

**PERSILANGAN KEDELAI (*Glycine max* L. Merrill.)
VARIETAS ANJASMORO DAN GROBOGAN DENGAN
GALUR *Gm2* DAN *Gm5* TOLERAN ALUMUNIUM (Al)**

**Oleh:
LAILA NUR FATIMAH**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**PERSILANGAN KEDELAI (*Glycine max* L. Merrill.)
VARIETAS ANJASMORO DAN GROBOGAN DENGAN
GALUR *Gm2* DAN *Gm5* TOLERAN ALUMINIUM (Al)**

Oleh:

**LAILA NUR FATIMAH
145040200111017**

**MINAT BUDIDAYA PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG**

2018

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Persilangan Kedelai (*Glycine max* L. Merrill.) Varietas Anjasmoro dan Grobogan dengan Galur *Gm2* dan *Gm5* Toleran Alumunium (Al)

Nama : Laila Nur Fatimah

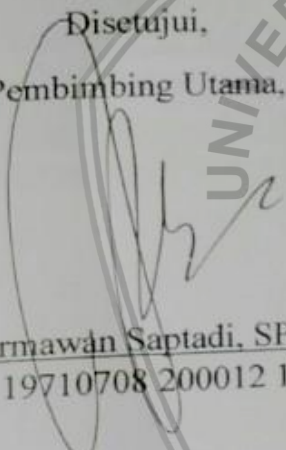
NIM : 145040200111017

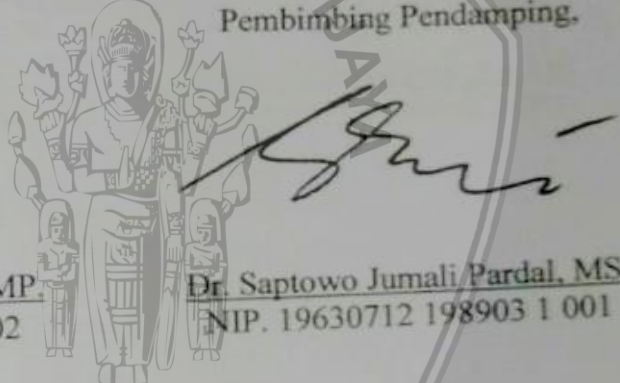
Minat : Budidaya Pertanian

Program Studi : Agroekoteknologi


Disetujui,
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Darmawan Saptadi, SP., MP.
NIP. 19710708 200012 1 002


Dr. Saptowo Jumali Pardal, MS.
NIP. 19630712 198903 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan Budidaya Pertanian,


Dr. Ir. Nurul Aini, MS.
NIP. 196010121986012001

Tanggal Persetujuan:

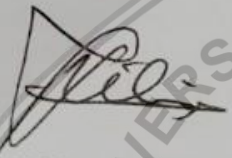


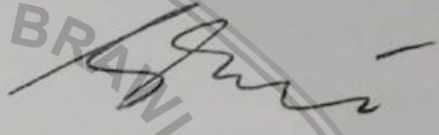
LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan,
MAJELIS PENGUJI

Penguji I,

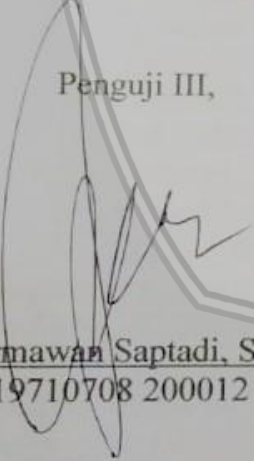
Penguji II,

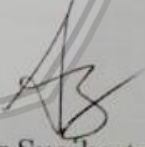

Dr. Budi Waluyo, SP., MP.
NIP. 19740525 199903 1 001


Dr. Saptowo Jamali Pardal, MS.
NIP. 19630712 198903 1 001

Penguji III,

Penguji IV,


Dr. Darmawan Saptadi, SP., MP.
NIP. 19710708 200012 1 002


Ir. Arifin Noor Sugiharto, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19620417 198701 1 002

Tanggal Lulus: 02 AUG 2018



PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Malang, Agustus 2018

Laila Nur Fatimah
NIM. 145040200111017

RINGKASAN

Laila Nur Fatimah. 145040200111017. Persilangan Kedelai (*Glycine max* L. Merrill.) Varietas Anjasmoro dan Grobogan dengan Galur *Gm2* dan *Gm5* Toleran Aluminium (Al). Di bawah bimbingan Dr. Darmawan Saptadi, SP., MP. dan Dr. Saptowo J. Pardal, MS.

Kedelai (*Glycine max* L. Merrill.) menjadi salah satu komoditas pangan utama di Indonesia dan merupakan sumber protein nabati. Kendala pengembangan kedelai di lahan marginal antara lain adanya kemasaman tanah dan kejenuhan aluminium (Al) tinggi. Penanganan kemasaman tanah dan kejenuhan Al dapat dilakukan melalui pengapuran, namun aplikasi kapur pada tanah masam untuk budidaya kedelai memberikan pengaruh yang cepat hilang sehingga kurang ekonomis bagi petani. Alternatif yang dapat diterapkan adalah menanam varietas kedelai toleran, tetapi ketersediaannya saat ini masih terbatas. Upaya perakitan varietas kedelai toleran Al perlu dikembangkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberhasilan persilangan antara galur *Gm2* dan *Gm5* yang mengandung gen toleran Al (gen *MaMt2*) dengan varietas Anjasmoro dan Grobogan.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2017 hingga April 2018, bertempat rumah kawat Balai Besar Penelitian Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 12 perlakuan dan 3 ulangan. Ulangan dilakukan berdasar waktu pelaksanaan persilangan yaitu U1 (08.00 – 11.00), U2 (11.00 – 14.00) dan U3 (14.00 – 17.00). Perlakuan terdiri dari empat persilangan buatan (Anjasmoro x *Gm2*, Anjasmoro x *Gm5*, Grobogan x *Gm2*, Grobogan x *Gm5*), empat selfing buatan dan empat selfing alami masing-masing tetua.

Hasil menunjukkan tingkat keberhasilan persilangan buatan antara Anjasmoro x *Gm2* memiliki persentase sebesar 56,67%, Anjasmoro x *Gm5* 80%, Grobogan x *Gm2* 60%, dan Grobogan x *Gm5* 80%. Kombinasi perlakuan selfing alami memiliki persentase keberhasilan lebih tinggi (93,33% - 96,67%) dibandingkan dengan selfing buatan (73,33% - 80%) maupun persilangan buatan (56,67% - 80%). Keberhasilan pembentukan polong Anjasmoro x *Gm2*, Anjasmoro x *Gm5*, Grobogan x *Gm2*, dan Grobogan x *Gm5* secara berturut-turut adalah 59,05%; 42,59%; 53,77%; 28,97%. Keberhasilan pembentukan polong pada perlakuan selfing buatan dan selfing alami secara berturut-turut untuk Anjasmoro sebesar 48,15%; 57,04%; Grobogan sebesar 40,28%; 44,81%; *Gm2* sebesar 54,17%; 60,74%; dan *Gm5* 41,60%; 48,52%. Jumlah biji per polong pada hasil persilangan buatan dan selfing buatan berkisar satu hingga dua biji, sedangkan pada selfing alami mampu terbentuk tiga maupun empat biji per polong. Ukuran polong dan biji hasil persilangan buatan cenderung mengikuti ukuran tetua betina namun menunjukkan rata-rata lebih kecil. Berdasarkan uji t, variabel panjang, lebar dan tebal biji hasil persilangan dibandingkan dengan hasil selfing tetua betina menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

Kata Kunci: Varietas toleran, Cekaman Al, *Gm2*, *Gm5*



SUMMARY

Laila Nur Fatimah. 145040200111017. Hybridization of Soybean (*Glycine max* L. Merrill.) Anjasmoro and Grobogan Varieties with *Gm2* and *Gm5* Line to Aluminum (Al) Tolerant. Under the guidance of Dr. Darmawan Saptadi, SP., MP. and Dr. Saptowo J. Pardal, MS

Soybean (*Glycine max* L. Merrill.) is considered one of primary food in Indonesia as source of vegetable protein. However the cultivation area in marginal land has a soil acidity with constraints by high aluminum (Al) stress. Soybean farmers use lime to resolve soil acidity and Al stress, but the application of lime on acid soils for soybean cultivation gives a fast disappearing effect that is less economical for farmers. Alternative solutions to resolve Al stress on acid soil is growing tolerant varieties. At present, the availability of tolerant soybean varieties is limited, so breeding for tolerant soybean varieties to Al stress is needed. This research was conducted to find out the success of hibridization between *Gm2* and *Gm5* line containing Al tolerant gene (*MaMt2* gene) with varieties Anjasmoro and Grobogan.

This research was carried out in December 2017 to April 2018, located at screenhouse Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources R&D (ICABIOGRAD), Bogor. This research used block randomized design with 12 treatments and 3 replication. Replication was done by implementing a cross be composed U1 (08.00 – 11.00), U2 (11.00 – 14.00) and U3 (14.00 – 17.00). The treatment consists of four artificial crosses (Anjasmoro x *Gm2*, Anjasmoro x *Gm5*, Grobogan x *Gm2*, Grobogan x *Gm5*), four artificial selfing and four natural selfing for each parents.

The success rate of artificial crosses between Anjasmoro x *Gm2* had a percentage of 56.67%, Anjasmoro x *Gm5* 80%, Grobogan x *Gm2* 60%, and Grobogan x *Gm5* 80%. The combination of natural selfing treatment has a higher success rate (93.33% - 96.67%) compared to artificial selfing (73.33% - 80%) and artificial crosses (56.67% - 80%). The success of pods formation rate of Anjasmoro x *Gm2*, Anjasmoro x *Gm5*, Grobogan x *Gm2*, and Grobogan x *Gm5* repectively 59.05%; 42.59%; 53.77%; 28.97%. The success of pod formation in natural selfing and hand selfing for Anjasmoro was 48.15%; 57.04%; Grobogan is 40.28%; 44.81%; *Gm2* is 54.17%; 60.74%; and *Gm5* 41.60%; 48.52%. Number of seeds per pod in the artificial crosses and artificial selfing ranged from one to two seeds, whereas in natural selfing capable formed three or four seeds per pod. The size of the pods and seeds are the result of artificial crosses tend to follow size of female parents but showed the average smaller. Based on the t-test, variable seed length, seed width and seed thickness compared with the results of the seed results selfing female parent showed different results.

Keyword: Al stress, *Gm2*, *Gm5*, Tolerant varieties



KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT dengan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Persilangan Kedelai (*Glycine max* L. Merrill.) Varietas Anjasmoro dan Grobogan dengan Galur *Gm2* dan *Gm5* Toleran Alumunium (Al)” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana program strata satu Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Pembuatan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua Bapak Suroto dan Ibuk Ismiyatun, Dek Afifah Nur Kholifah, dan Dek Fatkurrozak untuk semua doa dan dukungannya,
2. Dr. Darmawan Saptadi SP., MP. dan Dr. Saptowo J. Pardal, MS. selaku pembimbing skripsi,
3. BB Biogen atas fasilitas selama penelitian serta kelompok peneliti Biologi Molekuler terutama mbak Reren, Mas Kris, Pak Endang, Pak Iman, Pak Inan dan teman-teman di laboratorium yang banyak memberikan bantuan selama penelitian,
4. Teman-teman terkhusus mas Ryan, Wahyu Puji, mbak Silvi, mbak Putri, mbak Biref, Mellinda, dan seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi, yang tidak bisa disebutkan satu demi satu.

Penulis menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya. Besar harapan penulis semoga pemaparan dalam skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi banyak pihak dan dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang pemuliaan tanaman.

Malang, Agustus 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Ngawi tanggal 9 November 1996 sebagai putri dari Bapak Suroto dan Ibu Ismiyatun, serta kakak dari Afifah Nur Kholifah dan Fatkurrozak.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Sekarputih 1 Widodaren, Ngawi (2002 – 2008), kemudian melanjutkan ke SMPN 2 Ngawi (2008 – 2011) dan menempuh studi di SMAN 2 Ngawi (2011 – 2014). Tahun 2014 penulis menjadi mahasiswa S-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur SBMPTN, dan mengambil minat Budidaya Pertanian.

Penulis pernah mengikuti kegiatan sebagai asisten praktikum Biokimia, Fisiologi Tanaman dan Teknologi Produksi Benih. Penulis mengikuti kegiatan organisasi di Lembaga Kedaulatan Mahasiswa PRISMA Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya sebagai staf magang dan pengurus harian di departemen Pembinaan Anggota, serta menjadi pengurus harian dan wakil ketua di organisasi ekstra kampus FORSMAWI (Forum Silaturahmi Mahasiswa Ngawi).

Selama menjadi mahasiswa, pada tahun 2015 penulis menjadi juara 2 sekaligus kontributor buku antologi puisi yang diterbitkan oleh Lembaga Kedaulatan Mahasiswa Canopy. Pada tahun 2017 penulis menjadi penerima insentif PKM Gagasan Tertulis oleh DIKTI dan melakukan magang kerja di BB Biogen (Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian), Bogor dan masuk di kelompok peneliti Biologi Molekuler yang berfokus pada kegiatan kultur jaringan tanaman pisang. Tahun 2018 penulis menjadi juara harapan 2 LKTIN UNYSEF di UKMP Universitas Negeri Yogyakarta dan menjadi volunter di kegiatan IYSE (Indonesian Youth Social Expedition) yang diadakan di kelurahan Tanah Beru, kecamatan Bonto Bahari, kabupaten Bulukumba oleh Iyale Institute.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	2
1.3 Hipotesis.....	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Botani Tanaman Kedelai (<i>Glycine max</i> L. Merrill).....	3
2.2 Deskripsi Tetua Persilangan Kedelai.....	9
2.2.1 Kedelai Transgenik Toleran Alumunium (Al).....	9
2.2.2 Kedelai Grobogan dan Anjasmoro.....	13
2.3 Persilangan Tanaman.....	13
2.3.1 Persilangan Tanaman Kedelai.....	13
2.3.2 Teknik Persilangan Kedelai.....	15
3. BAHAN DAN METODE	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.3 Metode Penelitian.....	19
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.5 Pengamatan.....	23
3.6 Analisis Data.....	24
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil.....	26
4.1.1 Umur Berbunga.....	26
4.1.2 Keberhasilan Persilangan dan Pembentukan Polong.....	26
4.1.3 Umur Masak Polong.....	28
4.1.4 Jumlah polong Isi, Polong Hampa dan Jumlah Biji setiap Polong.....	29
4.1.5 Ukuran Polong.....	31
4.1.6 Ukuran Biji.....	33
4.2 Pembahasan.....	35
5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kessimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	43



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Susunan daun pada kedelai <i>determinate</i> dan <i>indeterminate</i>	3
2.	Tanaman kedelai mulai berbunga (R1)	5
3.	Bunga kedelai mulai mekar (R2)	5
4.	Kedelai mulai muncul polong (R3).....	5
5.	Kedelai berpolong penuh (R4)	6
6.	Perkembangan biji kedelai	6
7.	Susunan mahkota bunga kedelai	7
8.	Bagian bunga kedelai	7
9.	Alat kelamin bunga kedelai.....	8
10.	Perkembangan polong dan biji kedelai	8
11.	Penampilan biji tetua persilangan	9
12.	Peta gen <i>MaMt2</i>	10
13.	Hasil PCR plasmid pIG6- <i>MaMt2</i> dalam <i>E. coli</i>	11
14.	Regenerasi tanaman kedelai pasca transformasi gen <i>MaMt2</i> pada T0	12
15.	Kuncup bunga kedelai.....	16
16.	Bunga betina siap diserbuki	16
17.	Penyerbukan kedelai	17
18.	Serbuk sari bunga kedelai	17
19.	Keberhasilan persilangan buatan	24
20.	Polong hasil persilangan kedelai.....	30
21.	Biji hasil persilangan.....	34
22.	Tetua persilangan saat fase vegetatif.....	45
23.	Tetua persilangan saat panen	45

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Deskripsi fase vegetatif (V) dan generatif (R) pada kedelai	4
2.	Kombinasi tetua persilangan	19
3.	Tabel analisis ragam (ANOVA).....	24
4.	Umur berbunga tetua persilangan	28
5.	Persentase keberhasilan persilangan dan keberhasilan pembentukan polong pada persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	27
6.	Umur masak polong hasil persilangan pada persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	28
7.	Polong berisi, polong hampa dan jumlah biji per polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	29
8.	Ukuran polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	31
9.	Perbandingan panjang polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	32
10.	Perbandingan lebar polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	33
11.	Perbandingan tebal polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	31
12.	Perbandingan panjang biji pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	34
13.	Perbandingan lebar biji pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	34
14.	Perbandingan tebal biji pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya	35
15.	Suhu dan kelembaban kota Bogor saat persilangan	46
16.	Analisis ragam umur masak polong	47
17.	Analisis ragam keberhasilan persilangan	47
18.	Analisis ragam keberhasilan pembentukan polong.....	47
19.	Analisis ragam lebar polong.....	47
20.	Analisis ragam panjang polong.....	47
21.	Analisis ragam tebal polong.....	48
22.	Analisis uji t panjang polong	49
23.	Analisis uji t lebar polong	49
24.	Analisis uji t tebal polong	50
25.	Analisis uji t panjang biji	50
26.	Analisis uji t lebar biji	51
27.	Analisis uji t tebal biji	51



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Deskripsi kedelai varietas Anjasmoro.....	43
2.	Deskripsi kedelai varietas Grobogan	44
3.	Dokumentasi Tetua persilangan.....	45
4.	Suhu dan Kelembaban saat Persilangan.....	46
5.	Analisis Ragam	47
6.	Analisis Uji t	49



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max* L. Merrill.) menjadi salah satu komoditas pangan utama di Indonesia dan merupakan sumber protein nabati. Pengembangan kedelai di lahan marginal terkendala adanya kemasaman tanah dan kejenuhan aluminium (Al) tinggi. Penanganan kemasaman tanah dan kejenuhan Al secara teknis dapat dilakukan melalui pengapuran, namun aplikasi kapur pada tanah masam untuk budidaya kedelai memberikan pengaruh yang cepat hilang sehingga kurang ekonomis bagi petani (Pardal dan Suharsono, 2016). Alternatif lain yang dapat diterapkan adalah menanam varietas kedelai toleran tanah masam dengan kejenuhan Al tinggi. Akan tetapi hingga saat ini ketersediaan varietas kedelai yang mampu beradaptasi dan berproduksi tinggi pada lahan masam masih terbatas. Oleh karena itu perlu diupayakan perakitan varietas kedelai yang memiliki toleransi terhadap cekaman Al.

Transformasi genetik terhadap kedelai telah dilakukan Anggraito (2012) dengan menyisipkan gen toleran cekaman Al (*MaMt2*) ke dalam kedelai varietas Lumut (kedelai peka Al) secara *in vitro* dan menghasilkan 31 galur pada generasi T0. Seleksi secara molekuler terhadap 31 galur menghasilkan sembilan galur yang positif mengandung gen *MaMt2*. Pardal dan Suharsono (2016) melakukan uji fenotipik dan genetik pada generasi T2 dengan hasil berupa empat galur memiliki toleransi terhadap cekaman Al, yaitu *Gm2*, *Gm5*, *Gm10* dan *Gm14*. Seleksi generasi T3 menghasilkan empat galur yang masih mengandung gen *MaMt2*, secara fenotipik *Gm2* dan *Gm5* menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik.

Pengembangan galur *Gm2* dan *Gm5* diarahkan untuk menghasilkan kedelai toleran terhadap Al dan memiliki daya hasil tinggi. Potensi hasil tinggi kedelai ditunjukkan dengan karakter polong dan cabang banyak, serta memiliki biji besar (Asadi dan Dewi, 2017). Galur *Gm2* dan *Gm5* memiliki daya hasil relatif rendah, oleh karena itu perlu dilakukan upaya peningkatan daya hasilnya. Salah satu teknik yang dapat diterapkan adalah melalui persilangan buatan dengan kedelai budidaya yang memiliki daya hasil tinggi antara lain varietas Anjasmoro (2,03-2,25 ton ha⁻¹ dan Grobogan (2,77-3,40 ton ha⁻¹) (Balitkabi, 2016).

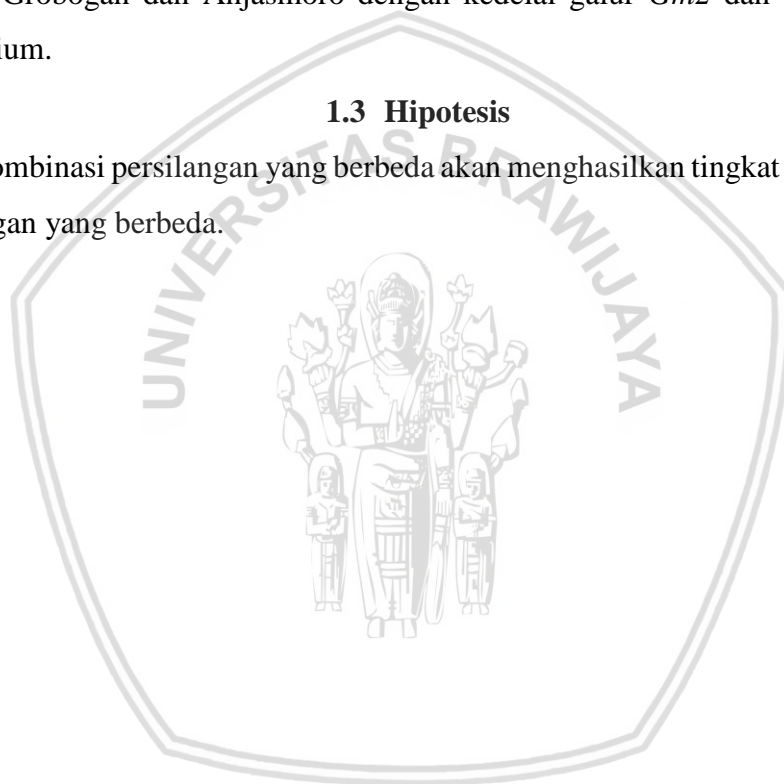
Informasi tentang tingkat keberhasilan persilangan antara tanaman kedelai hasil transformasi genetik dengan kedelai budidaya hingga saat ini masih belum diketahui. Berdasarkan hal tersebut di dalam penelitian ini dilakukan persilangan antara kedelai hasil transformasi genetik galur *Gm2* dan *Gm5* sebagai donor gen toleransi Al dengan kedelai budidaya yaitu varietas Anjasmoro dan Grobogan untuk memindahkan sifat toleransi Al pada kedelai budidaya yang berdaya hasil tinggi.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberhasilan persilangan kedelai varietas Grobogan dan Anjasmoro dengan kedelai galur *Gm2* dan *Gm5* toleran Aluminium.

1.3 Hipotesis

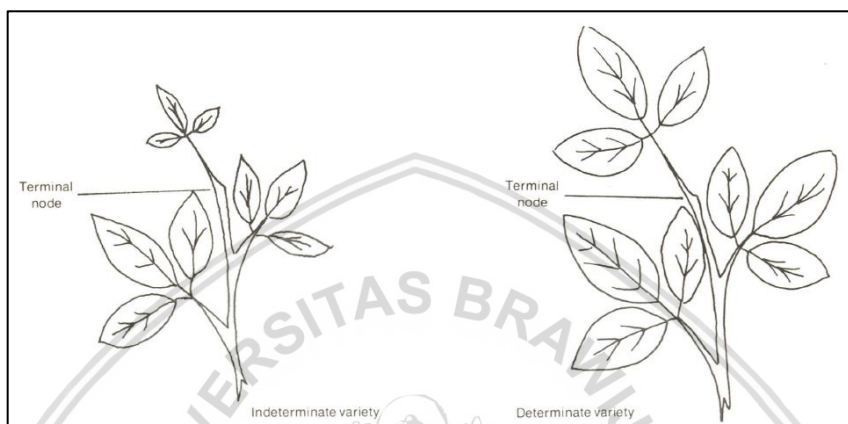
Kombinasi persilangan yang berbeda akan menghasilkan tingkat keberhasilan persilangan yang berbeda.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Kedelai (*Glycine max* L. Merrill.)

Kedelai dalam klasifikasi masuk dalam Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta, Subdivisi: Angiospermae, Kelas: Dicotyledonae, Ordo: Polypetales, Famili: Leguminosae, Subfamili: Papilionoidae, Genus: *Glycine*, spesies: *Glycine max* L. Merrill. (Scaboo *et al.*, 2010).



Gambar 1. Susunan daun pada kedelai *determinate* dan *indeterminate* (Fehr and Caviness, 1977)

Pola pertumbuhan kedelai berdasarkan pertumbuhan batang dan bunga dibedakan menjadi *determinate* dan *indeterminate*. Kultivar yang memiliki tipe pertumbuhan *determinate* umumnya menunjukkan pertumbuhan tinggi tanaman yang sangat sedikit atau bahkan berhenti bertambah tinggi setelah muncul bunga. Bunganya muncul di merata di seluruh tanaman sehingga pembentukan polong dan biji pada tanaman terjadi bersamaan. Kedelai tipe *determinate* memiliki daun di buku terminal pada batang utama yang berukuran sama dengan daun di bawahnya (Gambar 1). Batang utama kedelai terdapat rasim, yaitu buku terminal yang menahan tangkai bunga (Fehr and Caviness, 1977).

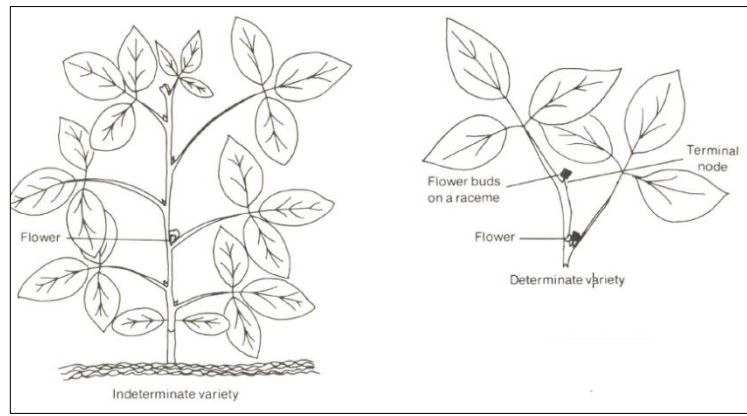
Kedelai tipe *indeterminate* umumnya pada saat mulai berbunga baru mencapai tinggi setengah dari tinggi maksimalnya. Tanaman masih bertambah tinggi meskipun sudah mencapai waktu berbunga, pembentukan polong dan pembentukan biji berlangsung. Polong dan biji yang terbentuk di tanaman bagian bawah lebih bagus daripada yang terbentuk di bagian atas tanaman. Kedelai tipe *indeterminate* memiliki daun di bagian buku terminal yang berukuran kecil dari

bagian di bawahnya (Gambar 1.) dan umumnya hanya terbentuk beberapa polong di buku terminal (Fehr and Caviness, 1977).

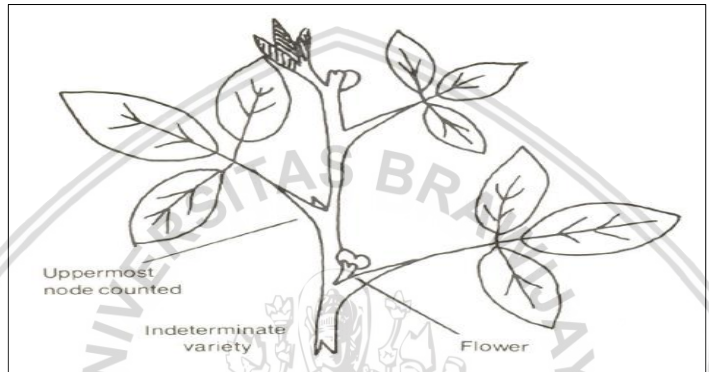
Fase pertumbuhan pada kedelai dibagi menjadi dua yaitu fase vegetatif dan fase generatif. Fase vegetatif (V) diawali ketika tanaman muncul dan kotiledon belum membuka (Ve). Penandaan fase vegetatif berikutnya adalah membukanya daun *unifoliat* kemudian diikuti dengan daun *trifoliat*. Fase generatif (R) mulai ditandai dengan tanaman berbunga hingga pembentukan biji. Deskripsi untuk masing-masing fase pertumbuhan pada kedelai dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Deskripsi fase vegetatif (V) dan generatif (R) pada kedelai (Fehr and Caviness, 1977)

Kode	Fase Pertumbuhan	Deskripsi
Ve	Pemunculan	Kotiledon muncul
Vc	Kotiledon	Daun <i>unifoliat</i> berkembang
V1	Buku pertama	Daun terurai pada buku <i>unifoliat</i>
V2	Buku kedua	Daun terbentuk penuh pada buku di atas buku <i>unifoliat</i>
V3	Buku ketiga	Tiga buah buku pada batang utama dengan daun terurai penuh
Vn	Buku ke-n	n- buah buku pada batang utama daun terurai penuh
R1	Mulai berbunga	Bunga mekar pertama (Gambar 2.)
R2	Berbunga penuh	Bunga mekar pada buku teratas batang utama dengan daun terbuka penuh (Gambar 3.)
R3	Mulai berpolong	Muncul polong pada salah satu di antara 4 buku teratas pada batang utama dengan daun terbuka penuh (Gambar 4.)
R4	Berpolong penuh	Polong sudah berukuran 2 cm pada salah satu di antara 4 buku teratas pada batang utama dengan daun terbuka penuh (Gambar 5.)
R5	Mulai berbiji	Terbentuk biji dalam polong pada salah satu di antara 4 buku teratas pada batang utama dengan daun terbuka penuh (Gambar 6.)
R6	Berbiji penuh	Polong berisi satu biji hijau pada salah satu di antara 4 buku teratas pada batang utama dengan daun terbuka penuh (Gambar 6.)
R7	Mulai matang	Satu polong pada batang utama telah mencapai warna polong matang
R8	Matang penuh	95% polong telah warna polong matang

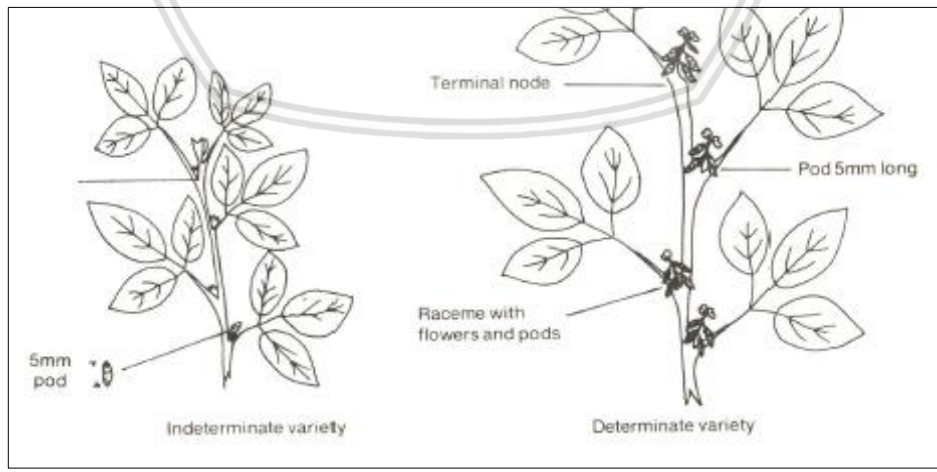


Gambar 2. Tanaman kedelai mulai berbunga (R1) (Fehr and Caviness, 1977)



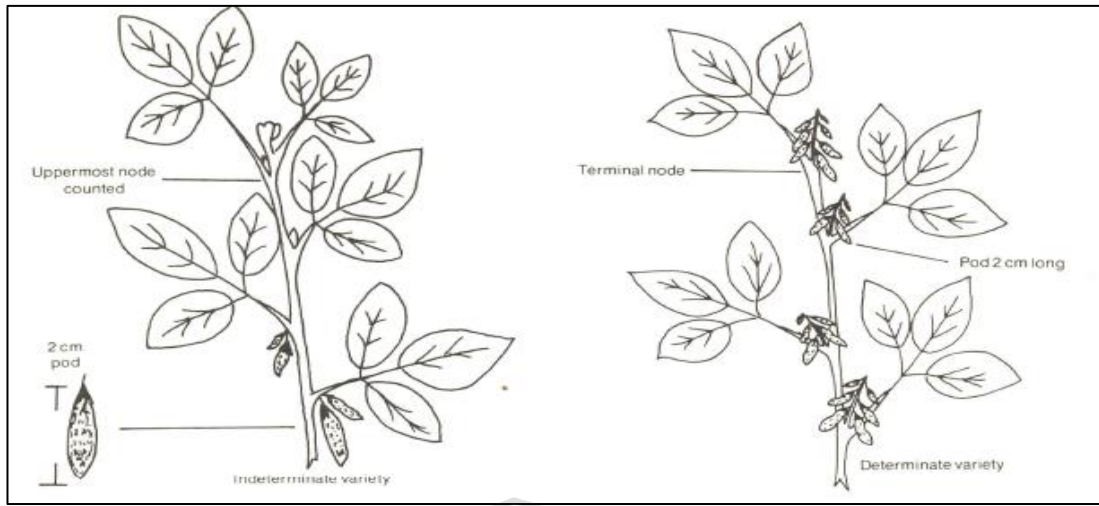
Gambar 3. Bunga kedelai mulai mekar (R2) (Fehr and Caviness, 1977)

Tahap R1 dan R2 pada kedelai *determinate* terjadi secara serempak karena pembungaan dimulai dari buku bagian atas dari batang utama (Gambar 1.). R1 dan R2 pada kedelai *indeterminate* berjarak sekitar 3 hari karena bunga muncul dari buku bagian bawah.



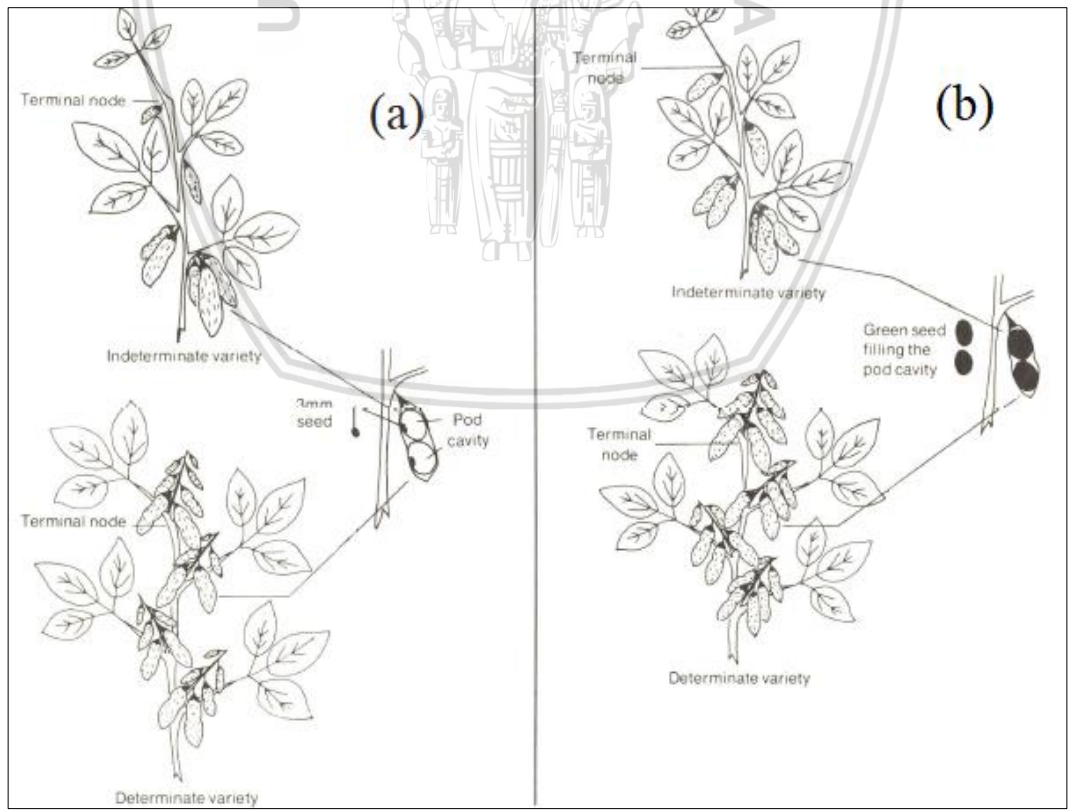
Gambar 4. Kedelai mulai muncul polong (R3) (Fehr and Caviness, 1977)





Gambar 5. Kedelai berpolong penuh (R4) (Fehr and Caviness, 1977)

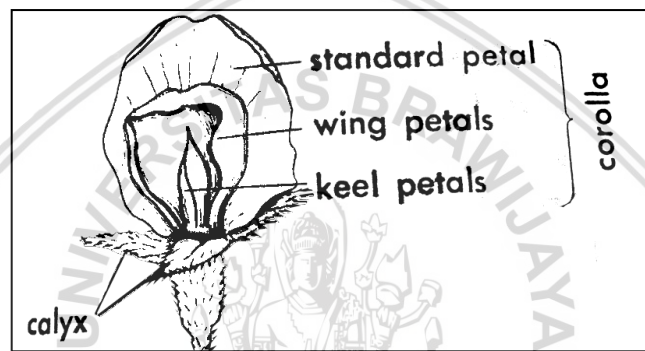
Polong kedelai mencapai ukuran hampir penuh sebelum pembentukan biji berlangsung dengan cepat. Tahap R3 dan R4 pada kedelai tipe *determinate* terjadi serentak pada semua buku pada batang utama. Kedelai tipe *indeterminate* membentuk polong berukuran 5 mm (tahap R3) dan 2 cm (tahap R4) di empat buku teratas pada batang utama dengan daun berkembang penuh (Gambar 3.).



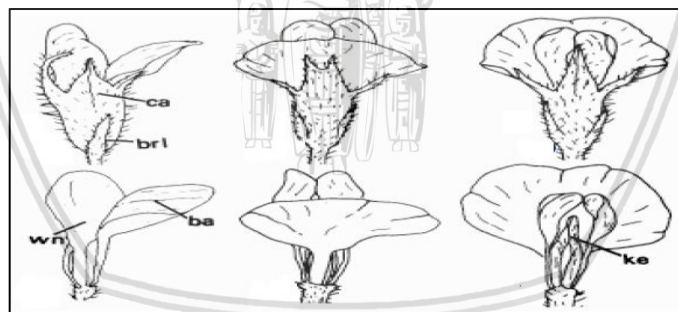
Gambar 6. Perkembangan biji kedelai (Fehr and Caviness, 1977), (a) Kedelai mulai berbiji (R5); (b) kedelai berbiji penuh (R6)



Kedelai tergolong tanaman menyerbuk sendiri (*self pollinated*) dengan penyerbukan terjadi ketika bunga belum mekar (kleistogami). Polen dari kepala sari secara langsung dijatuhkan ke kepala putik sehingga tingkat *cross pollination* secara alami hanya berkisar 0,5 – 2% (Sleper and Poehlman, 2006). Kedelai memiliki bunga kecil berukuran 3 – 8 mm berwarna ungu atau putih. Bunga kedelai muncul berkelompok di ruas batang, tumbuh dari buku bawah ke atas sehingga tetap dapat memunculkan bunga walaupun sudah membentuk polong. Periode berbunga kedelai di daerah tropis selama 2 – 3 minggu dari pembentukan bunga pertama. Jumlah bunga setiap tanaman berkisar antara 47 – 75 bunga dengan tingkat gugur bunga 20 – 80% (Carlson and Lersten, 2004).



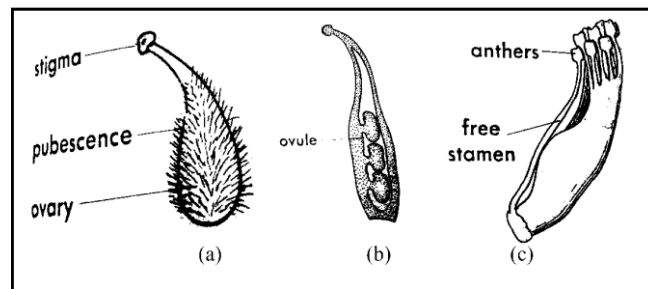
Gambar 7. Susunan mahkota bunga kedelai (Sleper and Poehlman, 2006)



Gambar 8. Bagian bunga kedelai (Carlson, 1973), ca= calyx; brl= brakteola; wn= wing petal; ba= banner petal, ke= keel petal

Bunga kedelai berbentuk seperti kupu-kupu. Kelopak bunganya memiliki bulu halus berbentuk tabung dengan lima sepal (helai kelopak) dan lima corolla (mahkota bunga). Mahkota bunga kedelai termasuk *papilionaceous* atau tidak beraturan tersusun dari satu petal (helai mahkota) posterior *standard*, dua petal lateral *wing* dan dua petal anterior *keel* (Gambar 7.) yang saling melekat akan tetapi tidak menyatu. Bunga kedelai memiliki dua brakteola (Gambar 8.) (Pratap *et al.*, 2016) yang berkembang di dasar bunga dengan posisi melekat pada

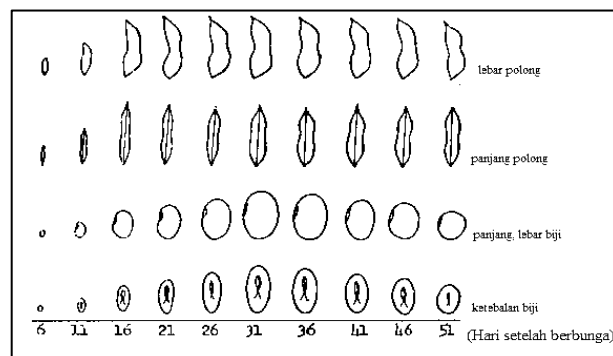
kelopak. Brakteola terbentuk sebelum mesistem apikal bunga naik membentuk bagian bunga lain (Carlson and Lersten, 2004).



Gambar 9. Alat kelamin bunga kedelai (Sleper and Poehlman, 2006), (a) putik; (b) putik dengan tiga ovul; (c) benang sari

Bunga kedelai merupakan bunga biseksual dengan benang sari dan putik berada pada satu bunga. Benang sari bunga kedelai memiliki susunan 9 + 1 dan biasa disebut *androecium diadelphous*, yaitu bunga yang memiliki benang sari menyatu berbekas dua. Sembilan benang sari menyatu pada pangkal membentuk seludang mengelilingi putik, sedangkan satu lainnya terpisah di bagian pangkal dan menjadi penutup seludang. Pistil (putik bunga) kedelai termasuk *unicarpellate* (putik berbentuk simpel) dengan 1 – 4 ovul melengkung dan tersusun dari micropil yang hampir menyentuh funiculus, susunan ovul demikian disebut *campylotropous ovule* (Gambar 9.) (Pratap *et al.*, 2016).

Bunga kedelai yang masih kuncup memiliki posisi kepala sari lebih rendah daripada kepala putik, kemudian pada saat bunga akan mekar kepala sari memiliki tinggi yang sama dengan kepala putik. Kotak sari pada bunga kedelai mulai pecah antara pukul 07.00 hingga pukul 09.00 apabila cuaca lingkungan terang, sedangkan apabila cuaca sejuk pecahnya kotak sari dimulai mulai pukul 10.00. Kotak sari akan bertahan fertil hingga dua hari dengan penyimpanan di dalam lemari pendingin (Setyaningsih, 2011).



Gambar 10. Perkembangan polong dan biji kedelai (Carlson and Lersten, 2004)

Kedelai memiliki polong berkelompok yang biasanya terdiri 3 – 15 polong per kelompok. Polong kedelai memiliki panjang 3 – 7 cm dan terdapat bulu halus di permukaan kulitnya (Pratap *et al.*, 2016). Polong kedelai pertama kali terbentuk sekitar 7 – 10 hari setelah munculnya bunga pertama. Panjang polong kedelai maksimum dicapai pada 20 – 25 hari setelah berbunga, sedangkan perkembangan lebar dan ketebalan bijinya mencapai maksimum pada 30 hari setelah berbunga (Gambar 10.). Bentuk biji kedelai berubah dari lonjong panjang menjadi oval dan cenderung bulat ketika biji mulai masak, yang diakibatkan karena biji kehilangan kelembaban. Polong kedelai yang sudah masak umumnya berwarna kuning muda hingga kuning kelabu dan coklat dengan biji berjumlah 2 – 3 biji setiap polong (Carlson and Lersten, 2004).

2.2 Deskripsi Tetua Persilangan Kedelai

Persilangan dilakukan antara kedelai budidaya varietas Anjasmoro dan Grobogan sebagai tetua betina dengan kedelai toleran Al galur *Gm2* dan *Gm5* sebagai tetua jantan. Penampilan masing-masing tetua persilangan ditampilkan pada Gambar 11.



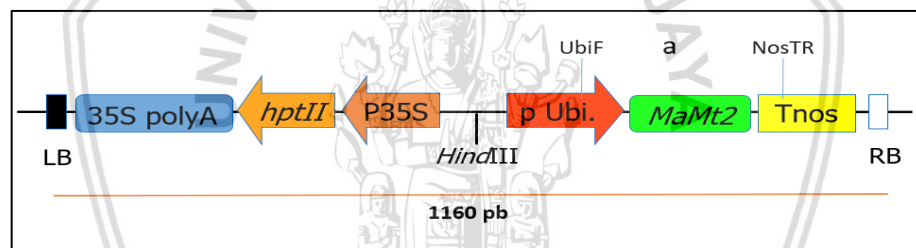
Gambar 11. Penampilan biji tetua persilangan (Dokumentasi pribadi, 2017)

2.2.1 Kedelai Transgenik Toleran Alumunium (Al)

Sumber genetik tanaman kedelai yang memiliki toleransi terhadap cekaman Al hingga saat ini masih terbatas, sehingga perbaikan karakter kedelai dapat dilakukan melalui transformasi genetik. Transformasi genetik dilakukan dengan menyisipkan (*insert*) gen *MaMt2* (Type 2 Metallothionein) sebagai gen toleran Al

yang diisolasi dari hasil transkripsi balik mRNA tanaman *Melastoma malabathricum* (Anggraito, 2012) untuk menghasilkan galur kedelai toleran Al.

Metallothionein (MT) adalah protein dengan berat molekul rendah (4-14 kDa) yang kaya sistein (Cys) dan memiliki afinitas pengikatan tinggi terhadap logam (Hamer 1986, Ren *et al.*, 2012). Berdasarkan susunan residu Cys dalam urutan asam amino, MT dibedakan menjadi 4 tipe yaitu tipe 1, tipe 2, tipe 3 dan tipe 4 (Cobbet and Goldsbrough, 2002). Masing-masing tipe memiliki tingkat afinitas terhadap logam berat yang berbeda. MT tipe 2 sangat sensitif dalam mengikat logam tembaga (Cu) (Cobbet and Goldsbrough, 2002) dan Al (Suharsono *et al.*, 2009). Sehingga untuk menghasilkan galur kedelai toleran terhadap Al dibutuhkan tanaman yang mengandung MT tipe 2. Salah satu akumulator Al adalah tanaman *Melastoma malabathricum* L. atau biasa disebut *M. affine* D. Don (Watanabe, Misawa and Osaki, 2005), oleh karena itu MT tipe 2 yang berhasil diisolasi kemudian disebut dengan *MaMt2*.

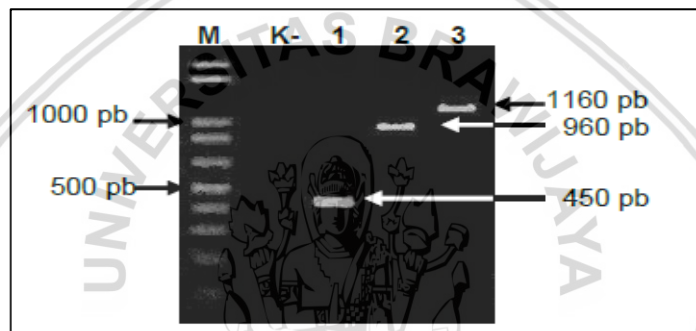


Gambar 12. Peta gen *MaMt2* (Anggraito, 2012)

Penyisipan gen *MaMt2* pada kedelai dilakukan oleh Anggraito (2012) dengan diperantarai *Agrobacterium tumefaciens*. Konstruksi vektor ekspresi dilakukan dengan menyisipkan cDNA *MaMt2* ke pGEMT-Easay yang kemudian diisolasi menggunakan PCR. Hasil PCR dipotong dengan enzim restriksi *BamHI* (GGATTC) dan *SpeI* (ACTAGT) untuk menghasilkan fragmen *MaMt2* kemudian diligasi dengan vektor pIG6. Hasil pIG6-*MaMt2* selanjutnya dimasukkan ke bakteri *E. coli* DH5 α menggunakan metode elektroporasi. Plasmid pIG6 dalam bakteri *E. coli* DH5 α merupakan vektor ekspresi dengan T-DNA yang memiliki gen *hygromycin phosphotransferase* (*hptII*) dan situs pengkolan ganda (*multiple cloning sites* atau MCS) yang diapit oleh promoter Ubiquitin dan terminator *Nopaline synthase* (Nos) (Gambar 12.). Bakteri dipulihkan dengan menggunakan 1000 μ l kemudian kultur diencerkan 100x dan 200x bakteri. Masing-masing pengenceran bakteri lalu diambil sebanyak 80 μ l untuk disebar pada media LB padat yang mengandung

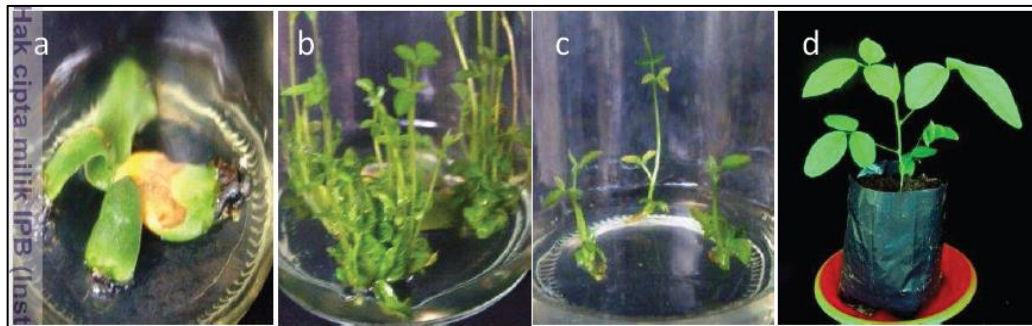
kanamisin (50mg/l) dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu 37°C untuk melakukan seleksi (Suharsono, 2002, Anggraito, 2012).

Plasmid rekombinan yang mampu hidup dari media seleksi LB padat selanjutnya dilakukan PCR untuk mengkonfirmasi keberadaan gen *hptII* menggunakan primer *hptIIF* (5'-GGATATGTCCTGCGGGTAAA-3') dan *hptIIR* (5'-ACACATGGGGATCAGCAATC-3') sebagai gen penanda seleksi. Keberadaan gen *MaMt2* dikonfirmasi menggunakan kombinasi primer *UbiF* dan *SMt2UR* (5'GTCAACTAGTTCACCTGCAGGTGCAAG-3'), serta *UbiF* (5'TGATGATGTGGTCTGGGTTGG-3') dan *NosTR* (5'CTCATAAATAACGTCATGCATTACA-3') sebagai gen sasaran (Anggraito, 2012).



Gambar 13. Hasil PCR plasmid pIG6-*MaMt2* dalam *E. coli* (Anggraito, 2012), M= marker 1 Kb, K= plasmid, 1= pita 450 pb (primer *hptIIF* dan *hptIIR*), 2= pita 960 pb (primer *UbiF* dan *SMt2UR*), 3= pita 1160 pb (primer *UbiF* dan *NosTR*)

Keberhasilan penyisipan *MaMt2* pada pIG6 yang terkonfirmasi di PCR (Gambar 13.) ditandai dengan dihasilkannya fragmen berukuran 960 pb (dengan primer *UbiF* dan *SMt2UR*) dan fragmen 1160 pb (dengan primer *UbiF* dan *NosTR*). Vektor pIG6-*MaMt2* dalam *E. coli* DH5 α yang terkonfirmasi kemudian dimasukkan ke dalam *A. tumefaciens* LBA4404 dengan bantuan plasmid pRK2013 dalam *E. coli* DH1 menggunakan metode *triparental mating* (TPM) (Anggraito, 2012). Prosedur transformasi ke kedelai varietas Lumut dilakukan dengan merendam setengah biji kedelai yang sudah disterilisasi ke dalam biakan *A. tumefaciens* LBA4404 yang mengandung plasmid pIG6-*MaMt2* pada media inokulasi (Paz *et al.*, 2006, Anggraito, 2012). Varietas Lumut digunakan sebagai *wild type* karena merupakan kedelai yang peka terhadap AI (Anggraito, 2012).



Gambar 14. Regenerasi tanaman kedelai varietas Lumut pasca transformasi gen *MaMt2* pada T₀ (Anggraito, 2012), a= eksplan kontrol (tidak ditransformasi), b= tunas pada media seleksi, c= tunas muda dalam media pemanjangan pucuk, d= aklimatisasi

Kedelai yang sudah ditransformasi kemudian diregenerasi secara *in vitro* (Gambar 14.) dan dilanjutkan dengan analisis molekuler untuk mengidentifikasi keberadaan gen *MaMt2*. Transformasi menghasilkan 31 transgenik putatif hasil aklimatisasi pada T₀ yang kemudian diambil secara acak 14 tanaman untuk dilakukan pengujian molekuler. Pengujian menggunakan PCR menghasilkan sembilan galur mengandung gen *MaMt2*. Biji tanaman T₀ dari sembilan galur terpilih selanjutnya ditanam untuk menghasilkan keturunan T₁ dan dilakukan uji integrasi gen *MaMt2* menggunakan primer spesifik UbiF dan NosTR pada genom T₁ (Anggraito, 2012). Evaluasi fenotipik dan genotipik didapatkan empat galur T₂ yang mewarisi gen *MaMt2*, yaitu *Gm2*, *Gm5*, *Gm10*, dan *Gm14* (Pardal dan Suharsono, 2014). Pengujian pada generasi T₃ menunjukkan bahwa dari empat galur yang dihasilkan di T₂, keempat galur masih mengandung gen toleran cekaman Al, namun galur *Gm2* dan *Gm5* menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik. Hasil *selfing* generasi T₃ (biji T₄) kemudian ditumbuhkan untuk dianalisis lebih lanjut pada generasi T₄.

Galur *Gm2* dan *Gm5* memiliki fenotip yang sama dengan *wild type* nya yaitu kedelai varietas Lumut. Kedelai varietas kedelai Lumut memiliki rata-rata tinggi tanaman sekitar 67 cm dengan jumlah cabang 4 dan jumlah buku subur pada batang utama adalah 13 buku. Kedelai varietas Lumut mulai berbunga pada 42 hst, dan mencapai umur masak polong pada 94 hst. Kedelai varietas Lumut memiliki karakter biji berwarna hijau kekuningan dan berukuran kecil dengan rata-rata berat 100 biji adalah 7,8 gram (Hartini, 2008).

2.2.2 Kedelai Grobogan dan Anjasmoro

Kedelai Grobogan dan Anjasmoro merupakan salah satu kedelai unggulan nasional yang ada di Indonesia. Kedua varietas ini banyak dibudidayakan oleh petani karena mempunyai daya hasil yang tinggi. Berdasarkan deskripsi varietas kedelai yang dipublikasikan oleh Balitkabi pada tahun 2016, varietas Anjasmoro dilepas pada tanggal tahun 2001 sedangkan varietas Grobogan dilepas pada tahun 2008.

Kedelai varietas Anjasmoro berasal dari seleksi massa populasi galur murni Mansuria. Anjasmoro memiliki tipe pertumbuhan *determinate*. Tinggi tanaman kedelai varietas Anjasmoro mencapai 64 – 68 cm dengan jumlah buku pada cabang utama sekitar 12 hingga 14 buku. Anjasmoro memiliki bunga berwarna ungu dan rentang umur berbunga yaitu 35 sampai dengan 39 hst. Waktu pemasakan polong 82 sampai 92 hst. Berat 100 biji Anjasmoro mencapai 14 – 15 gram sehingga daya hasilnya relatif tinggi yaitu sebesar 2,03 – 2,25 ton ha⁻¹. Keunggulan lain dari varietas Anjasmoro adalah memiliki ketahanan moderat terhadap penyakit karat daun. Selain itu, varietas Anjasmoro mempunyai karakteristik tahan rebah dan polong yang dihasilkan bersifat tidak mudah pecah (Balitkabi, 2016).

Grobogan merupakan varietas kedelai yang berasal dari pemurnian populasi lokal, yaitu Malabar Grobogan. Grobogan memiliki tipe pertumbuhan determinite dan dapat beradaptasi dengan baik pada musim hujan dan sawah dengan irigasi yang baik. Tinggi tanaman kedelai Grobogan adalah 50 – 60 cm dengan bunga berwarna ungu. Grobogan mulai berbunga pada 30 hingga 32 hst dan polong masak pada 76 hst. Grobogan memiliki karakter biji besar dengan berat 100 biji ±18 gram. Keunggulan dari varietas grobogan selain memiliki daya hasil tinggi yaitu 2,77 – 3,40 ton ha⁻¹, juga memiliki polong masak yang tidak mudah pecah dan mempunyai persentase gugur daun saat panen sebesar 95 – 100% (Balitkabi, 2016).

2.3 Persilangan Tanaman

2.3.1 Persilangan Tanaman Kedelai

Persilangan merupakan salah satu teknik pemuliaan tanaman yang banyak dikembangkan untuk mendapatkan kombinasi baru sifat tertentu. Persilangan juga didefinisikan sebagai transfer serbuk sari antara bunga dan tanaman yang berbeda dalam satu spesies dengan konstruksi genetik berlainan (Delaplane

et al., 2013). Persilangan dapat meningkatkan keragaman genetik suatu populasi, sehingga memungkinkan untuk memperluas sumber genetik yang digunakan dalam perakitan varietas baru. Tujuan dari persilangan adalah untuk menggabungkan sifat baik dari tetua pada keturunan dan memperluas keragaman genetik apabila persilangan dilakukan pada tanaman menyerbuk sendiri, serta digunakan untuk menguji potensi tetua dan memanfaatkan vigor hibrida pada tanaman menyerbuk silang (Yunianti *et al.*, 2009)

Keberhasilan persilangan umumnya diukur dari persentase buah atau biji yang terbentuk. Buah atau biji yang dimaksud adalah rasio buah matang atau biji relatif terhadap jumlah bunga pada awal persilangan. Rasio keberhasilan persilangan sangat jarang mencapai 100% karena beberapa faktor seperti tingkat aborsi buah normal, kondisi penyerbukan yang suboptimal, adanya herbifora pengganggu dan sebagainya (Delaplane *et al.*, 2013).

Keberhasilan persilangan tergantung pada beberapa hal antara lain kemampuan silang antar tetua persilangan. Kemampuan silang ini mengacu pada semua kejadian yang terjadi sejak perkecambahan serbuk sari pada stigma tetua lain hingga pembentukan zigot. Selain itu keberhasilannya dapat juga dilihat dari perkembangan embrio dan tanaman F1 hasil persilangan, serta kesuburan tanaman F1 dan turunannya. Keberhasilan persilangan dalam prakteknya biasa dinyatakan dengan jumlah bibit yang diperoleh dari hasil penyerbukan (Ladizinsky, 1992).

Keberhasilan persilangan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pemilihan tetua sebagai bahan persilangan, kompatibilitas tetua, waktu berbunga yaitu ketepatan waktu reseptif tetua betina dengan anthesis tetua jantan, serta keadaan lingkungan ketika melakukan persilangan (Yunianti *et al.*, 2009). Faktor yang mempengaruhi keberhasilan persilangan tanaman kedelai adalah sebagai berikut:

1. Pemilihan tetua

Pemilihan tetua sebagai bahan persilangan disesuaikan dengan tujuan yang dikehendaki. Beberapa sumber tetua yang dapat digunakan antara lain varietas komersial, galur-galur hasil pemuliaan dengan sifat superior, spesies introduksi dan spesies liar. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan tetua adalah adanya perbedaan susunan genetik yang akan mencerminkan kombinasi sifat baru.

Biasanya tetua yang dipilih dalam persilangan dipilih yang memiliki jarak genetik jauh (Yunianti *et al.*, 2009).

2. Kompatibilitas tetua

Kompatibilitas tetua adalah kecocokan antara putik dengan serbuk sari dari tetua yang disilangkan (Setyaningsih, 2011). Kompatibilitas tetua ini terkait dengan gen-gen yang ada pada masing-masing tetua. Serbuk sari dari tetua jantan berhasil masuk dan membentuk *pollen tube* kemudian menuju *embrio sac*, akan tetapi karena ada faktor gen dari tetua kondisinya menjadi inkompatibel (Mulyasari, 2011). Inkompatibilitas tetua akan menjadi faktor kegagalan persilangan.

3. Waktu berbunga

Waktu berbunga yang mempengaruhi tingkat keberhasilan persilangan adalah ketepatan waktu reseptif tetua betina dengan anthesis tetua jantan. Stigma (kepala putik) yang reseptif memungkinkan adhesi butir polen yang kemudian diikuti oleh hidrasi dan perkecambahan serbuk sari (Delaplane *et al.*, 2013). Pada tanaman kedelai, stigma akan reseptif 24 jam sebelum bunga mekar (anthesis) dan akan tetap reseptif 48 jam setelah bunga mekar. Kepala sari yang matang akan langsung menyerbuki stigma pada bunga yang sama sesaat sebelum atau segera setelah bunga mekar. Serbuk sari pada stigma akan berkecambah dalam waktu 24 jam setelah penyerbukan terjadi (Talukdar dan Shivakumar, 2012).

4. Keadaan lingkungan

Keadaan lingkungan mempengaruhi keberhasilan penyerbukan. Kondisi panas yang tinggi dengan kelembaban udara rendah akan menyebabkan bunga rontok. Persilangan pada kondisi berhujan juga akan menyebabkan serbuk sari tidak dapat menempel pada stigma walaupun dalam kondisi kompatibel (Yunianti *et al.*, 2009).

2.3.2 Teknik Persilangan Kedelai

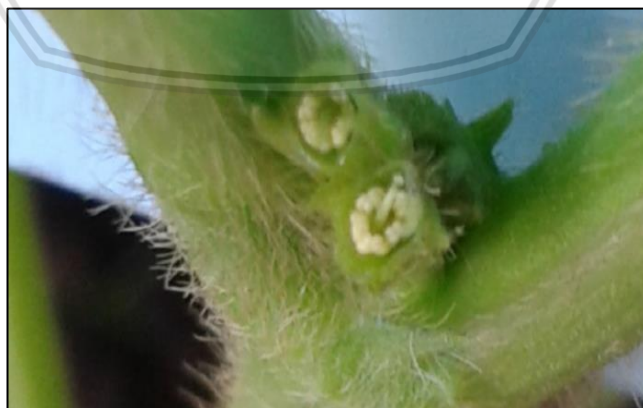
Persilangan kedelai efektif dilakukan pada pagi hari. Hal ini mengacu pada waktu reseptif dan anthesis bunga kedelai dan kondisi lingkungan yang mendukung keberhasilan persilangan. Pada kondisi cuaca lingkungan terang, kotak sari pada bunga kedelai mulai pecah antara pukul 07.00 hingga pukul 09.00, sedangkan pada kondisi cuaca sejuk kotak sari baru mulai pecah pada pukul 10.00 (Setyaningsih, 2011)

Teknik persilangan pada tanaman kedelai secara garis besar meliputi tahapan penyiapan bunga betina (kastrasi dan emaskulasi), penyerbukan dan pelabelan. Kastrasi merupakan proses membuang bagian tanaman seperti bagian mahkota dan kelopak bunga. Emaskulasi merupakan kegiatan membuang serbuk sari sebagai alat kelamin jantan pada bunga yang dipilih sebagai tetua betina sebelum terjadinya penyerbukan sendiri (Scaboo *et al.*, 2010).



Gambar 15. Kuncup bunga kedelai (Dokumentasi pribadi, 2017), (a) kuncup bunga belum siap disilangkan; (b) kuncup bunga siap disilangkan

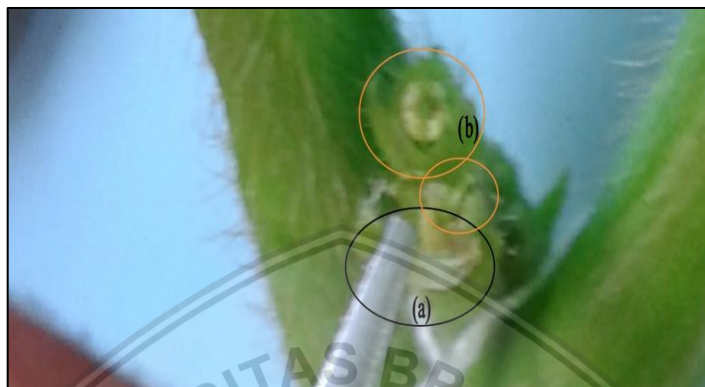
Identifikasi kuncup bunga yang akan mekar penting dilakukan saat kastrasi dan emaskulasi untuk dipilih sebagai bunga tetua betina. Kuncup yang siap mekar berukuran lebih besar, berwarna relatif lebih terang, dan mahkota bunga di bagian ujung sudah mulai terlihat (Gambar 15.) (Scaboo *et al.*, 2010). Sisa kuncup pada satu cabang batang yang tidak digunakan dalam persilangan, baik berupa kuncup yang sudah dibuka atau kuncup belum mekar harus dibuang supaya tidak mengganggu pertumbuhan bunga yang disilangkan (Talukdar dan Shivakumar, 2012).



Gambar 16. Bunga betina siap diserbuki (Dokumentasi pribadi, 2017)

Kastrasi pada tanaman kedelai harus dilakukan secara hati-hati karena kedelai memiliki bunga berukuran kecil. Bunga terpilih sebagai tetua betina selanjutnya

dipegang menggunakan ibu jari dan jari telunjuk telunjuk kiri, sedangkan tangan kanan digunakan untuk memegang pinset. Mahkota bunga kedelai kemudian dibuka dan dibuang menggunakan pinset yang memiliki ujung lancip (Scaboo *et al.*, 2010). Selanjutnya dilakukan emaskulasi dengan mengambil dan membuang tangkai sari yang mengelilingi kepala putik untuk siap diserbuki (Gambar 16.).



Gambar 17. Penyerbukan kedelai (Dokumentasi pribadi, 2017), (a) kepala sari dari bunga jantan; (b) putik bunga betina

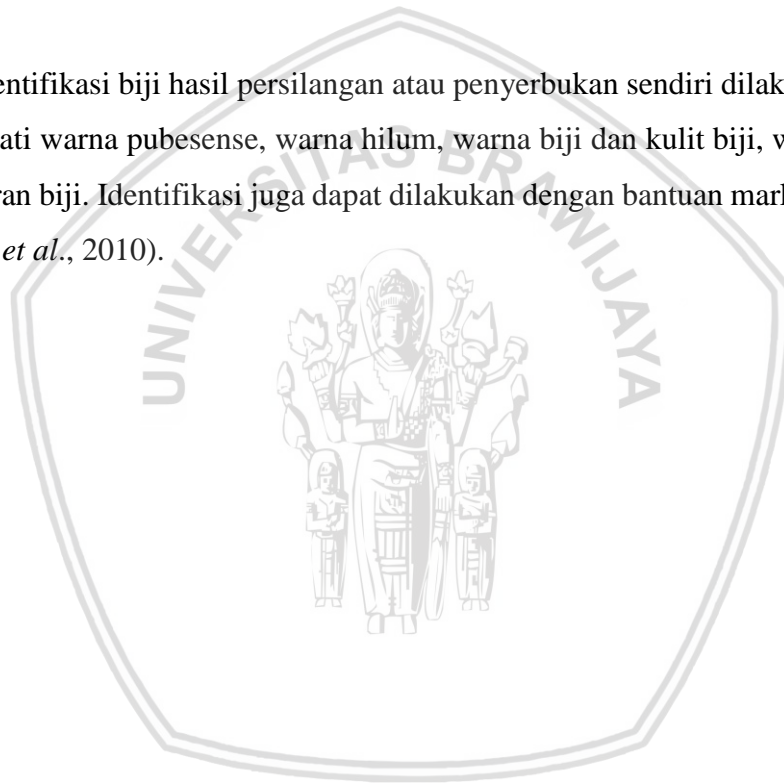


Gambar 18. Serbuk sari bunga kedelai (Dokumentasi pribadi, 2017), (a) bunga dengan serbuk sari jelek; (b) bunga dengan serbuk sari matang bagus

Tahapan persilangan selanjutnya adalah penyerbukan. Benang sari dari bunga terpilih sebagai tetua jantan diambil menggunakan pinset, untuk kemudian dioleskan pada kepala putik tetua betina (Gambar 17.). Benang sari harus diambil dari bunga segar yang baru mekar sepenuhnya. Serbuk sari yang matang dan bagus berbentuk debu berwarna kuning (Gambar 18.) (Talukdar dan Shivakumar, 2012). Bunga yang sudah dilakukan penyerbukan diberi tanda menggunakan benang dan dilabeli sebagai informasi persilangan. Penyerbukan pada bunga kedelai akan diikuti dengan pembuahan. Tangkai putik dan benang sari pada bunga akan mengering ketika pembuahan terjadi dan ovarium akan berkembang menjadi buah.

Keberhasilan suatu persilangan buatan pada kedelai mulai dapat diidentifikasi kurang lebih satu minggu setelah dilakukan penyerbukan. Karakteristik yang dapat dijadikan acuan melihat keberhasilan persilangan adalah pembesaran calon buah atau calon polong. Jika calon buah mulai membesar dan tidak rontok maka kemungkinan telah terjadi pembuahan. Sebaliknya, jika calon buah tidak membesar atau rontok maka kemungkinan telah terjadi kegagalan dari pembuahan (Yunianti *et al.*, 2009). Keberhasilan persilangan kedelai ditandai dengan kuncup tetap hijau dan mulai tumbuh pada hari keempat setelah penyerbukan. Jika persilangan tidak berhasil, tunas akan mengering dan rontok dari tanaman (Talukdar dan Shivakumar, 2012).

Identifikasi biji hasil persilangan atau penyerbukan sendiri dilakukan dengan mengamati warna pubesense, warna hilum, warna biji dan kulit biji, warna polong dan ukuran biji. Identifikasi juga dapat dilakukan dengan bantuan marka molekuler (Scaboo *et al.*, 2010).



3. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di rumah kawat kelompok peneliti Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor pada bulan Desember 2017 sampai dengan April 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah tanaman kedelai varietas Anjasmoro, Grobogan serta dua galur toleran Al yaitu *Gm2* dan *Gm5*. Bahan pendukung lainnya terdiri dari benang, label, tanah, ajir dan pupuk mutiara. Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi pinset, spidol permanen, tali rafia, gunting, gembor, sprayer, timbangan dan penggaris.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan rancangan persilangan biparental. Bahan tetua betina adalah kedelai varietas Anjasmoro dan Grobogan, sedangkan tetua jantan menggunakan galur *Gm2* dan *Gm5* yang toleran Al. Persilangan antar tetua dihasilkan dua belas kombinasi (ditampilkan pada Tabel 3.) yang diulang sebanyak tiga kali. Ulangan persilangan dilakukan berdasarkan kelompok waktu, yaitu ulangan 1 (08.00 – 11.00), ulangan 2 (11.00 – 14.00) dan ulangan 3 (14.00 – 17.00).

Tabel 2. Kombinasi tetua persilangan

No.	Simbol	Kombinasi Persilangan
1.	A	♀ Varietas Anjasmoro x ♂ galur <i>Gm2</i>
2.	B	♀ Varietas Anjasmoro x ♂ galur <i>Gm5</i>
3.	C	♀ Varietas Grobogan x ♂ galur <i>Gm2</i>
4.	D	♀ Varietas Grobogan x ♂ galur <i>Gm5</i>
5.	E	♀ Varietas Anjasmoro x ♂ Varietas Anjasmoro (<i>selfing</i> buatan)
6.	G	♀ Varietas Grobogan x ♂ Varietas Grobogan (<i>selfing</i> buatan)
7.	F	♀ Galur <i>Gm2</i> x ♂ galur <i>Gm2</i> (<i>selfing</i> buatan)
8.	H	♀ Galur <i>Gm5</i> x ♂ galur <i>Gm5</i> (<i>selfing</i> buatan)
9.	I	♀ Varietas Anjasmoro x ♂ Varietas Anjasmoro (<i>selfing</i> alami)
10.	J	♀ Varietas Grobogan x ♂ Varietas Grobogan (<i>selfing</i> alami)
11.	K	♀ Galur <i>Gm2</i> x ♂ galur <i>Gm2</i> (<i>selfing</i> alami)
12.	L	♀ Galur <i>Gm5</i> x ♂ galur <i>Gm5</i> (<i>selfing</i> alami)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan mengikuti prosedur kerja sebagai berikut:

1. Persiapan Media Tanam

Penanaman kedelai dilakukan di rumah kawat dengan wadah media berupa ember. Media tanam yang digunakan berupa tanah bekas tanaman padi. Media tanam dimasukkan ke dalam ember dan didiamkan selama tiga hari sebelum ditanami kedelai. Masing-masing tetua jantan dan tetua betina pada setiap kombinasi persilangan ditanam dua belas ember, sehingga media tanam yang perlu dipersiapkan sejumlah 48 ember.

2. Penanaman

Penanaman tetua persilangan dilakukan secara bertahap. Tahap pertama ditanam enam tanaman galur *Gm2*, enam tanaman galur *Gm5*, dan dua belas tanaman varietas Anjasmoro. Tiga hari kemudian dilakukan penanaman tahap dua terdiri dari enam tanaman galur *Gm2*, enam tanaman galur *Gm5*, dan dua belas tanaman varietas Grobogan.

Penanaman dilakukan dengan membuat lubang tanam sebanyak tiga untuk masing-masing ember menggunakan tugal dengan kedalaman ± 3 cm. Setiap lubang tanam ditanami satu hingga dua benih kedelai. Kemudian lubang ditutup kembali dengan sedikit tanah.

3. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman kedelai meliputi penyulaman, penyiraman, pemupukan, penjarangan, pemberian ajir, dan pengendalian OPT. Penyulaman tanaman dilakukan satu minggu setelah tanam. Penyulaman ini dilakukan untuk menggantikan tanaman kedelai yang mati atau tidak tumbuh. Bahan yang digunakan untuk penyulaman adalah tanaman yang sudah dipersiapkan pada ember berbeda dengan tanaman sampel. Penyiraman tanaman hanya dilakukan berdasarkan kondisi media tanam, yaitu apabila terlihat kering maka akan disiram pada pagi atau sore hari. Hal ini bertujuan untuk menghindari tumbuhnya jamur pada media tanam.

Pemupukan kedelai dilakukan 21 hari setelah tanam. Jenis pupuk yang digunakan adalah NPK Mutiara (16:16:16) sebanyak 3 gram setiap ember. Selanjutnya dilakukan pemasangan ajir untuk menjaga tanaman kedelai tetap

berdiri tegak dan tidak mudah rubuh. Ajir dipasang tegak dengan satu ajir untuk satu tanaman kedelai. Pengendalian OPT dilakukan berupa pencabutan gulma dan pemasangan *yellow sticky trap* untuk mengurangi populasi kutu kebul di tanaman kedelai.

4. Persilangan

Persilangan kedelai dilaksanakan dengan prinsip membuang kepala sari yang terdapat pada tetua betina, kemudian kepala putik diserbuki dengan serbuk sari yang diambil dari tetua jantan yang sudah dipersiapkan. Persilangan dilakukan pada saat tanaman mulai berbunga pada 30 – 45 Hst. Setiap kombinasi persilangan dipilih 10 bunga untuk disilangkan.

Persilangan kedelai meliputi tahapan kastrasi, emaskulasi, penyerbukan dan pelabelan menggunakan metode sebagai berikut:

a. Kastrasi

Bunga yang muncul pada lima hari pertama dan berada di batang utama diprioritaskan sebagai tetua terpilih, karena memiliki karakteristik lebih baik. Bunga yang dipilih sebagai tetua betina adalah bunga kuncup yang masih terbungkus kelopak, dengan mahkota bunga di bagian ujung sudah mulai terlihat. Bunga sebagai tetua betina yang sudah siap disilangkan memiliki volume kuncup besar (menggembung).

Kastrasi dilakukan dengan cara bunga terpilih dipegang menggunakan jari telunjuk dan ibu jari tangan kiri, tangan kanan digunakan untuk memegang pinset. Kemudian mahkota bunganya dibuka dan dibuang menggunakan pinset yang memiliki ujung lancip.

b. Emaskulasi

Emaskulasi merupakan tahap pembuangan alat kelamin jantan (serbuk sari) pada tetua betina. Bunga terpilih yang sudah dikastrasi selanjutnya dilakukan pembuangan tangkai sari yang mengelilingi kepala putik, apabila diperlukan bisa menggunakan kaca pembesar.

c. Penyerbukan

Penyerbukan dilakukan sesaat setelah dilakukan kastrasi dan emaskulasi pada bunga terpilih sebagai tetua betina. Penyerbukan dilakukan berdasarkan kelompok waktu sebagai ulangan, yaitu ulangan 1 pukul 08.00 – 11.00, ulangan 2 pukul

11.00 – 14.00, dan ulangan 3 pukul 14.00 – 17.00. Semua kombinasi tetua disilangkan pada setiap rentang waktu dengan urutan acak.

Bunga terpilih dari tetua jantan (galur *Gm2* dan *Gm5*) yang baru mekar dan segar diambil menggunakan pinset, untuk selanjutnya dioleskan pada kepala putik tetua betina. Bunga yang sudah dilakukan penyerbukan selanjutnya diikat menggunakan benang untuk membedakan hasil persilangan. Persilangan antar tetua yang digunakan sebagai kontrol dibiarkan menyerbuk sendiri. Bunga yang dipilih sebagai perlakuan ditandai dengan benang pada rentang waktu setiap ulangan.

d. Pelabelan

Pelabelan dilakukan untuk memberikan identitas bunga yang sudah dilakukan penyerbukan. Label terdiri dari informasi kombinasi persilangan dan tanggal persilangan, lalu diikatkan pada setiap tanaman pada bagian batang bawah.

5. Pemanenan

Pemanenan dilakukan apabila tanaman kedelai sudah menunjukkan ciri-ciri masak, antara lain daun menguning (beberapa keadaan daun tetap hijau) dan polong berubah warna menjadi kuning kecokelatan atau cokelat. Polong yang terdapat benang dipisahkan dari polong yang tidak diberi benang. Selanjutnya polong dikumpulkan sesuai dengan label pada batang bawah.

3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada seluruh kombinasi persilangan. Variabel yang diamati pada hasil persilangan kedelai varietas Anjasmoro dan Grobogan dengan galur *Gm2* dan *Gm5* adalah sebagai berikut:

1. Keberhasilan persilangan (%)

Persentase keberhasilan persilangan dihitung dengan cara membandingkan jumlah penyerbukan berhasil yaitu ditunjukkan dari bunga hasil persilangan yang berhasil membentuk polong muda, dengan jumlah total bunga yang disilangkan (setiap kombinasi persilangan disilangkan 10 bunga), kemudian dikalikan dengan 100%.

Persentase keberhasilan persilangan kedelai dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Keberhasilan persilangan (\%)} = \frac{\sum \text{Penyerbukan berhasil}}{\sum \text{Total bunga yang disilangkan}} \times 100\%$$

2. Keberhasilan pembentukan polong (%)
Keberhasilan pembentukan polong dihitung dengan membandingkan jumlah polong terbentuk pada saat panen dengan total polong muda yang teramati setelah satu minggu persilangan. Persentase pembentukan polong dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Pembentukan polong (\%)} = \frac{\sum \text{Polong jadi (saat panen)}}{\sum \text{Total polong muda}} \times 100\%$$

3. Jumlah polong berisi (polong)
Jumlah polong berisi dihitung setelah panen untuk masing-masing kombinasi persilangan, dengan memisahkan polong yang berisi minimal satu biji dengan polong hampa.
4. Jumlah polong hampa (polong)
Jumlah polong hampa dihitung setelah panen untuk masing-masing kombinasi persilangan dengan memisahkan polong yang berisi biji dengan polong hampa.
5. Jumlah biji per polong
Pengamatan jumlah biji pada setiap polong hasil persilangan dikelompokkan antara polong berbiji empat, tiga, dua dan satu pada masing-masing kombinasi tetua persilangan.
6. Panjang polong (cm)
Pengukuran panjang polong dilakukan menggunakan penggaris. Dilakukan pada masing-masing polong yang dihasilkan dari seluruh kombinasi persilangan. Pengukuran panjang dilakukan dari pangkal polong hingga ujung lainnya.
7. Lebar polong (cm)
Pengukuran dilakukan pada semua polong yang dihasilkan, baik dari hasil persilangan buatan maupun dari persilangan sendiri pada masing-masing tetua. Lebar polong diukur menggunakan penggaris pada bagian tengah polong.
8. Panjang biji (cm)
Panjang biji diukur menggunakan jangka sorong pada semua biji yang dihasilkan dari seluruh kombinasi persilangan.

9. Lebar biji (cm)
Lebar biji diukur pada seluruh biji yang dihasilkan dengan menggunakan alat bantu jangka sorong.
10. Tebal biji (cm)
Tebal biji diukur menggunakan jangka sorong pada seluruh biji yang dihasilkan dari semua kombinasi persilangan.
11. Umur berbunga tetua (hst)
Umur berbunga tetua dihitung dari awal tanam hingga bunga pertama mekar pada tanaman tetua.
12. Umur masak polong (hst)
Umur masak polong kedelai dihitung mulai tanam hingga polong teramati menunjukkan ciri masak berupa perubahan warna menjadi kuning kecokelatan atau cokelat.

3.6 Analisis Data

Hasil pengamatan pada variabel umur berbunga tetua persilangan, jumlah polong hampa, jumlah polong berisi, jumlah biji per polong ditampilkan dalam bentuk tabel karena jumlah polong dan biji yang berhasil terbentuk untuk masing-masing kombinasi persilangan tidak sama.

Data kuantitatif hasil pengamatan pada variabel umur masak polong, persentase keberhasilan persilangan dan persentase keberhasilan pembentukan polong dianalisis dengan menggunakan analisa ragam (ANOVA) seperti ditampilkan pada Tabel 4. Data yang menunjukkan pengaruh berbeda nyata dilanjutkan dengan uji lanjutan menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

Tabel 3. Tabel analisis ragam (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F Hitung
Kelompok	(r-1)	JKU	KTU	KTU/KTG
Kombinasi Persilangan	(p-1)	JKP	KTP	KTP/KTG
Galat	(p-1)(r-1)	JKG	KTG	
Total	(pr-1)	JKT		

Hasil pengamatan pada variabel ukuran (panjang, lebar, tebal) polong dan ukuran (panjang, lebar, tebal) biji dianalisis menggunakan uji t independent pada taraf 5% untuk membandingkan hasil persilangan dari perlakuan *crossing* dan

selfing. Perhitungan t hitung dibedakan menjadi dua, yaitu *equal variances* (nilai $S_a^2 = S_b^2$) dan *unequal variances* (nilai $S_a^2 \neq S_b^2$) mengikuti rumus sebagai berikut:

1. Uji t untuk varian yang sama (*Equal variances*)

$$t \text{ hitung} = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{\sqrt{\frac{(n_a - 1)S_a^2 + (n_b - 1)S_b^2}{n_a + n_b - 2} \left(\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_b}\right)}}$$

2. Uji t untuk varian yang sama (*Unequal variances*)

$$t \text{ hitung} = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{\sqrt{\frac{S_a^2}{n_a} + \frac{S_b^2}{n_b}}}$$

keterangan:

\bar{X}_a : rata-rata hasil perlakuan A

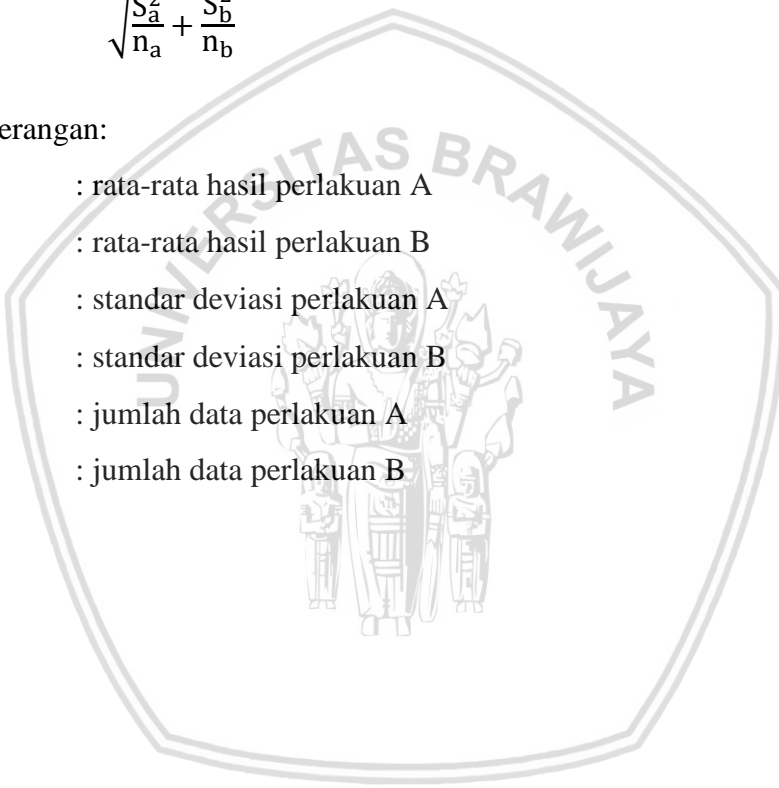
\bar{X}_b : rata-rata hasil perlakuan B

S_a^2 : standar deviasi perlakuan A

S_b^2 : standar deviasi perlakuan B

n_a : jumlah data perlakuan A

n_b : jumlah data perlakuan B



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Umur Berbunga

Masing-masing tetua persilangan kedelai yang terdiri dari varietas Anjasmoro dan Grobogan serta galur *Gm2* dan *Gm5* memiliki umur berbunga berbeda. Rerata umur berbunga ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Umur berbunga tetua persilangan

Tetua persilangan	Rerata Umur berbunga (Hst)
Anjasmoro	38,47
Grobogan	33,86
<i>Gm2</i>	46,62
<i>Gm5</i>	46,58

Berdasarkan Tabel 4. tetua persilangan varietas Grobogan (33,86 hst) menunjukkan umur mulai berbunga paling cepat dibandingkan Anjasmoro (38,47 hst), *Gm5* (46,58 hst) maupun *Gm2* (46,62 hst). Galur *Gm5* dan *Gm2* memiliki umur mulai berbunga hampir bersamaan karena memiliki asal yang sama yaitu kedelai varietas Lumut. Galur ini memiliki umur mulai berbunga lebih lama 13 hari terhadap Grobogan dan 8 hari dibandingkan Anjasmoro.

4.1.2 Keberhasilan Persilangan dan Pembentukan Polong

Keberhasilan persilangan diamati satu minggu setelah penyerbukan. Pembesaran calon polong (Gambar 19. A) menjadi ciri bahwa penyerbukan berhasil, sedangkan apabila calon polong menguning dan rontok (Gambar 19. B) mengindikasikan penyerbukan tidak berhasil. Hasil analisis ragam menunjukkan kombinasi tetua persilangan berpengaruh sangat nyata terhadap keberhasilan persilangan dan pembentukan polong yang ditampilkan pada Tabel 5.



Gambar 19. Keberhasilan persilangan buatan, A: penyerbukan berhasil; B: penyerbukan tidak berhasil

Tabel 5. Persentase keberhasilan persilangan dan keberhasilan pembentukan polong pada persilangan galur kedelai toleran AI dengan kedelai budidaya

Perlakuan	Keberhasilan persilangan (%)	Keberhasilan pembentukan polong (%)
A (Anjasmoro x <i>Gm2</i>)	56,67 a	59,05 e
B (Anjasmoro x <i>Gm5</i>)	80,00 ab	42,59 bc
C (Grobogan x <i>Gm2</i>)	60,00 a	53,77 cde
D (Grobogan x <i>Gm5</i>)	80,00 ab	28,97 a
E (Anjasmoro x Anjasmoro)	76,67 ab	48,15 bcde
F (Grobogan x Grobogan)	83,33 abc	40,28 ab
G (<i>Gm2</i> x <i>Gm2</i>)	73,33 ab	54,17 cde
H (<i>Gm5</i> x <i>Gm5</i>)	80,00 ab	41,60 bc
I (Anjasmoro x Anjasmoro selfing)	93,33 bc	57,04 de
J (Grobogan x Grobogan selfing)	96,67 c	44,81 bcd
K (<i>Gm2</i> x <i>Gm2</i> selfing)	93,33 bc	60,74 e
L (<i>Gm5</i> x <i>Gm5</i> selfing)	96,67 c	48,52 bcde

Keterangan: nilai yang diikuti huruf sama pada kolom sama menunjukkan hasil berbeda tidak nyata pada uji Duncan 5%

Berdasarkan Tabel 5. keberhasilan selfing alami masing-masing tetua persilangan perlakuan I, J, K, L menunjukkan rerata yang nyata paling tinggi dibandingkan selfing buatan maupun persilangan buatan, dengan persentase 93,33% sampai 96,67%. Keberhasilan persilangan galur *Gm5* secara umum memiliki persentase lebih tinggi dibandingkan galur *Gm2* pada setiap kelompok perlakuan di seluruh penyerbukan yang dilakukan. Persilangan buatan pada perlakuan B (80%) dan D (80%) dengan serbuk sari berasal dari galur *Gm5* menunjukkan persentase keberhasilan penyerbukan lebih tinggi daripada perlakuan A (56,67%) dan C (60%) yang menggunakan serbuk sari dari tetua galur *Gm2*.

Calon polong yang berhasil terbentuk setelah penyerbukan tidak seluruhnya mampu berkembang menjadi polong siap panen. Keberhasilan pembentukan polong kedelai pada Tabel 5. memiliki rentang persentase antara 28,97% sampai 60,74%, yang mengindikasikan bahwa polong yang rontok mencapai 71,03%. Persentase keberhasilan pembentukan polong terendah ditunjukkan kombinasi persilangan pada perlakuan D yang berbeda nyata terhadap perlakuan A dan K. Pembentukan polong pada tetua yang berkombinasi dengan galur *Gm2* memiliki kecenderungan lebih tinggi dibandingkan dengan galur *Gm5*. Hal ini ditunjukkan dari perlakuan A (59,05%), C (53,77%), G (54,17%) dan K (60,74%) yang

memiliki polong terbentuk lebih banyak daripada perlakuan B (42,59%), D (28,97%), H (41,60%) dan L (48,52%).

4.1.3 Umur Masak Polong

Kombinasi tetua persilangan memberikan pengaruh sangat berbeda nyata terhadap umur masak polong kedelai berdasarkan analisis ragam. Pengaruh kombinasi persilangan terhadap umur masak polong disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Umur masak polong hasil persilangan pada persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Kombinasi persilangan	Umur masak polong (Hst)
A (Anjasmoro x <i>Gm2</i>)	87,83 c
B (Anjasmoro x <i>Gm5</i>)	87,17 c
C (Grobogan x <i>Gm2</i>)	78,83 a
D (Grobogan x <i>Gm5</i>)	78,33 a
E (Anjasmoro x Anjasmoro)	92,00 de
F (Grobogan x Grobogan)	81,83 b
G (<i>Gm2</i> x <i>Gm2</i>)	92,17 e
H (<i>Gm5</i> x <i>Gm5</i>)	93,50 h
I (Anjasmoro x Anjasmoro selfing)	91,33 d
J (Grobogan x Grobogan selfing)	82,00 b
K (<i>Gm2</i> x <i>Gm2</i> selfing)	91,83 de
L (<i>Gm5</i> x <i>Gm5</i> selfing)	92,33 e

Keterangan: Hst: hari setelah tanam; nilai yang diikuti huruf sama menunjukkan hasil berbeda tidak nyata pada uji Duncan 5%

Pengaruh kombinasi tetua persilangan terhadap umur masak polong kedelai pada Tabel 6. menunjukkan bahwa hasil persilangan buatan perlakuan A, B, C dan D memiliki umur masak polong nyata lebih cepat dibandingkan dengan persilangan antar tetua baik selfing buatan (perlakuan E, F, G dan H) maupun selfing alami (perlakuan I, J, K dan L).

Rata-rata umur masak polong varietas Grobogan perlakuan selfing F (81,83 hst) dan J (82 hst) menunjukkan berbeda tidak nyata. Hal yang sama terjadi pada Anjasmoro perlakuan E (92 hst) dan I (91,33 hst) yang berbeda tidak nyata dengan *Gm2* perlakuan K (91,83 hst). Sedangkan umur masak polong terlama ditunjukkan tetua *Gm5* pada perlakuan H (93,5 hst) yang berbeda nyata dibandingkan dengan seluruh perlakuan.

Umur masak polong hasil persilangan buatan menunjukkan kecenderungan sedikit lebih cepat dibandingkan perlakuan selfing alami maupun selfing buatan.

Perlakuan A (87,83 hst) dan B (87,17 hst) dengan tetua betina Anjasmoro memiliki umur masak polong yang berbeda tidak nyata, demikian pula perlakuan C (78,83 hst) yang berbeda tidak nyata terhadap perlakuan D (78,33 hst) dengan tetua betina sama-sama Grobogan. Hal ini menunjukkan bahwa umur masak polong hasil persilangan cenderung mengikuti umur masak polong tetua betina.

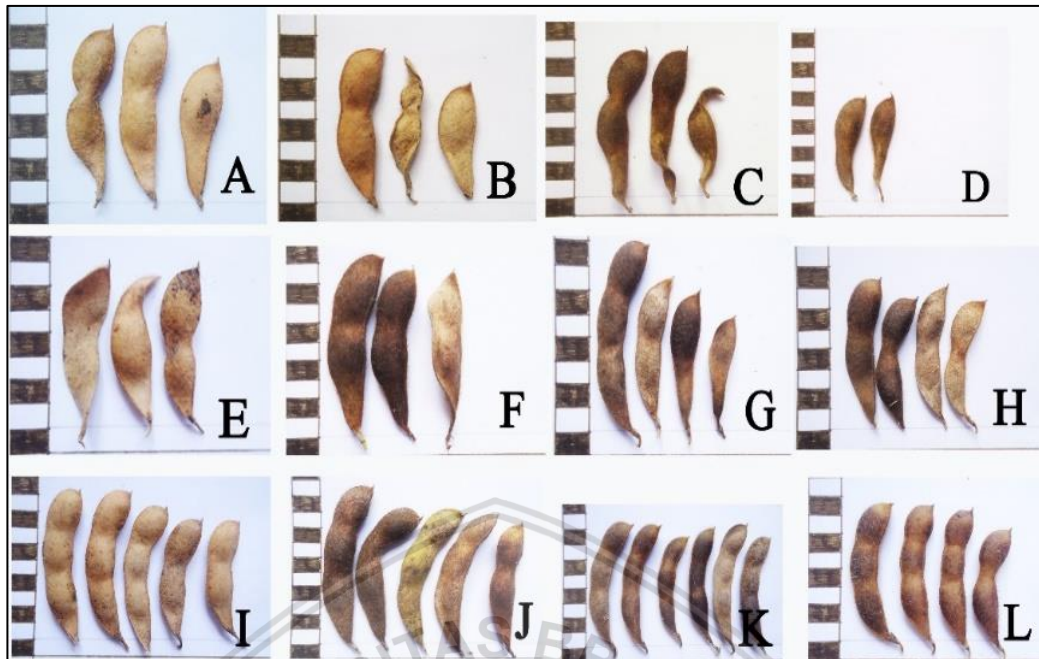
4.1.4 Jumlah Polong Berisi, Polong Hampa dan Jumlah Biji setiap Polong

Polong yang terbentuk pada masing-masing kombinasi persilangan menunjukkan hasil yang tidak sama. Kombinasi persilangan mempengaruhi banyaknya jumlah polong berisi, jumlah polong hampa dan jumlah biji setiap polong yang berhasil terbentuk (Tabel 7.). Polong yang terbentuk kemudian dikelompokkan menjadi polong berbiji satu, polong berbiji dua, polong berbiji tiga dan polong berbiji empat.

Tabel 7. Polong berisi, polong hampa dan jumlah biji per polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Perlakuan	Jumlah polong (polong)					
	Hampa	Berisi	Berbiji 1	Berbiji 2	Berbiji 3	Berbiji 4
A	0,00	3,33	1,67	1,33	0,33	0,00
B	0,67	2,67	2,00	0,67	0,00	0,00
C	0,00	3,00	2,00	1,00	0,00	0,00
D	0,00	2,33	1,67	0,67	0,00	0,00
E	0,67	3,00	1,33	1,67	0,00	0,00
F	0,33	3,00	0,33	2,67	0,00	0,00
G	1,67	2,33	1,00	0,67	0,33	0,00
H	1,00	2,33	0,67	1,67	0,00	0,00
I	0,33	5,00	1,00	2,00	2,00	0,00
J	0,67	3,67	0,33	1,33	1,67	0,33
K	0,33	4,67	1,67	1,67	1,33	0,00
L	1,00	3,67	0,33	0,67	2,67	0,00

Keterangan: Huruf A-L: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; E: Anjasmoro x Anjasmoro; F: Grobogan x Grobogan; G: *Gm2* x *Gm2*; H: *Gm5* x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; K: *Gm2* x *Gm2* selfing; L: *Gm5* x *Gm5* selfing



Gambar 20. Polong hasil persilangan kedelai; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; E: Anjasmoro x Anjasmoro; F: Grobogan x Grobogan; G: *Gm2* x *Gm2*; H: *Gm5* x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; K: *Gm2* x *Gm2* selfing; L: *Gm5* x *Gm5* selfing

Polong yang dihasilkan akan membentuk polong bernas atau berisi dan polong hampa. Penampilan polong dari masing-masing persilangan ditunjukkan pada Gambar 20. Berdasarkan Tabel 7, jumlah polong hampa untuk masing-masing kombinasi tetua persilangan berkisar dari 0 sampai 3 polong per kombinasi. Perlakuan yang tidak menghasilkan polong hampa adalah A, C dan D, sementara itu polong hampa terbanyak dihasilkan oleh perlakuan G. Jumlah polong isi yang dihasilkan masing-masing kombinasi tetua persilangan bervariasi dari 1 hingga 6 polong per kombinasi. Perlakuan D, G, H dan B memiliki rata-rata jumlah polong isi yang saling berbeda tidak nyata, tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan I yang memiliki jumlah polong isi terbanyak.

Jumlah biji untuk masing-masing polong pada setiap kombinasi tetua persilangan dibedakan menjadi polong berbiji 1, polong berbiji 2, polong berbiji 3 dan polong berbiji 4. Polong berbiji 1 paling banyak dihasilkan oleh perlakuan B dan C, sedangkan polong berbiji 2 paling banyak dihasilkan oleh perlakuan F. Polong berbiji 3 terbanyak terdapat pada perlakuan L sedangkan polong berbiji 4 hanya dihasilkan oleh kombinasi persilangan pada perlakuan J.

Persilangan buatan pada perlakuan A, B, C dan D rata-rata menghasilkan polong dengan jumlah biji satu dan dua. Hal ini dapat dilihat bahwa polong berbiji 3 hanya dihasilkan pada perlakuan A. Demikian pula pada selfing buatan perlakuan E, F, G dan H polong berbiji 3 hanya dihasilkan pada perlakuan G. Tetapi pada kelompok ini, seluruh kombinasi tetua persilangan menghasilkan polong hampa. Berbeda dengan selfing alami pada perlakuan I, J, K dan L polong yang terbentuk rata-rata berbiji 3 yang teramati memiliki jumlah paling banyak diantara polong berbiji 1 dan 2 pada setiap kombinasi. Bahkan pada perlakuan J, dihasilkan polong berbiji 4. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah biji yang terbentuk pada setiap polong untuk selfing alami lebih banyak dibandingkan selfing buatan maupun persilangan buatan.

4.1.5 Ukuran Polong

Analisis ragam pada variabel ukuran polong didapatkan pengaruh berbeda sangat nyata pada variabel panjang polong (cm), lebar polong (cm) dan tebal polong (cm). Pengaruh kombinasi tetua persilangan terhadap masing-masing variabel ukuran polong menggunakan uji Duncan pada taraf 5% ditampilkan di Tabel 8.

Tabel 8. Ukuran polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Perlakuan	Panjang polong (cm)	Lebar polong (cm)	Tebal polong (cm)
A (Anjasmoro x <i>Gm2</i>)	3,44 abcd	0,99 bcd	0,53 d
B (Anjasmoro x <i>Gm5</i>)	3,20 ab	0,92 ab	0,40 abc
C (Grobogan x <i>Gm2</i>)	3,77 def	0,95 abc	0,48 cd
D (Grobogan x <i>Gm5</i>)	4,09 f	1,01 cde	0,51 cd
E (Anjasmoro x Anjasmoro)	3,33 abc	1,07 de	0,46 bcd
F (Grobogan x Grobogan)	3,84 def	1,07 de	0,55 d
G (<i>Gm2</i> x <i>Gm2</i>)	3,12 a	0,86 a	0,30 a
H (<i>Gm5</i> x <i>Gm5</i>)	3,27 abc	0,89 a	0,35 ab
I (Anjasmoro x Anjasmoro selfing)	3,91 ef	1,10 e	0,56 d
J (Grobogan x Grobogan selfing)	4,75 g	1,07 de	0,58 d
K (<i>Gm2</i> x <i>Gm2</i> selfing)	3,64 cde	0,90 ab	0,41 abc
L (<i>Gm5</i> x <i>Gm5</i> selfing)	3,58 bcde	0,87 a	0,40 abc

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama pada kolom sama menunjukkan hasil berbeda tidak nyata pada uji Duncan 5%

Tabel 9. Perbandingan panjang polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Selfing alami	Panjang polong (cm)	Persilangan buatan	Panjang polong (cm)	Notasi
Perlakuan I	3,9	Perlakuan A	3,44	*
Perlakuan I	3,9	Perlakuan B	3,20	*
Perlakuan J	4,75	Perlakuan C	3,77	*
Perlakuan J	4,75	Perlakuan D	4,09	*

Keterangan: Huruf A, B, C, D, I, J: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; tanda * menunjukkan hasil berbeda nyata dalam uji t taraf 5%; tn: menunjukkan berbeda tidak nyata

Variabel panjang polong kedelai memiliki rentang nilai dari 3,12 cm hingga 4,75 cm (Tabel 8.). Panjang polong hasil selfing alami pada perlakuan L dan K tidak saling berbeda nyata, tetapi keduanya berbeda nyata lebih rendah dari perlakuan I ataupun J. Perlakuan E, G dan H pada selfing buatan memiliki nilai panjang polong rata-rata rendah yang berbeda nyata dengan perlakuan F. Polong hasil persilangan buatan pada perlakuan A, B dan C mempunyai panjang polong yang berbeda nyata dengan perlakuan D. Perbandingan menggunakan uji t (Tabel 9.) menunjukkan bahwa antara perlakuan persilangan buatan A dan B berbeda nyata dengan perlakuan selfing alami I, serta perlakuan C dan D saling berbeda nyata terhadap kontrol perlakuan J.

Tabel 10. Perbandingan lebar polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Selfing alami	Lebar polong (cm)	Persilangan buatan	Lebar polong (cm)	Notasi
Perlakuan I	1,10	Perlakuan A	0,99	*
Perlakuan I	1,10	Perlakuan B	0,92	*
Perlakuan J	1,07	Perlakuan C	0,95	*
Perlakuan J	1,07	Perlakuan D	1,01	tn

Keterangan: Huruf A, B, C, D, I, J: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; tanda * menunjukkan hasil berbeda nyata dalam uji t taraf 5%; tn: menunjukkan berbeda tidak nyata

Lebar polong hasil persilangan buatan perlakuan A, B, C, D memiliki rata-rata nyata lebih rendah dibandingkan polong hasil selfing tetua betina pada perlakuan E, F, I, J, dan lebih tinggi daripada selfing tetua jantan pada perlakuan G, H, K, L (Tabel 9.). Hal ini menunjukkan bahwa lebar polong Anjasmoro dan

Grobogan lebih besar dibandingkan dengan galur *Gm2* dan *Gm5* baik pada hasil selfing alami maupun selfing buatan. Analisis uji t (Tabel 10.) terhadap variabel lebar polong menunjukkan bahwa perlakuan persilangan buatan memiliki perbedaan yang nyata dengan masing-masing kontrol selfing alaminya (A-I, B-I, C-J), kecuali pada perlakuan D yang menunjukkan lebar polong berbeda tidak nyata terhadap selfing alami tetua betinanya pada perlakuan J.

Tabel 11. Perbandingan tebal polong pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Selfing alami	Tebal polong (cm)	Persilangan buatan	Tebal polong (cm)	Notasi
Perlakuan I	0,56	Perlakuan A	0,53	*
Perlakuan I	0,56	Perlakuan B	0,40	*
Perlakuan J	0,58	Perlakuan C	0,48	tn
Perlakuan J	0,58	Perlakuan D	0,51	tn

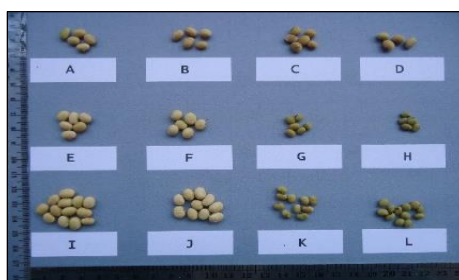
Keterangan: Huruf A, B, C, D, I, J: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; tanda * menunjukkan hasil berbeda nyata dalam uji t taraf 5%; tn: menunjukkan berbeda tidak nyata

Polong yang dihasilkan dari masing-masing kombinasi tetua persilangan memiliki tebal antara 0,30 cm hingga 0,58 cm (Tabel 9.). Polong hasil persilangan buatan pada perlakuan A, B, C, D menunjukkan rata - rata tebal polong diantara tetua betina (Grobogan dan Anjasmoro) dengan tetua jantan (galur *Gm2* dan *Gm5*) baik pada selfing alami maupun selfing buatan. Berdasarkan uji t (Tabel 11.) didapatkan bahwa perlakuan persilangan buatan A dan B memiliki tebal polong berbeda nyata dibandingkan dengan selfing alami tetua betina pada perlakuan I, sementara perlakuan C dan D menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata terhadap selfing alami perlakuan J.

4.1.6 Ukuran Biji

Ukuran biji tetua betina (Anjasmoro dan Grobogan) dalam persilangan tergolong besar sedangkan tetua jantan (galur *Gm2* dan *Gm5*) berukuran kecil. Kombinasi tetua persilangan menunjukkan berpengaruh terhadap ukuran biji hasil persilangan (Gambar 20.) yang dilihat dari variabel panjang biji (cm), lebar biji (cm) dan tebal biji (cm). Analisis uji t terhadap variabel ukuran biji pada Tabel 12. (panjang biji), Tabel 13. (lebar biji), dan Tabel 14. (tebal biji) hanya

membandingkan antara biji hasil persilangan buatan dengan perlakuan selfing alami tetua betina, karena biji yang terbentuk masih berasal dari bakal biji tetua betina.



Gambar 21. Biji hasil persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; E: Anjasmoro x Anjasmoro; F: Grobogan x Grobogan; G: *Gm2* x *Gm2*; H: *Gm5* x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; K: *Gm2* x *Gm2* selfing; L: *Gm5* x *Gm5* selfing

Tabel 12. Perbandingan panjang biji pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Selfing alami	Panjang biji (cm)	Persilangan buatan	Panjang biji (cm)	Notasi
Perlakuan I	0,97	Perlakuan A	0,81	*
Perlakuan I	0,97	Perlakuan B	0,75	*
Perlakuan J	0,83	Perlakuan C	0,77	*
Perlakuan J	0,83	Perlakuan D	0,82	tn

Keterangan: Huruf A, B, C, D, I, J: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; tanda * menunjukkan hasil berbeda nyata dalam uji t taraf 5%; tn: menunjukkan berbeda tidak nyata

Uji t terhadap variabel panjang biji (Tabel 12.) menunjukkan bahwa biji hasil persilangan buatan pada perlakuan A, B dan C berbeda nyata dibandingkan dengan masing-masing selfing alami tetua betinanya, sedangkan perlakuan D berbeda tidak nyata. Biji hasil persilangan memiliki kecenderungan berukuran lebih kecil dibandingkan dengan hasil selfing alami tetua betinanya.

Tabel 13. Perbandingan lebar biji pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Selfing alami	Lebar biji (cm)	Persilangan buatan	Lebar biji (cm)	Notasi
Perlakuan I	0,73	Perlakuan A	0,63	*
Perlakuan I	0,73	Perlakuan B	0,60	*
Perlakuan J	0,67	Perlakuan C	0,64	tn
Perlakuan J	0,67	Perlakuan D	0,66	tn

Keterangan: Huruf A, B, C, D, I, J: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; tanda * menunjukkan hasil berbeda nyata dalam uji t taraf 5%; tn: menunjukkan berbeda tidak nyata

Lebar biji berdasarkan analisis uji t (Tabel 13.) diketahui bahwa persilangan buatan perlakuan A dan B berbeda nyata terhadap selfing alaminya perlakuan I, namun antara perlakuan C dan D menunjukkan hasil berbeda tidak nyata dengan selfing alami perlakuan J. Hal ini menunjukkan bahwa lebar biji pada Anjasmoro memiliki kecenderungan menjadi lebih kecil pada hasil persilangan baik dengan tetua jantan *Gm2* maupun *Gm5*.

Tabel 14. Perbandingan tebal biji pada hasil persilangan galur kedelai toleran Al dengan kedelai budidaya

Selfing alami	Tebal biji (cm)	Persilangan buatan	Tebal biji (cm)	Notasi
Perlakuan I	0,55	Perlakuan A	0,46	*
Perlakuan I	0,55	Perlakuan B	0,42	*
Perlakuan J	0,54	Perlakuan C	0,45	*
Perlakuan J	0,54	Perlakuan D	0,47	*

Keterangan: Huruf A, B, C, D, I, J: kombinasi tetua persilangan; A: Anjasmoro x *Gm2*; B: Anjasmoro x *Gm5*; C: Grobogan x *Gm2*; D: Grobogan x *Gm5*; I: Anjasmoro x Anjasmoro selfing; J: Grobogan x Grobogan selfing; tanda * menunjukkan hasil berbeda nyata dalam uji t taraf 5%; tn: menunjukkan berbeda tidak nyata

Perlakuan J sebagai kontrol selfing alami tetua betina Anjasmoro dan perlakuan I dengan tetua Grobogan memiliki tebal biji nyata lebih tebal dibandingkan hasil persilangan buatan pada perlakuan A dan B maupun C dan D berdasarkan uji t (Tabel 14.).

4.2 Pembahasan

Persilangan buatan dilakukan sebagai salah satu upaya untuk mendapatkan kombinasi baru terhadap sifat tertentu, misalnya kedelai toleran Al berdaya hasil tinggi. Keberhasilan persilangan ditentukan oleh banyak factor yang terdiri dari kombinasi tetua dan kecocokan masing-masing tetua, musim dan cuaca saat persilangan, kesehatan tanaman serta kemampuan penyilang (Talukdar dan Shivakumar, 2012). Selain itu, sinkronisasi waktu berbunga antara tanaman yang akan dijadikan tetua juga sangat perlu diperhatikan.

Kombinasi tetua persilangan kedelai memberikan pengaruh nyata terhadap keberhasilan persilangan. Perlakuan selfing alami menunjukkan hasil keberhasilan penyerbukan tertinggi dibandingkan dengan selfing buatan maupun persilangan buatan. Tingginya persentase keberhasilan penyerbukan selfing alami (93,33% sampai 96,67%) disebabkan karena bunga kedelai bersifat kleistogami sehingga kepala putik diserbuki secara langsung oleh benang sari sebelum atau sesaat setelah

mahkota bunga membuka (*anthesis*) (Talukdar dan Shivakumar, 2012). Keberhasilan persilangan buatan pada penelitian sebesar 56,67%-80% tergolong baik karena kedelai memiliki persentase keberhasilan persilangan buatan rendah 11-15% (Talukdar dan Shivakumar, 2012). Hasil tersebut setara dengan persentase keberhasilan persilangan buatan yang dilakukan oleh Shivakumar *et al.* (2016) yaitu 54.23%-66.25% serta Matsuo *et al.* (2015) sebesar 64,8% pada kondisi lapang.

Cuaca saat persilangan juga berpengaruh terhadap keberhasilan persilangan. Persilangan yang dilakukan pada cuaca sejuk dengan rentang suhu antara 24°C - 28°C (www.worldweatheronline.com) menghasilkan pengaruh berbeda tidak nyata terhadap tiga periode waktu ulangan (U1 08.00 – 11.00, U2 11.00 – 14.00, dan U3 14.00 – 17.00). Hal ini disebabkan karena suhu saat persilangan sesuai dengan suhu optimum yang dibutuhkan kedelai untuk *anthesis* (26°C) dan perkecambahan serbuk sari (30°C) (Luo, 2011). Kondisi sejuk dan lembab pada saat pembungaan kedelai juga akan berpengaruh terhadap periode waktu persilangan menjadi lebih lama, antara pukul 07.30 sampai 13.00 padahal saat cuaca panas hanya dapat dilakukan pada pukul 08.30 sampai dengan 10.30 (Shivakumar *et al.*, 2016). Walaupun begitu, cuaca yang sejuk akan menyebabkan serbuk sari menggumpal dan tidak berbentuk serbuk (Matsuo *et al.*, 2015) sehingga kemampuan untuk menyerbuki kepala putik menjadi rendah.

Kemahiran manusia dalam menyilangkan berkaitan dengan morfologi bunga kedelai yang sangat kecil dan mudah gugur. Luka pada kepala putik walaupun kecil akan menyebabkan bunga kedelai gugur (Talukdar dan Shivakumar, 2012), sehingga kemahiran manusia saat melakukan persilangan buatan diperlukan untuk meminimalkan terjadinya luka pada kepala putik ketika kastrasi maupun emaskulasi dengan tujuan persentase keberhasilan meningkat. Kemahiran manusia menyilangkan dapat menghasilkan persentase keberhasilan penyerbukan mencapai 90% (Matsuo *et al.*, 2015).

Keberhasilan penyerbukan akan diikuti dengan pertumbuhan bakal buah menjadi buah (polong) dan bakal biji menjadi biji. Polong yang terbentuk sebagai akibat perkembangan bakal buah kedelai tidak seluruhnya dapat membentuk polong masak. Hal ini disebabkan karena tingginya persentase keguguran polong kedelai yaitu 20% sampai 80% tergantung dari varietas (Carlson, 1973). Jumlah polong dan

biji yang dapat berkembang hingga panen berkaitan dengan ketersediaan asimilat hasil fotosintesis sebagai *source* serta karakteristik biji dan polong yang berkembang sebagai *sink* dalam keadaan seimbang. Selama periode pengisian biji kedelai, apabila terjadi ketidakseimbangan antara *source* dan *sink* akan menimbulkan kompetisi antara polong yang berkembang dan polong yang mengandung biji dengan pertumbuhan cepat yang membutuhkan asimilat dalam jumlah besar. Kompetisi ini merupakan penyebab utama gugurnya bunga dan polong pada kedelai (Egli and Bruening, 2006). Pertumbuhan pserbuk sari yang tidak bersamaan pada kepala putik untuk masing-masing bunga dalam satu tetua persilangan memungkinkan kompetisi menjadi tinggi yang kemudian diikuti dengan tingkat keberhasilan pembentukan polong hanya berkisar 28,97% hingga 60,74%.

Keberhasilan pembentukan polong tidak selalu diikuti oleh persentase pembentukan biji yang sama besarnya. Hal ini menunjukkan bahwa polong yang berhasil terbentuk tidak seluruhnya mampu terisi biji, akibatnya akan dihasilkan polong hampa. Pada beberapa kondisi buluh serbuk sari mengalami kegagalan dalam pertumbuhannya yang berakibat tidak dapat mencapai bakal biji. Bakal biji yang tidak dapat dicapai buluh serbuk sari tidak akan mengalami pembuahan, salah satunya dapat menyebabkan polong kedelai menjadi hampa karena tidak ada biji terbentuk (Tjitrosoepomo, 2009).

Polong bernas (polong isi) kedelai umumnya mengandung 1 – 4 biji per polong, tetapi pada hasil penyerbukan buatan jumlah biji rata-rata yang terbentuk hanya berkisar 1 sampai 2 biji per polong. Jumlah biji terbentuk tidak maksimal ini disebabkan karena serbuk sari yang mampu mencapai bakal buah tidak mencukupi untuk semua bakal biji di dalamnya (Calvino, 2014). Bakal biji yang berjumlah lebih dari satu per bakal buah harus dibuahi masing-masing agar semuanya membentuk biji sehingga jumlah serbuk sari yang ada dalam bakal buah harus berjumlah cukup untuk semua bakal biji (Tjitrosoepomo, 2009).

Biji hasil persilangan buatan menggunakan tetua betina Anjasmoro dan Grobogan serta tetua jantan galur *Gm2* dan *Gm5* menghasilkan ukuran (panjang, lebar, tebal) biji yang berada diantara keduanya, dengan kecenderungan mengikuti ukuran tetua betina (maternal). Ukuran biji ditentukan oleh jumlah dan ukuran sel kotiledon (Davies, 1997, Duc *et al.*, 2001). Mengacu pada hasil persilangan

resiprok pada galur *Arabidopsis thaliana* diketahui bahwa variasi jumlah sel terutama dikontrol oleh faktor maternal, sedangkan faktor non-maternal seperti adanya pengaruh paternal akan mempengaruhi sebagian besar ukuran sel (Alonso-Balco *et al.*, Duc *et al.*, 2001). Biji diploid angiospermae mengandung susunan embrio yang membawa satu salinan alel maternal dan satu salinan alel paternal, serta endosperma yang membawa dua alel salinan maternal dan satu salinan alel paternal (House *et al.*, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa variasi ukuran biji yang berbeda pada keturunan hasil persilangan dapat dipengaruhi oleh paternal meskipun keberadaannya masih kontroversial (De Jong and Scott, 2007). Hasil yang sama ditunjukkan pula pada karakter ukuran polong, karena ukuran polong berhubungan dengan ukuran biji. Gardner *et al.* (1991) menginformasikan bahwa pada polong berukuran kecil akan terbentuk biji berukuran kecil karena dinding polong membatasi pertumbuhan biji di dalamnya.

Umur masak polong kedelai hasil persilangan yang menunjukkan umur lebih cepat daripada tetuanya menginformasikan bahwa terdapat pengaruh tetua jantan dalam persilangan. Tetua jantan memiliki ukuran biji kecil sehingga memicu pengisian dan pemasakan biji berlangsung lebih cepat. Damanik *et al.* (2013) menyebutkan bahwa kedelai berbiji besar memiliki umur panen yang lebih lama dibandingkan dengan berbiji kecil.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Tingkat keberhasilan persilangan buatan antara Anjasmoro x *Gm2* memiliki persentase sebesar 56,67%, Anjasmoro x *Gm5* 80%, Grobogan x *Gm2* 60%, dan Grobogan x *Gm5* 80%. Kombinasi perlakuan selfing alami memiliki persentase keberhasilan lebih tinggi (93,33% - 96,67%) dibandingkan dengan selfing buatan (73,33% - 80%) maupun persilangan buatan (56,67% - 80%). Keberhasilan pembentukan polong Anjasmoro x *Gm2*, Anjasmoro x *Gm5*, Grobogan x *Gm2*, dan Grobogan x *Gm5* secara berturut-turut adalah 59,05%; 42,59%; 53,77%; 28,97%. Keberhasilan pembentukan polong pada perlakuan selfing buatan dan selfing alami secara berturut-turut untuk Anjasmoro sebesar 48,15%; 57,04%; Grobogan sebesar 40,28%; 44,81%; *Gm2* sebesar 54,17%; 60,74%; dan *Gm5* 41,60%; 48,52%.

5.2 Saran

Biji hasil persilangan perlu dikonfirmasi menggunakan marka molekuler dan populasi F1 terkonfirmasi dapat dijadikan bahan genetik untuk melakukan *backcross*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraito, Y.U. 2012. Transformasi genetik *Nicotiana benthamiana* L. dan kedelai dengan gen *MaMt2* penyandi metallothionein tipe II dari *Melastoma malabatricum* L. Ph.D. diss. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Asadi dan Dewi, N. 2017. Daya Hasil, Heritabilitas, Variabilitas galur M6 kedelai di dataran rendah dan sedang. *Dalam* Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Balitkabi, Malang. pp. 50-58. Inovasi Teknologi Lahan Suboptimal untuk Pengembangan Tanaman Aneka Kacang dan Umbi Mendukung Pencapaian Kedaulatan Pangan. Puslitbangtan. Bogor.
- Balitkabi. 2016. Deskripsi varietas unggul aneka kacang dan umbi. Malang.
- Calvino, A. 2014. Effects of ovule and seed abortion on brood size and fruit costs in the leguminous shrub *Caesalpinia gilliesii* (Wall. ex Hook.) D. Dietr. *Acta Botanica Brasillica*. 28(1): 59-67.
- Carlson, J.B. 1973. Morphology. p. 71-95. *In* Caldwell, B.E. (Ed.). Soybean: improvement, production and uses. Agron. Monogr. 16. ASA: Wisconsin.
- Carlson, J.B. and N.R. Lersten. 2004. Reproductive morphology. p. 59-93. *In* Boerma, H.R. and J.E. Specht (Ed.). Soybean: Improvement, production, and uses, 3rd Ed. Agron. Monogr. 16. ASA, Madison, WI: USA.
- Cobbett, C. and P. Goldsbrough. 2002. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 159-82.
- Delaplane, K.S., A. Dag, R.G. Danka, B.M. Freitas, L.A. Garibaldi, R.M. Goodwin and J.I. Hormaza. 2013. Standart methods for pollination research with *Aphis mellifera*. *In* V. Dietemann, J.D. Ellis, P. Neumann (Ed.). The coloss beebook (I): Standard methods for *Apis mellifera* Research. *J. Apic. Res.* 52(4): 1-28.
- De Jong, T.J. and R.J. Scott. 2017. Parental conflict does not necessarily lead to the evolution of impiring. *TRENDS in Plant science.* 12(10): 440-443.
- Duc, G., A. Moessner, F. Moussy, and C.M. Declas. 2001. A xenia effect on number and volume of cotyledon cells and on seed weight in faba bean (*Vicia faba* L.). *Euphytica*. 117: 169-174.
- Egli, D.B., and W.P. Bruening. 2006. Temporal profiles of pod production and pod set in soybean. *Europ. J. Agronomy.* 24: 11-18.
- Fehr, W.R., and Caviness, C.E. 1977. Stages of soybean development. Cooperative extension service. Agric. and Home Econom. Exp. Station, Iowa State University, Ames. Iowa.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan R.L. Mitchell. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. UI Press. Depok.
- Hartini, S. 2008. Induksi mutase dengan irradiasi sinar gamma pada kedelai (*Glycine max* L. Merril.) kultivar slamet dan lumut. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- House, C., C. Roth and J. Hunt. 2010. Paternal effect in *Arabidopsis* indicate that offspring can influence their own size. *Proc. R. Soc. B.* 277: 2885-2893.
- Ladizinsky, G. 1992. Crossability relations. *In* G. Kallo and J.B. Chowdhury (Ed.). Distant hybridization of crop plants. Springer Verlag Berlin Heidelberg: Germany.
- Luo, Q. 2011. Temperature thresholds and crop production: a review. *Climatic Change.* 109: 583-598.
- Mulyasari, I. 2011. Persilangan dialel enam varietas kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dalam rangka peningkatan hasil dan kandungan protein. SP. skripsi. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Matsuo, É., Sedyama, T., Cruz, C. D., Brommonschenkel, S. H., Ferreira, C., Fialho, G. S. 2015. Efficiency of artificial hybridization in soybean during the summer depending on temperature and relative humidity. *J. Biosci.* 31(6): 1663–1670.
- Pardal, S.J. dan Suharsono. 2016. Evaluasi galur kedelai transgenik toleran aluminium pada fasilitas uji terbatas. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan.* 35(2): 155-161.
- Pratap, A., S.K. Gupta, J. Kumar, S. Mehendi and V.R. Pandey. 2016. Soybean. p. 293-315. (Ed.) *Breeding oilseed crops for sustainable production opportunities and constraints.* Academic Press Elsevier Inc.: London.
- Ren, Y., Y. Liu, H. Chen, G. Li, X. Zhang and J. Zhao. 2012. Type 4 metallothionein genes are involved in regulating Zn ion accumulation in late embryo and in controlling early seedling growth in *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment.* 35: 770-789.
- Scaboo, A.M., P. Chen, D.A. Sleper and K.M. Clark. 2010. Classical breeding and genetics of soybean. p. 19-34. *In* Bilyeu, K., M.B. Ratnaparkhe and C. Kole (Ed.). *Genetics, genomics and breeding of soybean.* CRC Press: New York.
- Setyaningsih, F.H. 2011. Persilangan dialel pada enam varietas untuk peningkatan hasil kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). SP. skripsi. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sleper, D.A. and J.M. Poehlman. 2006. *Breeding field crop.* 5th Ed. Blackwell Publishing: Iowa.
- Shivakumar, M., C. Gireesh and A. Talukdar. 2016. Efficiency and utility of pollination without emasculation (PWE) method in intra- and inter- specific hybridization in soybean. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding.* 76(1): 98-100.
- Suharsono, N. Trisaningrum, L.D. Sulistyaningsih, dan U. Widyastuti. 2009. Isolation and cloning of cDNA of gene encoding for metallothionein type 2 from *Melastoma affine*. *Biotrop.* 16(1): 28-37.
- Talukdar, A. and M. Shivakumar. 2012. Pollination without emasculation: an efficient method of hybridization in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Current Science.* 103(6): 628-630.

- Tjitrosoepomo, G. 2009. Morfologi tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Watanabe, T., S. Misawa, and M. Osaki. 2005. Aluminum accumulation in the roots of *Melastoma malabathricum*, an aluminum-accumulating plant. *Can. J. Bot.* 83: 1518-1522.
- Yunianti, R., S. Sujiprihati dan M. Syukur. 2009. Teknik persilangan buatan. Departemen Agronomi dan Hortikultura. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

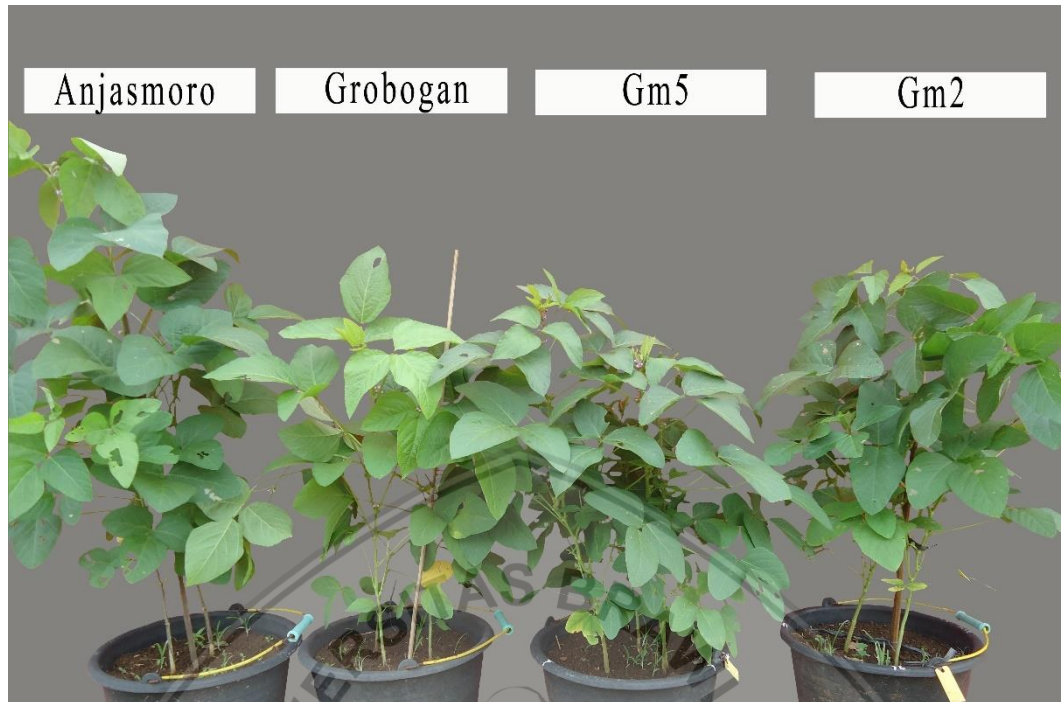


LAMPIRAN**Lampiran 1.** Deskripsi Kedelai Varietas Anjasmoro

Dilepas tahun	: 22 Oktober 2001
SK Mentan	: 537/Kpts/TP.240/10/2001
Nomor galur	: Mansuria 395-49-4
Asal	: Seleksi massa dari populasi galur murni Mansuria
Daya hasil	: 2,03 – 2,25 ton ha ⁻¹
Warna hipokotil	: Ungu
Warna epikotil	: Ungu
Warna daun	: Hijau
Warna bulu	: Putih
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning
Warna polong masak	: Coklat muda
Warna hilum	: Kuning kecoklatan
Bentuk daun	: Oval
Ukuran daun	: Lebar
Tipe tumbuh	: Determinit
Umur Berbunga	: 35,7 – 39,4 hari
Umur polong masak	: 82,5 – 92,5 hari
Tinggi tanaman	: 64 -68 cm
Percabangan	: 2,9 – 5,6 cabang
Jml. buku batang utama	: 12,9 – 14,8
Bobot 100 biji	: 14,8 – 15,3 gram
Kandungan protein	: 41,8 – 42,1 %
Kandungan lemak	: 17,2 – 18,6 %
Kerebahan	: Tahan rebah
Ketahanan thd penyakit	: Moderat terhadap karat daun
Sifat-sifat lain	: Polong tidak mudah pecah
Pemulia	: Takashi Sanbuichi, Nagaaki Sekiya, Jamaluddin M., Susanto, Darman M.A., dan M. Muchlish A.

Lampiran 2. Deskripsi Kedelai Varietas Grobogan

Dilepas tahun	: 2008
SK Mentan	: 238/Kpts/SR.120/3/2008
Asal	: Pemurnian populasi lokal Malabar Grobogan
Tipe pertumbuhan	: Determinit
Warna hipokotil	: Ungu
Warna epikotil	: Ungu
Warna daun	: Hijau agak tua
Warna bulu batang	: Coklat
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning muda
Warna polong tua	: Coklat
Warna hilum biji	: Coklat
Bentuk daun	: Lanceolate
Percabangan	: -
Umur Berbunga	: 30 – 32hari
Umur polong masak	: ±76 hari
Tinggi tanaman	: 50 – 60 cm
Bobot 100 biji	: ± 18 gram/ 100 biji
Rata-rata hasil	: 2,77 ton ha ⁻¹
Potensi hasil	: 3,40 ton ha ⁻¹
Kandungan protein	: 43,9 %
Kandungan lemak	: 18,4 %
Daerah sebaran	: Beradaptasi baik pada beberapa kondisi lingkungan tumbuh yang berbeda cukup besar, pada musim hujan dan daerah beririgasi baik.
Sifat-sifat lain	: Polong masak tidak mudah pecah dan pada saat panen daun luruh 95-100%
Pemulia	: Suhartina., dan M. Muchlish Adie
Peneliti	: T. Adisarwanto, Sumarsono, Sunardi, Tjandramukti, Ali Muchtar, Sihono, SB. Purwanto, Siti Khawariyah, Murbantoro, Alrodi, Tino Vihara, Farid Mufhti, dan Suharno

Lampiran 3. Dokumentasi Tetua persilangan

Gambar 22. Tetua persilangan saat fase vegetatif



Gambar 23. Tetua persilangan saat panen

Lampiran 4. Suhu dan Kelembaban saat Persilangan

Tabel 15. Suhu dan kelembaban kota Bogor saat persilangan

Kondisi cuaca	Waktu	Tanggal				
		29/01/2018	30/01/2018	31/01/18	1/02/2018	2/02/2018
Suhu	09.00	24°C	26°C	25 °C	25 °C	27 °C
	12.00	25°C	28 °C	25 °C	27 °C	28 °C
	15.00	24°C	26 °C	25 °C	25 °C	27 °C
Kelembaban	09.00	65%	72%	74%	73%	66%
	12.00	78%	62%	74%	70%	63%
	15.00	84%	69%	79%	78%	71%
Hujan	09.00	0,3 mm	0,1 mm	0,1 mm	0,1 mm	0,3 mm
	12.00	1,0 mm	0,4 mm	0,5 mm	1,3 mm	1,5 mm
	15.00	1,7 mm	1,8 mm	4,9 mm	4,8 mm	5,5 mm

Sumber: www.worldweatheronline.com



Lampiran 5. Analisis Ragam

Tabel 16. Analisis ragam umur masak polong

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel		Ket
					5%	1%	
Kelompok	2	0,60	0,30	1,49	3,44	5,78	tn
Tetua persilangan	11	1069,58	97,23	485,86	2,26	3,18	**
Galat	22	4,40	0,20				
Total	35	1074,58	30,70				

Tabel 17. Analisis ragam keberhasilan persilangan

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel		Ket
					5%	1%	
Kelompok	2	73,61	46,80	2,24	3,44	5,78	tn
Tetua persilangan	11	964,09	87,64	5,34	2,26	3,18	**
Galat	22	360,64	16,39				
Total	35	1398,35	39,95				

Tabel 18. Analisis ragam keberhasilan pembentukan polong

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel		Ket
					5%	1%	
Kelompok	2	215,79	107,89	2,23	3,44	5,78	tn
Tetua persilangan	11	2816,11	256,01	5,29	2,26	3,18	**
Galat	22	1065,00	48,41				
Total	35	4096,89	117,05				

Tabel 19. Analisis ragam lebar polong

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel		Ket
					5%	1%	
Kelompok	2	0,005	0,030	1,12	3,44	5,78	tn
Tetua persilangan	11	0,250	0,020	9,11	2,26	3,18	**
Galat	22	0,060	0,002				
Total	35	0,310	0,010				

Tabel 20. Analisis ragam panjang polong

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel		Ket
					5%	1%	
Kelompok	2	0,25	0,12	2,36	3,44	5,78	tn
Tetua persilangan	11	6,92	0,63	12,10	2,26	3,18	**
Galat	22	1,14	0,05				
Total	35	8,30	0,24				

Tabel 21. Analisis ragam tebal polong

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel		Ket
					5%	1%	
Kelompok	2	0,01	0,010	1,50	3,44	5,78	tn
Tetua persilangan	11	0,27	0,020	6,07	2,26	3,18	**
Galat	22	0,09	0,004				
Total	35	0,37	0,010				



Lampiran 6. Analisis Uji t

Tabel 22. Analisis uji t panjang polong

	♀ Anjasmoro		♀ Anjasmoro		♀ Grobogan		♀ Grobogan	
	Perlakuan A	Perlakuan I	Perlakuan B	Perlakuan I	Perlakuan C	Perlakuan J	Perlakuan D	Perlakuan J
Rata-rata	3,42	3,89	3,2	3,9	3,83	4,75	4,13	4,75
Varian	0,20	0,24	0,45	0,24	0,83	0,302	0,34	0,30
Jumlah data	10	16	9	16	9	13	7	13
T hitung	-2,49		-2,98		-2,96		-2,34	
T tabel	2,06		2,07		2,08		2,10	
Keterangan	*		*		*		*	

Tabel 23. Analisis uji t lebar polong

	♀ Anjasmoro		♀ Anjasmoro		♀ Grobogan		♀ Grobogan	
	Perlakuan A	Perlakuan I	Perlakuan B	Perlakuan I	Perlakuan C	Perlakuan J	Perlakuan D	Perlakuan J
Rata-rata	0,987	1,10	0,920	1,10	0,961	1,071	1,010	1,071
Varian	0,006	0,006	0,003	0,006	0,003	0,008	0,001	0,008
Jumlah data	10	16	10	16	9	13	7	13
T hitung	-3,740		-6,560		-3,062		-2,089	
T tabel	2,063		2,063		2,086		2,109	
Keterangan	*		*		*		tn	

Tabel 24. Analisis uji t tebal polong

	♀ Anjasmoro		♀ Anjasmoro		♀ Grobogan		♀ Grobogan	
	Perlakuan A	Perlakuan I	Perlakuan B	Perlakuan I	Perlakuan C	Perlakuan J	Perlakuan D	Perlakuan J
Rata-rata	0,53	0,56	0,409	0,560	0,48	0,57	0,511	0,571
Varian	0,008	0,015	0,019	0,014	0,003	0,008	0,002	0,020
Jumlah data	10	16	10	16	9	13	7	13
T hitung	-0,67		-2,905		-2,02		-1,06	
T tabel	2,06		2,063		2,10		2,10	
Keterangan	*		*		tn		tn	

Tabel 27. Analisis uji t panjang biji

	♀ Anjasmoro		♀ Anjasmoro		♀ Grobogan		♀ Grobogan	
	Perlakuan A	Perlakuan I	Perlakuan B	Perlakuan I	Perlakuan C	Perlakuan J	Perlakuan D	Perlakuan J
Rata-rata	0,81	0,97	0,755	0,974	0,775	0,826	0,828	0,798
Varian	0,006	0,013	0,002	0,013	0,002	0,006	0,002	0,029
Jumlah data	15	33	10	33	12	28	9	29
T hitung	-5,60		-8,351		-2,338		0,842	
T tabel	2,02		2,032		2,036		2,028	
Keterangan	*		*		*		tn	

Tabel 26. Analisis uji t lebar biji

	♀ Anjasmoro		♀ Anjasmoro		♀ Grobogan		♀ Grobogan	
	Perlakuan A	Perlakuan I	Perlakuan B	Perlakuan I	Perlakuan C	Perlakuan J	Perlakuan D	Perlakuan J
Rata-rata	0,634	0,726	0,614	0,726	0,647	0,665	0,664	0,665
Varian	0,008	0,001	0,004	0,001	0,004	0,003	0,001	0,003
Jumlah data	15	33	10	33	12	28	9	28
T hitung	-3,71		-4,832		-0,873		-0,043	
T tabel	2,10		2,200		2,024		2,030	
Keterangan	*		*		*		tn	

Tabel 27. Analisis uji t tebal biji

	♀ Anjasmoro		♀ Anjasmoro		♀ Grobogan		♀ Grobogan	
	Perlakuan A	Perlakuan I	Perlakuan B	Perlakuan I	Perlakuan C	Perlakuan J	Perlakuan D	Perlakuan J
Rata-rata	0,463	0,546	0,429	0,546	0,455	0,535	0,473	0,535
Varian	0,004	0,002	0,006	0,002	0,001	0,007	0,001	0,007
Jumlah data	15	33	10	33	12	28	9	28
T hitung	-4,77		-4,431		-4,18		-3,14	
T tabel	2,01		2,200		2,02		2,03	
Keterangan	*		*		*		tn	

