedalis*) dan *V. unguiculata ssp tenuis* menghasilkan tanaman F1 yang tumbuh baik dan beberapa sifat antara kedua tetua juga terlihat



4

seperti panjang tangkai daun, panjang dan lebar daun, panjang polong, jumlah biji per polong, berat 100 biji dan panjang tangkai bunga.

Induksi tetraploid dari *Vigna unguiculata* telah dilakukan oleh beberapa peneliti dan dilaporkan bahwa terdapat perbedaan karakter morfologi, sterilitas serbuksari, pembuahan dan ketidakteraturan meiosis yang meliputi pembentukan kuadrivalen dan distribusi yang tidak sama pada stadia anafase. Disimpulkan bahwa sterilitas serbuksari merupakan salah satu faktor pembatas dalam pengembangan varietas tetraploid secara komersial. Perilaku kromosom selama meiosis akan normal bila yang disilangkan adalah tetua yang memiliki homologi lengkap dalam menghasilkan hibrida. Pada kasus tersebut serbuksari memiliki bentuk dan ukuran yang normal dan umumnya fertilitasnya tinggi. Tingkat fertilitas beberapa hibrida F1 dari hibridisasi antara anggota grup kacang mengisyaratkan adanya homologi yang tidak lengkap. Pengamatan tersebut mengundang <sup>5</sup>ngujian yang lebih seksama untuk klasifikasi pada grup kacang. Studi daya silang dan analisis DNA akan membantu penempatan anggota sub spesies yang berbeda sehingga memiliki dampak positif terhadap eksploitasi, potensial genetik yang berguna diantara genotipe genotipe yang berbeda (Belanger *et al.*, 2003; Campinhos, *et al.*, 1998).

### 5.7. Hibridisasi antar Spesies untuk Manipulasi Kromosom

Para pemulia menginduksi poliploidi dengan menyilangkan antara spesies budidaya tetraploid dengan kerabat liarnya dengan tujuan supaya gen yang diinginkan dapat ditransfer dari spesies liar ke kultivar budidaya. Menurut Poehlman dan Sleper (1995) hampir semua kerabat liar *Solanum* dapat disilangkan dengan *Solanum tuberosum* (interspesies) dengan tujuan untuk mendapatkan resistensi terhadap stress abiotik maupun biotik serta memperbaiki heterosigositas tanaman.

Pendekatan pembuatan allopoliploid ini kelihatan kurang berhasil dibanding induksi autopoliploid. Kesulitan yang ditemui dengan pendekatan ini adalah : (1) adanya “barier incompatible” antar kedua spesies yang akan disilangkan, (2) terjadi pembuahan tetapi mengalami aborsi embrio. Kendala dalam menghasilkan tanaman allopoliploid ini dapat diatasi dengan teknik hibridisasi baru yaitu fusi protoplas atau hibridisasi somatik (Briggs dan Knowles, 1977).

Ketika kromosom dari spesies liar ditransfer ke spesies budidaya, ini disebut dengan kromosom alien (asing). Terdapat dua cara untuk remodeling kromosom alien sehingga bagian kromosom

2



dengan gen yang diharapkan dipisahkan dari bagian kromosom dengan gen yang tidak diharapkan. Salah satu cara yaitu dengan menggunakan radiasi sinar X, agen perusak kromosom, untuk mendorong pemisahan secara lateral pada kromosom alien, diikuti oleh fusi segmen yang diharapkan dengan merusak bagian akhir kromosom tanaman. Ini merupakan metode translokasi induksi. Cara lain adalah mengkreasi kondisi yang memungkinkan terjadinya pasangan antara kromosom alien dan kromosom tanaman budidaya pada meiosis. Kemudian jika persilangan telah terjadi pada daerah yang sesuai, gen yang diinginkan ditransfer (Moris, 1983).

Hibridisasi interspesifik pada *Hibiscus* sp antara kenaf (*H. cannabinus* L., diploid,  $2n=2x=36$ ) yang merupakan spesies yang telah dibudidayakan dengan kerabatnya *H. radiatus* (tetraploid,  $2n=4x=72$ ) yang merupakan spesies liar telah lama diupayakan oleh para pemulia untuk menghasilkan suatu jenis tanaman yang tidak saja memiliki potensi produksi serat tinggi tetapi sekaligus memiliki ketahanan terhadap nematoda. Tetapi hambatan utama yang dihadapi adalah tanaman F1 yang dihasilkan adalah triploid ( $2n=3x=54$ ) dan umumnya bersifat steril sehingga tidak akan diperoleh tanaman F2 dan keturunan berikutnya. Salah satu upaya mengatasi sterilitas adalah dengan menggandakan kromosom menggunakan senyawa kimia *colchicine*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh *colchicine* terhadap penggandaan kromosom dan mengetahui metode pemberian dan konsentrasi *colchicine* yang dapat mengatasi sterilitas F1 hasil hibridisasi interspesifik pada *Hibiscus* sp. (Campinhos *et al.*, 1998; Gomathinayagam *et al.* 1998; Richards *et al.*, 2004)

Sterilitas pada F1 hasil hibridisasi interspesifik dapat disebabkan (1) perbedaan genom antara spesies yang disilangkan sehingga pada waktu sel mengalami proses meiosis, genom-genom yang berbeda tersebut tidak dapat berpasangan, (2) perbedaan jumlah kromosom antara spesies yang disilangkan, yaitu diploid ( $2n$ ) disilangkan dengan tetraploid ( $4n$ ) sehingga menghasilkan individu triploid ( $3n$ ) yang umumnya steril, karena pada tanaman triploid, proses pembentukan gamet biasanya akan mengalami gangguan (Suryo 1995). Kenaf (*H. cannabinus* L.) merupakan tanaman diploid dengan jumlah kromosom  $2n = 2x = 36$  sedangkan *H. radiatus* adalah tetraploid dengan jumlah kromosom  $2n = 4x = 72$ . Dengan demikian kedua kemungkinan penyebab sterilitas tersebut dapat terjadi pada hibridisasi interspesifik pada *Hibiscus* sp. Salah satu upaya mengatasi

ketidakmampuan kromosom untuk berpasangan adalah dengan menggandakan kromosom. Pada kondisi triploid penggandaan kromosom akan menghasilkan tanaman hexaploid yang fertil. Cara untuk menggandakan kromosom dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia yaitu *colchicine* (Choudhary *et al.*, 1998; Fatokun dan Singh, 1987; Briggs and Knowles, 1977).

Secara teoritis, jumlah kromosom tanaman F1 hasil hibridisasi *H. radiatus* L. ( $2n = 4x = 72$ ) dengan *H. cannabinus* L. ( $2n = 2x = 36$ ) adalah 54 ( $2n = 3x = 54$ ) yang merupakan tanaman triploid. Jumlah kromosom ini didasarkan pada jumlah kromosom dasar dari *Hibiscus* sp yaitu  $x=18$ . Dengan demikian jumlah kromosom dari tanaman termutasi yang diharapkan adalah 108 ( $2n = 6x = 108$ ) yang merupakan tanaman hexaploid. Dari hasil pengamatan jumlah kromosom, hanya beberapa sel yang menunjukkan jumlah kromosom sama dengan nilai teoritisnya, tetapi rata-rata jumlah kromosom kurang dari jumlah teoritisnya baik tanaman F1 kontrol, tanaman tetua maupun tanaman dari benih F2 yang dihasilkan tanaman F1 termutasi. Disamping itu juga terdapat variasi jumlah kromosom yang diamati. Hal ini dapat disebabkan karena kromosom di dalam sel yang diamati dalam posisi berimpit sehingga yang terlihat adalah salah satu saja. Pada saat melakukan penghitungan jumlah kromosom, beberapa kromosom yang terletak dibawah kromosom lainnya tidak terlihat dan tidak ikut dihitung. Kemungkinan lain adalah jumlah kromosom memang bervariasi sesuai yang teramati. Meskipun jumlah kromosom tidak tepat sesuai teori, dari hasil pengamatan ini telah terlihat adanya penggandaan jumlah kromosom sebagai akibat dari penggunaan *colchicine*. Beberapa peneliti yang bekerja pada tanaman hasil hibridisasi interspesifik juga menemukan jumlah kromosom yang bervariasi. Pada tanaman triploid hasil hibridisasi antara *Hordeum vulgare* L. ( $2n = 4x = 28$ ) dengan *H. bulbosum* L. ( $2n = 2x = 14$ ) menghasilkan tanaman triploid dengan jumlah kromosom yang bervariasi mulai dari 19 sampai 22. Pada metafase I dijumpai adanya 7 bivalen dan beberapa univalen, sedangkan trivalen sangat jarang ditemui (Anggraito, 2004; Kosmiatin dan I. Mariska, 2005; . Briggs and Knowles, 1977).

Adanya beberapa sel tanaman pada perlakuan 0,01 % *colchicine* menunjukkan adanya jumlah kromosom yang mendekati jumlah kromosom salah satu tetuanya yaitu 36 dan 72. Jumlah kromosom yang kembali seperti tetua asalnya dapat terjadi karena gamet-gamet

yang dihasilkan baik gamet jantan maupun betina berpeluang untuk memiliki kromosom seperti jumlahnya pada metafase I yaitu univalen (18) maupun bivalen (36). Akibatnya, bila gamet-gamet univalen bertemu, akan dihasilkan tanaman dengan jumlah kromosom 36, sedangkan bila gamet-gamet bivalen bertemu, maka akan dihasilkan tanaman dengan jumlah kromosom 72. Terdapat adanya jumlah kromosom yang bervariasi pada sel-sel gamet yang berkisar dari 14 sampai 40, disamping itu dijumpai pula adanya kromosom yang tertinggal (*lagging chromosomes*) pada setiap sel yang diamati. Dengan demikian, adakalanya tanaman triploid dapat menghasilkan polen “viabel” meskipun persentasenya rendah (Hartati, 2000; Sain *et al.*, 2000, Suryo, 1995).

Hasil hibridisasi antar spesies menggunakan *Triticum aestivum* ( $2n=6x=42$ ) dan *T. durum* ( $2n=4x=28$ ) diperoleh tanaman F<sub>2</sub> dengan jumlah kromosom 35. Dari pengamatan terhadap gamet ditemukan jumlah kromosom 14 dan 21 baik pada gamet jantan maupun gamet betina. Tanaman yang dihasilkan memiliki jumlah kromosom bervariasi, 28 sampai 42. Suryo (1995) menjelaskan bahwa secara teoritis tanaman triploid dapat menghasilkan keturunan dari pertemuan gamet-gamet bivalen maupun univalen, tetapi peluangnya sangat kecil. Disamping itu dijelaskan pula pada tanaman F<sub>1</sub> hasil hibridisasi interspesifik, adakalanya sebagian kromosom dapat membentuk bivalen karena *allopoliploid segmental*, sehingga masih dapat dihasilkan gamet-gamet fertil.

#### **5.8. Aplikasi Fusi Protoplas pada Hibridisasi antar Spesies Tanaman**

Fusi protoplas merupakan tehnik untuk memfusikan (menyatukan) dua protoplas untuk membentuk sel hibrida yang dapat tumbuh menjadi organisme hibrida yang berupa tanaman. Fusi protoplas dapat dilakukan dengan menggabungkan genom dari suatu varietas dengan varietas lain yang berbeda spesies atau genusnya. Pada pemuliaan konvensional sering mengalami masalah pada hibridisasi antar spesies yang sering berupa kerabat liarnya padahal pemulia sering membutuhkan hibridisasi antar spesies atau kerabat liarnya tersebut untuk memasukkan gen-gen penting seperti gen ketahanan baik ketahanan biotik maupun abiotik (Gerungan, 2001). Fusi protoplas dapat digunakan untuk mengatasi masalah dalam hibridisasi antar spesies. Hibridisasi antar spesies yang berkerabat jauh sering muncul

masalah genetik terutama masalah inkompatibilitas dan sterilitas pada tanaman  $F_1$ .

Beberapa penelitian telah berhasil dilakukan dengan fusi protoplas pada hibridisasi antar spesies antara lain: 1). Pada tanaman lada budidaya dengan lada liar (*Piper colibrinum*, *P. hirsutum*, *P. aurifolium* dan *P. cubeba*) untuk memperoleh tanaman yang tahan terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici*; 2). Pada terung budidaya (*Solanum melongena*) dengan terung liar (*Solanum sanitwongsai*, *S. torvum*, *S. aethiopicum*) untuk mendapatkan tanaman yang tahan layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*; 3). Pada nilam budidaya (*Pogostemon cablin*) dengan nilam liar (*Pogostemon girilaya*) untuk mendapatkan ketahanan nematoda *Pratylenchus brachyurus*; 4). Pada kentang antara *Solanum tuberosum* dan *S. berthaulti* untuk mendapatkan ketahanan jamur; 5). Pada padi (*Oryza sativa*) varietas IR64 dengan *Oryza officinalis*; 6). Pada tembakau antara *Nicotiana glauca* dan *N. langsdorffei* Weinm (Gerungan, 2001; Mariska dan Husni, 2006; Smith *et al.*, 1976; Sukmadjaja, dkk., 2007). Jadi fusi protoplas telah berhasil membantu pemulia tanaman dalam hibridisasi antar spesies yang sulit dilakukan secara konvensional.

### 5.9. Pemanfaatan Hasil Hibridisasi

Hibridisasi antara kacang tunggak berpolong ungu dan kacang panjang berbiji hitam putih menghasilkan keturunan yang beragam, umumnya berkisar diantara kedua tetua kecuali diameter polong dan kandungan protein lebih baik dibandingkan kedua tetuanya. Hasil dari hibridisasi kemudian dilakukan evaluasi untuk mengetahui informasi genetik dari semua genotipe yang ada. Dari hasil evaluasi didapatkan informasi hasil-hasil persilangan mana saja yang memiliki prospek untuk dikembangkan lebih lanjut melalui program pemuliaan tanaman dan metode pemuliaan yang sesuai.

Hibrida hasil persilangan kacang tunggak berpolong ungu dengan kacang panjang berbiji hitam putih menghasilkan hibrida yang potensial untuk dikembangkan. Kacang tunggak yang memiliki polong pendek dan kaku disilangkan dengan kacang panjang berpolong lunak dan panjang menghasilkan keturunan yang memiliki karakter gabungan kedua tetuanya. Hibrida hasil persilangan memiliki karakteristik polong yang lunak dengan panjang polong diantara kedua tetuanya. Hibrida yang memiliki polong ungu, lunak dengan panjang antara 30 – 40 cm

memiliki prospek untuk dikembangkan menjadi kacang sayur varietas unggul baru dengan Bagan seperti pada Lampiran 1. Kegiatan seleksi telah dilakukan hingga generasi ketujuh dan telah dilakukan uji pendahuluan. Hasil evaluasi pendahuluan didapatkan 14 galur harapan kacang sayur yang mengandung protein dan anthosianin tinggi, toleran kekeringan, dan dalam sistem budidayanya tanpa menggunakan lanjaran.

1 Hasil-hasil persilangan antara kacang hijau dengan kacang beras menghasilkan hibrida yang memiliki karakteristik gabungan kedua tetua. Kacang hijau mempunyai kandungan protein dan daya cerna yang tinggi, sedangkan kacang beras memiliki jumlah polong yang banyak, kandungan karbohidrat yang tinggi, dan toleran terhadap beberapa hama penting. Hibrida hasil persilangan kacang hijau dan kacang beras dapat digunakan sebagai bahan perakitan varietas unggul baru kacang hijau yang daya hasilnya tinggi, toleran terhadap beberapa hama penting, kandungan protein dan karbohidratnya tinggi.

## **BAB VI.**

### **EVALUASI HASIL HIBRIDISASI**

---

#### **6.1. Evaluasi Keberhasilan Hibridisasi antar Spesies**

Tidak semua tanaman kacang-kacangan dapat berhasil dihibridisasi walaupun jumlah kromosom maupun genusnya sama. Kacang hijau berhasil dihibridisasi dengan kacang beras jika kacang hijau bertindak sebagai tetua betina dan kacang beras bertindak sebagai tetua jantan. Hibridisasi tidak dapat berhasil jika kacang beras sebagai tetua betina dan kacang hijau sebagai tetua jantan. Hal yang sama pada kacang beras dan kacang tunggak. Hibridisasi berhasil dilakukan jika kacang beras bertindak sebagai tetua betina dan kacang tunggak bertindak sebagai tetua jantan. Hibridisasi antara kacang tunggak dengan kacang panjang tidak mengalami masalah, dua-duanya mampu sebagai tetua betina maupun jantan.

Tingkat keberhasilan hibridisasi antara kacang hijau dengan kacang beras, kacang tunggak dengan kacang panjang didasarkan pada efisiensi persilangan dan perubahan karakter pada keturunan. Persilangan dianggap berhasil jika terbentuk polong dan polong bisa tumbuh serta berkembang hingga masak. Untuk melihat keberhasilan persilangan perlu evaluasi keturunan hasil persilangan untuk melihat



apakah terdapat perubahan karakteristik atau tidak. Persilangan dianggap berhasil jika karakteristik keturunan berbeda dengan tetuanya terutama tetua betinanya baik karakter kualitatif, kuantitatif, kandungan protein, kandungan karbohidrat, dan ketahanan terhadap hama kumbang bubuk. Jika karakteristik populasi keturunan hasil persilangan sama dengan karakteristik tetua betinanya, kemungkinan terjadi persilangan sendiri (selfing) yang berarti persilangan tidak berhasil. Demikian juga untuk silang balik dianggap berhasil jika populasi BC1.1 memiliki karakteristik yang berbeda dengan karakteristik tetuanya.

Persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras telah berhasil dilakukan. Keberhasilan persilangan ditunjukkan oleh terbentuknya polong yang tumbuh normal hingga masak dan terjadinya perubahan karakter pada keturunannya. Hasil dari kegiatan penelitian tahap pertama mengenai hibridisasi antara empat varietas unggul kacang hijau yang memiliki karakteristik berbeda dengan dua genotip kacang beras yang bijinya berwarna merah dan kuning didapatkan 8 keturunan pertama. Banyaknya benih tiap hasil keturunan berbeda-beda karena tingkat efisiensi hibridisasinya juga berbeda-beda. Tingkat efisiensi persilangannya berkisar antara 44 % hingga 65 % (Tabel 1). Tingkat efisiensi persilangan tertinggi dicapai pada persilangan kacang hijau varietas Manyar dengan kacang beras berbiji kuning yaitu sebesar 65%. Tingkat efisiensi persilangan terendah terjadi pada persilangan antara kacang hijau varietas Merak dengan kacang beras berbiji kuning yaitu sebesar 44,4 %.

Keberhasilan persilangan antar spesies tidak hanya ditentukan oleh terbentuknya polong tetapi juga oleh terjadinya pemindahan keunggulan karakter tetua jantan atau penggabungan sifat dari kedua tetua. Jika karakteristik keturunan hasil persilangan berbeda dengan induk betina berarti persilangan berhasil. Jika karakteristik kualitatif atau kuantitatif keturunan persilangan sama persis dengan induk betina kemungkinan persilangan antar spesies tidak berhasil karena telah terjadi penyerbukan sendiri. Pemindahan keunggulan karakter dari suatu spesies ke spesies yang lain atau penggabungan keunggulan karakter dari dua spesies yang berbeda karakteristiknya tidak selalu berhasil. Oleh karena itu perlu identifikasi keturunan persilangan untuk mengetahui apakah betul terjadi pemindahan atau penggabungan karakteristik tetua atau tidak.

Tabel 1. Tingkat Efisiensi Persilangan antara 4 Varietas Unggul Kacang Hijau dengan 4 Genotip Kacang Beras

No.	Tipe Persilangan	Jumlah	Jumlah	Efisiensi Persilangan (%)
		Bunga yang Disilangkan	Polong yang dipanen	
1	MANYAR X RBK	240	156	65,0
2	MANYAR X RBM	246	158	64,2
3	MERAK X RBK	232	103	44,4
4	MERAK X RBM	230	110	47,8
5	SAMPEONG X RBK	248	157	63,3
6	SAMPEONG X RBM	246	159	64,6
7	VIMA X RBK	234	113	48,3
8	VIMA X RBM	236	122	51,7

Sumber: Ujianto (2010)

Tabel 2. Tingkat Efisiensi Silang Balik antara Keturunan Persilangan dengan Tetua Kacang Hijau

No.	Tipe Persilangan	Jumlah	Jumlah Polong	Efisiensi Persilangan (%)
		Bunga yang Disilangkan	yang dipanen	
1	(Manyar x RBK) x Manyar	192	118	61,5
2	(Manyar x RBM) x Manyar	191	113	59,2
3	(Merak x RBK) x Merak	188	72	38,3
4	(Merak x RBM) x Merak	183	74	40,4
5	Merak x (Merak x RBM)	190	86	45,3
6	(Sampeong x RBK) x Sampeong	198	115	58,1
7	(Sampeong x RBM) x Sampeong	193	120	62,2
8	(Vima x RBK) x Vima	184	85	46,2
9	(Vima x RBM) x Vima	189	87	46,0
10	Vima x(Vima xRBM)	188	83	44,2

Sumber: Ujianto (2010)

Persilangan antar spesies antara empat varietas unggul kacang hijau dengan kacang beras berbiji kuning dan merah telah berhasil dilakukan dengan tingkat keberhasilan persilangan yang berbeda-beda. Pembentukan polong berkembang secara normal sampai masak. Kacang hijau varietas Manyar dan Sampeong menunjukkan tingkat keberhasilan yang cukup tinggi yaitu lebih dari 63 % baik disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning maupun kacang beras berbiji merah. Hal ini menunjukkan bahwa kedua varietas ini mempunyai daya silang yang cukup tinggi dibandingkan dengan varietas Vima dan Merak. Tingkat keberhasilan persilangan yang tinggi juga menunjukkan adanya tingkat kompatibilitas yang tinggi dibanding inkompatibilitasnya. Keberhasilan persilangan ini dipengaruhi baik oleh faktor genetik maupun lingkungan. Varietas-varietas tertentu memiliki tingkat keguguran bunga yang rendah dan daya reseptif kepala putik terhadap tepung sari yang tinggi menyebabkan tingkat keberhasilan persilangan lebih tinggi dibandingkan tanaman yang memiliki daya reseptif yang rendah dan tingkat keguguran bunga yang tinggi. Tingkat keberhasilan ini juga dipengaruhi karena kedua tanaman ini spesiesnya berbeda sehingga sering terjadi kegagalan dalam proses pembentukan polongnya. Faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap keberhasilan persilangan adalah curah hujan, penyinaran matahari, temperatur dan kelembaban udara. Disamping itu faktor ketrampilan pemulia dalam memahami biologi bunga dan ketrampilan dalam emaskulasi maupun polinasi juga berpengaruh terhadap tingkat keberhasilan persilangan.

Tingkat keberhasilan pada silang balik antara keturunan pertama persilangan antar spesies kacang hijau dan kacang beras dengan tetua betinanya juga beragam. Silang balik antara keturunan pertama hasil persilangan kacang hijau varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji tertinggi dicapai oleh persilangan balik (Sampeong x RBM) x Sampeong dengan tingkat keberhasilan 62,2 %, sedangkan yang terendah yaitu sebesar 38,3 % pada silang balik antara (Merak x RBK) x Merak. Perbedaan efisiensi keberhasilan persilangan disebabkan oleh perbedaan tingkat inkompatibilitasnya. Perbedaan tingkat keberhasilan ini disebabkan oleh perbedaan jumlah tepung sari pada kacang hijau dan kacang beras. Disamping itu faktor alat dan waktu pelaksanaan juga mempengaruhi keberhasilan persilangan. Kacang beras memiliki tepung sari yang lebih banyak dan lebih lama

daya hidupnya dibandingkan dengan kacang hijau. Tepung sari pada kacang beras dapat digunakan hingga jam 9 atau 10 pagi, sedangkan pada kacang hijau tepung sari sudah sedikit sekali pada jam 8 pagi apalagi lebih siang lagi. Silang balik dilakukan untuk keperluan analisis genetik dan juga untuk memulihkan sifat-sifat keturunan hasil persilangan.

Bharathi, *et al.* (2006) berhasil menyilangkan kacang hijau dengan beberapa spesies *Vigna* lainnya dengan tingkat keberhasilan yang berbeda-beda. Tingkat keberhasilan persilangan antara kacang hijau dengan *Vigna umbellata*, *Vigna trilobata*, *Vigna aconitifolia*, dan *Vigna sublobata* masing-masing sebesar 29,63%, 18,64 %, 8,48%, dan 7,69%. Tingkat keragaman keberhasilan persilangan antar spesies pada *Vigna* juga telah dilaporkan oleh Chen *et al.* (1977), Chowdhury dan Chowdury (1978), dan Ahn dan Hartmann (1978). Thiyagu, *et al.* (2008) berhasil menyilangkan kacang hijau dengan kacang beras tetapi tingkat keberhasilannya rendah yaitu 12%.

Tingkat keberhasilan persilangan yang tinggi menunjukkan tidak terdapatnya hambatan dalam persilangan kedua spesies tersebut atau inkompatibilitasnya rendah. Tidak terdapat hambatan dari luar yang menghalangi persilangan kedua spesies tersebut karena waktu anthesis, pecahnya anther dan reseptivitas stigma adalah sama untuk kedua tetua. Perkecambahan polen yang normal menunjukkan bahwa stigma tidak bertindak sebagai penghambat. . Pembentukan polong berkembang secara normal sampai masak. Gopinathan dan Babu (1985) telah berhasil menyilangkan *Vigna umbellata* dengan *Vigna minima* dan mengkaji secara sitologis keturunan (F1) persilangan kedua spesies tersebut. Kajian sitogenetik menunjukkan bahwa adanya proses meiosis yang normal dengan 11 bivalen pada diakinesis baik pada kedua tetua maupun keturunannya. Sedikitnya polong muda yang gugur menandakan sedikitnya hambatan setelah persarian. Apabila terdapat biji hasil persilangan yang tidak bernas kemungkinan berhubungan dengan kegagalan embrio untuk masak.

Kacang hijau berhasil disilangkan dengan kacang beras apabila kacang hijau bertindak sebagai tetua betina, tetapi tidak berhasil disilangkan apabila bertindak sebagai tetua jantan. Hal ini diduga adanya pengaruh tetua betina (maternal effect). Tetua betina menghalangi berkecambahnya tepung sari ataupun menghalangi perjalannya tabung sari mencapai sel telur tetua betina. Hal ini diduga tetua betina mengeluarkan senyawa tertentu sehingga tepung sari tidak

dapat berkecambah atau dapat berkecambah tetapi mengalami hambatan dalam perjalanannya mencapai sel telur sehingga tidak terbentuk polong. Ketidak berhasilan ini menunjukkan adanya inkompatibilitas yang sempurna.

Inkompatibilitas merupakan bentuk ketidaksesuaian antara organ jantan dan betina atau adanya ketidaksuburan yang disebabkan oleh ketidakmampuan tanaman yang memiliki pollen dan ovule normal dalam membentuk benih karena gangguan fisiologis yang menghalangi fertilisasi. Inkompatibilitas dapat disebabkan oleh ketidakmampuan tabung polen untuk menembus kepala putik atau adanya ketidakmampuan tabung polen untuk tumbuh normal sepanjang tangkai putik. Tabung pollen, jika terbentuk sempurna, tumbuh dengan lambat sehingga tidak dapat mencapai ovule; atau terlambat tiba dimana ovule telah diserbuki oleh pollen yang kompatibel, atau ovule telah layu (Suwarno, 2008). Terdapat dua macam inkompatibilitas yaitu gametofitik dan sporofitik. Pada inkompatibilitas gametofitik, kecepatan tumbuh tabung polen dikendalikan oleh rangkaian alel yang disimbulkan dengan S1, S2, dan sebagainya. Jika alel inkompatibilitas pada inti polen identik dengan salah satu alel pada jaringan tangkai putik maka pertumbuhan tabung polen pada tangkai putik akan lebih lambat dan pembuahan akan jarang terjadi. Inkompatibilitas sporofitik terjadi pada permukaan kepala putik yang menghambat perkecambahan polen. Disamping itu dikenal pula inkompatibilitas heteromorfik yaitu terjadi inkompatibilitas meskipun stigma lebih pendek dari benang sari.

Ahn *et al.*, 1978 dan Chen, *et al.*, 1978 melaporkan bahwa kacang hijau berhasil disilangkan dengan spesies lain yang berkerabat dekat yaitu *Vigna mungo* apabila kacang hijau digunakan sebagai tetua betinanya dan tidak berhasil jika bertindak sebagai tetua jantan. Ketidakberhasilan ini menurut Bharathi, *et al.* (2006) belum sepenuhnya bisa dijelaskan. Hal ini mungkin akibat aborsi embrio dan degenerasi selama embriogenesis. Pada beberapa kasus, menurut Chowdhury dan Chodhury (1977) tabung tepung sari tidak dapat masuk stigma dan stilus. Pada kasus lain, pembuahan terjadi tetapi aborsi embrio terjadi selama embriogenesis (Ahn dan Hartman, 1977). Kegagalan hibridisasi antar spesies akibat degenerasi embrio adalah umum dalam persilangan antar spesies legum untuk makanan (Chen *et al.*, 1977). Bagaimanapun, terdapat hambatan dalam embriogenesis karena dihasilkan biji yang dapat tumbuh (viable) dan tidak dapat



tumbuh (inviabile), tetapi biji-biji hasil persilangan resiprok semuanya tidak dapat tumbuh.

Perbedaan resiprok dalam efektivitas persilangan antara *V. radiata* dan *V. sublobata*, *V. trilobata*, *V. umbellata* dan *V. aconitifolia* menunjukkan adanya interaksi antara faktor genik dan sitoplasmik. Interaksi ini mungkin menjadi penyebab degenerasi embrio hibrid ketika *V. mungo* digunakan sebagai tetua betina (Ahn dan Hartmann, 1977). Hambatan pertama yang bertanggung jawab untuk sterilitas sempurna adalah penundaan tabung polen masuk ke dalam ovul. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan panjang stilus dari ketiga spesies (23 mm panjang untuk *vigna radiata*; 19 mm pada *V. umbellata* dan 13 mm pada *V. aconitifolia*. Hambatan seperti ini dikenal pada banyak persilangan antar spesies juga (Maheswari dan Rangaswary, 1965). Prosentase pembentukan polongnya rendah yaitu *V. radiata* x *V. umbellata* (12,89 %) dan *V. mungo* x *V. umbellata* (5,56 %). Hal ini menunjukkan adanya hambatan reproduktif yang menyebabkan introgresinya sulit. Hambatan sebelum pembuahan yang umum adalah lambatnya pertumbuhan polen, disamping ketidak normalan struktur di daerah stylar dan stigmatik. Ketidakberhasilan persilangan antara kacang beras dengan kacang hijau bisa disebabkan oleh inkompatibilitas heteromorfik.

Untuk membuktikan keberhasilan persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras dapat dikaji berdasarkan karakteristik keturunan hasil persilangan. Jika karakteristik keturunan hasil persilangan berbeda dengan karakteristik tetua betina, maka persilangan berhasil. Karakteristik keturunan yang digunakan untuk membuktikan keberhasilan persilangan antar spesies ini adalah karakteristik: a). kualitatif, b). kuantitatif, c). kandungan protein dan karbohidrat, dan d). ketahanan terhadap hama kumbang bubuk.

## 6.2. Evaluasi Sifat Kualitatif dan Kuantitatif

Untuk evaluasi sifat kualitatif dan kuantitatif diperlukan populasi F1, F2, P1 dan P2. Untuk penanaman populasi F2 dibutuhkan jumlah populasi yang besar agar semua gen terwakili pada populasi. Populasi P1 dan P2 ditanam sebagai kontrol. Pada evaluasi sifat kualitatif dan kuantitatif sekaligus untuk evaluasi viabilitas dan sterilitas. Persiapan benih dan media tanam dilakukan sebelum penanaman dilaksanakan. Benih dicecambahkan dalam petridish lebih dahulu sebelum ditanam. Tanah yang digunakan adalah tanah regosol. Tanah dikering-anginkan



selama 1 minggu kemudian dilembutkan dan diayak dengan ukuran lubang saringan 2 mm<sup>2</sup>. Sebelum dimasukkan ke dalam pot, tanah diaduk dahulu sampai homogen, selanjutnya dimasukkan dalam pot dengan volume yang sama. Setiap pot ditanami dengan satu benih yang sudah berkecambah. Pemupukan dilakukan pada awal penanaman dengan dosis 1 g Urea, 2 g Superphos, dan 1 g KCl per tanaman atau setara 50 kg/ha Urea, 100 kg/ha Superphos, dan 50 kg/ha KCl yang diberikan secara bersamaan pada saat tanam dengan jarak 5 cm dari lubang tanam.

Pemeliharaan meliputi penyiangan setiap minggu, pengairan disesuaikan dengan kebutuhan tanaman, biasanya 3 hari sekali, dan pengendalian hama dengan menggunakan Confidor 200 SL dengan konsentrasi 2 ml/l air. Pemanenan dilakukan jika polongnya sudah masak, berisi penuh, keras dan kering. Pembijian dilakukan dengan memasukkan polong ke dalam kantong kain kemudian dipukul-pukul ringan agar biji tidak rusak sampai semua polongnya pecah dan bijinya keluar dari polong. Untuk polong yang tidak pecah selama pemukulan dilakukan pengupasan polong dengan tangan.

Evaluasi viabilitas, sterilitas, sifat kualitatif, dan kuantitatif juga dilakukan di lapang. Luas lahan yang digunakan adalah kurang lebih 1500 m<sup>2</sup>. Petak lahan dibagi dalam 10 blok, 8 blok untuk evaluasi dan 2 blok untuk penanaman tanaman cadangan, dengan ukuran 40 m x 2,5 m dan tiap blok dibagi dalam plot-plot. Adapun cara bercocok tanamnya sesuai anjuran yaitu 40 cm x 15 cm. Masing-masing tetua (P1 dan P2) dan F1 ditanam 2 baris (30 tanaman tiap ulangan), sedangkan BC1.1. dan BC1.2 ditanam 3 baris (45 tanaman tiap ulangan), dan F2 ditanam 15 baris (225 tanaman tiap ulangan). Pemupukan menggunakan 50 kg/ha Urea, 100 kg/ha Superphos dan 50 kg/ha KCl. Pupuk diberikan bersamaan dengan penanaman. Pemupukan dilakukan secara tugal dengan jarak 5 cm dari tanaman. Penyiangan dilakukan pada saat tanaman berumur 2 dan 4 minggu setelah tanam.

Pengendalian hama digunakan Confidor 200 SL dengan konsentrasi 2 ml/l air. Penyemprotan dilakukan pada saat tanaman berumur 14 dan 28 hari setelah tanam. Untuk pengendalian penyakit digunakan Dithane M-45 80WP dengan konsentrasi 2 g/l. Penyemprotan dilakukan pada saat tanaman berumur 21 hari setelah tanam. Pengairan tidak dilakukan karena kebutuhan air sudah cukup dari air hujan. Pemanenan dilakukan apabila batang sudah mengeras,

daun menguning dan sebagian berguguran, polong sudah berisi penuh dan keras.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa keturunan hasil persilangan memiliki kuantitatif berbeda dengan tetua betinanya. Demikian juga untuk kandungan protein, kandungan karbohidrat dan ketahanan terhadap hama kumbang bubuk keturunan hasil persilangan berbeda dengan tetua betinanya. Karakteristik populasi keturunan hasil persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras menunjukkan adanya penggabungan sifat dari kedua tetuanya. Hal ini ditunjukkan oleh karakteristik kuantitatif, kuantitatif, kandungan protein dan karbohidrat, serta tingkat ketahanan terhadap hama kumbang bubuk. Karakteristik populasi keturunan hasil persilangan umumnya berada pada kisaran antara tetua betina yaitu kacang hijau dan tetua jantan yaitu kacang beras, kecuali kandungan protein. Beberapa keturunan hasil persilangan memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dari rata-rata kedua tetuanya bahkan lebih tinggi dibanding tetua terbaiknya (Gambar 7-10).

Hibridisasi antara kacang hijau dengan kacang beras yang berbeda karakteristiknya menghasilkan hibrida yang merupakan gabungan dari kedua tetuanya. Hibrida hasil persilangan memiliki karakteristik kualitatif yang berbeda dengan tetua betinanya dan berada pada kisaran kedua tetuanya terutama warna bunga, warna biji, warna tangkai daun, warna hipokotil dan tipe pertumbuhan. Kacang hijau varietas Manyar bunganya berwarna kuning kelabu disilangkan dengan kacang beras dengan warna bunga kuning cerah menghasilkan keturunan dengan warna bunga kuning. Lebih jelas lagi terlihat terjadinya penggabungan sifat yaitu pada warna biji.

Kacang hijau varietas Manyar dan Vima memiliki warna biji hijau kusam disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning menghasilkan keturunan dengan warna biji hijau kusam agak kekuningan. Kacang hijau varietas Manyar dan varietas Vima berbiji hijau kusam disilangkan dengan kacang beras berbiji merah menghasilkan keturunan dengan warna biji hijau kusam kemerahan. Kacang hijau varietas Merak dan Sampeong yang memiliki biji berwarna hijau mengkilat disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning menghasilkan keturunan dengan warna biji hijau mengkilat kekuningan. Kacang hijau varietas Merak dan Sampeong berbiji hijau mengkilat disilangkan dengan kacang beras berbiji merah menghasilkan keturunan dengan warna biji hijau mengkilat kemerahan.

Tabel 3. Sifat-sifat Kuantitatif Tetua dan Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau dengan Kacang Beras

No	Genotip	JTD	TT	UP	JPBT	BBT
1.	Manyar	9,3	66,8	72,3	27,5	15,8
2.	Merak	9,5	48,5	63,0	21,8	13,0
3.	Sampeong	12,0	68,0	74,5	25,5	13,1
4.	Vima	8,5	45,0	60,0	17,5	14,7
5.	KBK	22,5	84,5	91,3	81,0	41,3
6.	KBM	33,0	85,0	91,8	76,0	41,0
7.	Manyar x KBK	14,8	70,8	76,3	38,8	17,7
8.	Manyar x KBM	14,5	72,8	76,8	36,3	18,0
9.	Merak x KBK	10,3	60,0	66,0	26,8	16,0
10.	Merak x KBM	10,3	55,5	66,5	25,5	16,6
11.	Sampeong x KBK	13,3	75,0	77,0	40,8	15,7
12.	Sampeong x KBM	12,8	73,5	77,3	35,8	16,4
13.	Vima x KBK	9,5	48,0	64,5	26,8	17,7
14.	Vima x KBM	10,5	50,8	64,8	27,5	18,6

Sumber: Ujianto, dkk (2010)

Keterangan: KBK = kacang beras berbiji kuning, KBM = kacang beras berbiji merah, JTD = jumlah tangkai daun, TT = tinggi tanaman, UP = umur panen, JPBT = jumlah polong berisi per tanaman, BBT = bobot biji per tanaman.

Warna tangkai daun dan warna hipokotil keturunan hasil persilangan juga berada pada kisaran kedua tetuanya. Kacang hijau varietas Manyar memiliki hipokotil dan tangkai daun berwarna merah kehijauan disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning yang memiliki hipokotil dan tangkai daun berwarna hijau menghasilkan keturunan dengan hipokotil dan tangkai daun berwarna hijau kemerahan. Demikian juga kacang hijau varietas Sampeong, hipokotilnya berwarna merah kehijauan disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning yang hipokotilnya berwarna hijau menghasilkan keturunan dengan hipokotil berwarna hijau kemerahan. Kacang hijau varietas Merak warna tangkai daunnya hijau disilangkan dengan kacang beras berbiji merah dengan warna tangkai daun merah kehijauan menghasilkan keturunan dengan tangkai daun berwarna hijau kemerahan. Kacang hijau varietas Merak dan Vima memiliki tipe pertumbuhan yang determinat disilangkan dengan kacang beras yang

memiliki tipe pertumbuhan semideterminit menghasilkan keturunan yang cenderung semi determinit.

Kacang hijau kebanyakan memiliki tipe pertumbuhan yang determinit, sehingga umur panen dan tinggi tanamannya lebih rendah dibandingkan kacang beras. Dengan tipe pertumbuhan yang semideterminit dengan tinggi tanaman yang lebih tinggi, kacang beras memiliki jumlah tangkai daun yang lebih banyak. Karakteristik kuantitatif yang sangat berbeda antara kacang hijau dengan kacang beras yaitu jumlah tangkai daun, tinggi tanaman, jumlah polong, umur panen, dan bobot biji per tanaman (Tabel 3). Kacang beras yang memiliki tipe pertumbuhan semideterminit memiliki tinggi tanaman yang cukup besar terutama jika ditanam dilahan sawah dan pada musim penghujan. Umur panen kacang beras untuk panen pertama sekitar tiga bulan sedangkan kacang hijau kebanyakan varietas memiliki umur panen dua bulan. Karakteristik kacang beras yang lainnya yaitu jumlah polongnya yang banyak dan berat biji per tanamannya yang tinggi.

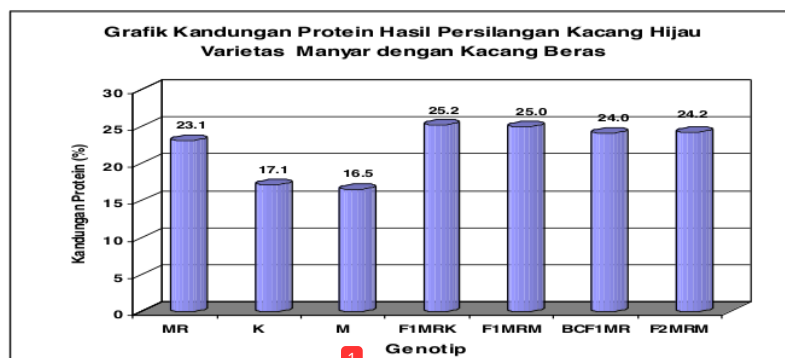
Peran gen untuk karakter kuantitatif umumnya adalah dominan sebagian atau intermediet tidak penuh. Oleh karena itu karakteristik kuantitatif populasi keturunan hasil persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras berada diantara karakteristik kedua tetua terutama yang mudah diamati yaitu tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, umur panen dan berat biji per tanaman. Kacang hijau varietas Merak dengan rata-rata tinggi tanaman 48,5 cm disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning dan merah dengan rata-rata tinggi tanaman menghasilkan keturunan dengan rata-rata tinggi tanaman 60 cm.. Kacang hijau varietas Vima yang memiliki rata-rata jumlah polong 17,5 disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning yang memiliki rata-rata jumlah polong 81 menghasilkan keturunan yang memiliki jumlah polong rata-rata 26,8. Kacang hijau varietas Vima yang memiliki rata-rata umur panen 60 hari disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning yang memiliki rata-rata umur panen 91,3 hari menghasilkan keturunan dengan rata-rata umur panen 64,5 hari. Demikian juga kacang hijau varietas Merak yang memiliki rata-rata berat biji per tanaman 13 g disilangkan dengan kacang beras yang memiliki rata-rata berat biji per tanaman 41,3 g menghasilkan keturunan dengan rata-rata berat biji per tanaman 16 g. Untuk karakteristik kuantitatif yang lain yaitu diameter batang, jumlah cabang, jumlah biji per polong tidak begitu kontras.

Kacang hijau sesuai dengan namanya bijinya umumnya berwarna hijau disilangkan dengan kacang beras dengan biji kuning akan menghasilkan keturunan dengan warna biji hijau kekuningan dan hijau kemerahan jika disilangkan dengan kacang beras berbiji merah. Karakteristik kualitatif populasi keturunan persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras ini umumnya berada diantara karakteristik kedua tetuanya. Karakter warna dikategorikan dalam sifat kualitatif karena umumnya dikendalikan secara monogenetik yang dikendalikan oleh satu atau dua gen pengendali serta kurang dipengaruhi oleh faktor lingkungan dalam ekspresinya. Mittapalli dan Rowland (2003) melaporkan bahwa warna biji kuning pada tanaman flax dikendalikan oleh gen resesif. Karakter kualitatif dibedakan dengan karakter kuantitatif dimana karakter kualitatif umumnya mudah diklasifikasikan dalam kelas dan urutan kelas kurang menjadi pertimbangan. Menurut Purnomo, dkk. (2001), warna biji, warna polong, warna hipokotil termasuk sifat kualitatif kacang hijau.

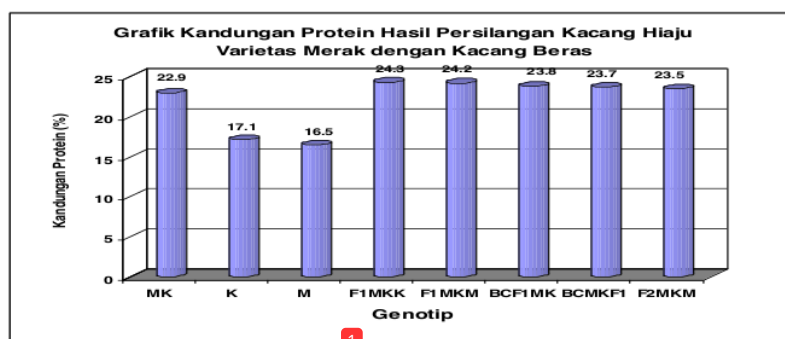
Hibridisasi dikatakan berhasil jika gen-gen yang mengendalikan sifat unggul pada tetua jantan dapat diwariskan kepada keturunannya. Oleh karena itu perlu evaluasi hasil hibridisasi untuk mengetahui viabilitas, sterilitas, dan perubahan karakteristik pada keturunannya baik karakter kualitatif, kuantitatif, ketahanan terhadap hama penyakit dan kandungan nutrisinya.

### 6.3. Evaluasi Kandungan Protein dan Karbohidrat

Hal yang menarik pada karakteristik populasi keturunan hasil persilangan antar spesies kacang hijau dan kacang beras adalah kandungan protein. Kandungan protein keturunan hasil persilangan lebih tinggi dibandingkan rata-rata tetua bahkan tetua terbaiknya pada semua varietas yang diuji (Gambar 7–10). Kacang hijau sebagai tetua betina memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan tetua jantan yaitu kacang beras. Kacang hijau varietas Manyar yang mengandung protein 23,1% disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning yang mengandung protein 17,1 % menghasilkan keturunan pertama (F1MRK) dengan kandungan protein 25,2 %. Kacang hijau ini jika disilangkan dengan kacang beras berbiji merah yang mengandung protein yang mengandung protein 16,5 % menghasilkan keturunan pertama (F1MRM) sebesar 25 % dan keturunan kedua (F2MRM) sebesar 24,2 % (Gambar 7).

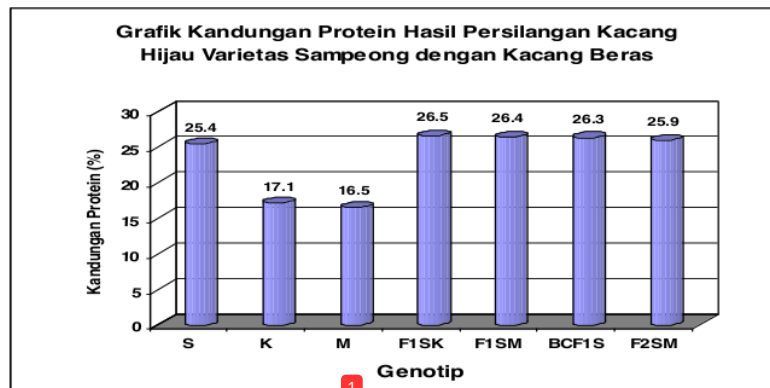


Gambar 7. Grafik Kandungan Protein Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Manyar (MR) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)

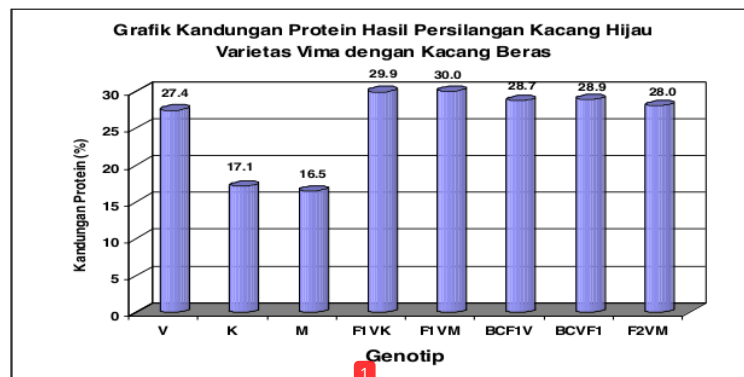


Gambar 8. Grafik Kandungan Protein Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Merak (MK) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)

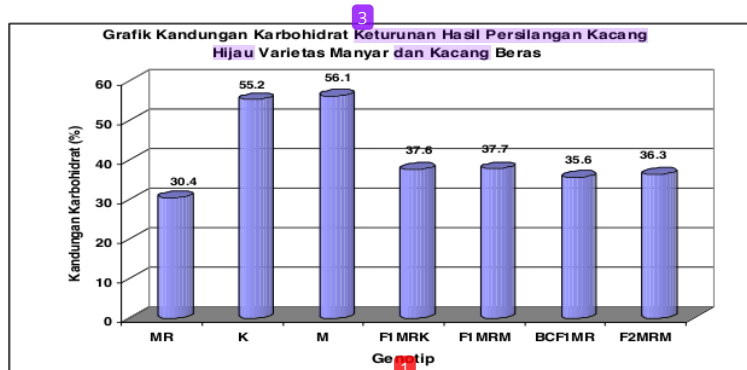




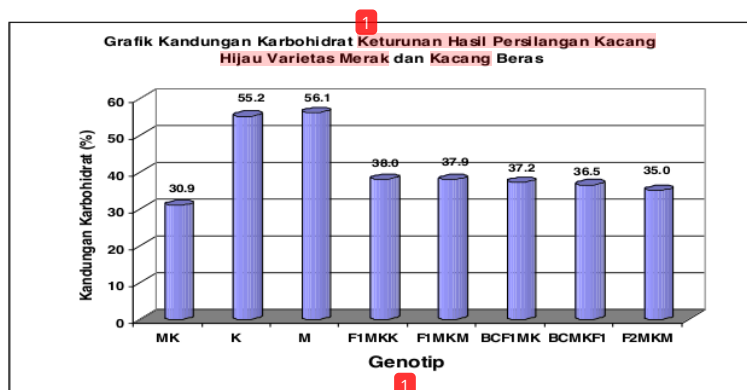
Gambar 9. Grafik Kandungan Protein Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Sampeong (S) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)



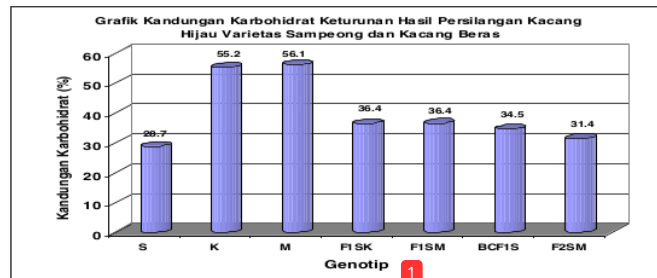
Gambar 10. Grafik Kandungan Protein Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Vima (V) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)



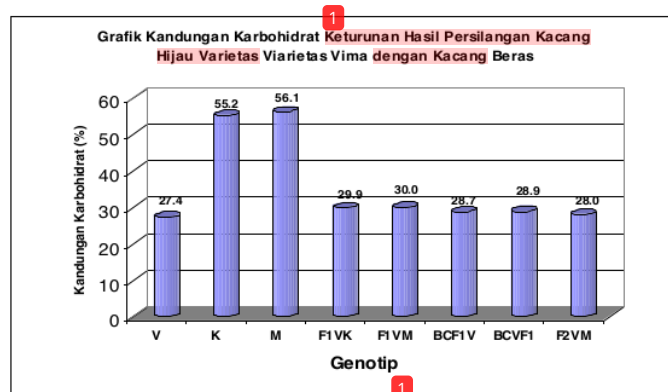
Gambar 11. Grafik Kandungan Karbohidrat Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Manyar (MR) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)



Gambar 12. Grafik Kandungan Karbohidrat Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Merak (MK) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)



Gambar 13. Grafik Kandungan Karbohidrat Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Sampeong (S) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)



Gambar 14. Grafik Kandungan Karbohidrat Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Vima (V) dengan Kacang Beras Kuning (K) dan Merah (M)

Pada Gambar 8 terlihat bahwa kandungan protein keturunan pertama (F1MCK) sebesar 24,3 % hasil persilangan kacang hijau varietas Merak yang mengandung protein 22,9% dan kacang beras berbiji kuning yang mengandung protein 17,1 %. Kacang hijau ini jika disilangkan dengan kacang beras berbiji merah yang mengandung protein yang mengandung protein 16,5 % menghasilkan keturunan pertama (F1MKM) sebesar 24,2 % dan keturunan kedua (F2MRM) sebesar 23,5 %. Demikian juga untuk keturunan pertama persilangan kacang hijau varietas sampeong dengan kacang beras kuning (F1SK)

mengandung protein sebesar 26,5 %, lebih tinggi dari tetuanya (Gambar 9).

<sup>3</sup> Keturunan pertama hasil persilangan antar spesies kacang hijau dengan kacang beras mengandung protein yang tinggi yaitu sekitar 30 % melebihi rata-rata semua tetua maupun tetua terbaiknya. Kacang hijau varietas Vima yang mengandung protein 27,4 % disilangkan dengan kacang beras kuning dan merah menghasilkan keturunan pertama (F1VK) dan (F1VM) masing-masing sebesar 29,9% dan 30,0 %. Keturunan kedua jika disilangkan dengan kacang beras merah (F2VM) mengandung protein 28 %, masih lebih tinggi dari tetuanya. Karakteristik kandungan karbohidrat pada populasi keturunan hasil persilangan berada pada kisaran kedua tetuanya (Gambar 11–14). Tetua kacang hijau mengandung kadar karbohidrat antara 27,4% hingga 30,9%, sedangkan tetua jantan yaitu kacang beras mengandung karbohidrat 55,2% hingga 56,1 % menghasilkan keturunan dengan kandungan karbohidrat antara 28 % hingga 38 %.

#### 6.4. Evaluasi Ketahanan Hama

<sup>1</sup> Evaluasi ketahanan populasi <sup>1</sup> terhadap hama kumbang bubuk terdiri atas penyiapan benih, botol dan kumbang bubuk. Pada setiap botol diisi 200 biji dan 20 kumbang bubuk. Alat yang digunakan meliputi spidol, stiker label, nampan plastik, kuas, botol kecil dengan diameter 4 cm dan tinggi 10 cm, kain kasa yang porinya kecil. Biji yang akan dievaluasi ditimbang lalu dimasukkan ke dalam botol yang sudah dipersiapkan. Kumbang betina masing-masing 20 ekor dimasukkan kedalam setiap botol, caranya kuas diletakkan pada wadah yang berisi kumbang, setelah kumbang merambat pada kuas, kuas diketukkan pada botol yang sudah berisi biji sambil menghantam kumbang yang jatuh. Botol yang sudah berisi biji dari genotip yang diuji dan kumbang bubuk ditutup dengan kain kasa dan ditempatkan pada nampan plastik.



Gambar 15. Botol-botol yang Telah Diinvestasi dengan Hama Bruchus

1 Kondisi optimal untuk perkembangan hama kumbang bubuk adalah kadar air benih antara 12 -14, suhu udara 28 – 30°C dengan kelembaban udara 65-70 RH. Setelah satu minggu, kumbang bubuk dikeluarkan dari botol kemudian ditutup kembali dan dibiarkan selama satu bulan. Pengamatan jumlah kumbang bubuk yang pertama dilakukan setelah dibiarkan satu bulan dengan cara mengeluarkan dan menghitung semua kumbang yang ada pada masing-masing botol kemudian ditutup kembali dan dibiarkan selama 14 hari.

Penilaian ketahanan terhadap hama kumbang bubuk dilakukan dengan mengikuti metode yang baku. Pengukuran ketahanan biji terhadap serangan kumbang bubuk tidak saja didasarkan faktor serangnya, tetapi juga mempertimbangkan faktor bijinya. Variabel yang digunakan untuk menentukan ketahanan biji hasil persilangan antara kacang hijau dengan kacang beras adalah jumlah telur, jumlah imago, perubahan berat sebelum dan sesudah infestasi, dan tingkat kerusakan biji.

1 Untuk mengetahui peran gen dan pewarisan ketahanan terhadap hama kumbang bubuk mendasarkan pada rasio perbandingan yang paling sesuai yaitu yang nilai probabilitasnya paling tinggi. Rasio pola pewarisannya apakah mengikuti nisbah 3 : 1 (dominan sempurna), 9 : 7 (epistasis resesif ganda), 13: 3 (epistasis dominan dan resesif), atau 15 : 1 (epistasi dominan ganda), 9:3:3:1 (dominan penuh), 1:2:1 (tanpa dominan), 9:3:4 (epistasi resesif), 9:6:1 (gen-gen rangkap dengan pengaruh komulatif), atau 12:3:1 (epistasi dominan). Data hasil pengamatan pada populasi F2 dikelompokkan untuk mendekati pola pewarisan yang diduga. Hasil dari pengelompokan data dicocokkan dengan setiap nilai harapan dan simpangan menggunakan uji  $\chi^2$  (*chi-square*).

Tabel 4. Tingkat Ketahanan Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau dan Kacang Beras terhadap Hama Kumbang Bubuk Berdasarkan Metode Chiang dan Talekar (1980)

No.	Populasi yang Diuji	Jumlah Telur	Jumlah Biji Rusak	Tingkat Kerusakan (%)	Ketahanan Keturunan
1.	VIMA	375	148	74.0	Sangat Rentan
2.	SAMPEONG	271	143	71.5	Sangat Rentan
3.	MANYAR	253	135	67.5	Rentan
4.	MERAK	324	168	84.0	Sangat Rentan
5.	RBK	73	17	8.5	Sangat Tahan
6.	RBM	78	11	5.5	Sangat Tahan
7.	MANYAR X RBK	213	45	22.5	Agak Tahan
8.	MANYAR X RBM	221	42	21.0	Agak Tahan
9.	MERAK X RBK	317	56	28.0	Agak Tahan
10.	MERAK X RBM	302	53	26.5	Agak Tahan
11.	SAMPEONG x RBK	256	48	24.0	Agak Tahan
12.	SAMPEONG x RBM	247	51	25.5	Agak Tahan
13.	VIMA X RBK	344	56	28.0	Agak Tahan
14.	VIMA X RBM	321	59	29.5	Agak Tahan

Sumber: Ujianto (2010)

Keterangan: RBM = kacang beras berbiji merah, dan RBK = kacang beras berbiji kuning

Pada kadar air tertentu hama kumbang bubuk mudah menyerang yaitu pada kadar air di atas 10, sedangkan pada kadar air di bawah 10 hama ini jarang atau sulit menyerang. Kondisi temperatur yang optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan hama ini adalah antara 26 – 31 °C. Kelembaban yang mendorong berkembangnya hama ini yaitu jika di atas 65.

Menurut Talekar (1997), tanaman yang rentan dan kondisi lingkungan yang mendukung akan menyebabkan terserangnya biji-biji tanaman ini dari hama kumbang bubuk, sebaliknya tanaman yang tahan dan kondisi lingkungan yang tidak mendukung akan menyulitkan hama ini menyerang dan berkembang. Dari hasil penelitian ini terdapat



3 perubahan tingkat ketahanan populasi hasil persilangan antar spesies terhadap hama kumbang bubuk. Tingkat ketahanan populasi keturunan lebih tinggi dibandingkan tetua kacang hijau tetapi masih lebih rendah dibandingkan kacang beras.

Persilangan antara kacang hijau dan kacang beras menghasilkan populasi keturunan yang memiliki ketahanan terhadap hama kumbang bubuk dalam kategori agak tahan dan tahan. Hal ini berarti karakteristik populasi keturunan hasil persilangan lebih cenderung ke tetua jantan sebagai donor gen ketahanan terhadap hama kumbang bubuk. Berdasarkan hasil analisis data, tingkat ketahanan terhadap kumbang bubuk antara keturunan persilangan yang satu dengan yang lainnya berbeda. Hal ini disebabkan karena tingkat ketahanan dari kedua tetuanya juga berbeda. Tingkat ketahanan terhadap kumbang bubuk disamping dipengaruhi oleh faktor genetik juga dipengaruhi faktor lingkungan.

Faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap tingkat ketahanan adalah kadar air benih, temperatur dan kelembaban udara. Pada kadar air tertentu hama kumbang bubuk mudah menyerang yaitu pada kadar air di atas 10, sedangkan pada kadar air di bawah 10 hama ini jarang atau sulit menyerang. Kondisi temperature yang optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan hama ini adalah antara 26 – 31 °C. Kelembaban yang mendorong berkembangnya hama ini yaitu jika di atas 65. Menurut Panda dan Khush (1995), selain dipengaruhi faktor genetik, ketahanan biji terhadap hama juga dipengaruhi faktor lingkungan atau ekologi. Dalam ketahanan lingkungan dikenal ketahanan semu (pseudoresistance) dan ketahanan induksi. Ketahanan semu adalah ketahanan tanaman yang terjadi karena adanya sifat tanaman yang mampu menghindari serangan hama, misalnya umur tanaman yang lebih pendek. Ketahanan induksi merupakan ketahanan tanaman yang terjadi karena adanya perubahan lingkungan atau adanya induksi ke dalam lingkungan tumbuh.

Setiap Ahli Entomologi biasanya menggunakan parameter yang tidak selalu sama. Parameter yang biasa digunakan untuk mengetahui tingkat ketahanan biji yaitu jumlah dan tingkat kerusakan biji, jumlah imago yang terbentuk dan dapat berlangsung hidup, disamping perbedaan berat antara sebelum dan setelah diinvestasi dan diserang. Tanaman yang rentan dan kondisi lingkungan yang mendukung akan menyebabkan terserangnya biji-biji tanaman ini dari hama kumbang bubuk, sebaliknya tanaman yang tahan dan kondisi lingkungan yang

3 tidak mendukung akan menyulitkan hama ini menyerang dan berkembang. Dari hasil penelitian ini terdapat perubahan tingkat ketahanan populasi hasil persilangan antar spesies terhadap hama kumbang bubuk. Tingkat ketahanan populasi keturunan lebih tinggi dibandingkan tetua kacang hijau tetapi masih lebih rendah dibandingkan kacang beras.

Hama kumbang bubuk merupakan hama gudang yang sering menyerang biji-biji kacang hijau yang sedang disimpan. Tingkat kerusakan biji kacang hijau akibat hama kumbang bubuk bisa rusak total. Hama kumbang bubuk dalam menyerang biji kacang hijau melalui tiga cara yaitu: 1). mengurangi berat biji dengan melubangi biji, 2). merubah kualitas nutrisi biji dan mengeluarkan bau tidak enak, 3). Menghilangkan viabilitas benih. Penyimpanan biji kacang hijau sangat menentukan kualitas dan kuantitas produk yang disimpan sehingga perlu mendapat perhatian yang serius. Besarnya tingkat serangan hama kumbang bubuk ini dalam waktu relatif pendek salah satu penyebabnya adalah siklus hidup hama ini yang relatif singkat dan jumlah telur yang dihasilkan per individu sangat banyak. Menurut Ahmed, *et al.* (2003) siklus hidup hama ini hanya sekitar 35 hari. Lamanya fase larva instar 1, 2, 3, 4, dan pupa berturut-turut: 7-12, 12-16, 16-19, 19-22, dan 22-27. Umumnya kumbang muncul dari biji sekitar 31 hari. Menurut Talekar dan Lin (1981), satu kumbang betina mampu bertelur sebanyak 78 – 150.

Pengendalian hama kumbang bubuk sangat tidak dianjurkan menggunakan pestisida atau bahan kimia lain. Kacang-kacangan merupakan komoditas yang rentan terhadap infestasi hama gudang. Serangan hama kumbang bubuk ini sudah bisa diatasi dengan pemberian bahan-bahan tertentu seperti serbuk cabai atau cabai kering (Echenoz, 2006), serbuk tanaman *Murraya koenigii* dan *Eupatorium cannabinum* (Shukla, *et al.*, 2007). Menurut Somta *et al.* (2006) penggunaan campuran tepung biji kacang beras yang tahan efektif mengendalikan hama kumbang bubuk ini. Biji kacang hijau yang rentan diberi bubuk campuran beberapa aksesori kacang beras menunjukkan bahwa jumlah kumbang dewasa yang muncul dari biji sangat sedikit sekali. Rata-rata kumbang dewasa yang muncul kurang dari satu dibandingkan biji yang tidak diberi bubuk rata-rata 3 atau lebih kumbang bubuk dewasa yang muncul. Hasil ini menunjukkan faktor antibiosis hadir pada kotiledon biji kacang beras dan bertanggung jawab terhadap ketahanan terhadap hama kumbang bubuk.

<sup>1</sup> Srinivasan dan Durairaj (2007) melaporkan bahwa mekanisme ketahanan biji kacang beras terhadap hama kumbang bubuk adalah antibiosis. Antibiosis adalah semua pengaruh fisiologis pada serangga yang merugikan dan bersifat sementara atau tetap, yang merupakan akibat dari serangga memakan dan mencerna jaringan atau cairan tertentu tanaman. Menurut Kogan dan Ortman (1978), gejala-gejala akibat antibiosis pada serangga diantaranya adalah kematian larva, pengurangan laju pertumbuhan, peningkatan mortalitas pupa, ketidakberhasilan dewasa keluar dari pupa, imago tidak normal, fertilitas rendah, masa hidup serangga berkurang, dan terjadi malformasi morfologik. Menurut Somta *et al.* (2006), karakter morfologi seperti ketebalan kulit biji, ukuran biji, dan kekerasan biji tidak mempengaruhi ketahanan biji terhadap hama kumbang bubuk *C. maculatus*. Kematian larva dan pupa di dalam biji disebabkan oleh faktor antinutrisional dalam kotiledon. Hasil penelitian Srinivasan dan Durairaj (2007) menunjukkan bahwa diantara beberapa analisis biokim<sup>1</sup> yang beragam, penghambat trypsin pada aksesi yang tahan adalah 3-5 kali lebih tinggi dibandingkan aksesi yang rentan. Hal yang sama penghambat protease cystein adalah tujuh kali lebih tinggi pada aksesi yang tahan dibanding aksesi yang rentan. Korelasi antara faktor nutrisi yang berbeda dengan indeks kecocokan juga menunjukkan hubungan yang negatif.

<sup>1</sup> Karena hama ini menyerang biji, maka pengendalian menggunakan bahan-bahan tertentu kurang disukai konsumen apalagi penggunaan pestisida sangat berbahaya terutama untuk kesehatan manusia (Islam dan Khan, 2000.; Kartasaputra, 1987; Keals, 1998). Salah satu cara pengendalian hama kumbang bubuk dengan menggunakan varietas unggul yang tahan terhadap hama ini. Penggunaan varietas tahan mempunyai beberapa keunggulan dibanding cara pengendalian hama yang lain. Keunggulan tersebut antara lain biayanya murah dan mudah penerapannya, aman dan tidak mengganggu kesehatan, tidak menimbulkan pencemaran baik terhadap hasil tanaman maupun lingkungan, dapat melestarikan musuh alami, tidak mengganggu keseimbangan alam karena gen sumber ketahanannya dari alam, dan tidak memerlukan alat untuk penerapannya (Sumarno, 1991; La Muhuria, 2003). Oleh karena itu berbagai upaya untuk perbaikan ketahanan genetik tanaman kacang hijau terhadap hama kumbang bubuk ini perlu terus dilakukan.

## **BAB VII.**

### **ANALISIS GENETIK**

---

#### **7.1. Pendugaan Heterosis dan Heterobeltiosis**

Untuk menduga adanya heterosis atau peran gen overdominan digunakan rumus berikut (Singh, Sharma dan Sain. 2004):

Heterosis melebihi rata-rata tetua (H%)

$$H\% = [(F1 - MP)/MP \times 100]$$

$$SE (F1 - MP) = (3Me/2r)^{1/2}$$

Heterosis melebihi tetua yang lebih baik (HB%)

$$HB\% = [(F1 - BP)/BP * 100]$$

$$SE (F1 - BP) = (2Me/r)^{1/2}$$

dimana Me= Kuadrat tengah galat untuk tetua; F1 = rata-rata keturunan pertama ; MP = nilai rata-rata tetua = (P1 + P2)/2; P1 = rata-rata penampakan tetua satu; P2= rata-rata penampakan tetua dua; BP = nilai rata-rata tetua yang lebih baik; r = banyaknya ulangan.

Kandungan protein keturunan hasil persilangan kacang hijau dengan kacang beras lebih tinggi dibandingkan kandungan protein rata-rata tetua maupun tetua terbaiknya yaitu kacang hijau. Peran gen untuk kandungan protein diduga adalah overdominan. Keturunan pertama hasil persilangan kacang hijau varietas Vima dengan kacang beras

berbiji merah (V x RBM) memiliki nilai heterosis dan heterobeltiosis yang lebih tinggi dibandingkan hibrida yang lainnya yaitu sebesar 18,38 % dan 9,46 % (Tabel 5).

Tabel 5. Nilai Heterosis (H) dan Heterobeltiosis Kandungan Protein (%) pada Beberapa Keturunan Hasil Persilangan

No.	Persilangan	F1	MP	BP	H (%)	HB (%)
1	MR x RBK	25,230	20,123	23,120	12,68	9,126
2	MK x RBK	24,307	20,033	22,940	10,67	5,958
3	S x RBK	26,500	21,272	25,417	12,28	4,262
4	V x RBK	29,903	22,260	27,393	17,16	9,163
5	MR x RBM	24,977	19,787	23,120	13,13	8,031
6	MK x RBM	24,180	19,697	22,940	11,74	5,405
7	S x RBM	26,387	20,935	25,417	13,03	3,816
8	V x RBM	29,983	21,923	27,393	18,38	9,455

Sumber: Ujjianto (2020)

Keterangan : F1 = keturunan pertama, MP = nilai tengah kedua tetua, BP = nilai tetua terbaik, H = heterosis, HB = heterobeltiosis, MR = kacang hijau varietas Manyar, MK = kacang hijau varietas Merak, S = kacang hijau varietas Sampeong, V = kacang hijau varietas Vima, RBK = kacang beras berbiji kuning, RBM = kacang beras berbiji merah, F1 = keturunan pertama

Tabel 6. Nilai Heterosis (H) dan Heterobeltiosis Kandungan Protein (%) pada Beberapa Keturunan Hasil Persilangan

No.	Persilangan	F1	MP	BP	H (%)	HB (%)
1	MR x RBK	25,230	20,123	23,120	12,68	9,126
2	MK x RBK	24,307	20,033	22,940	10,67	5,958
3	S x RBK	26,500	21,272	25,417	12,28	4,262
4	V x RBK	29,903	22,260	27,393	17,16	9,163
5	MR x RBM	24,977	19,787	23,120	13,13	8,031
6	MK x RBM	24,180	19,697	22,940	11,74	5,405
7	S x RBM	26,387	20,935	25,417	13,03	3,816
8	V x RBM	29,983	21,923	27,393	18,38	9,455

Sumber: Ujjianto (2020)

Keterangan : F1 = keturunan pertama, MP = nilai tengah kedua tetua, BP = nilai tetua terbaik, H = heterosis, HB = heterobeltiosis, MR = kacang hijau varietas Manyar, MK = kacang hijau varietas Merak, S = kacang hijau varietas Sampeong, V = kacang hijau varietas Vima, RBK = kacang beras berbiji kuning, RBM = kacang beras berbiji merah, F1 = keturunan pertama

Kacang hijau varietas Vima memiliki kandungan protein yang tinggi dibandingkan varietas yang lainnya sehingga keturunannya memiliki nilai heterosis dan heterobeltiosis yang tinggi baik disilangkan dengan kacang beras berbiji kuning maupun merah. Kacang hijau varietas Merak memiliki kandungan protein yang relatif rendah sehingga keturunannya nilai heterosis dan heterobeltiosisnya juga rendah. Nilai heterosis didasarkan pada nilai tengah kedua tetua, sedangkan heterobeltiosis didasarkan pada nilai tetua tertinggi.

Kandungan protein keturunan hasil persilangan kacang hijau dengan kacang beras lebih tinggi dibandingkan kandungan protein rata-rata tetua maupun tetua terbaiknya yaitu kacang hijau. Peran gen untuk kandungan protein diduga adalah overdominan. Keturunan pertama hasil persilangan kacang hijau varietas Vima dengan kacang beras berbiji merah (V x RBM) memiliki nilai heterosis dan heterobeltiosis yang lebih tinggi dibandingkan hibrida yang lainnya yaitu sebesar 18,38 % dan 9,46 % (Tabel 6).

## 7.2. Pendugaan Peran Gen

Percobaan untuk pendugaan peran gen sejumlah karakter kualitatif dan kuantitatif dilakukan di lahan petani di Desa Peresak Kecamatan Narmada Kabupaten Lombok Barat, Propinsi Nusa Tenggara Barat. Percobaan ini dilaksanakan mulai bulan September 2010 hingga Januari 2011.

Bahan untuk pendugaan peran gen sejumlah karakter kualitatif dan kuantitatif adalah semua populasi yang ada yaitu empat populasi tetua betina (P1), dua populasi tetua jantan (P2), enam populasi keturunan pertama (F1), delapan populasi hasil silang balik (BC1.1.) dan enam populasi keturunan kedua (F2). Keenam pasang persilangan tersebut yaitu antara kacang hijau varietas Manyar dengan kacang beras berbiji kuning (MR x RBK), varietas Manyar dengan kacang beras berbiji kuning (MR x RBM), varietas Merak dengan kacang beras berbiji merah (MK x RBM), varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji kuning (S x RBK), varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji kuning (S x RBM), dan varietas Vima dengan kacang beras berbiji merah (V x RBM).

Alat untuk pengamatan berupa timbangan, counter, penggaris, jangka sorong, pipet, petridish, dan mikroskop. Alat untuk pendugaan peran gen ketahanan terhadap hama kumbang bubuk berupa botol, kain



kasa, nampan plastik, counter, kuas. Alat penanaman dan pemeliharaan seperti penugal, semprot, cangkul juga digunakan dalam percobaan ini.

Pada percobaan ini menggunakan rancangan acak kelompok dan masing-masing perlakuan diulang empat kali. Percobaan pendugaan peran gen dilakukan di lapang dengan mengikutkan semua populasi yang ada yaitu kedua tetua, keturunan pertama, silang balik, dan populasi F2. Percobaan ini dibagi dalam tiga kelompok. Kelompok pertama terdiri atas keturunan pasangan persilangan kacang hijau varietas Manyar dan Sampeong dengan kacang beras berbiji kuning dan merah. Banyaknya genotip yang diuji ada 16 yaitu empat tetua, empat keturunan pertama, empat silang balik, dan empat keturunan kedua. Kelompok kedua terdiri atas keturunan pasangan persilangan kacang hijau varietas Merak dan Vima dengan kacang beras berbiji merah. Banyaknya genotip yang diuji ada 11 yaitu tiga tetua, dua keturunan pertama, empat silang balik, dan dua keturunan kedua. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dan tiap perlakuan diulang empat kali. Untuk evaluasi peran gen ketahanan dilakukan pada ruangan dengan menggunakan botol sebagai unit percobaan.

Untuk percobaan di lapang, luas lahan yang digunakan adalah kurang lebih 1500 m<sup>2</sup>. Petak lahan dibagi dalam 10 blok, 8 blok untuk evaluasi dan 2 blok untuk penanaman tanaman cadangan, dengan ukuran 40 m x 2,5 m dan tiap blok dibagi dalam plot-plot. Adapun cara bercocok tanamnya sesuai anjuran yaitu 40 cm x 15 cm. Masing-masing tetua (P1 dan P2) dan F1 ditanam 2 baris (30 tanaman tiap ulangan), sedangkan BC1.1. ditanam 3 baris (45 tanaman tiap ulangan), dan F2 ditanam 15 baris (225 tanaman tiap ulangan). Pemupukan menggunakan 50 kg/ha Urea, 100 kg/ha Superphos dan 50 kg/ha KCl. Pupuk diberikan bersamaan dengan penanaman. Pemupukan dilakukan secara tugal dengan jarak 5 cm dari tanaman. Penyiangan dilakukan pada saat tanaman berumur 2 dan 4 minggu setelah tanam.

Pengendalian hama digunakan Confidor 200 SL dengan konsentrasi 2 ml/l air. Penyemprotan dilakukan pada saat tanaman berumur 14 dan 28 hari setelah tanam. Untuk pengendalian penyakit digunakan Dithane M-45 80WP dengan konsentrasi 2 g/l. Penyemprotan dilakukan pada saat tanaman berumur 21 hari setelah tanam. Pengairan tidak dilakukan karena kebutuhan air sudah cukup dari air hujan. Pemanenan dilakukan apabila batang sudah mengeras, daun menguning dan sebagian berguguran, polong sudah berisi penuh dan keras.

Tabel 7. Peran Gen Semua Karakter Kuantitatif yang Diamati pada Beberapa Pasang Persilangan

Karakter	Persilangan	Tetua Rendah	Rerata Tetua	Tetua Tinggi	F1	Nisbah Potensi	Peran Gen
Tinggi Tanaman	MR x RBK	68.60	99.15	129.70	75.60	0.385	dominan sebagian
	MR X RBM	68.60	92.90	117.20	73.90	0.391	dominan sebagian
	MK x RBM	62.40	87.70	113.00	51.00	0.725	dominan sebagian
	S x RBK	68.40	99.05	129.70	72.20	0.438	dominan sebagian
	S x RBM	68.40	92.80	117.20	78.70	0.289	dominan sebagian
	V x RBM	41.80	79.55	117.30	54.50	0.332	dominan sebagian
Umur Panen	MR x RBK	68.86	81.83	94.80	71.20	0.410	dominan sebagian
	MR X RBM	68.86	82.28	95.70	71.50	0.402	dominan sebagian
	MK x RBM	61.91	76.79	91.66	63.26	0.455	dominan sebagian
	S x RBK	70.56	82.68	94.80	74.50	0.337	dominan sebagian
	S x RBM	70.56	83.13	95.70	74.40	0.347	dominan sebagian
	V x RBM	59.21	75.44	91.66	64.14	0.348	dominan sebagian
Jumlah Polong Per Tanaman	MR x RBK	18.70	36.95	55.20	21.40	0.426	dominan sebagian
	MR X RBM	18.70	37.15	55.60	20.70	0.446	dominan sebagian
	MK x RBM	15.61	34.15	52.69	17.40	0.452	dominan sebagian
	S x RBK	15.40	35.30	55.20	22.80	0.314	dominan sebagian
	S x RBM	15.40	35.50	55.60	22.80	0.316	dominan sebagian
	V x RBM	14.62	33.66	52.69	17.60	0.422	dominan sebagian
Jumlah Biji per Polong	MR x RBK	9.72	10.01	10.30	10.00	0.017	aditif
	MR X RBM	9.72	9.81	9.90	10.00	1.056	dominan
	MK x RBM	9.83	10.18	10.53	9.97	0.300	dominan sebagian
	S x RBK	9.80	10.05	10.30	10.00	0.100	aditif
	S x RBM	9.80	9.85	9.90	9.80	0.500	dominan sebagian
	V x RBM	9.77	10.15	10.53	9.94	0.276	dominan sebagian
Berat Biji Per Tanaman	MR x RBK	9.63	19.22	28.80	12.40	0.356	dominan sebagian
	MR X RBM	9.63	18.22	26.80	10.60	0.444	dominan sebagian
	MK x RBM	8.40	18.95	29.50	9.40	0.453	dominan sebagian
	S x RBK	7.90	18.35	28.80	10.80	0.361	dominan sebagian
	S x RBM	7.90	17.35	26.80	11.70	0.299	dominan sebagian
	V x RBM	7.60	18.55	29.50	10.60	0.363	dominan sebagian

Sumber : Ujianto (2010)

Keterangan: MR = kacang hijau varietas Manyar, MK = kacang hijau varietas Merak, S = kacang hijau varietas Sampeong, V = kacang hijau varietas kacang hijau varietas Vima, RBK = kacang beras berbiji kuning, RBM = kacang hijau berbiji merah.

Sifat yang diamati terdiri dari daya kecambah benih, <sup>3</sup> jumlah polong per tanaman, jumlah biji per polong, panjang polong, jumlah biji per polong dan berat biji per tanaman, tinggi tanaman, jumlah tangkai daun, jumlah tangkai polong, umur berbunga, umur panen, kandungan karbohidrat, kandungan protein. Sifat kualitatif yang diamati yaitu warna bunga, warna polong muda dan tua, warna biji, warna hipokotil dan epikotil, warna daun dan tangkai daun, warna batang, bentuk biji dan polong, ukuran biji, posisi polong, dan tipe pertumbuhan.

Persilangan antar spesies biasanya akan meningkatkan keragaman genetik akibat adanya penggabungan sifat dari kedua tetua yang berbeda karakteristiknya baik yang diinginkan maupun tidak. Keragaman genetik karakter keturunan hasil persilangan merupakan kontribusi gen dari kedua tetua dengan tingkat peran yang berbeda antara karakter yang satu dengan yang lain. Besarnya kontribusi tetua kepada keturunannya sangat tergantung pada peran gennya apakah aditif, dominan, dominan sebagian, atau overdominan. Pendugaan peran gen pada keturunan hasil persilangan dikaji pada beberapa karakter yaitu: 1). Karakter kuantitatif dan kualitatif, 2). Kandungan protein, dan 3). Ketahanan terhadap hama kumbang bubuk.

Pada Tabel 7 terlihat bahwa peran gen antara karakter kuantitatif satu berbeda dengan yang lain. Sebagian besar peran gennya adalah dominan sebagian. Per<sup>3</sup> gen untuk karakter tinggi tanaman, umur berbunga, umur panen, jumlah polong per tanaman, dan berat biji per tanaman adalah dominan sebagian. Karakter diameter batang, tiga pasang persilangan peran gennya adalah dominan sebagian, dua pasang dominan dan satu pasang aditif. Karakter jumlah cabang, lima pasang persilangan peran gennya adalah aditif dan satu pasang dominan sebagian. Karakter jumlah biji per polong, tiga pasang persilangan peran gennya adalah dominan sebagian, dua pasang aditif, dan satu pasang dominan.

Penentuan peran gen untuk karakter kuantitatif mendasarkan pada nilai nisbah potensi yang mencerminkan derajat dominansi (Petr dan Jink, 1966). Apabila nisbah potensinya berada dibawah nilai 0.25 termasuk peran gen aditif. Hal ini berarti derajat dominansinya rendah, peran antara tetua betina dan jantan relatif sama. Nilai nisbah potensi antara 0,25 hingga 0,75 termasuk peran gen dominan sebagian. Hal ini berarti terdapat salah satu tetua yang memiliki peranan lebih penting dibandingkan tetua yang lain. Nilai nisbah potensi antara 0.75 hingga

1,25 memiliki peran gen dominan. Hal ini berarti salah satu tetua yang memiliki peranan dalam pewarisan sifat kepada keturunannya. Nilai nisbah yang lebih besar dari 1,25 peran gennya termasuk overdominan atau dominan lebih. Hal ini berarti bahwa keturunannya memiliki karakter yang lebih baik dibandingkan rata-rata tetua atau tetua terbaiknya. Peran gen antara karakter yang satu berbeda dengan karakter yang lain menunjukkan bahwa peranan antara tetua yang satu berbeda dengan yang lain.

Tabel 8. Peran Gen Sejumlah Karakter Kualitatif yang Diamati

Karakter	Tetua Betina	F1	Tetua Jantan	Peran Gen
Warna Biji	Hijau kusam	Hijau agak kekuningan	Kuning	Dominan sebagian Dominan sebagian
	Hijau kilap	Hijau agak kemerahan	Merah	
Warna Bunga	Kuning kelabu	Kuning	Kuning cerah	Aditif
	Kuning kelabu	Kuning	Kuning	Aditif
Warna Tangkai Daun	Merah kehijauan	Hijau kemerahan	Hijau	Aditif
	Hijau	Hijau kemerahan	Merah kehijauan	Aditif
Warna Hipokotil	Merah kehijauan	Hijau kemerahan	Hijau	Aditif
	Hijau	Hijau agak kemerahan	Hijau kemerahan	Aditif
Tipe Pertumbuhan	Semideterminit	Semideterminit	Semideterminit	Aditif
	Determinit	Cenderung Semideterminit	Semideterminit	Aditif

Sumber: Ujianto (2010)

Pada Tabel 8 terlihat bahwa peran gen untuk sifat kualitatif sebagian besar adalah aditif, hanya warna biji yang peran gennya dominan sebagian. Untuk sifat kualitatif keturunan hasil persilangan umumnya berada di antara karakteristik kedua tetua. Karakteristik warna biji beragam antara keturunan yang satu dengan yang lain berkisar antar warna biji tetua betina dan tetua jantan. Karakteristik warna bunga, warna hipokotil, warna tangkai daun, dan tipe pertumbuhan berada diantara kedua tetua.

Tabel 9. Ragam Genetik, Koefisien Keragaman Genetik, dan Nilai Duga Heritabilitas (%) berdasarkan Koefisien Regresi Tetua Keturunan pada Semua Sifat Kuantitatif yang Diamati

Sifat Kuantitatif	Pasangan Persilangan	Ragam Genetik	KKG (%)	Heritabilitas Tetua Jantan - keturunan	Heritabilitas Tetua Betina - Keturunan
Tinggi Tanaman	MR x RBK	89,336	12.27	10.18	7.65
	MR x RBM	109,265	13.56	8.17	3.52
	MK x RBM	30,968	8.79	26.14	3.54
	S x RBK	92,377	12.55	36.79	18.16
	S x RBM	87,553	12.15	21.09	38.94
	V x RBM	49,469	12.78	52.33	34.27
Jumlah Polong	MR x RBK	28,369	22.24	41.28	23.16
	MR x RBM	26,950	21.76	52.31	15.02
	MK x RBM	27,343	23.57	39.34	10.62
	S x RBK	21,636	19.22	27.01	21.61
	S x RBM	24,907	21.08	59.71	25.64
	V x RBM	29,382	24.88	38.14	3.03
Jumlah Biji per Polong	MR x RBK	0,351	6.00	37.04	15.11
	MR x RBM	0,351	5.95	48.53	23.94
	MK x RBM	0,313	5.58	36.55	11.46
	S x RBK	0,402	6.42	32.08	8.39
	S x RBM	0,289	5.49	32.03	15.24
	V x RBM	0,319	5.64	59.76	6.57
Umur Panen	MR x RBK	12,849	4.89	43.73	5.02
	MR x RBM	10,404	4.40	34.98	18.11
	MK x RBM	5,567	3.54	31.45	29.42
	S x RBK	15,881	5.43	34.62	16.34
	S x RBM	9,710	4.23	49.75	13.17
	V x RBM	6,579	3.86	54.68	4.36
Berat Biji per Tanaman	MR x RBK	4,422	19,34	31.96	47.93
	MR x RBM	6,565	23,26	51.51	22.16
	MK x RBM	8,916	28,23	46.95	20.04
	S x RBK	3,533	17,07	26.82	14.96
	S x RBM	4,635	19,92	24.01	29.31
	V x RBM	9,351	29,56	59.26	6.99

Sumber : Ujianto (2010)

Keterangan: MR, MK, S, V : berturut turut kacang hijau varietas Manyar, Merak, Sampeong, dan Vima. RBK dan RBM: kacang beras berbiji kuning dan merah, KKG : koefisien keragaman genetik

Disamping peran gen, informasi tentang keragaman genetik, heritabilitas, pewarisan sifat beberapa karakter penting, dan korelasi antar karakter baik genotipik maupun fenotipik adalah penting untuk program pemuliaan tanaman. Koefisien keragaman genetik merupakan akar kuadrat ragam genetik dibagi dengan nilai rata-rata karakternya dikalikan 100 %. Oleh karena itu diperlukan kajian tentang keragaman genetik, heritabilitas, dan pewarisan sifat

### 7.3. Keragaman Genetik dan Heritabilitas

Salah satu tujuan persilangan antar spesies adalah meningkatkan keragaman genetik terutama terhadap sifat yang akan diperbaiki. Keragaman genetik sangat penting dalam pemuliaan tanaman karena tanpa keragaman genetik akan sulit didapatkan kemajuan genetik.

Besarnya keragaman genetik diukur berdasarkan besarnya koefisien keragaman genetik. Koefisien keragaman genetik tertinggi yaitu jumlah cabang pada pasangan persilangan kacang hijau varietas Vima dengan kacang beras berbiji merah sebesar 36,87 %. Koefisien keragaman terendah yaitu 3,54 % terdapat pada karakter umur panen pada pasangan persilangan kacang hijau varietas Merak dengan kacang beras berbiji merah. Rata-rata dari semua pasangan persilangan, tinggi tanaman, diameter batang, jumlah biji per polong, umur berbunga dan umur panen. koefisien keragaman genetik tertinggi terdapat pada karakter jumlah cabang diikuti oleh berat biji per tanaman, jumlah polong, Proporsi ragam genetik suatu karakter terhadap ragam fenotipiknya dicerminkan oleh nilai heritabilitas.

Pada Tabel 9 terlihat bahwa nilai duga heritabilitas berdasarkan hubungan kekerabatan tetua dan keturunan tergolong rendah hingga agak tinggi. Secara umum nilai duga heritabilitas yang mendasarkan pada koefisien regresi tetua jantan– keturunan lebih tinggi dibandingkan yang mendasarkan pada koefisien regresi tetua betina. Nilai heritabilitas yang mendasarkan pada tetua jantan berkisar antara 8,17% hingga 63,01%, sedangkan yang mendasarkan pada tetua betina-keturunan berkisar antara 3,52% hingga 47,93%.

Karakter tinggi tanaman memiliki nilai duga heritabilitas berdasarkan koefisien regresi tetua jantan-keturunan antara 8,17% - 52,33%, tergolong rendah hingga agak tinggi. Nilai duga heritabilitas diameter batang berkisar antara 24,35% - 63,01%. Jumlah cabang memiliki nilai heritabilitas antara 8,45% - 56,55%. Umur berbunga dan umur panen memiliki nilai heritabilitas berkisar antara 34,98% - 51,28%



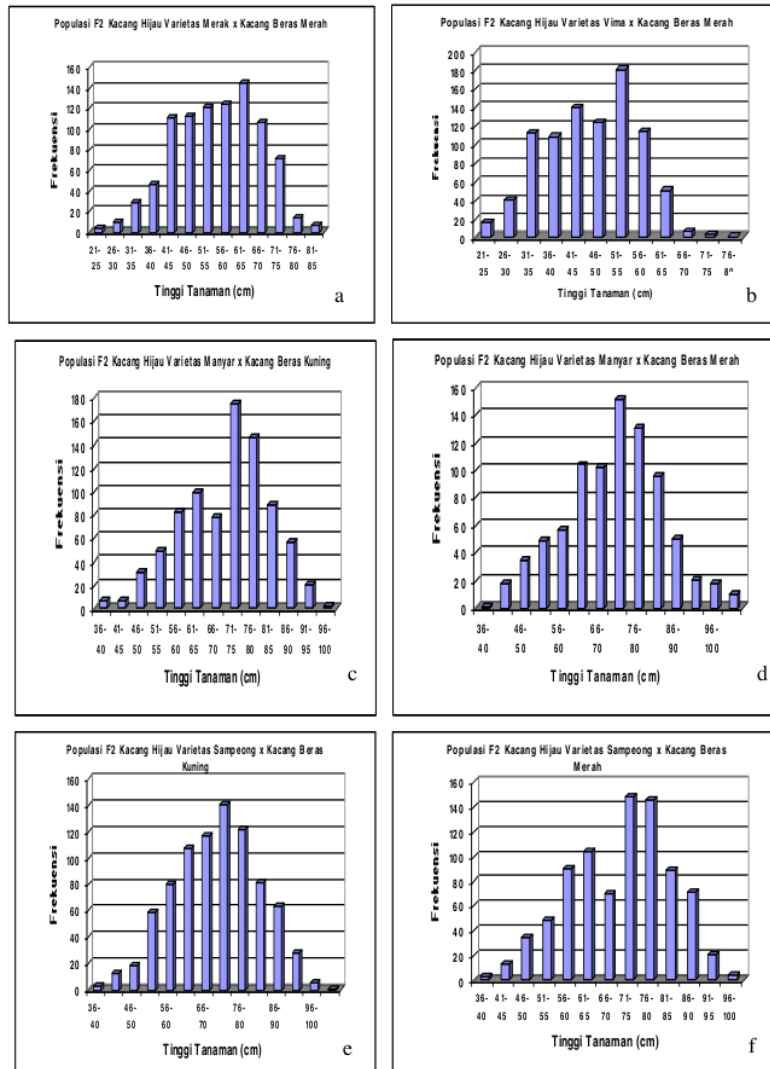
dan 31,45% - 54,68%, Nilai duga heritabilitas untuk jumlah polong per tanaman, jumlah biji per polong, dan berat biji per tanaman berturut-turut antara 27,01% - 59,71%, 32,03% - 59,76%, dan 24,01% - 59,26%.

#### 7.4. Pewarisan Sifat Kuantitatif

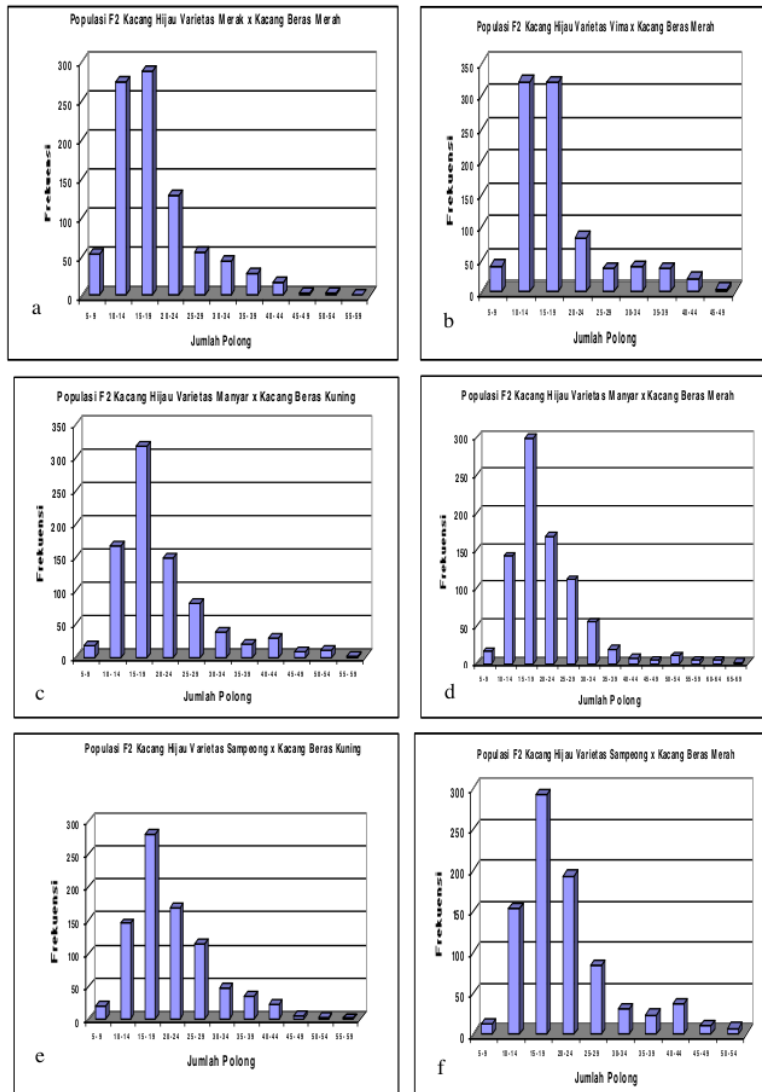
Pada populasi F2 akan mengalami segregasi mengikuti rasio tertentu untuk sifat kualitatif atau menyebar mengikuti distribusi tertentu untuk sifat kuantitatif. Oleh karena itu untuk pengujian populasi F2 diperlukan populasi yang besar agar semua gen pengendali yang memungkinkan dapat terwakili oleh individu-individu tanaman dan tidak terjadi penghayutan genetik atau *genetic drift*. Makin banyak gen pengendalinya maka diperlukan populasi yang makin besar. Semakin besar populasi akan semakin kecil peluang terjadinya penghayutan genetik.

Sifat kuantitatif mudah dibedakan antara kacang hijau dan kacang beras yaitu tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, umur panen, dan berat biji per tanaman. Oleh karena itu untuk mengkaji pewarisan sifat kuantitatif difokuskan pada keempat sifat kuantitatif tersebut. Distribusi frekuensi populasi F2 hasil persilangan empat varietas kacang hijau yaitu Manyar (MR), Merak (MK), Sampeong (S), Vima (V) dengan dua genotipe kacang beras yaitu yang berbiji kuning (RBK) dan berbiji merah (RBM) untuk keempat sifat kuantitatif tersebut ditampilkan pada Gambar 16 – 19.

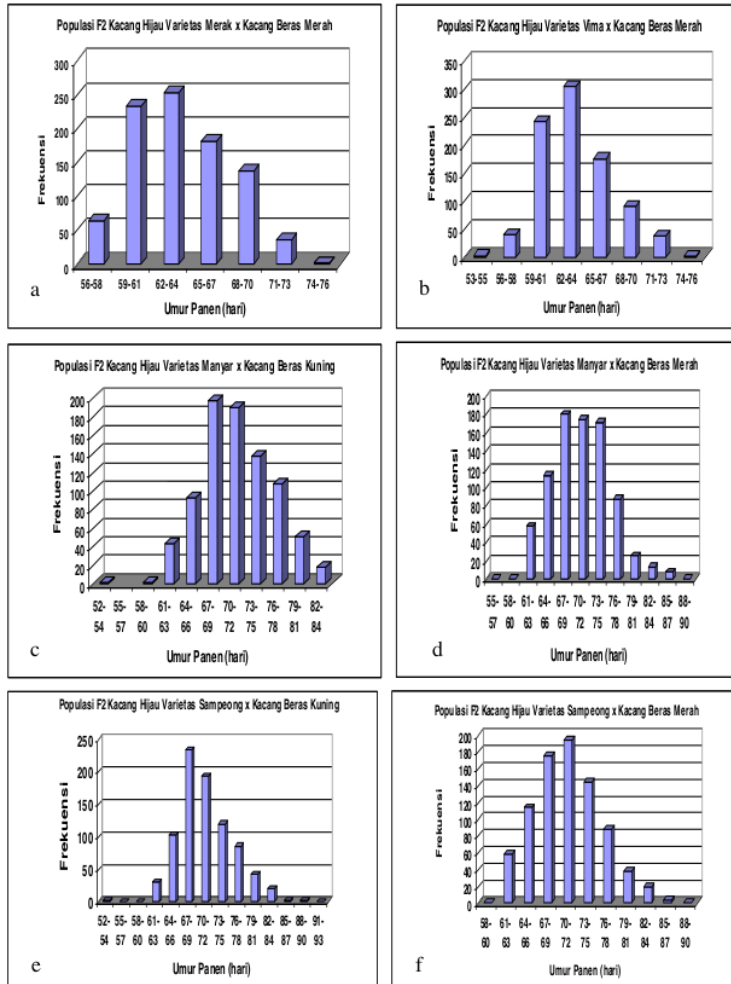
Pada gambar 16-19 terlihat bahwa distribusi frekuensi untuk keempat sifat kuantitatif pada beberapa pasangan persilangan mendekati distribusi normal walaupun ada yang condong ke kiri atau ke kanan. Bentuk distribusi frekuensi dipengaruhi oleh jumlah gen pengendali untuk sifat tersebut pada pasangan persilangan tertentu. Bentuk distribusinya antara pasangan persilangan yang satu dengan yang lain berbeda walaupun pada sifat kuantitatif yang sama. Demikian juga antar sifat kuantitatif bentuk distribusinya juga berbeda walaupun pada pasangan persilangan yang sama. Bentuk distribusi frekuensi dipengaruhi oleh banyak faktor baik faktor genetik maupun lingkungan.



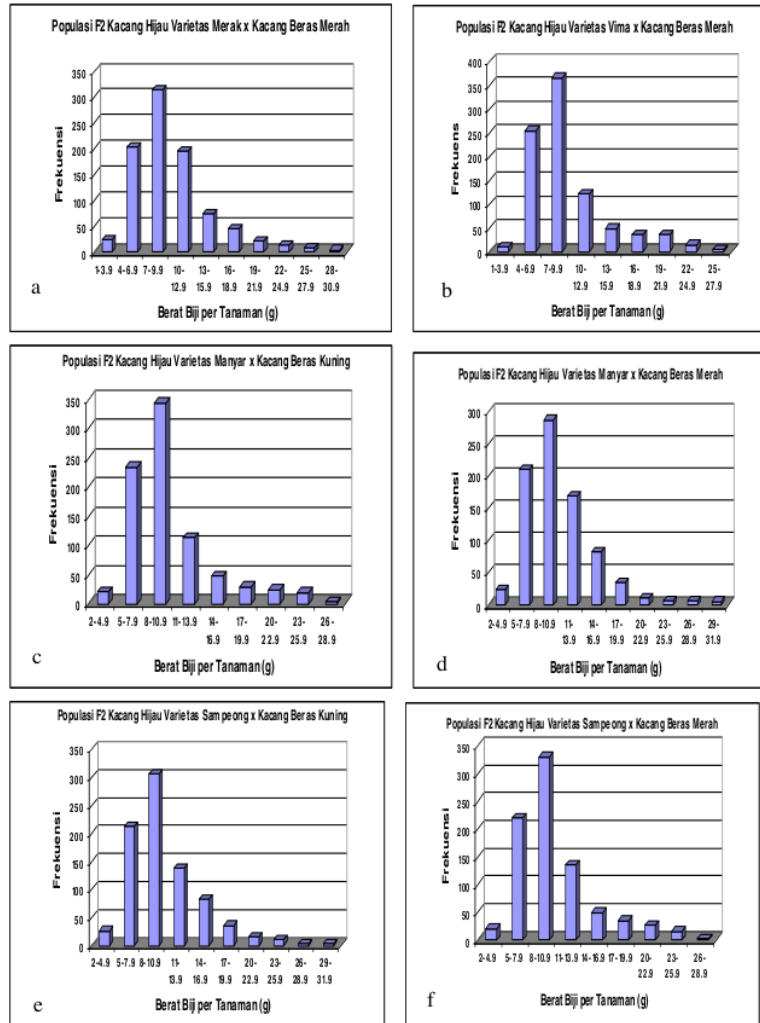
Gambar 16. Distribusi Frekuensi Populasi F2 Hasil Persilangan Kacang Hijau dengan Kacang Beras untuk Sifat Tinggi Tanaman.



Gambar 17. Distribusi Frekuensi Populasi F2 Hasil Persilangan Kacang Hijau dengan Kacang Beras untuk Sifat Jumlah Polong per Tanaman.



Gambar 18. Distribusi Frekuensi Populasi F2 Hasil Persilangan Kacang Hijau dengan Kacang Beras untuk Sifat Umur Panen.



Gambar 19. Distribusi Frekuensi Populasi F2 Hasil Persilangan Kacang Hijau dengan Kacang Beras untuk Sifat Berat Biji per Tanaman.

Pada Gambar 17 terlihat adanya konsistensi dari letak frekuensi tertinggi pada semua pasangan persilangan untuk karakter jumlah

3 polong per tanaman pada populasi F2 hasil persilangan kacang hijau dan kacang beras. Frekuensi tertinggi jumlah polong per tanaman terletak pada rentang 15 -19 untuk semua pasangan persilangan. Pada Gambar 17a yaitu grafik populasi F2 hasil persilangan kacang hijau varietas Merak untuk karakter jumlah polong terdapat tiga zuriat yang berada pada kelas 50 – 54 dan satu zuriat pada kelas 55-59. Pada Gambar 17c terlihat bahwa terdapat 11 zuriat yang berada pada kelas 50 – 54 dan satu zuriat pada kelas 55-59. Pada Gambar 17d terlihat bahwa terdapat 19 zuriat yang berada pada kelas di atas 50. Pada Gambar 17e terdapat lima Zuriat yang jumlah polongnya di atas 50 dan pada Gambar 17f terdapat tujuh zuriat yang jumlah polongnya di atas 50. Jumlah zuriat pada populasi F2 hasil persilangan kacang hijau dan kacang beras yaitu 47.

### 7.5. Pendugaan Jumlah Gen

3 Pendugaan jumlah gen untuk pengendali sifat tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, umur panen, dan berat biji per tanaman, dihitung berdasarkan rumus Lawrence and Jinks (1973) berikut:

$$n = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{8(\sigma^2_{F_2} - \sigma^2_e)} = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{8(\sigma^2_G)}$$

n = jumlah gen pengendali

$\bar{P}_1$  = rata-rata tetua 1

$\bar{P}_2$  = rata-rata tetua 2

$\sigma^2_{F_2}$  = keragaman populasi kedua

$\sigma^2_e$  = keragaman lingkungan

$\sigma^2_G$  = keragaman genetik

Jumlah gen pengendali sifat kuantitatif beragam antar sifat yang diamati dan antar pasangan persilangan. Jumlah gen pengendali tinggi tanaman berkisar antara 3 – 14, jumlah polong berkisar 6 – 7, umur panen berkisar 5 – 19 dan berat biji per tanaman berkisar antara 6 – 10. Kisaran jumlah gen ternyata beragam, ada yang hanya tiga tetapi ada yang 19. Makin banyak gen pengendali umumnya akan membentuk distribusi frekuensi yang lebih mendekati distribusi normal karena pengaruh faktor lingkungan sangat besar. Dengan



pengaruh faktor lingkungan akan memperhalus perbedaan-perbedaan antara individu yang satu dengan yang lainnya.

Tabel 10. Jumlah Gen Pengendali Sifat Kuantitatif Keturunan Hasil Persilangan

Pasangan Persilangan	Tinggi Tanaman	Jumlah Polong	Umur Panen	Berat Biji/Tanaman
MR x RBK	5	6	5	10
MR x RBM	4	7	7	8
MK x RBM	14	6	19	6
S x RBK	3	7	5	10
S x RBM	3	7	7	10
V x RBM	11	6	19	6

Sumber : Ujianto (2010)

## **BAB VIII.**

### **EVALUASI VIABILITAS BENIH DAN STERILITAS**

Pada Tabel 11 dan Tabel 12 terlihat bahwa semua populasi keturunan hasil persilangan yang diuji menunjukkan daya kecambah yang tinggi yaitu berkisar antara 90,83% hingga 98,33%, tidak berbeda nyata dengan kedua tetuanya. Pada Tabel 11 terlihat bahwa daya kecambah keturunan pertama hasil persilangan antara persilangan kacang hijau varietas Manyar dengan kacang beras berbiji kuning (F1 MR x RBK) maupun dengan kacang beras berbiji merah (F1 MR x RBM) tidak berbeda nyata dengan kedua tetuanya. Demikian juga keturunan hasil persilangan balik keturunan pertama dengan tetua betinanya BC1 (F1MR x RBK) x MR maupun BC1 (F1MR x RBM) x MR daya kecambahnya tidak berbeda nyata dengan tetuanya. Daya kecambah pada populasi keturunan kedua hasil persilangan kacang hijau varietas Manyar dengan kacang beras berbiji kuning (F2 MR x RBK) dan merah (F2 MR x RBM) menunjukkan daya kecambah yang tinggi yaitu melebihi daya kecambah tetua betinanya.

Keturunan pertama hasil persilangan antara kacang hijau varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji kuning (F1 S x RBK) daya kecambahnya lebih tinggi dibandingkan tetua betinanya yaitu kacang hijau varietas Sampeong (S) dan tidak berbeda nyata dengan tetua jantan yaitu kacang beras berbiji kuning (RBK).

1  
 Daya kecambah keturunan pertama hasil persilangan antara kacang hijau varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji merah (F1 S x RBM) tidak berbeda nyata dengan kedua tetuanya. Demikian juga keturunan hasil silang balik antara keturunan pertama dengan tetua betinanya daya kecambahnya tidak berbeda nyata dengan tetuanya. Keturunan kedua hasil persilangan kacang hijau varietas Sampeong dengan kacang beras berwarna kuning (F2 S X RBK) maupun dengan yang berbiji merah (F2 S x RBM) daya kecambahnya lebih tinggi dibandingkan tetua betinanya tetapi tidak berbeda nyata dengan tetua jantannya.

Tabel 11. Rata-rata Daya Kecambah Benih Populasi Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Manyar dan Sampeong dengan Kacang Beras Berbiji Merah dan Kuning

No.	Genotipe	Rata-rata	S.E
1	Manyar (MR)	92,50 abcd	1.60
2	Sampeong (S)	89,17 a	1.59
3	Kacang Beras Kuning (RBK)	94,17 bcde	1.60
4	Kacang Beras Merah (RBM)	95,56 cde	0.91
5	F1 MR x RBK	90,83 ab	1.59
6	F1 MR x RBM	93,33 abcde	1.93
7	F1 S x RBK	94,17 bcde	0.84
8	F1 S x RBM	92,50 abcd	0.83
9	BC1 (F1MR x RBK) x MR	94,44 bcde	0.64
10	BC1 (F1MR x RBM) x MR	94,44 bcde	0.64
11	BC1 (F1S x RBK) x S	91,11 abc	0.91
12	BC1 (F1S x RBM) x S	92,78 abcd	1.40
13	F2 MR x RBK	97,98 e	0.41
14	F2 MR x RBM	97,50 de	0.30
15	F2 S x RBK	96,90 de	0.46
16	F2 S x RBM	96,55 de	0.49

Sumber : Ujianto (2010)

Tabel 12. Rata-rata Daya Kecambah Benih Populasi Keturunan Hasil Persilangan Kacang Hijau Varietas Merak dan Vima dengan Kacang Beras Berbiji Merah

No.	Genotipe	Rata-rata	S.E.
1	Merak (MK)	95,56 ab	0.91
2	Vima (V)	97,22 ab	1.06
3	Kacang Beras Merah (RBM)	95,56 ab	0.91
4	F1 MK x RBM	95,00 ab	0.56
5	F1 V x RBM	96,11 ab	1.06
6	BC1 (F1MK x RBM) x MK	94,58 a	1.05
7	BC1 MK x (F1MK x RBM)	94,58 a	1.25
8	BC1 (F1V x RBM) x V	94,58 a	1.42
9	BC1 V x (F1V x RBM)	95,00 ab	0.68
10	F2 MK x RBM	98,33 b	0.28
11	F2 V x RBM	98,33 b	0.38

Sumber : Ujianto (2010)

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasar Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Pada Tabel 12 terlihat bahwa daya kecambah antara **tetua betina** yaitu kacang hijau varietas Merak (MK) dan Vima (V) dengan **tetua jantan** yaitu kacang beras berbiji merah (RBM) dan keturunan pertama, keturunan silang **bulik** maupun keturunan keduanya tidak berbeda nyata. Keturunan kedua hasil persilangan kacang hijau varietas Merak dengan kacang beras berbiji merah (F2 MK x RBM) maupun kacang hijau varietas Vima dengan kacang hijau varietas Vima dengan kacang beras berbiji merah (F2 V x RBM) memiliki tingkat perkecambahan yang lebih tinggi dibandingkan dengan populasi lainnya.

Keturunan hasil persilangan disamping menunjukkan viabilitas benih yang tinggi juga menunjukkan fertilitas yang tinggi atau sterilitas yang rendah. Tanaman keturunan hasil persilangan mampu tumbuh dan berkembang dengan normal dan mampu menghasilkan polong dan biji. Pada Tabel 13 dan 14 terlihat bahwa terdapat keragaman antar genotip yang diuji pada semua sifat kuantitatif yang diamati. Pada Tabel 11 terlihat bahwa diameter batang an**tra** tetua dan keturunannya beragam. Diameter tertinggi terdapat pada keturunan hasil persilangan antara kacang hijau varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji

kuning yaitu sebesar 8,3 mm dan terendah pada kacang hijau varietas Merak yaitu 5,78 mm. Jumlah cabang terbanyak terdapat pada kacang beras berbiji kuning dan keturunan hasil persilangan kacang hijau varietas Sampeong dengan kacang beras berbiji kuning yaitu sebanyak 3,5. Jumlah cabang terendah terdapat pada keturunan hasil persilangan kacang hijau varietas Vima dan kacang beras baik yang berbiji kuning maupun merah yaitu sebanyak 1,75. Jumlah tangkai daun terbanyak terdapat pada kacang beras berbiji merah yaitu sebanyak 33 dan terendah terdapat pada varietas Vima yaitu sebanyak 8,5.

Tabel 13. Rangkuman Hasil Analisis Keragaman untuk Diameter Batang (1), Jumlah Cabang (2), Jumlah Tangkai Daun (3), Jumlah Tangkai Polong (4), Jumlah Polong (5) dan Tinggi Tanaman (6)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	KT1	KT2	KT3	KT4	KT5	KT6
Perlakuan	13	1,67*	1,287*	175,912*	183,7*	1457,2*	718,3*
Blok	3	0,116	0,780	26,119	2,119	116,5	131,09
Galat	39	0,486	0,588	6,875	11,055	54,2	36,25

Tabel 14. Rangkuman Hasil Analisis Keragaman untuk Panjang Polong (1), Jumlah Biji per Polong (2), Berat 100 Biji (3), Umur Berbunga (4), Umur Panen (5) dan Berat Biji per Tanaman (6)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	KT1	KT2	KT3	KT4	KT5	KT6
Perlakuan	13	2,87*	2,50*	6,50*	367,9*	378,9*	341,5*
Blok	3	0,471	0,304	0,018	0,351	0,98	11,4
Galat	39	0,376	0,560	0,012	1,005	1,0191	14,4

Keterangan: KT = kuadrat tengah, \* = berbeda nyata pada taraf nyata 5%.

Jumlah tangkai polong, jumlah polong per tanaman, tinggi tanaman, umur berbunga, umur panen, panjang polong, berat 100 biji, dan berat biji per tanaman tertinggi dicapai oleh kacang beras baik yang berbiji kuning maupun merah. Kacang hijau varietas vima memiliki umur berbunga dan umur panen yang pendek, jumlah tangkai polong, jumlah tangkai daun, jumlah polong per tanaman yang rendah. Berat biji per tanaman kacang beras lebih tinggi dibandingkan dengan kacang hijau baik tua maupun keturunannya.

3  
Tabel 15. Rata-rata dan Uji Jarak Ganda Duncan untuk Semua Sifat Kuantitatif yang Diamati

No	Genotip	Diameter Batang (mm)	Jumlah Tangkai Daun	Jumlah Tangkai Polong	Umur Berbunga (hari)	Tinggi Tanaman (cm)
1	MANYAR	7,25 abc	9,3 ab	15,3 bc	49,3 c	66,8 cde
2	MANYAR x RBK	7,48 bc	14,8 b	14,8 abc	53,0 de	70,8 de
3	MANYAR x RBM	7,18 abc	14,5 b	15,3 bc	53,3 de	72,8 def
4	MERAK	5,78 a	9,5 ab	8,8 ab	39,8 a	48,5 ab
5	MERAK x RBK	7,00 abc	10,3 ab	11,8 abc	43,0 b	60,0 bcd
6	MERAK x RBM	6,88 abc	10,3 ab	11,5 abc	43,5 b	55,5 abc
7	SAMPEONG	7,28 abc	12,0 ab	14,0 abc	51,5 d	68,0 cde
8	SAMPEONG x RBK	8,30 c	13,3 ab	18,3 c	54,0 e	75,0 ef
9	SAMPEONG x RBM	7,60 bc	12,8 ab	18,8 c	54,3 e	73,5 def
10	VIMA	6,25 ab	8,5 a	8,3 a	38,3 a	45,0 a
11	VIMA x RBK	7,15 abc	9,5 ab	9,0 ab	42,0 b	48,0 ab
12	VIMA x RBM	7,40 abc	10,5 ab	11,3 abc	42,5 b	50,8 ab
13	RBK	6,30 ab	22,5 c	30,5 d	68,3 f	84,5 f
14	RBM	6,50 ab	33,0 d	28,3 d	68,8 f	85,0 f

Lanjutan Tabel 15

No	Genotip	Panjang Polong (cm)	Umur Panen	Berat 100 Biji (g)	Jumlah Polong / Tanaman	Berat Biji / Tanaman (g)
1	MANYAR	6,99 a	72,3 d	4,44 c	27,5 abc	15,8 a
2	MANYAR x RBK	8,01 ab	76,3 ef	5,94 ef	38,8 bc	17,7 a
3	MANYAR x RBM	7,56 a	76,8 f	5,92 ef	36,3 bc	18,0 a
4	MERAK	7,00 a	63,0 b	5,57 d	21,8 ab	13,0 a
5	MERAK x RBK	7,67 ab	66,0 c	5,76 de	26,8 abc	16,0 a
6	MERAK x RBM	7,36 a	66,5 c	5,84 ef	25,5 abc	16,6 a
7	SAMPEONG	7,31 a	74,5 ef	3,08 a	25,5 abc	13,1 a
8	SAMPEONG x RBK	7,60 ab	77,0 f	3,49 b	40,8 c	15,7 a
9	SAMPEONG x RBM	7,86 ab	77,3 f	3,42 b	35,8 bc	16,4 a
10	VIMA	8,06 ab	60,0 a	6,01 f	17,5 a	14,7 a
11	VIMA x RBK	8,30 abc	64,5 bc	6,35 g	26,8 abc	17,7 a
12	VIMA x RBM	9,01 bc	64,8 bc	6,39 g	27,5 abc	18,6 a
13	RBK	9,48 c	91,3 g	6,79 h	81,0 d	41,3 b
14	RBM	9,63 c	91,8 g	6,87 h	76,0 d	41,0 b

Sumber: Ujianto (2010)

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasar Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%



Persilangan antara kacang hijau dengan kacang beras berhasil membentuk polong. Dalam waktu dua hari setelah polinasi keberhasilan terbentuknya polong sudah dapat diketahui. Polong hasil persilangan dapat tumbuh dan berkembang secara normal hingga masak. Waktu yang dibutuhkan untuk masak polong tidak berbeda dengan tetuanya. Benih yang dihasilkan cenderung lebih kecil dibandingkan tetuanya dengan bentuk yang normal, tidak berkerut.

Viabilitas benih hasil persilangan umumnya adalah tinggi yang ditandai oleh prosentase perkecambahan yang tinggi dan membentuk bibit yang normal. Menurut Muasya, *et al.* (2002), benih dikatakan memiliki viabilitas yang tinggi jika benih tersebut mampu berkecambah dan membentuk bibit yang normal. Benih dapat berkecambah dengan normal ini tidak terlepas dengan normalnya proses perkembangan polong yang normal pula. Untuk selama periode waktu tertentu sesudah panen, pada umumnya benih dari kebanyakan tanaman menghendaki beberapa syarat khusus untuk dapat memulai perkecambahan. Benih kacang hijau pada umumnya akan berkecambah segera setelah kondisi lingkungan yang memungkinkan pada waktu yang hampir bersamaan. Persyaratan untuk perkecambahan yang berbeda-beda dari bermacam-macam benih adalah penting diketahui untuk pedoman penanaman benih.

Tingkat daya kecambah benih hasil persilangan menunjukkan adanya keragaman daya kecambah dan viabilitas benih antara populasi yang satu dengan yang lainnya. Benih hasil persilangan antar spesies tidak selalu memiliki viabilitas yang tinggi bahkan cenderung viabilitasnya rendah. Hal ini disebabkan karena terganggunya proses metabolisme akibat adanya penggabungan gen-gen yang berbeda dari kedua tetua. Chen, *et al.* (1982) melaporkan bahwa persilangan antara *Vigna mungo* dengan *Vigna umbellata* menghasilkan polong yang berkembang secara normal tetapi bijinya tidak ada yang dapat tumbuh atau viabilitasnya sangat rendah. Hasil dari percobaan Gopinathan, *et al.* (1985) menunjukkan bahwa benih hasil persilangan antara *Vigna minima* dengan *Vigna umbellata* viabilitasnya rendah yang ditandai banyaknya benih yang tidak berkecambah.

Benih hasil persilangan mampu tumbuh dan berkembang dengan normal dan memiliki kekuatan tumbuh yang tinggi. Benih yang memiliki kekuatan tumbuh yang tinggi, dapat ditanam pada kondisi lapangan yang beraneka ragam dengan tetap tumbuh sehat dan kuat serta memproduksi tinggi dengan kualitas baik. Menurut Keigley dan

Mullen (1986), kekuatan tumbuh benih di cerminkan oleh dua informasi tentang viabilitas, masing-masing 'kekuatan tumbuh' dan 'daya simpan' benih. Kedua nilai fisiologi ini menempatkan benih pada kemungkinan kemampuannya untuk tumbuh menjadi tanaman normal meskipun keadaan biofisik lapangan produksi kurang optimum atau sesudah benih melampaui suatu periode simpan yang lama.

Viabilitas benih yang rendah menunjukkan kualitas benih yang rendah. Kemunduran suatu benih dapat diterangkan sebagai turunnya kualitas atau viabilitas benih yang mengakibatkan rendahnya vigor dan jeleknya pertumbuhan tanaman serta produksinya. Menurut Smith (1953), hal ini merupakan suatu proses yang tak dapat balik dari kualitas suatu benih. Benih yang memiliki vigor rendah akan berakibat terjadinya kemunduran yang cepat selama penyimpanan benih. Dengan semakin sempitnya keadaan lingkungan dimana benih dapat tumbuh, kecepatan berkecambah benih menurun, kepekaan akan serangan hama dan penyakit meningkat, meningkatnya jumlah kecambah abnormal dan rendahnya produksi tanaman. Panen, pengeringan, pengolahan dan penyimpanan yang baik merupakan usaha-usaha yang dapat membantu menghambat proses kemunduran benih. Dengan penyimpanan yang baik dapat memperlambat terjadinya kemunduran fisiologis dari benih yang sudah mencapai vigor maksimum pada saat masak fisiologis.

Benih hasil persilangan baik persilangan antara kacang hijau dengan kacang beras maupun persilangan balik antara keturunan pertama dengan tetua betinanya menunjukkan daya kecambah yang tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa benih hasil persilangan memiliki viabilitas yang tinggi pula. Benih-benih hasil persilangan ini juga menunjukkan pertumbuhan yang normal hingga terbentuk polong masak. Hal ini menunjukkan bahwa keturunan hasil persilangan adalah fertil dan tidak adanya faktor penghambat seperti sterilitas.

Keturunan hasil persilangan kacang hijau dengan kacang beras untuk semua kombinasi persilangan menunjukkan fertilitas yang tinggi. Hal ini terbukti dengan terbentuknya polong yang berkembang secara normal. Disamping itu populasi keturunan hasil persilangan ini dapat dijadikan sebagai tetua jantan pada persilangan balik antara keturunan pertama hasil persilangan antar spesies dengan tetua betinanya. Hal ini berarti bahwa polen populasi keturunan hasil persilangan adalah fertil atau tidak steril.

Sterilitas atau mandul jantan merupakan suatu ketidakmampuan tanaman untuk menghasilkan tepung sari yang fungsional. Menurut

Suwarno (2008), mandul jantan dapat dikendalikan oleh aksi gen-gen yang spesifik (*genetic male sterility*), atau dihasilkan dari pengaruh sitoplasma (*cytoplasmic male sterility*). Ekspresi dari *cytoplasmic male sterility* diatur oleh aksi gen. Mandul jantan genetik ditunjukkan dengan adanya gen-gen inti yang menghambat perkembangan normal tepungsari. Tingkat yang tepat dimana perkembangan tepungsari diganggu dapat berbeda antar spesies, atau antar gen spesifik untuk mandul jantan di dalam spesies. Efektivitas gen mandul jantan dapat diukur dengan (a) persentase tepung sari yang dapat berkecambah, atau (b) persentase pembentukan benih. Ekspresi gen-gen tertentu dapat bersifat lengkap, sehingga tidak ada lagi tepungsari atau pembentukan benih pada bunga mandul jantan atau ekspresi gen dapat bersifat sebagian sehingga tepungsari yang dapat berkecambah dan benih dapat terbentuk dalam jumlah kecil. Penampilan gen juga dapat beragam pada lingkungan yang berbeda. Mandul jantan genetik dapat muncul akibat adanya pasangan alel resesif.

Dengan tidak adanya sterilitas ini dapat menguntungkan pada satu pihak tetapi juga terdapat kelemahannya. Keturunan hasil persilangan antar spesies yang fertile ini memudahkan untuk mendapatkan keturunan berikutnya atau dapat melakukan silang balik dengan tetuanya dalam rangka memulihkan keturunan hasil persilangan. Dengan demikian perbaikan sifat melalui program pemuliaan dapat berjalan lebih cepat. Di sisi lain dengan tidak adanya sterilitas menyulitkan jika ingin merakit varietas hibrida atau menyulitkan dalam proses polinasi.

## **BAB IX.**

### **PROGRAM PEMULIAAN TANAMAN KACANG-KACANGAN**

---

Sebelum memutuskan metode yang digunakan untuk memperbaiki generasi hasil hibridisasi harus mempertimbangkan beberapa hal antara lain pengetahuan tentang pola dan mekanisme pewarisan sifat yang akan diperbaiki, pertimbangan teknis, informasi tentang daya hasil dan ketahanan terhadap faktor lingkungan yang kurang menguntungkan. Banyak metode seleksi yang dapat digunakan untuk tanaman kacang-kacangan. Metode pemuliaan yang sering digunakan yaitu seleksi massa, seleksi galur murni, seleksi silsilah (pedegree), seleksi curah (bulk), seleksi silang balik (backcross), seleksi berulang, dan lainnya (Biradar, *et al.*, 2007).

#### **9.1. Seleksi Silsilah**

Dalam seleksi silsilah perlu dibuat catatan mengenai asal usul dan hubungan kekerabatan tiap generasi yang bersegregasi. Pada metode seleksi ini, pemilihan baru dimulai pada generasi kedua karena pada generasi pertama digunakan untuk perbanyak benih hasil hibridisasi yang umumnya jumlahnya masih sangat sedikit. Menurut Borion *et al.* (2002) keberhasilan dalam seleksi ini sangat tergantung

dari kemampuan pemulia dalam memilih tanaman sesuai dengan pertimbangan dan kriteria yang sudah ditetapkan untuk menghasilkan keturunan yang lebih baik dari generasi sebelumnya. Seleksi umumnya didasarkan pada vigor dan sifat agronomis individu atau keturunan atau familinya. Pemilihan pada generasi kedua masih terbatas pada seleksi di tingkat individu. Menurut Salimah *et al.* (2007), segregasi pada generasi kedua pada tanaman kacang tunggak umumnya cukup tinggi, sehingga antar tanaman berbeda satu dengan lainnya. Pada generasi selanjutnya, sejumlah lokus mulai menuju keadaan yang lebih homosigot dan karakteristik antar keluarga mulai nampak. Seleksi pada generasi ketiga dan selanjutnya dilakukan baik di dalam maupun antar famili. Pada generasi ketiga dan keempat, seleksi dilakukan di dalam famili yaitu dengan memilih tanaman terbaik dalam famili terbaik. Pada generasi kelima dan keenam, pemilihan dilakukan antar famili karena kebanyakan famili telah berada dalam keadaan homosigot sehingga kurang banyak artinya jika dilakukan pemilihan dalam famili. Pemilihan pada tingkat famili ini dilakukan beberapa kali sampai didapatkan sejumlah keturunan yang dapat dievaluasi secara komperhensif. Pada metode ini catatan silsilah sangat penting karena dengan adanya catatan silsilah pemulia dapat mengeliminir famili yang tidak berkerabat dan hanya memilih famili yang erat hubungan kekerabatannya. Jadi catatan silsilah ini dapat dimanfaatkan oleh pemulia untuk memutuskan famili mana yang harus dipilih dan dilanjutkan dan famili mana yang harus dibuang. Walaupun pembuatan catatan silsilah ini memakan waktu dan tenaga, tetapi dengan adanya catatan ini berguna bagi pemulia terutama untuk menghindari seleksi tanaman yang mempunyai hubungan kekerabatan yang erat (Nasrullah, 1994; Kelly, *et al.*, 1998).

Hasil hibridisasi diperbanyak agar didapatkan benih yang cukup banyak untuk menghasilkan tanaman pada generasi kedua. Tidak semua benih hasil hibridisasi ditanam, perlu disisakan untuk cadangan jika pertanamannya gagal semua. Adapun cara bercocok tanamnya sesuai anjuran tetapi dengan jarak tanam yang lebih luas yaitu 60 cm x 25 cm agar penampakan sifatnya bisa maksimum. Luas lahan yang dibutuhkan untuk perbanyak benih yaitu sekitar 5 are, sedangkan untuk seleksi silsilahnya dibutuhkan lahan seluas 15 are. Ukuran populasi pada generasi kedua tergantung pada seberapa banyak famili pada generasi ketiga nanti yang dapat ditangani dengan baik. Jumlah famili pada generasi ketiga disuahkan lebih dari 10. Pemilihan

dilakukan mulai generasi kedua dengan jalan membuang semua tanaman yang membawa gen mayor yang tidak sesuai dengan program pemuliaan yang sudah ditetapkan. Tahap berikutnya yaitu memilih tanaman-tanaman yang menunjukkan sifat yang diinginkan dengan intensitas seleksi yang tinggi dengan memperhatikan jumlah famili yang dapat ditangani pada generasi berikutnya. Seleksi tanaman didasarkan pada perbedaan antar tanaman sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan dan perlu dilakukan dengan teliti supaya dapat memilih tanaman yang lebih unggul dibanding generasi sebelumnya. Penanaman pada generasi kedua ini perlu ditata dengan baik agar tanaman dapat mengekspresikan sifatnya secara maksimal, sehingga pemulia tidak salah pilih.

Metode silsilah sering digunakan pada tanaman menyerbuk sendiri, seperti tanaman kacang-kacangan pada program pemuliaan tanaman. Nama ini datang dari catatan yang terus dijaga dari silsilah tetua atau moyangnya pada masing-masing keturunannya. Kriteria seleksi yang digunakan harus sesuai dengan tujuan program pemuliaan, bisa secara langsung maupun tidak langsung. Karena tujuan dari program pemuliaan ini adalah untuk menciptakan varietas unggul baru yang memiliki daya hasil lebih tinggi dan umur panen lebih genjah, maka kriteria seleksi yang utama adalah jumlah polong per tanaman dan umur panen, tetapi sifat-sifat lain seperti jumlah biji per polong, ukuran biji, berat biji juga dipertimbangkan. Pada generasi F2, seleksi dibatasi pada tingkat individu. Pada generasi F3 dan generasi berikutnya sampai didapatkan homosigositas, seleksi dilakukan baik dalam dan antar famili. Oleh karena itu, seleksi adalah antar famili sampai jumlah keturunan dikurangi ke titik dimana evaluasi hasil secara komprehensif dapat dilaksanakan (Singh, *et al.*, 2003; Briggs and Briggs, 1967).

Ukuran populasi F2 tergantung pada jarak genetik dari tetuanya. Jika tetuanya adalah sangat dekat hubungan kekerabatannya, ukuran populasi F2 adalah lebih sedikit (sekitar 1000-1500 tanaman) dibandingkan dengan tetua yang kekerabatannya jauh, ukuran populasinya juga lebih banyak (sekitar 5000 tanaman) per kombinasi persilangan. Seleksi pada generasi F2 adalah umumnya didasarkan pada karakteristik morfologis. Keahlian, pengetahuan dan pengalaman pemulia tanaman sangat berpengaruh dan sangat penting dalam menentukan atau memilih individu terbaik dalam populasi segregasi (Trustinah dkk., 2001; Briggs and Briggs, 1967).



Sebagian benih dari tanaman-tanaman terpilih digunakan untuk pertumbuhan generasi F3 yang ditanam per baris. Jumlah tanaman per baris (setiap famili F3) diharapkan cukup banyak yaitu sekitar 30-50 tanaman, sehingga pemulia mendapat gambaran umum yang jelas dan heterosisitasnya dapat nampak. Pemilihan famili F3 didasarkan terutama pada jumlah polong per tanaman dan umur panen, disamping itu juga dipertimbangkan tentang sifat agronomi penting lainnya. Umumnya tiga sampai enam tanaman dipanen dari setiap famili F3 terpilih. Sebagian benih dari masing-masing famili F3 terpilih ditanam per baris untuk famili F4, harus tetap dijaga catatan tentang silsilah familinya. Keturunan F4 berasal dari tanaman-tanaman famili F3 yang sama. Penanganan generasi F4 adalah hampir sama dengan generasi F3, hanya pemilihan lebih ditekankan pada antar famili yang superioritas karena keragaman genetik sudah lebih banyak antar famili dibandingkan dalam famili. Oleh karena itu pada fase ini merupakan kesempatan untuk mengurangi jumlah famili yang sangat besar. Pemilihan disamping didasarkan pada observasi visual juga harus didasarkan pada catatan silsilahnya terutama yang terkait dengan jumlah polong per tanaman dan umur panen. Pada generasi F5 seleksi hanya didasarkan antar famili, tidak lagi dalam famili. Pada generasi F6 dan F7, keturunan yang superior dicampur dan ditanam dalam plot yang terdiri atas beberapa baris untuk evaluasi hasil dan karakteristik agronomi yang lain. Keturunan terpilih dalam setiap generasi diuji daya hasil dan kegenjahannya. Keturunan yang superior dievaluasi pada beberapa lokasi untuk mengkaji adaptasi dan stabilitas hasilnya.

## **9.2. Seleksi Galur Murni**

Dari hasil evaluasi 15 kultivar kacang tunggak lokal Lombok didapatkan 4 kultivar yang mempunyai prospek baik untuk dikembangkan lebih lanjut. Keempat kultivar tersebut mempunyai keunggulan dan kelemahan masing-masing. Varietas lokal umumnya sudah tidak murni lagi karena mungkin telah tercampur dengan varietas lain, terjadi persilangan dengan varietas lain, atau telah mengalami mutasi. Untuk memurnikan varietas lokal tersebut telah dilakukan seleksi galur murni terhadap keempat varietas lokal tersebut (Idris dkk., 2005).

Metode seleksi galur murni mendasarkan pada teori dari W.L. Johannsen. Keturunan dari tetua yang baik akan lebih baik dibandingkan dengan tetua yang jelek atau rerata tetua. Pada seleksi

galur murni, dari generasi ke generasi dilakukan seleksi antar galur yang masing-masing ditanam secara terpisah dalam baris, dan dilakukan penilaian tentang derajat homogenitas dalam galur. Galur yang terunggul dikembangkan menjadi varietas, sehingga varietas baru hanya terdiri dari genotipe tunggal (Nasrullah, 1994). Menurut Kasno dan Trustinah (1998), seleksi galur murni sering digunakan untuk perbaikan varietas lokal dan varietas introduksi kacang tunggak. Perbaikan varietas lokal dengan seleksi galur murni diarahkan untuk meningkatkan rata-rata dan menurunkan keragaman sifat yang diperbaiki. Nasrullah (1994) menyatakan bahwa seleksi galur murni masih bermanfaat di negara berkembang karena masih banyaknya varietas lokal yang ditanam secara turun menurun, sehingga terjadi penumpukan keragaman yang kemudian dapat dimanfaatkan oleh pemulia tanaman. Metode seleksi ini efektif untuk perbaikan sifat-sifat seperti besar biji, berat biji, besar polong, warna, dan umur panen. Sifat-sifat demikian sering ditemukan pada varietas lokal (Kasno dan Trustinah, 1998). Dengan seleksi galur murni maka keragaman sifat akan diturunkan dan rata-rata galur akan ditingkatkan. Hasil akhir dari seleksi galur murni adalah suatu galur yang homosigot dan homogen dengan sifat – sifat yang lebih unggul dari populasi dasarnya.

Seleksi galur murni secara umum mencakup tiga tahap (Briggs and Briggs, 1967):

1. Seleksi untuk memilih sejumlah besar individu-individu dari populasi dasar yang diduga seragam secara genetik. Jika tersedia waktu, dana, dan sarana yang memadai dapat dipilih individu-individu tanaman sebanyak mungkin.
2. Individu-individu tanaman terpilih diperbanyak secara terpisah, masing-masing ditanam dalam barisan-barisan untuk tujuan pengamatan. Pengamatan dilakukan pada galur dengan sifat tertentu yang terbaik dan seragam dalam galur.
3. Selanjutnya galur-galur yang terpilih diperbanyak untuk diuji daya hasilnya pada percobaan berulang. Lama waktu yang diperlukan untuk penilaian tergantung dari berbagai keadaan.

Menurut Hall (1997), keberhasilan dan kegagalan program pemuliaan tanaman dengan seleksi galur murni tergantung pada kemampuan pemulia tanaman untuk memisahkan genotipe-genotipe unggul di dalam kegiatan seleksi. Untuk memperkecil kekeliruan seleksi berdasarkan wujud luar (fenotip) tanaman maka perlu memperhatikan : lingkungan yang cocok untuk seleksi sifat yang

diinginkan, korelasi genotip dan fenotip antar sifat, ciri genetik sifat yang diseleksi (monogenik, oligogenik, atau poligenik), cara seleksinya, apakah langsung atau tak langsung, dan keragaman genetik.

Dari hasil seleksi murni telah didapatkan beberapa galur murni yang dapat digunakan sebagai bahan pertanaman atau dapat digunakan sebagai bahan pemuliaan. Keempat varietas lokal yang memiliki keunggulan telah tersedia empat galur murni yang dapat digunakan sebagai tetua untuk persilangan dialel karena keempat galur murni yang berasal dari empat varietas lokal tersebut masing-masing mempunyai keunggulan. Galur pertama mempunyai keunggulan yaitu umur pendek, tipe pertumbuhan terbatas, sehingga cocok untuk tanaman sela. Galur kedua mempunyai keunggulan jumlah polong per tanamannya banyak, tipe pertumbuhan terbatas, galur ketiga mempunyai keunggulan jumlah biji per polong banyak dan tipe pertumbuhan tidak terbatas (indeterminate). Galur keempat mempunyai keunggulan yaitu bijinya besar, tipe pertumbuhannya semi indeterminate tergantung pada kondisi lingkungan, pada kondisi kering tipe pertumbuhannya terbatas, tetapi pada kondisi lembab dan sinar kurang tipe pertumbuhannya indeterminate (Ujianto dan Yakop, 2006). Oleh karena itu dari hasil yang telah dicapai ini, kacang tunggak varietas lokal Lombok mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan dan perlu penelitian yang intensif mengingat data atau informasi yang berhubungan dengan faktor genetik belum banyak dilakukan.

## **BAB X.**

### **TEMUAN BARU DAN IMPLIKASI HIBRIDISASI ANTAR SPESIES PADA PEMULIAAN TANAMAN**

---

Dari hasil penelitian persilangan antar spesies kacang-kacangan ini didapatkan beberapa temuan baru yang sangat bermanfaat bagi pemuliaan kacang-kacangan pada umumnya.

1. Beberapa spesies kacang-kacangan berhasil dilakukan dan diperolehnya beberapa zuriat unggul hasil persilangan beberapa spesies kacang-kacangan. Persilangan antara empat varietas unggul kacang hijau yaitu Manyar, Merak, Sampeong dan Vima dengan kacang beras berbiji kuning dan merah menghasilkan individu-individu unggul yang memiliki prospek yang sangat baik untuk dikembangkan melalui program pemuliaan tanaman. Persilangan antara kacang tunggak lokal Lombok dengan kacang panjang menghasilkan hibrida kacang sayur yang telah dilakukan seleksi hingga generasi F7 dan telah diperoleh 14 galur unggul yang homogen dan homosigot. Pada hibridisasi antara kacang hijau dan kacang beras telah dihasilkan hibrida F1 dan telah diperbanyak untuk menghasilkan F2. Pada populasi F2 telah berhasil diseleksi individu-individu yang memiliki keunggulan-keunggulan yang sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut melalui pemuliaan tanaman baik konvensional maupun inkonvensional.

Hasil seleksi pada populasi F2 diperoleh 47 zuriat unggul yang memiliki jumlah polong per tanamannya 50 atau lebih yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata jumlah polong per tanaman kacang hijau yaitu sekitar 15 -19. Karakter jumlah polong per tanaman merupakan sifat yang sangat penting dalam program pemuliaan kacang hijau terutama untuk merakit varietas unggul baru yang berdaya hasil tinggi. Jumlah polong per tanaman merupakan salah satu komponen hasil yang penting karena karakter ini sering digunakan sebagai kriteria seleksi tidak langsung untuk perbaikan daya hasil karena memiliki nilai koefisien korelasi genetik yang positif nyata dan mudah diamati.

2. Hibridisasi antar spesies kacang-kacangan telah menambah keragaman genetik. Baik hibridisasi antara kacang tunggak dengan kacang panjang maupun antara kacang hijau dengan kacang beras telah menambah keragaman genetik. Hibridisasi kacang tunggak dan kacang panjang telah meningkatkan keragaman genetik terutama karakteristik polong dan kandungan nutrisi. Persilangan antar spesies antara kacang hijau dan kacang beras menambah keragaman genetik baik pada sifat kualitatif, kuantitatif, kandungan nutrisi seperti protein, karbohidrat, dan keragaman dalam ketahanan terhadap faktor biotik terutama hama kumbang bubuk. Keragaman genetik ini tentunya merupakan bahan genetik yang bermanfaat bagi program pemuliaan tanaman. 1
3. Adanya fenomena heterosis untuk kandungan protein. **Keturunan hasil persilangan** antar spesies kacang hijau dengan kacang beras memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan kandungan protein rata-rata tetua bahkan tetua terbaiknya pada semua pasangan persilangan. Oleh karena itu program pemuliaan kacang hijau dapat diarahkan ke perbaikan kandungan protein dengan menjadikan kandungan protein sebagai salah satu kriteria seleksinya. Dengan persilangan antar spesies ini didapatkan informasi dan materi baru untuk program pemuliaan tanaman kacang hijau.
4. Terjadi perbaikan ketahanan keturunan hasil persilangan terhadap hama kumbang bubuk. Berdasarkan hasil evaluasi ketahanan terhadap hama kumbang bubuk didapatkan bahwa keturunan hasil persilangan antar spesies kacang hijau yang rentan terhadap hama kumbang bubuk disilangkan dengan kacang beras yang relatif tahan menghasilkan keturunan yang cenderung tahan terhadap hama

kumbang bubuk. Hasil ini menambah keragaman genetik baru dan memberikan harapan untuk merakit varietas unggul baru yang tahan terhadap hama kumbang bubuk melalui program pemuliaan.

5. Diperoleh beberapa informasi genetik. Berdasarkan analisis genetik pada keturunan hasil persilangan antar spesies ini diperoleh beberapa informasi genetik terutama tentang nilai duga heritabilitas, koefisien korelasi genotipik dan fenotipik, koefisien keragaman genetik, peran gen dan pewarisan sifat kuantitatif dan ketahanan terhadap hama kumbang bubuk. Informasi genetik ini merupakan hal penting dalam program pemuliaan tanaman kacang hijau.



## **BAB XI.**

### **KESIMPULAN**

---

Berdasarkan pada uraian di atas dapat disimpulkan :

1. Hibridisasi antar spesies kacang tunggak dengan kacang panjang, kacang hijau dengan kacang beras, kacang beras dengan kacang tunggak, kacang panjang dengan kacang tunggak berhasil dilakukan dengan perkembangan polong yang normal. Efisiensi persilangan beragam antar pasangan persilangan. Hibridisasi antara kacang beras dengan kacang hijau dan kacang tunggak dengan kacang tunggak tidak berhasil dilakukan
2. Tidak terdapat masalah inkompatibilitas, viabilitas dan sterilitas yang berarti pada populasi keturunan pertama (F1) hibridisasi. Benih hasil persilangan memiliki viabilitas yang tinggi, dapat tumbuh dan berkembang serta menghasilkan polong dengan normal hingga panen.
3. Peran gen untuk karakter tinggi tanaman, umur berbunga, umur panen, jumlah polong per tanaman, berat biji per tanaman, ketahanan terhadap hama kumbang bubuk, dan warna biji adalah dominan sebagian. Karakter diameter batang, jumlah cabang, dan jumlah biji per polong adalah beragam antara pasangan persilangan yang satu dengan yang lain.. Peran gen untuk karakter warna bunga, warna tangkai daun, warna hipokotil, dan tipe pertumbuhan adalah aditif. Peran gen untuk protein adalah over dominan.

4. Koefisien keragaman genetik beragam antar pasangan persilangan berkisar antara 3,54% hingga 36,87%. Nilai duga heritabilitas beragam antar karakter dan antar pasangan persilangan berkisar antara 8,17% hingga 63,01%, Karakter tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, umur panen, dan hasil <sup>1</sup> kendalikan oleh banyak gen berkisar antara 3 hingga 19 gen. Terjadi perbaikan ketahanan pada keturunan hasil persilangan kacang hijau dengan kacang beras terhadap hama kumbang bubuk. Ketahanan kacang hijau terhadap hama kumbang bubuk dikendalikan oleh gen tunggal dengan dominansi tidak sempurna. <sup>4</sup>
5. Beberapa hibrida hasil persilangan antar spesies kacang tunggak dan kacang panjang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi kacang sayur varietas unggul baru yang mengandung protein dan anthosianin tinggi, toleran terhadap kekeringan <sup>1</sup> dan tidak membutuhkan lanjaran dalam sistem budidayanya. Hasil persilangan kacang hijau dengan kacang beras menghasilkan <sup>1</sup> hibrida yang potensial untuk dikembangkan menjadi kacang hijau varietas unggul baru yang berdaya hasil tinggi dan toleran terhadap beberapa hama penting.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmulia, A.A., W.Link, E.Von Kittlitz, and D. Stelling. 1999. Heterosis and inheritance of drought tolerance in Faba bean, *Vicia faba* L. Plant Breeding 118: 485-490.
- Adjadi, O., B.B. Singh, and S.R. Singh (1985). Inheritance of bruchid resistance in cowpea. Crop Sci. 25:740-742
- Aggarwal, V.D. and J.M. Poehlman. 1977. Effects of photoperiod and temperature on flowering In mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Euphytica Vol. 26: 207-219
- Ahmed, K.S., T. Itino and T. Ichikawa., 2003. Duration of developmental stages of *DCallosobruchus chinensis* L. (Coleoptera:Brberasdae) on azuki bean and the effects of neem and sesame oils at different stages of their development. Pak J.Biol.Sci. 6(10): 932-935.
- Ahn, C.S. and R.W. Hartmann. 1978. Interspecific hybridization between mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). and adzuku bean (*Vigna angularis* (Wild) Ohwi \* Ohashi. J. Amer.Soc. Hort.Sci. 103:3-6
- Al-Yasiri, A. and D.P. Coyne. 1964. Effect of growth regulator in delaying pod abscission and embryo abortion in the interspecific cross *Phaseolis vulgaris* x *P. acutifolius*. Crop Sci. 4: 433-435.
- Anggraito, Y.U. 2004. Identifikasi berat, diameter, dan tebal daging buah melon (*Cucumis melo*, L.) kultivar Action 434 tetraploid akibat perlakuan kolkisin. Berk. Penel. Hayati 10: 37-42.
- Aqsa, T., M.. Saleem, and I. Aziz. 2010. Genetic variability, trait association and path analysis of yield and yield components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Pak. J. Bot. 42(6): 3915-3924.
- Aremu, C.O., M.A. Adebayo, O.J. Ariyo and B.B. Adewale. 2007. Classification of genetic diversity and choice of parent for hybridization in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) for humid savana ecology. African J. of Biotechnology 6(20): 2333-2339.
- Arshad, M., M. Aslam, and M. Irshad. 2009. Genetic variability and character association among morphological traits of mungbean, *Vigna radiata* L. wilczek genotypes. J. Agric. Res. Vol. 47(2): 121-126

- Arshad, M., A. Bakhsh, and A. Ghafoor. 2004. Path coefficient analysis in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under rainfed conditions. Pak. J. Bot., 36(1): 75-81
- Asfaw, A and P.M. Kimani. 2005. Estimation of genetic parameters for some quantitative traits in large seeded bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines by factorial analysis of generation means. African Crop Science Conference Proceeding Vol. 6: 85-89
- Avenido, R.A. and K. Hattori. 1999. Differences in shoot regeneration response from cotyledonary node explants in Asiatic *Vigna* species support genomic grouping within subgenus *Ceratotropis* (Piper) Verdc. Plant Cell, Tissue and Organ Culture Vol. 58: 99–110
- AVRDC (1990). AVRDC progress report 1989. Asian Vegetable Research and Development Centre, Shanhua, Tainan, Taiwan, 350p.
- Badan Pusat Statistik. 2009. Luas panen, produktivitas dan produksi kacang hijau menurut provinsi. Badan Pusat Statistik Republik Indonesia, <http://www.bps.go.id>. [20 Februari 2010]
- Belanger, F.C., K.A. Plumley, P.R. Day, and W.A. Meyer. 2003. Interspecific hybridization as a potential method for improvement of *Agrostis* species. 43(6): 2172-2176.
- Bharathi, A, K.S.V. Selvaraj, P. Veerabhadhiran, and B.S. Lakshmi. 2006. Crossability barriers in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek): with its wild relatives. Indian J. Crop Science, Vol. 1(1-2): 120-124
- Bisht, I.S., K.V. Bhat, S. Lakhanpaul, M. Latha, P.K. Jayan, B.K. Biswas and A.K. Singh. 2005. Diversity and genetic resources of wild *Vigna* species in India. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 53–68.
- Blackhurst, H.T. and J.C. Miller, Jr. 1980. Cowpea. p. 327-337. In: W.R. Fehr and H.H. Hadley (eds.), Hybridization of crop plants. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Wisconsin, USA.
- Briggs, F.N. and P.F. Knowles. 1977. Introduction to Plant Breeding. Reinhold Publishing, USA. 426 p.

- Campinhos, E.N., I.P. Robinson, F.L. Bertolucci, and A.C. Alfenas. 1998. Interspecific hybridization and inbreeding effect in seed form a *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clonal orchard in Brazil. *Genet.Mol.Biol.* 21(3):1-12.
- Chen, H.K., M.C. Mok, and D.W.S. Mok. 1990. Somatic embryogenesis and shoot organogenesis from interspecific hybrid embryos of *Vigna glabrescens* and *V. radiata*. *Plant Cell Reports* Vol. 9:77-79
- Chen, N.C., L.R.Baker, and S.Honma. 1982. Interspecific crossability among four species of vigna food legumes. *Euphytica* Vol. 32: 925-937
- Chen, N.C., J.F. Parrot, T. Jacobb, L.R. Baker &P.S. Carlson, 1977. Interspecific hybridization of food legumes by unconventional methods of plant breeding. In:Proc. First Intl. Mungbean symposium. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhun, Taiwan. P. 247-252
- Chiang and Talekar. 1980. Identification of sources of resistance to beanfly anf two other gromyzid flies in soybean and mungbean. *J.Econ. Entomol* 73: 197-199.
- Chiang and Talekar. 1980. Identification of sources of resistance to beanfly anf two other gromyzid flies in soybean and mungbean. *J.Econ. Entomol* 73: 197-199.
- Chowdhury, R.K. and J.B. Chowdury, 1978, Intergeneric hybridization between *Vigna mungo* (L.) Hepper and *Phaseolus calcaratus* Roxb. *Indian J.Agric.Sci.* 46:117-121
- Choudhary, B.R., P. Joshi and S. Ramaraq. 2000. Interspecific hybridization between *Brassica carinata* and *Brassica rapa*. *Plant Breeding* 119: 417-420.
- Cupka, T.B. and L.H. Edwards. 1986. A new technique for crossing mungbeans. *Crop Sci* 26:830-831
- Dhuppe, M.V., P.B. Wadikar and S.P. Pole. 2010. Heterosis in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Res. J. Agric. Sci.* 1(4): 438-440.
- Echezona, B.C. 2006. Selection of pepper cultivar (*Capsicum* spp.) for the control bruchids *Callosobruchus maculates* (F.) on stored cowpea seeds. *Afr. J. Biotechnol.* 5(8): 624-628.

- Fasoula, V.A. and D.A. Fasoula. 2002. Principles underlying genetic improvement for high and stable crop yield potential. *Field Crop Research* 75:191-209.
- Fatakun, C.A. 1991. Wide hybridization of cowpea: problems and prospects. *Euphytica* 54:137-140.
- Fatokun, C.A. and B.B. Singh. 1987. Interspecific hybridization between *Vigna pubescens* and *V. unguiculata* L. Walp. through embryo rescue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 9: 229-233.
- Fehr, W.R., 1994. Principles of Cultivar Development. Iowa State University, Ames, 536p.
- Fery, F.L. 2002. New opportunities in *Vigna*. p. 424–428. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Filippetti, A., G.H. Azadegan, dan C.De Pace. 1999. Breeding strategy for seed protein content and trypsin inhibitor inferred from combining ability and heterosis in test crosses of *Vicia faba* *Plant Breeding* 118:411-416.
- Ghafoor, A, Z. Ahmad, A.S. Qureshi and M. Bashir. 2002. Genetic relationship in *Vigna mungo* (L.) Hepper and *V. radiata* (L.) R.Wilczek based on morphological traits and SDS-PAGE. *Euphytica* 123: 367–378.
- Ghafoor, A., M. Zubair and B.A. Malik. 1993. Harvest index in mungbean. *Pak. J. Agric. Res* Vol. 14: 309-313
- Gomathinayagam, P., S.G. Ram, R. Rathaswamy and N.M. Ramaswamy. 1998. Interspecific hybridization between *Vigna unguiculata* (L.) Walp. and *V. vexillata* (L.) A.Rich. through *in vitro* embryo culture. *Euphytica* 102: 203-209.
- Gopinathan, M.C. and C.R. Babu. 1985. Meiotic studies of the F1 hybrid between rice bean (*Vigna umbellata*) and its wild relative *V. minima*. *Genetica* Vol. 71(2): 115-117
- Gopinathan, M.C., C. R. Babu and K. R. Shivanna. 1986. Interspecific hybridization between rice bean (*Vigna umbellata*) and its wild relative (*V. minima*): Fertility-sterility relationships. *Euphytica*, Vol. 35(3): 1017-1022.
- Gupta, M.P. dan R.B. Singh. 1969. Variability and correlation studies in greengram (*Phaseolus aureus* Roxb.). *Indian Journal of Agric. Sci.* 39: 482-493.



- Hadley, H.H. and S.J. Openshaw. 1980. Interspecific and intergeneric hybridization. p. 133-160. In: W.R. Fehr and H.H. Hadley (eds.), Hybridization of crop plants. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Wisconsin, USA.
- Hakim, L. 2010. Keragaman genetik, heritabilitas dan korelasi beberapa karakter agronomi pada galur F2 hasil persilangan kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Berita Biologi* 10(1): 23-32.
- Hakim, L. 2008. Variability and correlation of agronomic characters of mungbean germplasm and their utilization for variety improvement program. *Indonesian J. Agric. Sci.* 9(1): 24-28.
- Hartati, Rr.S. 2000. Penggunaan colchicine dalam penggandaan kromosom hasil hibridisasi interspesifik pada *Hisbiscus* sp. untuk mengatasi sterilitas F1. Ringkasan Thesis Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya, Malang. 14 hal.
- Jackai, L.E.N. and S.K. Asante. 2003. A case for the standardization of protocols used in screening cowpea, *Vigna unguiculata* for resistance to *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Product Res* 39: 251-263
- Islam, A.K.M.A., M.M.A. Jahan, and M.A. Newaz. 2006. Diallel analysis for gene action in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bangladesh J. Pl. Breed.Genet.*, 19(2): 07-14
- Islam, W. and A.R. Khan. 2000. Bruchid research in Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Science* 3(1): 10-19.
- Kartasaputra, A.G. 1987. Hama-hama tanaman dalam gudang. Bumi Aksara Ikhtiar, Jakarta
- Keals, N. 1998. Bruchids: secret seed eaters. Australian Postharvest Technical Conference.
- Keigly, P.J. and R.E. Mullen. 1986. Changes in soybean seed quality from high temperature during seed fill and maturation. *Crop Sci.* 26: 1212-1216
- Khattak, G.S.S., M. Ashraf and M. S. Khan. 2004. Assessment of genetic variation for yield and yield components in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek) using generation mean analysis. *Pak. J. Bot.*, Vol. 36(3): 583-588
- Khattak, G.S.S., M. Ashraf and M. R. Zamir. 2004. Gene action for synchrony in pod maturity and indeterminate growth habit in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek) .. *Pak. J. Bot.*, Vol. 36(3): 589-594

- Khattak, G.S.S., MA. Haq, EUK Marwat, M. Ashraf, and P. Srinives. 2002. Heterosis for seed yield and yield component in Mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *ScienceAsia* 28: 345-350.
- Kisman, Trikoesoemaningtyas, Sobir, N. Khumaida dan D. Sopandie. 2008. Pola pewarisan adaptasi kedelai (*Glycine max* L. Merrill) terhadap cekaman naungan berdasarkan karakter morfo-fisiologi daun. *Bul. Agron.* 36(1): 1-7.
- Kogan, M and E.F. Ortman, 1978. Antixenosis: A new term proposed to define painter's 'Non preference' modality of resistance. *Entomol.Soc.Am.Bull.* 24:175-176
- Kosmiatin, M dan L. Mariska. 2005. Kultur embrio dan penggandaan kromosom hasil persilangan kacang hijau dan kacang hitam. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 10(1): 24-34.
- Kumar, B.S., M. Prakash and J. Gokulakrishnan. 2011. Genetic role of biochemical, biophysical and morpho-physiological characters in enhancing the seed yield in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Glob. J. Plant Ecophysiol* 1 (1): 14-25.
- La Muhuria. 2003. Strategi Perakitan gen-gen ketahanan terhadap hama. Makalah Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Lawrance, M.J. and J.I. Jinks. 1973. Quantitative Genetics. In" P.H. Sheppard (Ed.). *Practical Genetics*, p. 88-129. Wiley New York.
- Lopez, E.C.A., D. Destro, R. Montalvan, M.U. Ventura, and E.P. Guerra. (1977), Genetic gain and correlation among traits for stink bug resistance in soybean. *Euphytica* 96:161-166.
- Machado, M., W. Tai, and L.R. Baker. 1982. Cytogenetic analysis of the interspecific hybrid *Vigna radiata* x *V. umbellata*. *The Journal of Heredity* Vol. 73(3):205-208
- Maheswari, P and N.S. Rangaswamy. 1965. Embriology in relation to physiology and genetics. In R.D. Preston (Ed.), *Advanced in botanical research*, Vol. 2, pp. 219-312. Academic Press. London
- Makeen, K., G. Abraham, A. Jan and A.K. Singh. 2007. Genetic variability and correlations studies on yield and its components in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Journal of Agronomy* 6(1): 216-218.
- Mallikarjuna, N. 2007. Production of fertile progeny from interspecific incompatible cross *Cajanus platycarpus* × *C. cajan*. *SAT eJournal* Vol. 3(1): 1-3

- McComb, J.A. 1975. Is intergeneric hybridization in the legumeinosae possible?. *Euphytica* 24: 497-502.
- Mensah, J.K and O.R. Tope. 2007. Performance of mung beans (*Vigna mungo* (L.) Hepper) grown in Mid-west Nigeria. *American Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 2(6): 696-701
- Milborrow, B.V. 1998. A biochemical mechanism for hybrid vigour. *Journal of Experimental Botany* Vol. 49: 1063-1071.
- Mittapalli and Rowland. 2003. Inheritance of seed color of flax. *Crop Sci.* 6: 1945-1951
- Muasya, R.M., W.J.M. Lommen, and P.C. Struik. 2002. Differences in development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crops and pod fractions within crop II. Seed viability and vigour. *Field Crop Research* 75: 79-89.
- Mustapha, Y. 2007. Inheritance of flower color on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *IJPAS*, 1(1): 10-19
- Mustapha, Y. and B.B.Singh, 2008. Inheritance of pod colour in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Sci.world J.* 3(2): 39-42
- Nzamramba, M.N (2004). Inheritance of antioxidant activity and its association with seed coat color in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walph). Texas A & M University. Thesis.
- Oplinger, E.S., L.L. Hardman, A.R. Kaminski, S.M. Combs, and J.D. Doll. Mungbean. 1997. Mungbean. *Anternative field crops manual.* Wisconsin.
- Panda, N. and G.S. Khush. 1995). Host plant resistance to insects. CAB International, International Rice Research Institute.
- Pantalone, V.R., J.W. Burton, and T.E. Carter, Jr. 1996. Soybean root heritability and genotypic correlations with agronomics and seed quality traits. *Crop Sci.* 35: 1120-1125.
- Payan, F.R. and F.W. Martin. 1975. Barriers to the hybridization of *Passiflora* species. *Euphytica* 24: 709-716.
- Purnomo, H., A. Supeno, dan M. Anwari. 2001. Keragaman beberapa karakter kuantitatif dan kualitatif plasma nutfah kacang hijau. *Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*, hal. 243-252
- Petr, F.C. and K.I. Frey. 1966. Genotype correlation, dominance and heritability of quantitative characters in oat. *Crop Sci.* 6. 259-262.

- Rahardjo, B.T. 2003. Ketahanan tanaman kedelai terhadap hama lalat kacang *Ophiomyia phaseoli* Tryon (Diptera: Agromyzidae). Disertasi Program Doktor Universitas Brawijaya, Malang. 123 hal.
- Raturkov, V. and E. Klozov. 1985. Comparison of seed proteins in some representatives of the genus *Vigna*. *Biologia Plantarum* Vol. 27 (1) : 70—73.
- Rawal, K.M. 1975. Natural hybridization among wild, weedy and cultivated *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Euphytica* 24:699-707.
- Rehman, A. 2004. Genetic analysis of earliness and yield related traits in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. PhD Thesis, University of Agriculture, Faisalabad.
- Rehman, A.U., M.A. Ali, B.M. Atta, M.Saleem, A. Abbas and A.R. Mallahi. 2009. Genetic studies of yield related traits in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Australian J. of Crop Sci.* 3(6): 352-360.
- Richards, M.M., S.A. Trewick, H.M. Chapman and A. Krahulcova. 2004. Interspecific hybridization among *Hieracium* species in New Zealand: evidence from flow cytometry. *Heridity* 93: 34-42.
- Rohman, Md.M., A.S.M.I. Hussain, Md.S. Arifin, Z. Akhter and M. Hasanuzzaman. 2003. Genetic variability, correlation and path analysis in mungbean. *Asian J. of Plant Sci.* 2(17-24): 1209-1211
- Saeed, I., G.S.S. Khattak and R. Zamir. 2007. Association of seed yield and some important morphological traits in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Pak. J. Bot.* 39(7): 2361-2366
- Sain, R.S., P. Joshi and E.V.D. Sastry. 2002. Cytogenetic analysis of interspecific hybrids in genus *Citrullus* (*Cucurbitaceae*). *Euphytica* 128: 205-210.
- Sangwan, R.S. and G.P. Lodhi. 1998. Inheritance of flower and pod color in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp. *Euphytica* 102: 191-193
- Siddique, M., M.F.A. Malik and S.I. Awan. 2006. Genetic divergence, association and performance evaluation of different genotypes of mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Int. J. Agric. Biol.* Vol 8(6): 793-795. <http://www.fspublishers.org>.
- Sidhu, M.C. 2006. Cytogenetic and isozyme studies in interspecific hybrids of *Vigna radiata* and *V. mungo* with *V. trilobata*.

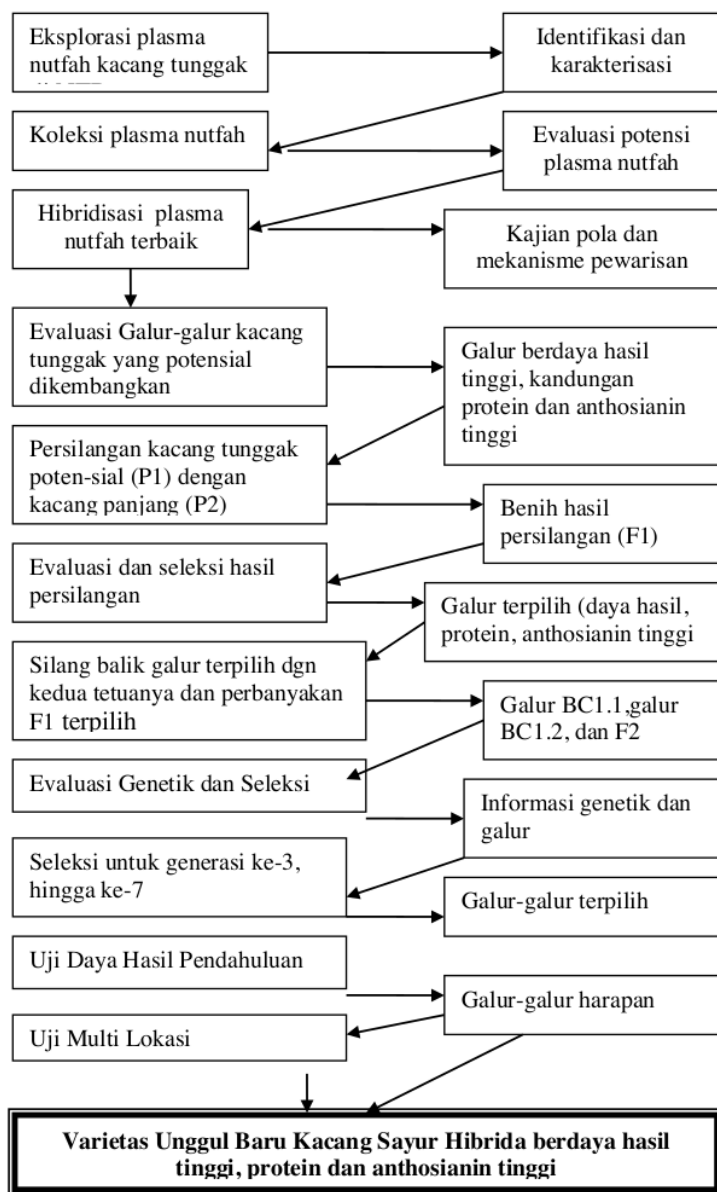
- Singh, A.K., J.P. Moss, and J. Smartt. 1990. Ploidy manipulations for interspecific gene transfer. in *Advances in Agronomy* Vol. 43:199-240.
- Singh B.B., S.R. Singh, O. Adjadi (1985). Bruchid resistance in cowpea. *Crop sci.* 25: 736-739
- Singh, H., S. N. Sharma and R. S. Sain. 2004. Heterosis studies for yield and its components in bread wheat over environments. *Hereditas* Vol. 141: 106 -114
- Singh, S.K., L.A. Johnson, L.M. Pollak, and C.R. Hurburgh. 2001. Heterosis in compositional, physical, and wet milling properties of adapted x exotic corn crosses. *Cereal Chem.* 78(3): 336-341
- Smart, J. 1979. Interspecific hybridization in the grain legumes -A Review. *Economic Botany*, 33(3): 329-337
- Smart, J. 1981. Gene pools in *Phaseolus* and *Vigna* cultigens. *Euphytica* 30: 445-449
- Smith, W.K., 1953. Viability of interspecific hybrids in *Melilotus*. *Genetics* 39: 266-279
- Somta, P., C. Ammaranan, P.A.C. Ooi, and P. Srinives. 2007. Inheritance of seed resistance to bruchids in cultivated mungbean (*Vigna radiata*, L. Wilczek). *Euphytica* 155: 47-55.
- Somta, P., A. Kaga, N. Tomooka, K. Kashiwaba, T. Isemura, B. Chaitieng, P. Srinives, and D.A. Vaughan. 2006. Development of an interspecific *Vigna* linkage map between *Vigna umbellata* (Thunb) Ohwi & Ohashi dan *Vigna nakashimae* (Ohwi) Ohwi & Ohashi and its use in analysis of bruchid resistance and comparative genomics. *Plant Breeding J.* Vol. 125 (1): 77-84
- Somta, P., N.S. Talekar and P. Srinives. 2006. Characterization of *Callosobruchus chinensis* (L.) resistance in *Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi. *Journal of Stored Product Research* Vol. 42(3): 313-327.
- Srinivasan, T and C. Durairaj. 2007. Biochemical basis of resistance in rice bean, *Vigna umbellata* Thunb Ohwi dan Ohashi against *Callosobruchus maculatus* F. J. *Entomology* 4 (5) : 371-378.
- Srinives, P. 1995. Mungbean breeding : Past, present, and future. In Srinives, P; Kitbamroong dan S. Miyazaki (eds). *Mungbean germplasm: Collection, evaluation and utilization for breeding program. Proceeding of the Workshop on Mungbean Germplasm*, Bangkok, p. 73-82.

- Sukla, R., B. Srivastava, R. Kumar and N.K. Dubey, 2007. Potential of some botanical powders in redberasng infestation of chickpea by *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Agricultural Technology* 3(1): 11-19.
- Sumarno. 1991. Pemuliaan untuk ketahanan terhadap hama. Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman I. Balai Penelitian Tanaman Pangan Malang.
- Suwarno, W.B. 2008. Inkompatibilitas, sterilitas jantan, dan poliploidi. <http://willy.situshijau.co.id> tanggal 20 April 2008
- Talekar, N.S. 1997. Insect pests of mungbean and their control. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan. p: 101-187.
- Talekar, N. S. and C. P. Lin. 1992. Characterization of *Callosobruchus chinensis*(Coeloptera:Bruchidae) resistance in mungbean. *Journal of Economic Entomology*, 85: 1150-1153
- Thiyagu, K., P. Jayamani, and N. Nadarajan. 2008. Polen pistil interaction in interspecific crosses of *Vigna* sp. *Cytologia*, Vol. 73(3): 251-257.
- Toker, C. 2004. Estimates of broad sense heritability for seed yield and yield criteria in faba bean (*Vicia faba* L.). *Hereditas* 140: 222-225.
- Tomooka, N., K. Kashiwaba, D.A. Vaughan, M. Ishimoto, Y. Egawa. 2000. The effectiveness of evaluating wild spesies: searching for sources of resistance to bruchid beetles in genus *Vigna* sub genus *Ceratotropis*. *Euphytica* 115: 27-41
- Turkova, V. and E. Klozova, 1985. Comparation in seed protein in some representatives of genus *Vigna* *Biologia Plantarum* 27(1): 70-73.
- Tyagi, A.P. and V.V. Singh. 1998. Pollen fertility and intraspecific and interspecific compatibility in mangroves of Fiji. *Sex Plant Reprod.* 11: 60-63
- Ujianto, L. (2010). Perbaikan Daya Hasil dan Ketahanan Kacang Hijau terhadap Hama Kumbang Bubuk melalui Persilangan antar Spesies. Laporan Penelitian Hibah Doktor, Universitas Brawijaya.



- Ujjianto, L., N. Basuki, Kuswanto, A. Kasno. 2011. Karakteristik dan Korelasi Antar Sifat Hibrida Hasil Persilangan antar Spesies Kacang Hijau dengan Kacang Beras. *Agroteksos*. Vol. 21(2-3):95-105
- Ujjianto, L., N. Basuki, Kuswanto, A. Kasno. 2011. Evaluasi Ketahanan Hibrida Hasil Persilangan antar Spesies Kacang Hijau dengan Kacang Uci terhadap *Challosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Brucidae). *J. Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. Vol. 11(2): 130-138.
- Ullah, M.A., A.N. Tariq, and A. Razzaq. 2007. Effect of rice bean (*Vigna umbellata*) inter-cropping on the yield of perennial grass, *Panicum maximum* CV. Gatun under rain-fed conditions. *Journal of Agriculture & Social Sciences*. *J. Agri. Soc. Sci.*, Vol. 3(2): 70-72.
- Ullah, H., I.H. Khalil, H. Rahman, F.Muhammad, I.A. Khalil and S.K.Khalil. 2011. Environmental influence on heritability and selection response of morpho-physiological traits in mungbean. *Pak. J. Bot.* 43(1): 301-310.
- Umaharan, P., R.P. Ariyanayagam, dan S.Q. Haque, 1997. Genetic Analysis of Yield and Its Components in Vegetable Cowpea (*Vigna unguiculata* L.Walp). *Euphytica* 96:207-213.
- Van der Maesen, L.J.G. and S. Somaatmadja. 1989. Plant resources of South East Asia. Pudoc Wageningen, 105 p.
- Watanasit, A and S. Pichitpon. 1995. Improvement of mungbean for resistance to Bruchids. *In* Srinives, P; Kitbamroong dan S. Miyazaki (eds). *Mungbean germplasm: Collection, evaluation and utilization for breeding program*. Proceeding of the Workshop on Mungbean Germplasm, Bangkok, p. 67-71.
- Xin, C., W. Sorajjapinun, S. Reiwthongchum and P. Srinives. 2003. Identification of parental mungbean lines for production of hybrid varieties. *CMU Journal* 2(2): 97-105.
- Youping, W. and L. Peng. 1998. Intergeneric hybridization between *Brassica* species and *Crambe abyssinica*. *Euphytica* 101: 1-7.
- Zubair, M., S.U. Ajmal and S. Ali. 2010. Heterosis for yield related attributes in mungbean (*Vigna radiata* (L.)Wilczek). *Pak. J. Bot.*, 42(42):3209-3214

Lampiran 1. Bagan Perakitan Kacang Sayur



Lampiran 2. Data Karakteristik Kuantitatif Galur-galur Hasil Seleksi  
Kacang Sayur Hibrida F7

No.	Galur	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	GKH13	7,9	76,1	16,8	14,7	37,3	22,8	46,3	43,8	66,2
2	GKH16	8,1	77,8	14,2	15,0	35,2	22,5	38,3	42,8	59,4
3	GKH33	9,2	72,2	14,2	14,2	37,3	22,5	36,7	43,8	62,3
4	GKH39	10,1	90,7	20,7	16,6	39,3	22,8	45,3	48,7	69,1
5	GKH45	9,6	84,1	16,3	14,2	38,3	23,0	55,4	44,8	68,1
6	GKH51	9,7	80,6	15,3	14,7	36,2	26,1	49,2	45,7	69,1
7	GKH58	9,2	84,2	13,2	15,3	47,6	26,9	42,4	40,9	65,2
8	GKH62	9,2	88,4	13,5	13,2	40,4	22,8	46,6	42,8	67,1
9	GKH73	9,5	90,4	14,7	12,9	39,3	20,7	58,5	42,8	69,1
10	GKH79	10,8	83,9	12,2	14,2	37,3	21,7	45,8	47,7	69,1
11	GKH85	9,6	79,7	12,2	12,2	41,4	22,0	49,2	43,8	68,1
12	GKH98	10,7	83,2	10,6	13,7	43,5	24,6	39,8	44,8	69,1
13	GKH117	9,9	89,3	14,2	16,0	41,4	25,4	37,8	39,9	65,2
14	GKH129	8,4	82,9	18,1	14,0	39,3	21,7	53,3	42,8	67,1

Keterangan: 1. Diameter batang (mm), 2. Tinggi tanaman (cm), 3. Jumlah polong per tanaman, 4. jumlah biji per polong, 5. Panjang polong (cm), 6. Berat 100 butir biji (g), 7. Berat biji per tanaman (g), 8. Umur berbunga (hari), 9. Umur panen (hari).

Lampiran 3. Data Tinggi Tanaman Kacang Hijau sebagai Tetua Betina (P1), Kacang Beras sebagai Tetua Jantan (P2), Keturunan Pertama (F1), Silang Balik ke Tetua Betina (BC1.1), ke Tetua Jantan (BC1.2) dan Keturunan Kedua (F2)

No.	P1	P2	F1	BC11	BC12	F2						
1	70	130	69	78	77	71	86	53	49	72	56	49
2	61	131	72	61	85	84	87	67	51	73	53	71
3	64	142	77	58	88	81	77	59	53	71	56	67
4	74	147	76	64	85	74	73	56	47	69	54	66
5	71	140	64	60	75	70	74	58	73	73	52	74
6	73	123	83	67	86	72	72	57	67	77	69	65
7	74	134	66	59	84	88	70	54	65	79	76	72
8	71	137	85	66	77	76	64	59	70	72	78	58
9	65	122	80	53	74	78	86	64	69	65	74	60
10	64	127	86	59	72	70	88	59	81	63	53	73
11	63	126	77	73	77	70	71	88	87	58	59	63
12	64	123	71	47	87	74	60	86	72	61	67	71
13	69	130	72	63	85	60	63	51	73	65	60	56
14	70	125	88	59	60	81	88	64	77	60	65	47
15	68	121	65	56	76	61	85	59	74	58	63	59
16	69	131	74	79	71	72	93	67	64	64	81	67
17	58	130	73	73	66	65	77	66	72	61	60	71
18	61	133	83	64	77	81	88	57	61	60	49	51
19	81	134	81	66	75	88	86	52	58	66	43	63
20	63	128	84	80	71	86	84	70	73	61	49	70
21	70	130	86	78	85	67	72	67	78	91	63	47
22	68	127	72	83	67	72	64	74	65	84	65	72
23	70	129	74	94	73	76	94	78	72	80	93	77
24	69	126	77	92	73	58	76	65	77	77	83	58
25	60	120	70	88	70	83	84	67	66	67	80	64
26	63	131	73	86	78	85	87	83	67	51	87	59
27	72	135	85	88	75	73	90	73	74	59	84	50
28	71	134	87	105	74	76	71	69	53	67	83	59
29	60	136	71	95	76	72	61	71	54	52	86	51
30	72	130	79	58	81	69	59	84	70	58	73	43

Lampiran 4.

GLOSARIUM

- Alel : Bentuk-bentuk alternatif dari gen pada suatu lokus. Alel terbentuk karena adanya variasi pada urutan basa nitrogen akibat peristiwa mutasi
- Anthesis : Masa di mana bunga terbuka penuh dan fungsional
- Daya gabung khusus : Kemampuan suatu kombinasi persilangan untuk menunjukkan penampilan keturunannya.
- Daya gabung umum : Kemampuan suatu genotipe untuk menunjukkan kemampuan rerata keturunannya bila disilangkan dengan sejumlah genotipe lain yang dikombinasikan
- Determinit : Tipe pertumbuhan tanaman yang terbatas, apabila tanaman sudah berbunga maka tanaman tersebut sudah berhenti pertumbuhannya
- Dialel : Jenis persilangan dari beberapa tetua galur murni yang berbeda karakternya.
- Dominan : Sifat yang lebih besar pengaruh atau peranannya
- Eksplorasi : Suatu upaya atau kegiatan untuk mencari sumber-sumber plasma nutfah untuk tujuan koleksi dan menambah keragaman genetik
- Nutfah
- Emaskulasi : Suatu tehnik untuk menghilangkan benang sari pada tetua betina pada tanaman menyerbuk sendiri
- Embriogenesis : Proses pembentukan dan perkembangan embrio. Proses ini merupakan tahapan perkembangan sel setelah mengalami pembuahan atau fertilisasi. Embriogenesis meliputi pembelahan sel dan pengaturan di tingkat sel
- Endosperm : Cadangan makanan bagi embrio, mempunyai kromosom 3n (triploid) pada angiospermae dan 1n (haploid) pada gymnospermae.
- Evaluasi lanjutan : Pengujian galur-galur harapan pada beberapa lokasi atau musim untuk menentukan daya adaptasi dan stabilitas hasil atas dasar besarnya pengaruh interaksi genetik dan lingkungan

Evaluasi pendahuluan	: Pengujian beberapa galur hasil seleksi pada satu lokasi
Faktor abiotik	: Faktor komponen penyusun ekosistem yang terdiri atas makhluk tak hidup
Faktor biotik	: Faktor komponen penyusun ekosistem yang terdiri atas makhluk hidup
Fenotip	: Sifat yang tampak atau terlihat pada suatu organisme. Fenotip merupakan hasil interaksi antara genotip dengan lingkungan
Galur	: Sekelompok individu sejenis yang homozigot atau memiliki komposisi genetik yang sama untuk satu atau gabungan karakteristik tertentu yang akan menjadi penciri galur itu. Akibat keadaan genotipe tersebut, penampilan luar (fenotipe) galur akan seragam.
Gamet	: Sel haploid yang diproduksi oleh organisme untuk tujuan reproduksi seksual
Gen	: Unit dasar pewarisan sifat, sebuah unit pewarisan sifat yang terdiri dari urutan DNA yang menempati lokasi tertentu pada kromosom dan menentukan karakteristik tertentu dalam suatu organisme.
Genetik	: Bidang ilmu yang mengkaji fenomena pewarisan dan variasi dalam kesemua makhluk hidup,
Genom	: Keseluruhan informasi genetik yang dimiliki suatu sel atau organisme, atau khususnya keseluruhan asam nukleat yang memuat informasi tersebut
Genotip	: sifat yang tidak tampak pada suatu organisme
Heritabilitas	: Daya waris atau suatu besaran bagi pengaruh keragaman genetik terhadap keragaman fenotipik dalam suatu populasi biologis
Heterosigot	: Suatu bentuk genotipe yang mungkin terjadi pada individu. Dimana alel-alel yang menempati suatu lokus berbeda-beda untuk setiap kromosom.
Heterosis	: Keunggulan hibrida atau hasil persilangan (F1) yang melebihi nilai atau kisaran kedua tetuanya atau efek perubahan pada penampilan keturunan persilangan (blaster) yang secara konsisten

	berbeda dari penampilan kedua tetuanya.
Hibrida	: Turunan hasil hibridisasi dari dua tetua atau lebih yang berbeda karakteristiknya
Hibrida Fertil	: Turunan hasil persilangan yang mampu tumbuh dan berkembang serta menghasilkan buah dan biji.
Hibridisasi	: Persilangan antar varietas atau spesies yang berbeda untuk menghasilkan tipe yang lebih baik atau tipe baru
Homogen	: Tipe pertumbuhan tanaman yang terbatas, apabila tanaman sudah berbunga maka tanaman tersebut sudah berhenti pertumbuhannya
Indeterminit	: Tipe pertumbuhan tanaman yang terbatas, apabila tanaman sudah berbunga maka tanaman tersebut sudah berhenti pertumbuhannya
Inkompatibilitas	: Ketidaksesuaian
Introduksi	: Memasukkan plasma nutfah baik berupa varietas lokal, galur dan varietas unggul
Keragaman Genetik	: Variasi pada suatu populasi tanaman yang disebabkan oleh faktor genetik
Kleistogami	: Tanaman menyerbuk sendiri yang melakukan penyerbukan sebelum bunga mekar
Koleksi	: Mengumpulkan beberapa plasma nutfah yang memiliki keunggulan karakter masing-masing
Kolkisin	: Senyawa kimia yang digunakan untuk mengganda
Kombinasi gen	: Gabungan beberapa gen yang berbeda dari tetua yang berbeda karakternya melalui persilangan
Kromosom	: Struktur di dalam sel berupa deret panjang molekul yang terdiri dari satu molekul DNA dan berbagai protein terkait yang merupakan informasi genetik suatu organisme, seperti molekul kelima jenis histon dan faktor transkripsi yang terdapat pada beberapa deret, dan termasuk gen unsur regulator dan sekuens nukleotida. Kromosom yang berada di dalam nukleus sel eukariota, secara khusus disebut kromat



- Kultivar : Sekelompok tanaman yang memiliki satu atau lebih ciri yang dapat dibedakan secara jelas, dan tetap mempertahankan ciri-ciri khas ini jika direproduksi (secara seksual maupun aseksual). Yang dapat disebut kultivar dengan demikian adalah populasi terseleksi, galur, klon, atau hibrida
- Lokus : Letak suatu gen pada suatu berkas kromosom
- Maternal effect : Pengaruh dari tetua betina terutama untuk sifat-sifat yang dikendalikan di luar inti sel
- Mutasi : Perubahan materi genetik (DNA) yang dapat diwariskan secara genetis pada keturunannya.
- Pembuahan : Proses menyatunya gamet jantan dan gamet betina
- Pemulia : Orang yang menjalankan program pemuliaan
- Pemuliaan : Kegiatan mengubah susunan genetik individu maupun populasi tanaman untuk suatu tujuan terutama perbaikan suatu tanaman atau menciptakan varietas unggul baru
- Penyerbukan : Proses perpindahan tepung sari dari tetua jantan ke kepala putik tetua betina
- Peran gen : Fungsi gen (unit pewarisan sifat) dalam menentukan karakteristik struktural dan fungsional dari organisme
- Persilangan : Suatu kegiatan untuk menggabungkan gen yang mengatur keunggulan karakter pada tetua betina dan jantan
- Plasma nutfah : Sumber sifat keturunan (gen) yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan untuk menciptakan jenis unggul
- Polen : Suatu organ generatif yang merupakan serbuk sari jantan pada bunga, yang dibutuhkan dalam proses penyerbukan
- Polinasi : Sama dengan penyerbukan
- Poliploidi : Kondisi pada suatu organisme yang memiliki set kromosom lebih dari sepasang
- Populasi : wilayah generalisasi berupa subjek atau objek yang diteliti untuk dipelajari dan diambil kesimpulan

Resiprok	: Persilangan balik, yang tadinya tetua jantan menjadi tetua betina dan sebaliknya yang tadinya tetua betina menjadi tetua jantan
Segregasi	: Proses pemisahan kombinasi gen-gen akibat adanya persilangan
Seleksi	: Pemilihan individu unggul dari suatu populasi
Sifat kualitatif	: Sifat yang dikendalikan oleh gen mayor atau gen sederhana (satu atau dua gen) dan mudah diklasifikasikan, misalnya warna
Sifat kuantitatif	: Sifat yang dikendalikan oleh banyak gen dan dalam pengamatannya perlu pengukuran, penimbangan, dan perhitungan
Silang balik	: Persilangan antara keturunan pertama hasil persilangan (F1) dengan tetuanya, umumnya dengan tetua betina.
Sitologis	: Kajian pada tingkat sel
Spesies	: Organisme yang dapat melakukan perkawinan dengan sesamanya dan menghasilkan keturunan yang fertil
Steril	: Suatu tanaman yang mampu tumbuh dan berkembang tetapi bunganya tidak berfungsi atau tidak menghasilkan biji
Stilus	: Tangkai putik
Toleran	: Suatu reaksi dari suatu organisme yang tahan atau mampu pulih kembali setelah adanya serangan OPT
Transfer gen	: Berpindahnya gen yang mengendalikan sifat pada tetua jantan kepada keturunannya
Varietas	: suatu populasi tanaman dalam satu spesies yang menunjukkan ciri berbeda yang jelas
Varietas lokal	: suatu populasi tanaman dalam satu spesies yang menunjukkan ciri berbeda yang jelas yang sudah ditanam dalam jangka waktu yang lama dan telah beradaptasi

- Varietas unggul : varietas yg memiliki sifat2 agronomi yg unggul dibandingkan dgn varietas lainnya, meskipun mungkin ada salah satu sifat yg kalah dgn varietas lain (misalnya dr rasa, ketahanan trhdp salah satu penyakit, dsb), shg pd kondisi optimal, menghasilkan produksi yg tinggi
- Vegetatif : bagian atau jaringan tubuh yang bekerja untuk kegiatan sehari-hari dan bukan untuk keperluan perkembangbiakan
- Viabilitas : kemampuan benih untuk berkecambah dan menghasilkan bibit yang normal
- Vigor hibrid : Sama dengan heterosis
- Zigot : Calon individu baru sebagai hasil peleburan sel kelamin jantan dan betina.

## INDEKS

Alel	: 21, 31, 32, 57, 96
Anthesis	: 3, 45, 56,
Daya gabung khusus	: 22, 25, 43,
Daya gabung umum	: 25, 43,
Determinit	: 61
Dialel	: 17, 102,
Dominan	: 16
Eksplorasi	: 17, 38,
Plasma Nutfah	
Emaskulasi	: 13, 18, 23, 55,
Embriogenesis	: 3, 57,
Endosperm	: 3, 7, 8
Evaluasi	: 51, 120
pendahuluan	
Faktor abiotik	: 4, 17, 22, 46, 49
Faktor biotik	: 4, 16, 22, 46, 49, 105
Fenotip	: 21, 40, 43, 82, 102, 103, 106
Galur	: 32, 33, 40, 51, 98, 101-104, 121
Gamet	: 9, 34, 39, 47- 49, 57,
Gen	: 1- 4, 7, 16, 17, 20
Genetik	: 32, 36-40, 44, 46, 50, 55, 56, 63, 71,79, 81-83, 97, 100-108, 123,
Genom	: 39-41, 47, 110
Genotip	: 21, 26, 31, 34, 35, 39, 50, 54, 68, 77, 82, 91-94, 102, 103
Heritabilitas	: 17, 81-83, 106, 108
Heterosigot	: 34, 35
Heterosis	: 25, 40, 74-76, 105
Hibrida	: 4,20, 22, 26, 35-46, 49-51, 60, 75, 76, 104, 108
Hibridisasi	: 1, 4, 15,17-31, 36-47, 63, 98, 99, 104, 107

Homogen	: 59, 102, 104
Homosigot	: 32-35, 99, 102, 104
Indeterminit	: 10, 27
Inkompatibilitas	: 2, 10, 38, 39, 44, 50, 55-58,
Introduksi	: 34, 102
Keragaman	: 1, 5-15, 18, 23, 36, 37, 79, 81, 8 2, 88, 103, 105, 108
Genetik	
Kleistogami	: 13
Koleksi	: 2, 16-18, 37
Kolkisin	: 2, 41
Kromosom	: 2, 3, 9, 21, 33, 34, 37, 40, 41, 45-49
Kultivar	: 6, 18, 25-30, 46, 101
Lokus	: 21, 32-35, 39, 40, 99
Maternal effect	: 25, 56
Mutasi	: 34, 48, 101
Pembuahan	: 9, 13, 27, 33, 39, 44-46, 57, 58
Pemuliaan	: 1-5, 15, 17-22, 36-43, 49, 50, 82, 97-106
Penyerbukan	: 6-9, 13, 14, 34, 44
Peran gen	: 4, 16, 62, 69, 74-82, 107
Plasma nutfah	: 4, 15-18, 22, 42
Polen	: 3, 28, 30, 38, 39, 49, 56-58
Polinasi	: 18, 23, 41, 42, 55, 95, 97
Poliploidi	: 46
Populasi	: 2, 3, 6, 21, 33, 34, 38, 39, 43, 44, 53, 58-63, 68-72, 76, 83-103
Resiprok	: 25, 34, 39, 44, 58
Segregasi	: 21, 34, 35, 83, 98-100
Seleksi	: 15, 33, 34, 51, 98-104
Silang balik	: 3, 17, 25, 53-56, 76, 77, 91, 92, 97, 98
Sitologis	: 45, 56
Steril	: 2, 3, 10, 36-40, 44, 46, 90
Stilus	: 3, 57, 58

Toleran	: 5, 7, 10, 22, 43, 51, 108
Transfer gen	: 22, 36
Varietas	: 2, 4, 7, 16-23, 32-35, 44-55, 60-68, 73-108
Vegetatif	: 10, 27, 28, 31
Viabilitas	: 2, 3, 58, 59, 72, 90, 92, 95, 96, 107
Homogen	: 59, 102, 104
Homosigot	: 32-35, 99, 102, 104
Indeterminit	: 10, 27
Inkompatibilitas	: 2, 10, 38, 39, 44, 50, 55-58,
Introduksi	: 34, 102
Keragaman	: 1, 5-15, 18, 23, 36, 37, 79, 81, 8 2, 88, 103, 105, 108
Genetik	
Kleistogami	: 13
Koleksi	: 2, 16-18, 37
Kolkisin	: 2, 41
Kromosom	: 2, 3, 9, 21, 33, 34, 37, 40, 41, 45-49
Kultivar	: 6, 18, 25-30, 46, 101
Lokus	: 21, 32-35, 39, 40, 99
Maternal effect	: 25, 56
Mutasi	: 34, 48, 101
Pembuahan	: 9, 13, 27, 33, 39, 44-46, 57, 58
Pemuliaan	: 1-5, 15, 17-22, 36-43, 49, 50, 82, 97-106
Penyerbukan	: 6-9, 13, 14, 34, 44
Peran gen	: 4, 16, 62, 69, 74-82, 107
Plasma nutfah	: 4, 15-18, 22, 42
Polen	: 3, 28, 30, 38, 39, 49, 56-58
Polinasi	: 18, 23, 41, 42, 55, 95, 97
Poliploidi	: 46
Populasi	: 2, 3, 6, 21, 33, 34, 38, 39, 43, 44, 53, 58-63, 68-72, 76, 83-103
Resiprok	: 25, 34, 39, 44, 58
Segregasi	: 21, 34, 35, 83, 98-100
Seleksi	: 15, 33, 34, 51, 98-104

Silang balik	: 3, 17, 25, 53-56, 76, 77, 91, 92, 97, 98
Sitologis	: 45, 56
Steril	: 2, 3, 10, 36-40, 44, 46, 90
Stilus	: 3, 57, 58
Toleran	: 5, 7, 10, 22, 43, 51, 108
Transfer gen	: 22, 36
Varietas	: 2, 4, 7, 16-23, 32-35, 44-55, 60-68, 73-108
Vegetatif	: 10, 27, 28, 31
Viabilitas	: 2, 3, 58, 59, 72, 90, 92, 95, 96, 107





Lestari Ujianto, Lahir di Kediri Jawa Timur pada tanggal 5 Oktober 1963, anak dari bapak Sutedjo Kaseran (Almarhum) dan Ibu Sutarti. Penulis mengikuti pendidikan Sekolah Dasar, Sekolah Menengah Pertama, dan Sekolah Menengah Atas di Kediri, Jawa Timur lulus Tahun 1981. Pendidikan S1 penulis tempuh di Fakultas Pertanian Universitas Jember, lulus sarjana muda tahun 1985 dan sarjana tahun 1986.

Tahun 1994-1996 penulis memperoleh beasiswa dari Bank Dunia lewat OTO BAPPENAS untuk menempuh studi Graduate Program (S2) di North Dakota State University, Amerika Serikat Jurusan (major) Crop Sciences dan minor Plant Breeding. Tahun 1996 penulis memperoleh penghargaan Smith Award, an outstanding International Student in North Dakota State University. Tahun 2005 penulis mengikuti non degree training of Horticultural Plant Breeding di The University of Queensland, Australia. Sejak Maret 1988 sebagai dosen tetap pada Fakultas Pertanian Universitas Mataram. Tahun 2000-2008 menjadi pengurus Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Mataram. Tahun 2008-2011 penulis menempuh program Doktor di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Sejak tahun 1997 penulis melakukan penelitian tentang kacang-kacangan terutama genus *Vigna* yaitu kacang tunggak (*Vigna unguiculata*), kacang panjang (*Vigna sesquipedalis*). Saat ini telah mendapatkan galur harapan kacang sayur berpolong ungu yang mengandung protein dan anthosianin tinggi, toleran terhadap kekeringan dan tidak menggunakan lanjaran dalam sistem budidayanya.

2

ISBN 978-979-8911-82-8



Penerbit  
Mataram University Press

# Pemuliaan Tanaman Kacang-kacangan melalui hibridisasi antar spesie

## ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

5%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://jhpttropika.fp.unila.ac.id">jhpttropika.fp.unila.ac.id</a> Internet Source	4%
2	<a href="http://www.onesearch.id">www.onesearch.id</a> Internet Source	3%
3	<a href="http://jurnal.yudharta.ac.id">jurnal.yudharta.ac.id</a> Internet Source	3%
4	<a href="http://repository.pertanian.go.id">repository.pertanian.go.id</a> Internet Source	3%
5	<a href="http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id">balitkabi.litbang.pertanian.go.id</a> Internet Source	3%

Exclude quotes  On

Exclude matches  < 3%

Exclude bibliography  On

# Pemuliaan Tanaman Kacang-kacangan melalui hibridisasi antar spesie

---

GRADEMARK REPORT

---

FINAL GRADE

**/1**

GENERAL COMMENTS

**Instructor**

---

PAGE 1

---

PAGE 2

---

PAGE 3

---

PAGE 4

---

PAGE 5

---

PAGE 6

---

PAGE 7

---

PAGE 8

---

PAGE 9

---

PAGE 10

---

PAGE 11

---

PAGE 12

---

PAGE 13

---

PAGE 14

---

PAGE 15

---

PAGE 16

---

PAGE 17

---

PAGE 18

---

PAGE 19

---

PAGE 20

---

PAGE 21

---

PAGE 22

---

PAGE 23

---

PAGE 24

---

PAGE 25

---

PAGE 26

---

PAGE 27

---

PAGE 28

---

PAGE 29

---

PAGE 30

---

PAGE 31

---

PAGE 32

---

PAGE 33

---

PAGE 34

---

PAGE 35

---

PAGE 36

---

PAGE 37

---

PAGE 38

---

PAGE 39

---

PAGE 40

---

PAGE 41

---

PAGE 42

---

PAGE 43

---

PAGE 44

---

PAGE 45

---

PAGE 46

---

PAGE 47

---

PAGE 48

---

PAGE 49

---

PAGE 50

---

PAGE 51

---

PAGE 52

---

PAGE 53

---

PAGE 54

---

PAGE 55

---

PAGE 56

---

PAGE 57

---

PAGE 58

---

PAGE 59

---

PAGE 60

---

PAGE 61

---

PAGE 62

---

PAGE 63

---

PAGE 64

---

PAGE 65

---

PAGE 66

---

PAGE 67

---

PAGE 68

---

PAGE 69

---

PAGE 70

---

PAGE 71

---

PAGE 72

---

PAGE 73

---

PAGE 74

---

PAGE 75

---

PAGE 76

---

PAGE 77

---

PAGE 78

---

PAGE 79

---

PAGE 80

---

PAGE 81

---

PAGE 82

---

PAGE 83

---

PAGE 84

---

PAGE 85

---

PAGE 86

---

PAGE 87

---

PAGE 88

---

PAGE 89

---

PAGE 90

---

PAGE 91

---

PAGE 92

---

PAGE 93

---

PAGE 94

---

PAGE 95

---

PAGE 96

---

PAGE 97

---

PAGE 98

---

PAGE 99

---

PAGE 100

---

PAGE 101

---

PAGE 102

---

PAGE 103

---

PAGE 104

---

PAGE 105

---

PAGE 106

---

PAGE 107

---

PAGE 108

---

PAGE 109

---

PAGE 110

---

PAGE 111

---

PAGE 112

---

PAGE 113

---

PAGE 114

---

PAGE 115

---

PAGE 116

---

PAGE 117

---

PAGE 118

---

PAGE 119

---

PAGE 120

---

PAGE 121

---

PAGE 122

---

PAGE 123

---



PAGE 124

---

PAGE 125

---

PAGE 126

---

PAGE 127

---

PAGE 128

---

PAGE 129

---

PAGE 130

---

PAGE 131

---

PAGE 132

---

PAGE 133

---

PAGE 134

---

PAGE 135

---

PAGE 136

---

PAGE 137

---

PAGE 138

---

PAGE 139

---

PAGE 140

---