



**MUTASI GEN PADA BIJI KEDELAI MENGGUNAKAN ETHYL
METHANE SULFONATE (EMS) UNTUK MENDAPATKAN
MUTAN KEDELAI YANG MEMPUYAI KANDUNGAN ASAM
FITAT RENDAH ATAU TINGGI**

*Soybean Gene Mutation Used Ethyl Methane Sulfonate (EMS) in order to
Produce Soybean Mutant Which Contain Both Low and High Phytat Acid*

TESIS

Oleh

**Nova Verawati
NIM 081520101005**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM MAGISTER
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**MUTASI GEN PADA BIJI KEDELAI MENGGUNAKAN ETHYL
METHANE SULFONATE (EMS) UNTUK MENDAPATKAN
MUTAN KEDELAI YANG MEMPUYAI KANDUNGAN ASAM
FITAT RENDAH ATAU TINGGI**

*Soybean Gene Mutation Used Ethyl Methane Sulfonate (EMS) in order to
Produce Soybean Mutant Which Contain Both Low and High Phytat Acid*

TESIS

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Studi Agronomi (S2) dan mencapai gelar Magister Pertanian

Oleh

**Nova Verawati
NIM 081520101005**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM MAGISTER
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Tesis ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda H Sahnawi dan Ibu tercinta Hj. Tampini yang telah mencurahkan kesabaran, ketabahan, memberikan dukungan, do'a dan kasih sayangnya kepada penulis.
2. Kakak- kakaku tersayang Mas Awang, Mas Gun, Mbak Eng, dan Mas Ing atas dorongan semangat dan do'anya.
3. Suami tercinta Mas Dani yang telah mencurahkan kesabaran, ketabahan, dan do'a serta dukungan semangat kepada penulis.
4. Bapak dan Ibu Mertua H. Ridwan dan Ibu Hj. Sutarsih yang telah memberikan dukungan do'a dan kasih sayangnya kepada penulis.
5. Hj. Nurhayati, Drs. Subur Bahri MS, Mbak Yuli, Mas Wisnu, Mbak Yanti Bogor, Mas Among Solo, atas do'a-do'anya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
6. Keponakan dan Sepupuku Hanif, Amel, Caca, Ilham, Deva, Danang, Nia, Ari, Arfasyah, dan Nailah.
7. Keluarga Bapak H Mujayyin Jember Terima Kasih atas do'a dan dukungannya yang diberikan selama penulis tinggal di Jember.
8. Keluarga Bapak H Yakub Bangka IV no 37 Terima Kasih atas kepercayaan yang diberikan selama penulis tinggal di Jember.
9. Teman-teman seperjuangan Agro'08 : Mba Lucky Hartanti, SP, Pak Toto S. SP, MP, Pak Ir Mawardi.
10. Teman-teman kost Bangka IV no 37 : Mbak Rina, Ratih, Ningrum, Fida, Ruly, dan Faiza.
11. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman dan Fisiologi Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas jember : Vita, Riska, dadang, dan Yuda.
12. Almamater yang kebanggakan.

MOTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.
(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11)*)

Tiada suatu usaha yang besar akan berhasil tanpa dimulai dari usaha yang kecil. **)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafinda.

**) Joeniarto, 1967 dalam Mulyono, E. 1998. *Beberapa Permasalahan Implementasi Konvensi Keanekaragaman Hayati dalam Pengelolaan Taman Nasional Meru Betiri*. Tesis Magister, tidak dipublikasikan.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Nova Verawati, S.Pt

NIM : 081520101005

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul ” Mutasi Gen Biji Pada Kedelai Menggunakan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Untuk Mendapatkan Mutan Kedelai Yang Mempunyai Kandungan Asam Fitat Rendah dan Tinggi ” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Januari 2012

Yang menyatakan,

Nova Verawati S.Pt

NIM 081520101005

TESIS

MUTASI GEN PADA BIJI KEDELAI MENGGUNAKAN ETHYL METHANE SULFONATE (EMS) UNTUK MENDAPATKAN MUTAN KEDELAI YANG MEMPUYAI KANDUNGAN ASAM FITAT RENDAH ATAU TINGGI

Oleh

Nova Verawati

NIM 081520101005

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, M. Si

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S

PENGESAHAN

Tesis berjudul “ Mutasi Gen Pada Biji Kedelai Menggunakan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Untuk Mendapatkan Mutan Kedelai Yang Mempunyai Kandungan Asam Fitat Rendah Atau Tinggi” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Kamis, 19 Januari 2012

tempat : Ruang Ujian Tesis Pascasarjana. Universitas Jember

Tim Penguji :

Penguji I,

Dr. Ir. Miswar, M. Si

NIP 19641019 199002 1.002

Penguji II,

Penguji III,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S

NIP 19650426 199403 1.001

Dr. Ir. M. Setyo Poerwoko, M.S

NIP 19550704 198203 1.001

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, M.P

NIP. 19611110 198802 1.001

RINGKASAN

Mutasi Gen Pada Biji Kedelai Menggunakan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Untuk Mendapatkan Mutan Kedelai Yang Mempunyai Kandungan Asam Fitat Rendah atau Tinggi; Nova Verawati, 081520101005, 2012; 42 halaman; Program Studi Agronomi Program Magister Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Tanaman kedelai (*Glycine max* L.) selain mengandung protein tinggi, juga mengandung beberapa senyawa yang dapat menyebabkan nilai nutrisi kedelai menjadi rendah atau yang sering dikenal sebagai senyawa anti-nutrisi (Miswar, 2006). Senyawa anti nutrisi yang terdapat pada biji kedelai salah satunya adalah senyawa asam fitat. Asam fitat merupakan bentuk simpan unsur phosphor (P) dalam biji yang akan digunakan dalam perkecambahan (Hubel and Beck, 1996). Bagi manusia dan ternak non ruminansia, asam fitat merupakan senyawa antinutrisi karena dapat mengikat beberapa mineral esensial, protein dan karbohidrat. Mineral dan bahan organik yang terikat pada asam fitat tidak dapat diserap oleh usus manusia dan ternak non ruminansia sehingga terbuang bersama dengan feses (tinja). Hal ini karena dalam tubuh manusia dan ternak non ruminansia tidak mempunyai enzim fitase yang dapat menghidrolisis asam fitat, sehingga dapat mengakibatkan defisiensi mineral. Selain mempunyai efek negatif, asam fitat dapat juga digunakan untuk tujuan khusus dibidang kesehatan sebagai senyawa penghambat α -amilase (inhibitor of α -amilase) sehingga dapat mengurangi konsentrasi glukosa dalam darah, ini sangat baik bagi penderita kencing manis.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui mutasi buatan dengan menggunakan EMS dapat mempengaruhi keberadaan asam fitat, kandungan phosphat anorganik, kandungan sukrosa, gula reduksi, dan amilum dalam biji kedelai. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi untuk mendapatkan varietas kedelai baru dengan kandungan nutrisi sesuai kebutuhan.

Dalam penelitian ini digunakan kedelai varietas wilis yang diperoleh dari Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang. Benih Kedelai dimutasi dengan menggunakan bahan kimia EMS dengan konsentrasi 20 (Ethyl Methane Sulfonate) mM. Penelitian ini telah dilaksanakan mulai bulan April 2010 hingga bulan Desember 2010 di Laboratorium Pemuliaan Tanaman dan Fisiologi Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Pengukuran Kandungan Asam Fitat menggunakan metode Haugh and Lantzsch dalam wilcox *et al.*, (2000),

Penentuan Kandungan Ion Fosfat menggunakan metode Raboy 2000, Penentuan Protein dalam biji menggunakan metode Mikola 2001, Pengukuran kandungan gula reduksi & amilum menggunakan metode DNS, pengukuran sukrosa menggunakan reagent resorsinol dan uji pola protein dengan elektroforesis

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan asam fitat tertinggi terjadi pada mutan no M49 sebesar 35%, sedangkan peningkatan asam fitat tertinggi terjadi pada mutan no M7 dan M67 sebesar 11,7% dan 8,2%. Berdasarkan hal tersebut maka, mutan M67 mempunyai kesempatan khususnya dibidang kesehatan untuk dikembangkan sebagai bahan pangan bagi penderita diabetes (orang tua), sedangkan mutan M49 mempunyai kesempatan bisa dikembangkan sebagai bahan pangan untuk balita.

Dalam penelitian ini kandungan gula reduksi tertinggi terdapat pada mutan no M7, kandungan sukrosa tertinggi terdapat pada mutan M10, sedangkan kandungan amilum tertinggi terdapat pada mutan M17. Hal ini menunjukkan bahwa mutasi yang terjadi dapat memicu peningkatan proses fotosintesis, sehingga jumlah gula reduksi, sukrosa, dan amilum meningkat.

Kesimpulan dari penelitian ini bahwa mutasi buatan dengan menggunakan EMS dapat mempengaruhi konsentrasi asam fitat dalam biji kedelai. Kandungan asam fitat biji tertinggi pada mutan M7 dan M67, sedangkan terendah pada mutan M49. Berdasarkan hal ini, mutan M67 mempunyai kesempatan khususnya dibidang kesehatan untuk dikembangkan sebagai bahan pangan bagi penderita diabetes (orang tua), sedangkan mutan M49 bisa dikembangkan sebagai bahan pangan untuk balita. Mutasi buatan dengan menggunakan EMS dapat mempengaruhi kandungan sukrosa, gula reduksi, dan amilum biji kedelai serta perubahan kandungan protein dan pola pita protein pada biji kedelai.

SUMMARY

Soybean Gene Mutation Used Ethyl Methane Sulfonate (EMS) in order to Produce Soybean Mutant Which Contain Both Low and High Phytat Acid. Nova Verawati, 081520101005, 2012; 42 pages; Program Studi Agronomi Program Magister Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Soybean (*Glycine max* L.) contains high protein but have several chemical which can reduce nutrition of soybean it called anti-nutrisi (Miswar, 2006). The compound of anti-nutrisi it called phytat acid.

Phytat acid is form of phosphorus element chemical in seed in order to germination (Hubel and Beck, 1996). Phytat acid is anti-nutrisi chemical because it can bundle mineral, protein, and carbohydrate so the organic matter and mineral leave by feces. Human or monogastric don't have phytase in orde to hydrolisis phytat acid. Phytat acid may have the opportunity in health sector to be developed as inhibitor of α -amilase so it can increase glukose concentration in blood ingredient for diabetic patients.

Mutagenesis of soybean (*Glycine max* L) seed by Ethyl Methane Sulfonate (EMS) have been applied in order to know contain both low and high phytat acid, to know contain anorganic phosphate, to know contain sucrose, to know contain glukose, and to know contain amilum in seed of soybean. The result is have hoped can give contribution to produce soybean mutant which contain both low and high phytat acid.

The research used soybean variety wilis, it get from Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang. The soybean seeds were treatment with 20 mM of Ethyl Methane Sulfonate (EMS). The research have been hold from April – December 2010 in Pemuliaan Tanaman and Fisiologi Tumbuhan laboratory, agriculture faculty of jember university.

Measuring to know contain both low and high phytat acid use Haugh and Lantzsck dalam wilcox *et al* (2000) metode, measuring to know contain phosphate anorganic use Raboy 2000 metode, measuring to know contain protein in seed used Mikola 2001 metode, measuring to know contain amilum and glukose used DNS metode, measuring to know contain sucrose used reagent resorsinol, and protein pattern experiment used elektroforesis.

Mutagenesis of soybean (*Glycine max*) seed by Ethyl Methane Sulfonate (EMS) have been applied in order to produce soybean mutant which contain both low

and high phytat acid. The result shown that the declining amount of phytat acid happened to M49 at 35 %, beside that the increasing amount of phytat acid happened to M7 and M67 at 11,7% and 8,2%. Based on that mutant M67 may have the opportunity in health sector to be developed as food ingredient for diabetic patients, besides that mutan M49 have the opportunity in health sector to be developed as food ingredient for children under five. The result shown that the increase amount of glucose to M7, the increase amount of sucrose to M10, the increase amount of amilum to M17. The result shown that the mutation can boost photosynthetic process, so increase amount of glucose, sucrose, and amilum. Several mutans of soybean shown the change of protein pattern as first indication of mutagenesis on soybean seeds.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Mutasi Gen Pada Biji Kedelai Menggunakan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Untuk Mendapatkan Mutan Kedelai Yang Mempunyai Kandungan Asam Fitat Rendah atau Tinggi”. Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata dua (S2) pada Jurusan Budidaya Pertanian, Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan tesis ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Menteri Pendidikan Nasional yang telah memberikan dukungan pembiayaan melalui program Beasiswa Program Pasca Sarajana (BPPS) DIKTI hingga penyelesaian tugas akhir Tesis.
2. Dr. Ir. Miswar, M. Si, selaku Dosen Pembimbing Utama, Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan tesis ini;
3. Kedua orang tua, saudara-saudaraku, suamiku, keluarga suami serta seluruh anggota keluarga besar Sahnawi yang selalu memberikan dukungan tanpa lelah baik spiritual atau pun material demi terselesaikannya tesis ini.
4. Teman-teman Pascasarjana Agronomi angkatan 2008 yang telah memberikan dukungan dan motivasinya serta membantu dalam penyelesaian penelitian tesis ini.
5. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut serta dalam penyelesaian penelitian tesis ini.

Karya Ilmiah Tertulis (Tesis) ini masih sangat jauh dari sempurna, oleh karena itu segala bentuk kritik dan saran untuk perbaikan karya ilmiah ini sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap, semoga tesis ini dapat bermanfaat.

Jember, Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kandungan Nutrisi Biji Kedelai	4
2.2 Asam Fitat Biji Kedelai	6
2.3 Mutasi Gen Kedelai	8
2.4 Ethyl Methane Sulfonate (EMS)	9
BAB 3. METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.1 Bahan dan Alat	11
3.2 Objek Penelitian	11
3.3 Proses Mutagenesis	11
3.4 Ekstraksi dan Pengukuran Kandungan Asam Fitat Biji.....	11
3.5 Ekstraksi dan Pengukuran Kandungan Ion Fosfat Bebas.....	12
3.6 Kandungan Protein Terlarut Biji	12
3.7 Pengukuran kandungan Karbohidrat (gula reduksi dan sukrosa) Biji Kedelai	13
3.7.1 Ekstraksi dan Pengukuran Kandungan Gula Reduksi	13
3.7.2 Ekstraksi dan Pengukuran Kandungan Amilum	13
3.7.3 Ekstraksi dan Pengukuran Kandungan Sukrosa	14
3.8 Uji pola Protein dengan Elektroforesis	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kandungan Asam Fitat	16
4.2 Penentuan Kandungan Ion Fosfat Bebas	16
4.3 Kandungan Protein Terlarut Biji	17
4.4 Pengukuran Kandungan Karbohidrat (gula reduksi, sukrosa dan amilum) Biji Kedelai.	18
4.4.1 Kandungan Gula Reduksi	19
4.4.2 Kandungan Sukrosa	19
4.4.3 Kandungan Amilum	20
4.5 Uji Pola Protein dengan Elektroforesis	20

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Macam dan konsentrasi mineral makro dan mikro dalam biji kedelai	4
2.2 Sifat fisika ethyl methane sulfonate (EMS)	10
3.1 Komposisi gel elektroforesis untuk uji pola protein sampel biji kedelai	15

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambar struktur asam fitat yang mengikat mineral, protein dan pati	7
2.2 Gambar Rumus Molekul Ethyl methane sulfonate (EMS)	9
4.1 Kandungan asam fitat biji kedelai mutan dan kontrol	16
4.2 Kandungan P anorganik biji kedelai normal dan kedelai mutan.	17
4.3 Kandungan protein terlarut biji kedelai normal dan kedelai mutan	18
4.4 Kandungan gula reduksi biji kedelai normal dan kedelai mutan.....	19
4.5 Kandungan sukrosa biji kedelai normal dan kedelai mutan.....	19
4.6 Kandungan amilum biji kedelai normal dan kedelai mutan.....	20
4.7 Hasil pengukuran kandungan protein terlarut dari biji kedelai dengan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE.....	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Kurva Standar Asam Fitat	30
B. Data Kurva Standard P anorganik	33
C. Data Kurva Standart Protein	35
D. Data Kurva Standard Gula Reduksi	37
E. Data Kurva Standard Sukrosa	39
F. Data Kurva Standard Amilum	41

AUTOBIOGRAFI

NOVA VERAWATI

Lahir di Banyuwangi, 16 November 1979, Menempuh Pendidikan Sekolah Dasar dan Sekolah Menengah Pertama di Banyuwangi lulus tahun 1992 dan 1995. Tahun 1998 lulus SMUN Giri Banyuwangi kemudian tahun 1999 menempuh Sarjana Peternakan di IPB Bogor, lulus tahun 2003.

Sejak tahun 2004 bekerja sebagai Dosen luar biasa (DLB) di UNTAG 1945 Banyuwangi. Setelah bekerja selama empat tahun kemudian tahun 2008 mendapat kesempatan melanjutkan studi S2 di Fakultas Pertanian Jurusan Agronomi Universitas Jember (UNEJ) melalui program Beasiswa Program Pascasarjana (BPPS) DIKTI , lulus tahun 2012.