



**INDUKSI MUTASI BENIH KACANG TANAH (*Arachis hypogaea*)  
VARIETAS TAKAR 2 DENGAN MENGGUNAKAN  
MUTAGEN *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS)**

**TESIS**

**oleh  
Dwi Erwin Kusbianto, SP  
141520101006**

**PROGRAM STUDI MAGISTER AGRONOMI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**INDUKSI MUTASI BENIH KACANG TANAH (*Arachis hypogaea*)  
VARIETAS TAKAR 2 DENGAN MENGGUNAKAN  
MUTAGEN *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS)**

**TESIS**

diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan  
untuk menyelesaikan Program Magister (S2)  
pada Program Studi Magister Agronomi  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

**oleh**

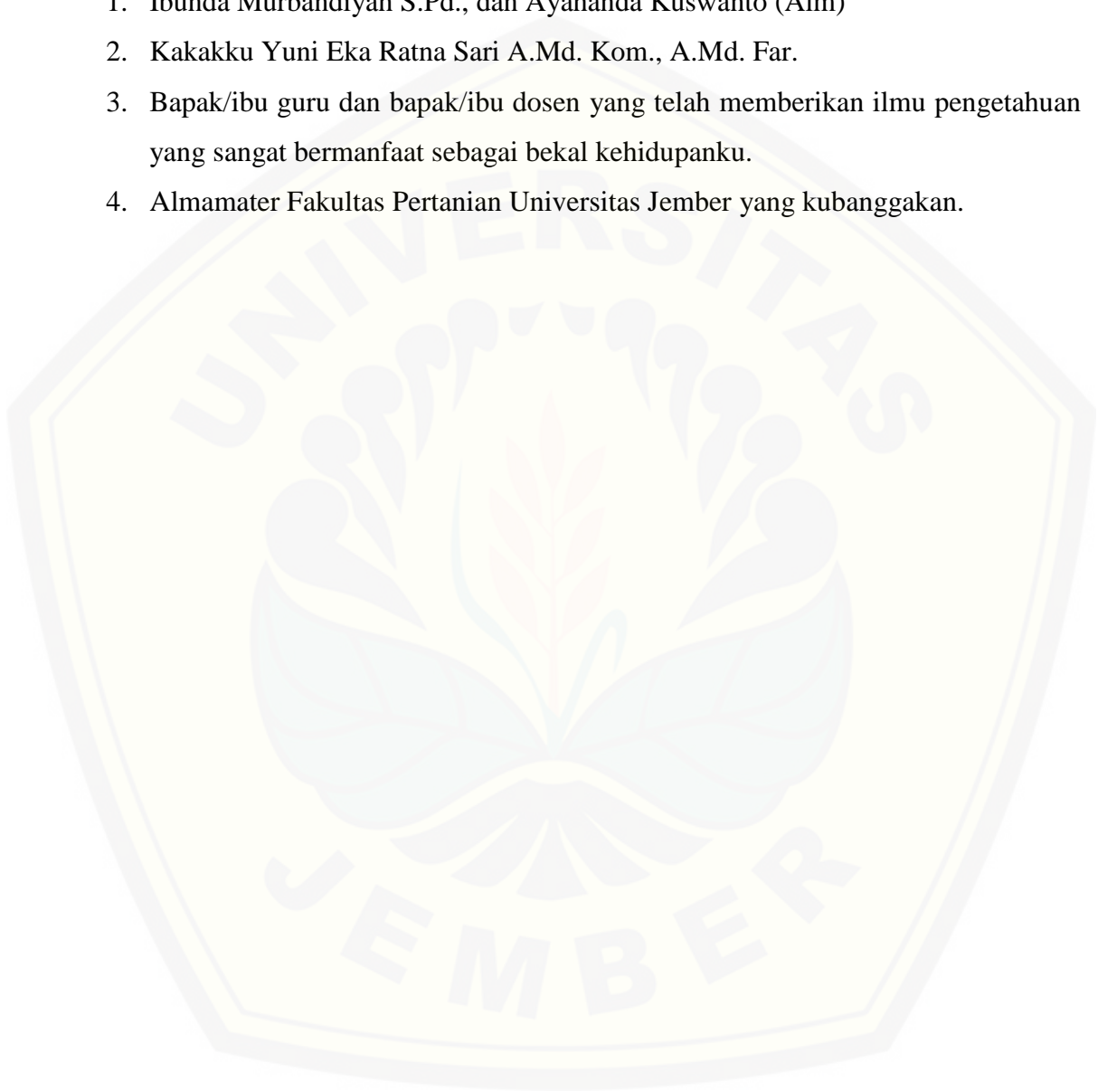
**Dwi Erwin Kusbianto, SP  
141520101006**

**PROGRAM STUDI MAGISTER AGRONOMI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

## PERSEMBAHAN

Kupersembahkan tesis ini untuk :

1. Ibunda Murbandiyah S.Pd., dan Ayahanda Kuswanto (Alm)
2. Kakakku Yuni Eka Ratna Sari A.Md. Kom., A.Md. Far.
3. Bapak/ibu guru dan bapak/ibu dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat sebagai bekal kehidupanku.
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember yang kubanggakan.



**MOTO**

“Stay Hungry, Stay Foolish”  
(Steve Jobs)

“If you can't make it good, at least make it look good”  
(Bill Gates)



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Erwin Kusbianto, SP

NIM : 141520101006

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Induksi Mutasi Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) Varietas Takar 2 Dengan Menggunakan Mutagen *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS)”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2016

Yang Menyatakan,

Dwi Erwin Kusbianto, SP

NIM. 141520101006

**TESIS**

**INDUKSI MUTASI BENIH KACANG TANAH (*Arachis hypogaea*) VARIETAS TAKAR 2 DENGAN MENGGUNAKAN MUTAGEN *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS)**

oleh

**Dwi Erwin Kusbiano, SP**

**NIM. 141520101006**

**Pembimbing:**

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, M.Si  
NIP. 196410919900212002**

**Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, MP  
NIP. 196004091988022001**

## PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “**Induksi Mutasi Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) Varietas Takar 2 Dengan Menggunakan Mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)**” telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 16 Juni 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Miswar, M.Si  
NIP. 19641091990021002

Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, MP  
NIP. 196004091988022001

Penguji Utama,

Penguji Anggota,

Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D  
NIP. 196408141995121001

Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D  
NIP. 196005061987021001

Mengesahkan,  
Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, MT.  
NIP. 195901021988031002



## RINGKASAN

**Induksi Mutasi Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) Varietas Takar 2 dengan Menggunakan Mutagen *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS); Dwi Erwin Kusbianto, 141520101006; 2016: 64 halaman; Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.**

Kebutuhan kacang tanah di Indonesia terus meningkat dengan rata-rata peningkatan 2,8% per tahun, sebaliknya terjadi penurunan produksi kacang tanah nasional dari tahun ke tahun. Kacang tanah identik dengan kandungan lemaknya yang tinggi, bahkan beberapa jenis lemak jenuh terdeteksi dalam produk kacang tanah yang bila dikonsumsi berlebih dapat menyebabkan beberapa penyakit populer di Indonesia. Perlu adanya diversifikasi produk kacang tanah dengan cara pembentukan varietas baru sebagai solusi. Induksi mutasi menggunakan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) merupakan alternatif untuk menghasilkan mutan sebagai plasma nutfah maupun varietas mutan unggul baru.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan mutan dengan morfologi dan fisiologi tanaman yang berbeda dengan tanaman kontrol dan memiliki potensi hasil lebih baik dari varietas Takar 2, serta mendapatkan mutan tanaman kacang tanah dengan kandungan lemak jenuh rendah dan lemak tak jenuh tinggi. Percobaan dilakukan di Greenhouse Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor terdiri dari 6 taraf konsentrasi EMS (0%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5%) diulang sebanyak 5 kali. Hasil pengamatan dianalisis menggunakan Anova dengan taraf kepercayaan 95% dan diuji lanjut menggunakan uji Dunnet.

Hasil percobaan menghasilkan mutan pada konsentrasi EMS 0,1% dan 0,4% sebagai mutan dengan volume akar terbaik serta mutan EMS 0,2% dan 0,3% dengan indeks fotosintesis lebih baik. Beberapa konsentrasi EMS yang diaplikasikan masih belum mampu menghasilkan mutan dengan produksi lebih tinggi. Induksi mutasi menggunakan mutagen EMS cenderung meningkatkan kandungan asam lemak jenuh dan menurunkan kandungan asam lemak tak jenuh minyak biji kacang tanah dibandingkan dengan tanaman kontrol (tanpa mutasi).



**SUMMARY**

**Mutation Induction of Groundnut Seed (*Arachis hypogaea*) Takar 2 Varieties With Ethyl Methane Sulfonate (EMS); Dwi Erwin Kusbianto;141520101006; 2015; page viii; Agronomy Master Study Program, Faculty of Agriculture, Jember University.**

Increasing requirements national peanut reached 2.8% per year, with the needs of 2015 amounted to 900 thousand tons. Instead there is a decrease national peanut production the past half decade. Peanuts are identical with high fat content, and even some types of saturated fat was detected in peanut products which when consumed excess causes several diseases popular in Indonesia. The need for diversification of peanut products in a way the formation of new varieties as the solution. Mutation induction using EMS (Ethyl Methane Sulphonate) is an alternative for generating mutant as the germplasm well as new high yielding mutant varieties.

The purpose of this research are to obtain mutants with the different of morphology and physiology than control and have better yield potential of Takar 2 varieties, as well as getting a mutant peanut with a low saturated fat and higher unsaturated fat. The experiment was conducted in Greenhouse of Agronomy, Jember University at December 2015. Experiments using completely randomized design with one factor that consists of 6 EMS concentration treatment level (0%; 0.1%; 0.2%; 0.3%; 0.4%; 0.5%) with five replicates. Results were analyzed using ANOVA and advance test using the Dunnet test.

The results of the research generates a concentration at 0.1% and 0.4% EMS as a mutant with the best root volume, while mutants of 0.2% and 0.3% EMS with a better photosynthesis indexes. Some concentration of EMS treatment are still not able to generate mutants with the higher production. Mutation induction using mutagen EMS inclined to increase the content of saturated fatty acids and decrease the content of unsaturated fatty acid when compared to control plants (without the mutation).

## PRAKATA

Puji syukur atas karunia serta rahmat dan hidayah Allah SWT sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul **“Induksi Mutasi Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) Varietas Takar 2 Dengan Menggunakan Mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)”** guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan magister pada Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penulis juga menyadari bahwa penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, koreksi, dorongan, semangat, dan doa dari semua pihak. Untuk itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas terselesaikannya tulisan ini, terutama:

1. Dr. Ir. Jani Januar, MT., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MP., selaku Ketua Program Studi Magister Agronomi.
3. Ir. R. Soedradjat, MT., selaku Ketua Jurusan Agronomi.
4. Dr.Ir. Miswar, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Ir Denna Eriani Munandar, MP selaku Dosen Pembimbing Anggota yang dengan penuh kesabaran memberikan arahan, nasehat dan bimbingan sampai terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini.
5. dan Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D selaku Dosen Penguji I dan Ir. Kacung Hariyono MS., Ph.D selaku Penguji II yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
6. Seluruh Dosen Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan bimbingan kepada penulis.
7. Kedua orang tua, ibunda Murbandiyah S.Pd dan ayah tercinta yang selalu melimpahkan doa, kasih sayang, semangat dan motivasi sepanjang perjalanan hidupku sampai sekarang.
8. Keluarga besar Munaji dan Mohammad Tajwid yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat dan motivasi sepanjang perjalanan hidupku sampai sekarang.

9. Sahabat-sahabatku Bimantara S. Oetama, S.Kom., Laura Y. Sitompul, SP., Ayu Puspita SP. MP., Rayi Respati SP., Kak Erinus Mosip SP., dan Ellok Nilasari, SP. yang telah banyak berperan dalam serangkaian penelitian ini.
10. Teman seperjuangan S2 angkatan 2014 Cacuk Purnomo, Rahmawati, Risky Mulana Anur, Distiana Wulanjari dan M. Khozin yang selalu membantu dalam suka dan duka serta dukungan, semangat, serta canda tawa yang telah kalian berikan selama ini kepada penulis.
11. Teman-teman ASPG, UKMO Basket, dan MAPENSA serta saudara-saudaraku di OPA AKAR terimakasih untuk pengalaman organisasi, kekompakan, bantuan, dan kebersamaan yang terus terjaga.
12. Semua pihak yang telah membantu terselesainya karya ilmiah tertulis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu - persatu.

Penulisan tesis ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu penulis sangat mengharapkan berbagai kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis mohon maaf apabila dalam penulisan tesis ini terdapat kesalahan dalam penulisan tempat, nama, ataupun ejaan. Penulis berharap karya ilmiah tertulis ini semoga dapat memberikan manfaat bagi semua pihak dan dapat bermanfaat sebagai salah satu bahan referensi untuk penulisan skripsi dengan topik yang sama.

Jember, 27 Juni 2016

Penulis,

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	x
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Manfaat .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Tanaman Kacang Tanah .....	6
2.2 Biosintesis Lemak Pada Tanaman .....	8
2.3 Asam Lemak .....	9
2.4 Asam Lemak Pada Kacang Tanah .....	12
2.5 Mutasi Tanaman.....	14
2.6 Induksi Mutasi Secara Kimia.....	15
2.7 Ethyl Methane Sulfonate (EMS).....	16
2.8 Mutasi Pada Kacang Tanah .....	18
2.9 Heritabilitas.....	15
2.10 Pengaruh Mutasi Pada Kandungan Asam Lemak Kacang Tanah .....	20
2.11 Hipotesis .....	22
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	23
3.1 Tempat dan Waktu Percobaan .....	23
3.2 Bahan dan Alat Percobaan .....	24
3.3 Rancangan Percobaan .....	24
3.4 Pelaksanaan Percobaan .....	21
3.4.1 Perlakuan Perendaman .....	21

3.4.2 Penanaman Kacang Tanah .....	25
3.4.2 Tahap Analisis Hasil .....	26
3.4.3.1 Pertumbuhan tTanaman .....	26
3.4.3.2 Fisiologi Tanaman .....	28
3.4.3.3 Analisis Hasil Tanaman .....	28
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
4.1 Hasil Umum .....	30
4.1.1 Pengaruh Konsentrasi EMS Terhadap Daya Kecambah Kacang Tanah .....	31
4.1.2 Pengaruh Beberapa Konsentrasi EMS Terhadap Pertumbuhan Kacang Tanah .....	33
4.1.2.1 Tinggi Tanaman .....	34
4.1.2.2 Jumlah Cabang .....	35
4.1.2.3 Jumlah Daun .....	35
4.1.2.4 Volume Akar .....	36
4.1.2.5 Diameter Batang .....	37
4.1.2.6 Berat Brangkas Tanaman .....	38
4.1.2.7 Warna Daun .....	39
4.1.3 Pengaruh Beberapa Konsentrasi EMS Terhadap Fisiologi Tanaman Kacang Tanah .....	40
4.1.3.1 Kandungan Klorofil .....	40
4.1.3.2 Indeks Fotosintesis .....	41
4.1.4 Pengaruh Beberapa Konsentrasi EMS Terhadap Produksi Tanaman Kacang Tanah .....	42
4.1.4.1 Waktu Awal Berbunga .....	43
4.1.4.2 Jumlah Bunga .....	43
4.1.4.3 Jumlah Ginofor dan Polong .....	44
4.1.4.4 Produksi Kacang Tanah .....	45
4.1.5 Pengaruh Beberapa Konsentrasi EMS Terhadap Kualitas Hasil Kacang Tanah .....	47
4.1.5.1 Kandungan Air Biji .....	48
4.1.5.2 Kandungan Lemak Total .....	48
4.1.4.3 Kandungan Asam Lemak Biji .....	49
4.1.4.4 Produksi Kacang Tanah .....	45
4.2 Pembahasan .....	52
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>60</b>
5.1 Kesimpulan .....	60
5.2 Saran .....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>61</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.1	Grafik penurunan produksi kacang tanah nasional .....	1
2.1	Karakter tanaman kacang tanah varietas Takar 2 .....	7
2.2	A) <i>Saturated fatty acid</i> ; B) <i>Mono Unsaturated Fatty Acid</i> ; C) <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i> ; .....	11
2.3	Frekuensi genotipe pada masing-masing kandungan asam oleat (A) dan asam linoleat (B) .....	13
2.4	Profil asam lemak 4 varietas kacang tanah menggunakan Gas kromatografi Ket; a: Golden, b: Bari 2000, c: Mongphalla, d: Mongphalli 334. 1: 1: Palmitic (C-18:0), 2: Steric (C-18:0), 3: Oleic (C-18: 1), 4: Linoleic (C-18: 2), 5: Linolenic (C-18: 3), 6: $\gamma$ -Linoleic (C-18: 2), 7: Unidentified, 8: Elaidic (C-18: 2-trans) and 9: Unidentified.....	14
3.1	Perendaman benih kacang tanah dengan EMS sesuai konsentrasi perlakuan.....	25
3.2	Persiapan media tanam (a), pembibitan (b) dan perawatan di greenhouse (c).....	25
3.3	Range warna daun pada pengamatan menggunakan munsell plant color chart .....	27
	Pengamatan indeks fotosintesis (A) dan analisis klorofil (B) .....	28
4.1	Kondisi perkecambahan benih kacang tanah umur 3 hst setelah induksi mutasi dengan beberapa konsentrasi EMS.....	31
4.2	Tinggi bibit kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda ...	32
4.3	Daya kecambah benih kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda.....	32
4.4	Garis imajiner peningkatan tinggi tanaman kacang tanah tiap minggu pada beberapa konsentrasi EMS yang berbeda .....	33
4.5	Tinggi tanaman kacang tanah pada konsentrasi EMS yang	

berbeda.....	34
4.7 Kondisi batang, daun dan tinggi tanaman kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	35
4.8 Jumlah daun kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .	35
4.9 Volume akar kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .	36
4.10 Panjang akar tanaman kacang tanah pada beberapa konsentrasi EMS yang berbeda.....	37
4.11 Diameter batang tanaman kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	37
4.12 Berat segar berangkasan pada konsentrasi EMS yang berbeda ....	38
4.13 Berat kering berangkasan kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	38
4.14 Indeks warna daun kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda.....	39
4.15 Kandungan klorofil daun kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	41
4.16 Indeks fotosintesis daun kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	42
4.17 Waktu awal berbunga kacang tanah pada konsentrasi EMS yang Berbeda .....	43
4.18 Jumlah bunga rata-rata perminggu hingga 8 minggu pembungaan kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	44
4.19 Perbandingan antara jumlah bunga, jumlah ginofor dan jumlah polong yang terbentuk pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	44
4.20 Jumlah polong tanaman kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda.....	45
4.21 Berat biji pertanaman kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	46
4.22 Ukuran biji dari 10 biji kacang tanah pada beberapa konsentrasi EMS .....	46
4.23 Berat 10 biji kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda ..	47



4.24 Kadar air kacang tanah pada konsentrasi EMS yang berbeda .....	48
4.25 Kadar lemak biji kacang tanah pada konsentrasi EMS yang Berbeda .....	49
4.26 Kromatogram profil asam lemak biji kacang tanah pada beberapa konsentrasi EMS yang berbeda .....	51
4.27 Frekuensi distribusi kadar lemak total biji mutan yang terbentuk hasil mutasi dengan EMS .....	58

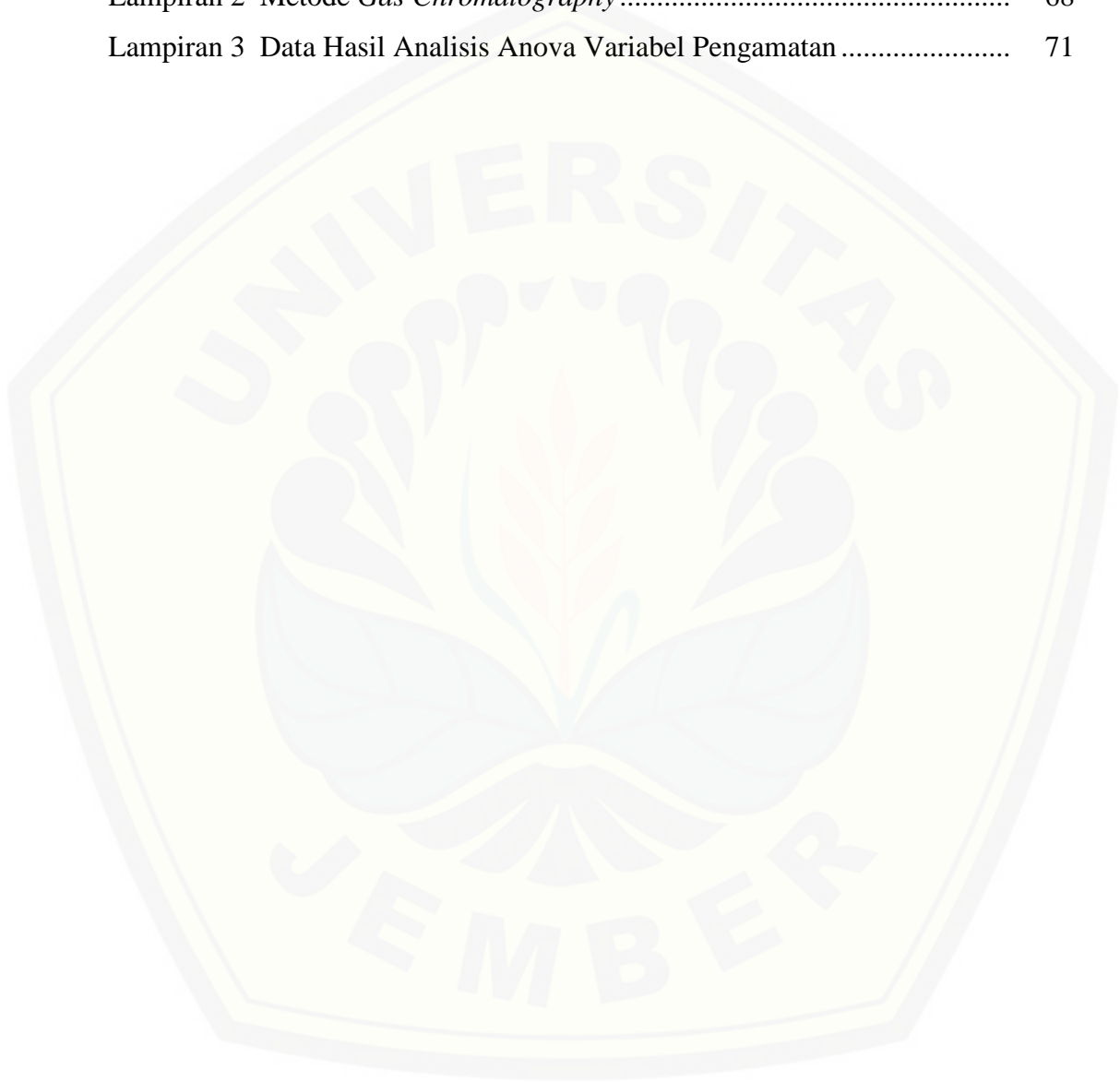


## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
2.1	Kandungan asam lemak pada beberapa varietas kacang tanah .....	9
2.2	Pengaruh asam-asam lemak pangan terhadap kadar kolesterol dalam serum darah .....	12
2.3	Kisaran rata-rata dan simpangan baku asam lemak 45 genotipe kacang tanah .....	13
2.4	Beberapa mutagen kimia dan pengaruhnya pada DNA tanaman .	15
2.5	Beberapa varietas kacang tanah hasil mutasi dengan EMS .....	17
2.6	Beberapa konsentrasi EMS sebagai mutagen benih kacang tanah	19
2.7	Pengaruh beberapa konsentrasi EMS sebagai mutagen benih kacang tanah Varietas VRI .....	19
2.8	Kandungan protein, lemak, dan asam lemak biji kacang tanah hasil mutasi .....	21
3.1	Deskripsi warna daun dari munsell color chart .....	27
4.1	Rangkuman hasil f-hitung dan notasi berbagai parameter penelitian.....	30
4.2	Kandungan asam lemak biji kacang tanah pada beberapa konsentrasi EMS yang berbeda.....	49
4.3	Variasi range dan rata-rata kadar lemak kacang tanah .....	57

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 Metode Soxhlet.....	66
Lampiran 2 Metode <i>Gas Chromatography</i> .....	68
Lampiran 3 Data Hasil Analisis Anova Variabel Pengamatan .....	71

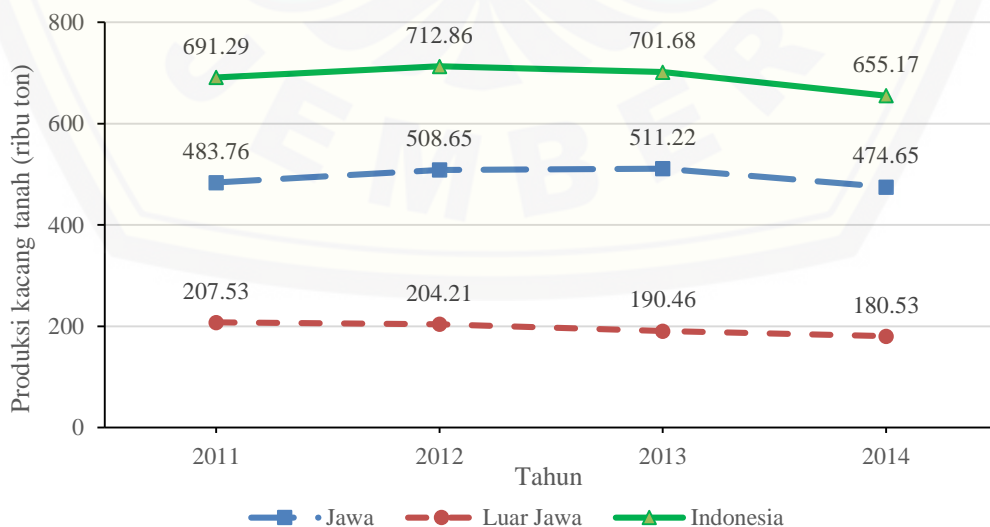


**BAB 1. PENDAHULUAN**

**1.1 Latar Belakang**

Kacang tanah merupakan tanaman kacang-kacangan yang sebagian besar produknya dimanfaatkan sebagai bahan olahan. Berbeda dengan produk pangan primer di Indonesia (padi, jagung dan kedelai), masyarakat lebih menggunakan kacang tanah sebagai makanan sekunder berupa makanan ringan dan produk tambahan dalam olah makanan. Kacang oven atau rebus, sambal kacang, selai kacang, ting-ting kacang serta beberapa kue dan topping berperisa kacang lainnya merupakan produk olahan menggunakan kacang tanah sebagai bahan pokoknya.

Industri rumahan maupun industri tingkat nasional membutuhkan pasokan perhari bahan pokok berupa kacang tanah mentah dengan jumlah yang tidak sedikit. Kebutuhan kacang tanah nasional mencapai rata-rata 900.000 ton/tahun (Litbang kab. Pati, 2012) dengan peningkatan rata-rata selama 5 tahun terakhir mencapai 2,8% atau 25,2 ton/tahun (Soim, 2015). Peningkatan kebutuhan kacang tanah tidak diikuti dengan peningkatan produksi melainkan terjadi penurunan pada beberapa tahun terakhir (Gambar 1.1). Penurunan produksi kacang tanah dikarenakan adanya penurunan luas panen sebesar 106 hektar (31,09 persen), sehingga perlu intensifikasi salah satunya dengan pembentukan varietas unggul produksi tinggi di Indonesia.



Gambar 1.1 Data penurunan produksi kacang tanah nasional (BPS, 2014)

Varietas kacang tanah yang sudah terdaftar di Indonesia hanya 26 varietas, hal ini jauh dibandingkan dengan padi (206 varietas) dan kedelai (61 varietas) (Puslittan, 2015). Varietas Takar 2 (dirilis tahun 2012) merupakan varietas kacang tanah terbaru dengan potensi produksi 4,3ton/ha. Varietas dengan produksi cukup tinggi tersebut berpotensi digunakan sebagai bahan pengembangan genetis tanaman kacang tanah. Potensi produksi tinggi sebisa mungkin juga diimbangi dengan kualitas produk yang baik.

Kacang tanah umumnya memiliki kandungan protein 25-30%, lemak 40-50%, karbohidrat 12% serta vitamin B1 (Eshun *et al.*, 2013). Lemak biji kacang tanah dibedakan menjadi dua macam, yaitu lemak jenuh dan tak jenuh. Lemak tak jenuh memiliki dua jenis asam lemak yang dibedakan dari jumlah ikatan rangkap pada rantai karbonnya. Asam lemak tak jenuh jenis MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*) merupakan asam lemak tak jenuh ikatan rangkap tunggal. Asam lemak tak jenuh jenis PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) merupakan asam lemak tak jenuh dengan ikatan rangkap ganda (lebih dari satu).

Lemak jenuh dalam biji kacang tanah terdiri dari asam palmitat (6–20% dari total lemak), asam stearat (1-6%), asam lignoserat (0,6-5,9%) asam behenat (2.7–5.1%), dan asam arachidat (1.0–3.5%) (Mondal and Badigannavar, 2010). Asam lemak jenis MUFA berupa asam oleat dengan kandungan rata-rata 36–71%. Asam lemak jenis PUFA diketahui dalam bentuk asam linoleat (20–48%) dan asam linolenat (0,01-1,5%).

Lemak jenuh yang berlebih dalam biji kacang tanah dianggap berbahaya bagi kesehatan karena mampu menyebabkan kolesterol, hipertensi bahkan stroke bagi pengkonsumsinya. Asam lemak tak jenuh jenis PUFA diketahui dapat menurunkan LDL dan meningkatkan HDL (Pratama *et al.*, 2011). Asam lemak tak jenuh jenis MUFA diketahui dapat meningkatkan HDL (*High Density Lipoprotein*) dan menurunkan LDL (*Low Density Lipoprotein*), sehingga menghambat perkembangan penyakit jantung dan meningkatkan produksi antioksidan dalam tubuh. LDL merupakan kolesterol jahat yang menyebabkan beberapa penyakit dalam tubuh (Pusparini, 2006), sedangkan HDL merupakan kolesterol baik yang dapat digunakan sebagai anti kolesterol dalam tubuh (Syahrullah *et al.*, 2013).

Peningkatan kandungan asam oleat akan diikuti oleh penurunan asam linoleat, asam palmitat, dan asam behenat (Trustinah dan Kasno, 2012).

Seiring dengan peningkatan gaya hidup manusia, konsumen kita mulai sadar akan kualitas produk pertanian yang mereka konsumsi. Kandungan asam lemak tak jenuh jenis PUFA lebih tinggi merupakan kualitas diharapkan ada pada biji kacang tanah. Sehingga varietas baru dengan kandungan lemak jenuh rendah dan lemak jenis PUFA tinggi merupakan suatu peluang dalam menarik simpatik pasar di kemudian hari.

Perbedaan kualitas tanaman termasuk komposisi asam lemak berawal dari keberagaman genetik tanaman. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan melalui introduksi, hibridisasi, transfer gen dan mutasi tanaman. Mutasi merupakan perubahan kode genetik pada suatu organisme yang hasilnya kemudian disebut dengan mutan. Tanaman mutan dapat dihasilkan melalui induksi mutasi baik secara fisika maupun kimia. Secara fisika mutasi dilakukan dengan menggunakan radiasi sinar dengan panjang gelombang tertentu, sedangkan secara kimiawi menggunakan mutagen dengan konsentrasi yang optimal (Rustini, 2014).

*Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) dapat dimanfaatkan sebagai mutagen (kimia) dengan bahan aktif dari gugus alkil sebagai *ionizing (Alkyl Agents)* yang mampu merubah G-C menjadi A-T secara acak. Keuntungan menggunakan EMS yaitu hasil mutasi yang acak dan didominasi oleh mutasi titik diharapkan diikuti dengan munculnya variasi genetik kacang tanah yang tinggi. Perubahan DNA akibat mutasi titik memungkinkan terbentuknya protein-protein baru dari asam amino yang berubah pada setiap kodon yang terbentuk. Perubahan asam amino tentunya akan mempengaruhi proses biosintesis enzim dan beberapa protein esensial yang kemudian menyebabkan perubahan morfologi, fisiologi, serta biokimia tanaman.

Keberhasilan mutasi dengan mutagen kimia (EMS) pada tiap tanaman tergantung pada konsentrasi dan lama perendaman yang digunakan (Yanti dalam Rustini, 2014). Konsentrasi EMS yang dikehendaki pada tanaman kacang tanah yaitu kurang dari 0,5% karena penelitian Wani (2011) mendapatkan LD<sub>50</sub> (*Lethal Dossage*) kacang tanah maksimal pada larutan 0,5% EMS. Diharapkan dengan konsentrasi larutan EMS dibawah 0,5% akan didapatkan mutan dengan kandungan



lemak jenuh rendah dan kandungan lemak tak jenuh jenis PUFA tinggi, serta beberapa mutan sebagai plasma nutfah dengan sifat lebih baik dari tanaman tetuanya. Mutan bermanfaat sebagai sumber plasma nutfah dan juga sebagai varietas unggul baru yang diperoleh dari tahap seleksi mutan-mutan yang berhasil terbentuk.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang dari dilakukannya penelitian maka dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh beberapa konsentrasi mutagen EMS pada morfologi dan fisiologi tanaman kacang tanah varietas Takar 2.
2. Apakah induksi mutasi dengan beberapa konsentrasi EMS dapat digunakan sebagai solusi dalam upaya menghasilkan varietas unggul baru kacang tanah dengan produksi tinggi.
3. Apakah konsentrasi EMS yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan lemak terutama menurunnya lemak jenuh dan meningkatnya lemak tak jenuh jenis *Polyunsaturated Fatty Acid* produk mutan Takar 2.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan:

1. Untuk mendapatkan mutan dengan morfologi dan fisiologi tanaman yang berbeda dengan tanaman kacang tanah varietas Takar 2.
2. Untuk memperoleh mutan dengan potensi produksi atau hasil lebih baik dari sifat tetuanya.
3. Untuk mendapatkan mutan tanaman kacang tanah dengan kandungan lemak jenuh rendah dan lemak tak jenuh jenis *Polyunsaturated Fatty Acid* tinggi.

### **1.4 Manfaat Penelitian**



Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Menghasilkan mutan kacang tanah baru yang dapat dimanfaatkan sebagai plasma nutfah.
2. Memberikan informasi karakteristik fisiologi, potensi produksi dan komposisi lemak mutan baru hasil mutasi dengan menggunakan EMS yang berhasil terbentuk.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kacang Tanah

Kacang tanah merupakan tanaman pangan berupa semak yang berasal dari Amerika Selatan, tepatnya berasal dari Brazil. Penanaman pertama kali dilakukan oleh orang Indian (suku asli bangsa Amerika). Pendatang dari Eropa mengembangkan penanaman di Amerika dari tahun ke tahun. Hingga kacang tanah pertama kali masuk ke Indonesia pada awal abad ke-17, dibawa oleh pedagang Cina dan Portugis (Prihatman, 2000).

Sistematika kacang tanah adalah kingdom: Plantae atau tumbuh-tumbuhan, divisi : *Spermatophyta* atau tumbuhan berbiji, sub divisi : *Angiospermae* atau berbiji tertutup, klas : *Dicotyledoneae* atau biji berkeping dua, ordo : *Leguminales* famili : *Papilionaceae*, genus : *Arachis*, spesies : *Arachis hypogaeae* L. (Andaka, 2009). Kacang tanah digunakan sebagai bahan untuk membuat keju, mentega, sabun dan minyak goreng. Hasil sampingan dari minyak dapat dibuat bungkil (ampas kacang yang sudah dipipit/diambil minyaknya) dan dibuat oncom melalui fermentasi jamur (AAK, 1989).

Sebagai bahan pangan dan pakan ternak yang bergizi tinggi, biji kacang tanah mengandung lemak (44,50%), protein (27%), karbohidrat serta vitamin (A, B, C, D, E dan K). Mineral yang terkandung didalamnya antara lain *Calcium* (Ca) 1,24%, *Zinc* (Zn) 0,42%, *Iron* (Fe) 0,47%, *Magnesium* (Mg) 0,21%, *Phosphorus* (P) 0,65%, *Kalium/Potasium* (K) 0,51%, dan *Sodium* (Na) 0,69% (Ayoola *et al.*, 2012). Protein dari 100 gr kacang tanah beserta kulit arinya terdiri atas arginin 1128 mg, fenilalanin 379 mg, histidin 227 mg, isoleusin 315 mg, leusin 460 mg, valin 351 mg serta lisin, metionin, dan triptofan (Usmiati dan Utami. 2008). Varietas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu varietas Takar 2 yang merupakan varietas terbaru BALITKABI (Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi-umbian) dengan karakteristik berikut :



Gambar 2.1 Karakter tanaman kacang tanah varietas Takar 2 (sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 2015)

#### Deskripsi varietas Takar 2 :

Tanaman: rata-rata tinggi tanaman: 68 cm, tipe tumbuh: tegak (spanish), umur panen:  $\pm 90-95$  hari, potensi hasil: 4.3 ton/ha, rata2 hasil: 3.0 ton/ha; Batang: bentuk batang: bulat, warna batang hijau keunguan; Daun: warna: hijau; Bunga: warna pusat bendera: kuning muda, warna matahari: merah tua, warna ginofor: ungu; Polong: konstiksi: dangkal, jaring kulit: halus, pelatuk: sangat kecil, jumlah polong/tanaman: 24 polong, warna polong muda: putih, warna polong tua: putih gelap, posisi polong: miring ke bawah dan menyebar, Biji: bentuk biji : bulat, warna biji: merah tua (Tan), jumlah biji/polong: 2/1/3, bobot 100 biji: 65.5 g; Sifat-sifat khusus: kadar protein: 29.78% (bk), kadar lemak: 42.58% (bk), kadar lemak esensial: oleat, linoleat, dan arachidat = 77.32% dari lemak total, ketahanan terhadap hama: berindikasi tahan kutu kebul (*Bemisia tabaci*), ketahanan terhadap penyakit: tahan penyakit layu bakteri, tahan penyakit karat, agak tahan penyakit bercak daun; keterangan: adaptif lahan masam (pH 4,5-5,6) dengan kejenuhan Al<10%. (Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 2015)

## 2.2 Biosintesis Lemak pada Tanaman

Klasifikasi minyak pada tumbuhan dibedakan menjadi dua, yaitu minyak atsiri yang mudah menguap dan berasal dari bagian selain biji dan minyak tetap yang berasal dari biji (*oilseed*) (Ristanti, 2008). Penyimpanan asam lemak berbentuk minyak dan lemak dalam jumlah yang relatif besar dapat ditemukan sebagai bahan cadangan penting dalam buah dan bijibijian (Estiti, 1995). Cadangan ini tersimpan dalam endosperm atau perisperm dalam bentuk lipid dengan kandungan yang beragam. Lipid tampak sebagai tubuh minyak dalam sitoplasma sel yang menyimpan minyak. Tubuh minyak ini dinamakan vakuola berisi lipid, sebagai sferosom yang dikelilingi satuan membrane (Salisbury dan Ross, 1995)

Asam lemak dibentuk oleh kondensasi berganda unit asetat dari asetil CoA. Sebagian besar reaksi sintesis asam lemak terjadi hanya di kloroplas daun serta di proplastid biji dan akar. Asam lemak yang disintesis di kedua organel ini terutama adalah asam palmitat dan asam oleat. Asetil CoA yang digunakan untuk membentuk lemak di kloroplas sering dihasilkan oleh piruvat dehidrogenase dengan menggunakan piruvat yang dibentuk pada glikolisis di sitosol. Sumber lain asetil CoA pada kloroplas beberapa tumbuhan adalah asetat bebas dari mitokondria. Asetat ini diserap oleh plastid dan diubah menjadi asetil CoA, untuk digunakan membentuk asam lemak dan lipid lainnya. (Salisbury dan Ross, 1995).

Asam lemak yang disintesis di proplastid biji dan akar terutama adalah asam palmitat dan asam oleat. Pada biji, asam lemak yang diproduksi dapat langsung diesterifikasi dengan gliserol membentuk oleosom. Kemungkinan lainnya ialah asam lemak diangkut balik ke proplastid untuk membentuk oleosom. Asam lemak dapat diubah menjadi fosfolipid di ER (Retikulum Endoplasma) semua sel sebagai bahan untuk pertumbuhan membran ER dan membran sel lainnya. Di ER pada daun, asam linoleat dan asam linolenat yang disintesis kemudian diangkut dari ER ke kloroplas dan ditimbun sebagai lipid di membran tilakoid. Pada berbagai tumbuhan, timbunan lemak terdapat beragam sesuai dengan lingkungannya, terutama dengan suhu sebagai faktor pengendali utama. Pada suhu rendah, asam lemak cenderung lebih tidak jenuh dibandingkan pada suhu tinggi sehingga membran lebih cair dan membentuk oleosom. Kecenderungan ini dapat dijelaskan



dengan peningkatan kelarutan oksigen di air sejalan dengan turunnya suhu. Kondisi ini akan menyediakan O<sub>2</sub> sebagai penerima esensial atom hidrogen bagi proses ketidakjenuhan di ER sehingga menyebabkan lebih banyak asam lemak tidak jenuh.

### 2.3 Asam Lemak

Komponen dasar lemak adalah asam lemak dan gliserol yang diperoleh dari hasil hidrolisis lemak, minyak maupun senyawa lipid lainnya. Asam lemak pembentuk lemak dapat dibedakan berdasarkan jumlah atom C (karbon), ada atau tidaknya ikatan rangkap, jumlah ikatan rangkap serta letak ikatan rangkap. Lemak adalah suatu ester trigliserida (TG) dari gliserol dengan 3 asam lemak terikat pada rantai utamanya. Asam lemak yang berikatan dengan trigliserida pada dasarnya merupakan rantai karbon (C) dengan gugus karboksil (COOH) pada salah satu ujungnya yang dapat bereaksi (berikatan) dengan molekul lain (Silalahi, 2000). Berdasarkan struktur kimianya, asam lemak dibedakan menjadi asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acid/SFA*) yaitu asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap. Sedangkan asam lemak yang memiliki ikatan rangkap disebut sebagai asam lemak tidak jenuh (*unsaturated Fatty Acids*), dibedakan menjadi *Mono Unsaturated Fatty Acid* (MUFA) memiliki 1 (satu) ikatan rangkap, dan *Poly Unsaturated Fatty Acid* dengan lebih dari satu ikatan rangkap.

Asam lemak pada kacang tanah umumnya didominasi oleh asam lemak dengan jumlah carbon berkisar antara 16 hingga 20 atom carbon. Kandungan asam lemak terbanyak yaitu pada asam lemak oleat yang merupakan asam lemak tak jenuh jenis MUFA. Oleat memiliki satu ikatan rangkap dengan jumlah atom carbon 18. Kedua tertinggi yaitu asam lemak linoleat yang merupakan asam lemak tak jenuh jenis PUFA. Linoleat memiliki dua ikatan rangkap dengan jumlah atom carbon 18. Asam lemak jenuh ditemukan sebanyak 22% hingga 25% yang didominasi oleh asam lemak palmitat. Asam palmitat ditemukan sebanyak 12-13% pada beberapa kultivar kacang tanah (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Kandungan asam lemak pada beberapa varietas kacang tanah

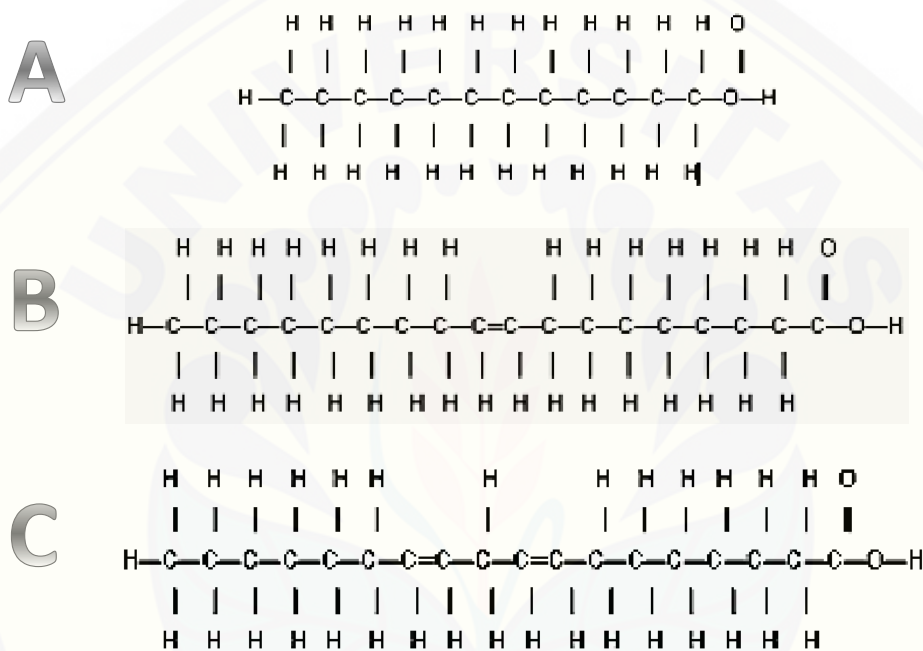
Cultivar	Total Minyak (%)	Methyl Fatty Acid Esters (%)				18:1/18:2 Ratio	Total SFA
		16:0	18:1	18:2	20:1		
Nan Gai 60	43.43	12.98	39.09	35.35	1.10	1.11	24.57
47 - 5	44.36	12.97	39.27	35.85	1.15	1.10	23.84
CES 101	45.56	13.30	38.60	36.72	1.04	1.05	23.75
Kuala Brang K-2	45.77	13.02	38.55	36.81	1.16	1.05	23.59
Banting	45.96	12.58	40.67	35.67	1.13	1.14	22.64
CES 102	45.97	13.17	37.94	37.03	1.16	1.02	23.98
Red Indonesian	46.20	12.53	39.80	35.94	1.22	1.11	23.15
Sungai Siput local	46.41	13.12	38.87	35.62	1.15	1.09	24.47
V-13 (Cheek)	47.08	12.88	39.76	35.91	1.04	1.11	23.40
Matjam	47.18	12.93	39.42	36.43	0.97	1.08	23.29
Gadjah	47.97	13.13	38.65	37.00	1.06	1.04	23.40
SK 28	48.07	13.01	39.45	35.91	1.08	1.10	23.67
F-334-33	48.21	13.17	38.18	37.51	1.04	1.02	23.38
Alabama	48.98	12.22	41.90	34.59	1.13	1.21	22.49
Tainang 7	49.88	12.84	41.32	35.05	0.99	1.18	22.75
Kidang	50.24	12.60	41.67	34.73	1.06	1.20	22.65

Sumber : Berry (1982).

Asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acid/SFA*) adalah asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap pada atom karbon (Gambar 2.2 A). Ini berarti asam lemak jenuh tidak peka terhadap oksidasi dan pembentukan radikal bebas seperti halnya asam lemak tidak jenuh. Efek dominan dari asam lemak jenuh adalah peningkatan kadar kolesterol total dan K-LDL (kolesterol LDL). Asam lemak jenuh selain banyak ditemukan pada lemak hewani juga terdapat pada minyak kelapa hasil pemanasan (Kostik *et al.*, 2008), meskipun mulanya adalah asam lemak tak jenuh.

Asam Lemak tak jenuh tunggal (*Mono UnSaturated Fatty Acid/ MUFA*) merupakan jenis asam lemak yang mempunyai 1 (satu) ikatan rangkap pada rantai atom karbon (Gambar 2.2 B). Asam lemak ini tergolong dalam asam lemak rantai panjang (LCFA) *Long Carbon Fatty Acid*, yang kebanyakan ditemukan dalam minyak zaitun, minyak kedelai, minyak kacang tanah, minyak biji kapas, dan kanola. Salah satu jenis MUFA adalah Omega-9 (Oleat), memiliki sifat lebih stabil dan lebih baik perannya dibandingkan PUFA (*Poly UnSaturated Fatty Acid*). PUFA dapat menurunkan kolesterol LDL, tetapi dapat menurunkan HDL. Sebaliknya MUFA dapat menurunkan LDL dan meningkatkan HDL (Sales *et al.*, 2008).

Asam lemak tak jenuh berdasarkan Isomer Geometrik dibedakan menjadi Asam lemak tak jenuh “cis” dan asam lemak tak jenuh “trans” Asam Lemak Tak Jenuh "Cis" (bentuk alami) Jika atom-atom hidrogen pada ikatan rangkap terletak disisi yang sama dari rantai hidrokarbon, contoh: Asam Oleat (*cis*-D9-C18:1). Asam Lemak Tak Jenuh "Trans" (bentuk tidak alami) Jika atom-atom hidrogen pada ikatan rangkap terletak disisi yang berlawanan dari rantai hidrokarbon, contoh: Asam Elaidat (*trans*-D9-C18:1).



Gambar 2.2 A) *Saturated fatty acid*; B) *Mono Unsaturated Fatty Acid*; C) *Poly Unsaturated Fatty Acid*; (Sumber: Sartika, 2008:2009)

Asam Lemak tak jenuh jamak (*Poly UnSaturated Fatty Acid*/PUFA) adalah asam lemak yang mengandung dua atau lebih ikatan rangkap (Gambar 2.2 C), bersifat cair pada suhu kamar bahkan tetap cair pada suhu dingin, karena titik lelehnya lebih rendah dibandingkan dengan MUFA atau SFA. Asam lemak ini banyak ditemukan pada minyak ikan dan nabati seperti jagung dan biji matahari. Sumber alami PUFA yang penting bagi kesehatan adalah kacang-kacangan dan biji-bijian. Contoh PUFA adalah asam linoleat (omega-6), linolenat, arakhidonat dan omega-3, tergolong dalam asam lemak rantai panjang (LCFA) yang banyak ditemukan pada minyak nabati/sayur dan minyak ikan.



Tabel 2.2 Pengaruh asam-asam lemak pangan terhadap kadar kolesterol dalam serum darah.

Asam Lemak	Kadar Kolesterol dalam serum darah (kualitatif)
<b>Asam Lemak Jenuh</b>	
Asam kaprilat (C8:0)	0
Asam kaprat (C10:0)	0
Asam laurat (C12:0)	+
Asam miristat (C14:0)	++
Asam palmitat (C16:0)	+
Asam stearat (C18:0)	0
<b>Asam lemak tidak jenuh tunggal</b>	
Asam oleat (C18:1, n-9, cis)	-
Elaidat (C18:1, n-9, trans)	+
<b>Asam lemak tidak jenuh majemuk</b>	
Asam linoleat (18:2, n-6)	-
Asam alfa-linolenat (18:3, n-3)	-
Keterangan	: +=naik, 0=netral, -=turun
Sumber	: Vessby (1994) dalam Santosa (2010)

Tabel 2.2 menjelaskan bahwa beberapa asam lemak yang ditemukan pada kacang tanah dapat berpengaruh pada tingkat kolesterol darah manusia. Khusus pada asam lemak yang terkandung sebagian besar dalam kacang tanah, yaitu asam palmitat, stearate, oleat dan linoleat. Asam stearate sebagai SFA diketahui tidak berpengaruh pada kadar kolesterol dari darah. Akan tetapi asam palmitat yang juga merupakan SFA teridentifikasi meningkatkan kolesterol dari darah. Asam palmitat inilah yang tidak dikehendaki terkandung dalam konsentrasi tinggi pada biji kacang tanah. Asam oleat dan linoleat merupakan MUFA dan PUFA yang terbukti dapat menurunkan tingkat kolesterol darah (Tabel 2.2). Sehingga peningkatan asam oleat dan linoleat yang signifikan pada biji kacang tanah akan diharapkan oleh *breeder*.

#### 2.4 Asam Lemak pada Kacang Tanah

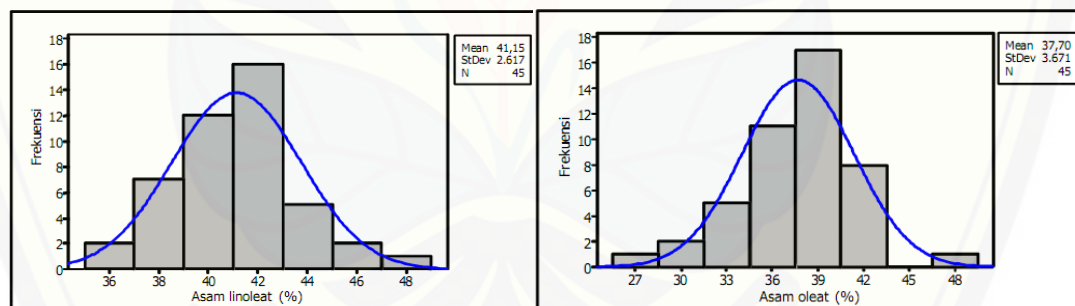
Kacang tanah identik dengan keberadaan/kandungan lemak yang tinggi. Lemak-lemak nabati jenis MUFA atau PUFA dalam kacang tanah sangat baik untuk kesehatan (Tuminah, 2009). Namun dalam produk kacang tanah juga ditemukan asam lemak jenuh (SFA). Berdasarkan 45 plasma nutfah kacang tanah yang ditanam di KP Jambe Gede didapatkan beberapa kandungan asam lemak yang berbeda-beda komposisinya pada masing-masing genotipe (Tabel 2.3).

Tabel 2.3 Kisaran rata-rata dan simpangan baku asam lemak 45 genotipe kacang tanah

Jenis Asam Lemak	Kisaran	Rata-rata	Simpangan baku
Asam oleat (C 18:1) %	28,3-49,3	37,7	3,7
Asam Linoleat (C18:2) %	35,0-48,9	41,2	2,6
Asam Palmitat (C16:0) %	9,3-15,3	12,5	1,0
Asam Arakhidat (C20:0) %	0,3-5,2	3,0	1,2
Asam Behenat (C:22:0) %	1,6-5,5	3,6	0,9
Lemak (%)	37,7-45,7	42,1	2,2
Rasio oleat/linoleat	0,66-1,38	0,92	0,13
Oleat+linoleat	70,8-85,4	78,9	3,0

Sumber: Trustinah dan Kasno (2012)

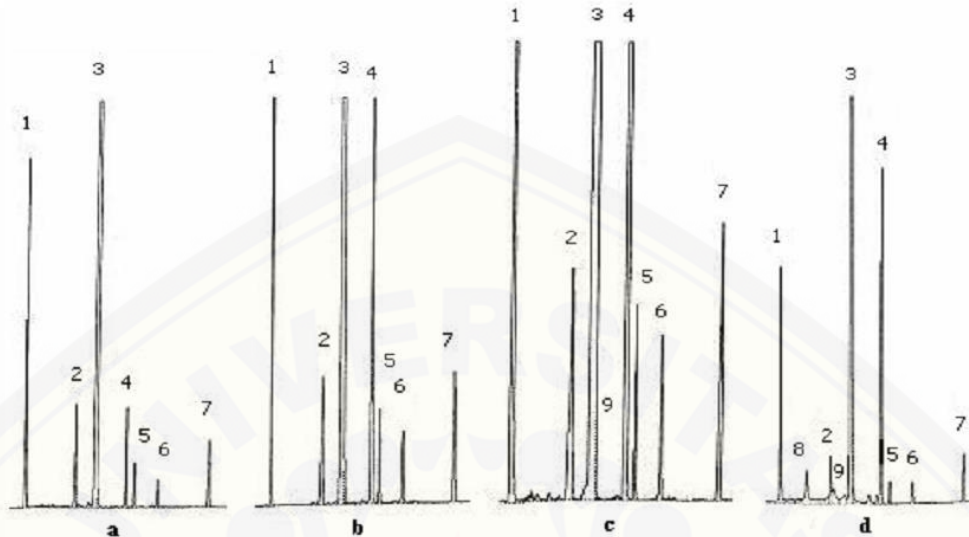
Mayoritas kandungan asam oleat yang merupakan asam lemak tak jenuh tunggal mencapai 39% dengan frekuensi 17 genotipe. Asam linoleat yang merupakan asam lemak tak jenuh ganda ditemukan sebanyak 42% pada 16 genotipe (Gambar 2.3). Walaupun rata-rata lemak tak jenuh MUFA maupun PUFA pada kacang tanah mencapai 78,9 %, masih ada sekitar 21% asam lemak jenuh yang terbagi atas asam palmitat, asam arakhidat, asam behenat dan beberapa asam lemak tak teridentifikasi.



Gambar 2.3 Frekuensi genotipe pada masing-masing kandungan asam oleat (A) dan asam linoleat (B) (Shad *et al.*, 2012)

Shad *et al.*, (2012) menunjukkan beberapa profil asam lemak pada beberapa varietas menggunakan Gas Chromatografi sebagai metode analisis. Hasil analisis menunjukkan bahwa 6 jenis asam lemak telah teridentifikasi pada seluruh varietas kacang tanah yang digunakan sebagai sampel. Keenam asam lemak yang teridentifikasi meliputi asam lemak palmitat, asam stearac, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, asam  $\gamma$ -linoleac, dan beberapa asam lemak tak teridentifikasi (Gambar 2.4). Kromatogram pada Gambar 2.4 menunjukkan peak

yang terdeteksi pada setiap asam lemak. Perbedaan masing-masing asam lemak dilihat dari RT (Retention Time) yang berbeda pada tiap jenis asam lemak.



Gambar 2.4 Profil asam lemak 4 varietas kacang tanah menggunakan Gas kromatografi Ket; a: Golden, b: Bari 2000, c: Mongphalla, d: Mongphalli 334. 1: 1: *Palmitic* (C-18:0), 2: *Steric* (C-18:0), 3: *Oleic* (C-18: 1), 4: *Linoleic* (C-18: 2), 5: *Linolenic* (C-18: 3), 6:  $\gamma$ -*Linoleic* (C-18: 2), 7: *Unidentified*, 8: *Elaidic* (C-18: 2-trans) and 9: *Unidentified*

## 2.5 Mutasi Tanaman

Varietas tanaman unggul baru dapat diperoleh dengan cara mutasi. Mutasi dapat meningkatkan diversitas genetik suatu populasi tanaman, namun secara alami mutasi terjadi dalam jangka waktu yang lama. Mutasi pada varietas atau klon tanaman dilakukan untuk memperbaiki sifat tetuanya yang dianggap kurang baik setelah dilakukan seleksi. Mutasi gen adalah mutasi yang terjadi dalam lingkup gen. Peristiwa yang terjadi pada mutasi gen adalah perubahan urutan-urutan DNA yang terjadi pada lokus tunggal kromosom (Daryono dan Wenny, 2009). Mutasi gen juga disebut juga mutasi titik yang merupakan perubahan kimiawi pada satu atau beberapa pasangan basa dalam satu gen. Apabila mutasi titik terjadi pada suatu gamet, atau pada sel yang menghasilkan gamet, maka mutasi ini dapat diwariskan pada keturunannya.

Penggunaan teknik mutasi tanaman sebagai alat pembentuk varietas baru di Indonesia masih relatif sedikit. Varietas hasil mutasi di Indonesia lebih didominasi oleh mutan dari komoditas padi. Komoditas kacang tanah yang merupakan produk

pangan sekunder masih belum menggunakan teknik mutasi dalam upaya mendapatkan varietas unggul baru. Beberapa varietas masih diperoleh dengan cara persilangan konvensional dari tetua-tetua dengan sifat yang diinginkan. Mutasi dapat dipercepat dengan bantuan manusia. Induksi mutasi dapat terjadi secara fisik menggunakan sinar radio aktif sedangkan secara kimia menggunakan larutan mutagen.

## 2.6 Induksi Mutasi Secara kimia

Induksi mutasi secara kimiawi pada prinsipnya menggunakan bahan kimia sebagai analog basa, agen alkylasi dan intercalasi, dan bahan kimia yang memodifikasi struktur DNA. Pengaruh mekanisme tersebut pada molekul DNA terjadi dalam deaminasi, induksi transisi dan sisipan, penghentian transkripsi dan replikasi, dan bahkan rusaknya untaian DNA (DSB<sub>s</sub>) dalam kromosom. Penelitian Animasaun *et al.*, (2014) menggunakan Sodium Azide sebagai mutagen meningkatkan kecepatan berkecambah, % perkecambahan, dan kemampuan bertahan hidup benih pada konsentrasi rendah (10-30mM) sedangkan konsentrasi 50mM menunjukkan pertumbuhan vegetatif terbaik. Pertumbuhan vegetatif yang baik ternyata juga diikuti dengan masaknyanya biji lebih awal dengan produksi pod tertinggi, ukuran kacang terbesar serta kacang terberat. Umumnya, nilai-nilai gizi dari kacang tanah ditingkatkan dengan perlakuan *Sodium Azide* sehubungan dengan protein dan lemak yang merupakan bagian penyusun utama dari komoditas yang mampu menghasilkan minyak nabati (Animasaun *et al.*, 2014). Beberapa agen mutasi kimia yang sering digunakan untuk mutasi tanaman terdapat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Beberapa mutagen kimia dan pengaruhnya pada DNA tanaman

Jenis Mutagen Kimia	Modus Tindakan
<i>Base analogues e.g., 5-bromouracil (BU), 5-bromodeoxyuridine, 2-aminopurine (2AP)</i>	Mempersatukan DNA di tempat basa normal selama replikasi DNA sehingga menyebabkan transisi (purin untuk purin atau pirimidin ke pirimidin); dan tautomerization (penyebab dua mekanisme interconvert misalnya, guanin bisa ada di keto atau bentuk enol).



Jenis Mutagen Kimia	Modus Tindakan
<i>Nitrous acid</i>	Bertindak melalui deaminasi, penggantian sitosin oleh urasil yang dapat dipasangkan dengan adenin sehingga dari siklus replikasi berikutnya menyebabkan transisi.
Agen Alkylasi, seperti : <i>sulfonates e.g., Ethyl Methane Sulfonate (EMS), diethyl sulfonate (DES); Sulphur mustards e.g., ethyl-2-chloroethyl sulphide; Nitrogen mustards e.g., 2-chloroethyl-dimethyl amine; and Epoxides e.g., ethylene oxide Others are ethyleneimine, hydroxylamine (NH<sub>2</sub>OH), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), sodium azide dan diazomethane.</i>	Bahan aktif akan bereaksi dengan beberapa basa dan menambahkan kelompok metil atau etil, tergantung pada atom yang terkena, pada dasarnya basa teralkilasi kemudian terdegradasi untuk menghasilkan susunan basa berbeda yang mutagenik dan <i>recombinogenic</i> , atau <i>mispair</i> untuk menghasilkan mutasi pada replikasi DNA.
Agen Intercalasi seperti: <i>acridine orange, proflavin, ethidium bromide</i>	Bekerja dengan cara menyisipi antar basa-basa DNA sehingga menyebabkan "peregangan" dari duplex DNA. DNA polimerase selanjutnya menyadari peregangan ini sebagai basa tambahan dan menyisipkan basa ekstra lawan (interkalasi) molekul ini. Hasil ini di frameshifts yaitu suatu perubahan frame membaca kodon (kelompok tiga nukleotida).
Kelompok Miscellaneous agen; Molekul besar disebut sebagai luka "bulky" (e.g., <i>N-acetoxy-N-2-acetyl-aminofluorine—NAAAF</i> ).	Senyawa ini mengikat basa dalam DNA dan menyebabkannya tidak terbaca sehingga mencegah transkripsi dan replikasi DNA; Sehingga menyebabkan ikatan silang untai intra dan inter (misalnya, psoralens); selain itu juga menyebabkan kerusakan DNA (misalnya, peroksida).

Sumber : Mba (2013)

### 2.7 Ethyl Methane Sulfonate (EMS)

Bahan mutagen kimia yang sering digunakan dalam penelitian pemuliaan tanaman yaitu *Ethyl Methane Sulfonate (EMS)*, *Diethyl Sulphate (DES)*, *Methyl Methane Sulfonate (MMS)*, *nitrous acids*, kolkisin dan sebagainya. EMS paling banyak digunakan karena sering menghasilkan mutan yang bermanfaat dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Van Harten, 1998). Selain itu juga sangat

efektif untuk dapat menimbulkan mutasi, sebab dapat menghasilkan persentase mutasi yang tinggi tanpa merusak kromosomnya. *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) diketahui sangat efektif untuk dapat menimbulkan mutasi, sebab dapat menghasilkan persentase mutasi yang tinggi tanpa merusak kromosomnya. Senyawa EMS merupakan senyawa alkil yang mengubah guanin menjadi 7-etilguanin yang berpasangan dengan timin (Begum dan Dasgupta, 2010). Senyawa ini digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman dan perbaikan kualitas tanaman. Keberhasilan mutasi dengan mutagen kimia pada tiap tanaman tergantung pada konsentrasi dan lama perendaman yang digunakan (Yanti, 2007).

Mutasi secara kimia pada dasarnya memanfaatkan gugus alkil pada senyawa kimia yang bersifat reaktif. Gugus alkil ditransfer pada molekul lain yang memiliki kepadatan elektron tinggi seperti pada senyawa penta fosfat, purin dan pirimidin. Sehingga mutasi yang terjadi kebanyakan pada tingkat DNA. Hal ini menyebabkan terjadinya substitusi nukleotida pada DNA sehingga dapat menghasilkan keragaman hasil mutasi luas. Keuntungan menggunakan mutagen kimia adalah laju mutasinya tinggi, dan didominasi mutasi titik.

Tabel 2.5 Beberapa varietas kacang tanah hasil mutasi dengan EMS

No	Varietas	Teknik Mutasi	Tahun
1	Co 2	Didapatkan dari <i>seed treatmen</i> dengan mutagen kimia 0.2% EMS	1984/India
2	Kehua 1	EMS dengan tetua Luhua 9	2008/China
3	Mutant 28-2	Didapatkan dari <i>seed treatmen</i> dengan mutagen kimia 0.5% EMS	2003/India
4	VRI 2	Didapatkan dari hibridisasi mutan CO 2 lalu benih yang didapatkan diperlakukan dengan <i>seed treatmen</i> mutagen kimia 0.2% EMS	1989/India

Sumber : Mutation Enhanced Technologies for Agriculture (META), 2015.

Teknik penggunaan EMS sebagai larutan mutagen pada benih dapat dilakukan dengan merendam benih dalam aquades selama 6 jam. Benih diperlakukan dengan mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang telah dilarutkan dengan beberapa konsentrasi tertentu dan lama perendaman yang telah ditentukan. Hasil mutasi dengan menggunakan EMS pada tanaman *Capsicum*

*annuum* yang dilakukan oleh Jabeen dan Mirza (2004) yang menggunakan kombinasi antara konsentrasi EMS dan lama perendaman menunjukkan perbedaan morfologi tanaman dibanding kontrol. Beberapa varietas kacang tanah yang telah berhasil dirakit melalui mutasi dengan menggunakan EMS ada pada Tabel 2.5.

## 2.8 Mutasi pada kacang tanah

Pengamatan-pengamatan mengenai mutasi pada tanaman kacang tanah sudah banyak dilakukan. Penelitian tentang mutasi pada kacang tanah telah berlangsung sejak tahun 1965, dimana Ashri dan Goldin melaporkan hasil penelitiannya tentang aktifitas mutagenik pada kacang tanah menggunakan DES (*diethyl sulfat*). Ashri menemukan bahwa perendaman benih kacang tanah pada larutan DES menghasilkan mutasi dominan monogenik dengan mematikan resesif pada generasi kesatu (M1). Tahun 1972 Ashri dan Herzog mempelajari perlakuan benih kacang tanah dengan menggunakan dua larutan yang berbeda yaitu DES dan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) terhadap perbedaan sensitivitas fisiologis masing-masing varietas kacang tanah. Sivaram pada tahun 1985 dan Zhu tahun 1997 mengembangkan penelitian menggunakan mutagen EMS pada kacang tanah yang menghasilkan galur mutan dengan produksi tinggi (Wang *et al.*, 2007). Tahun-tahun berikutnya dilaporkan beberapa mutasi pada kacang tanah dengan menggunakan beberapa teknik mutasi hingga Burghate *et al.*, (2013), melakukan pengamatan mengenai efisiensi penggunaan EMS pada kacang tanah dengan hasil ditampilkan pada Tabel 2.6.

Burghate *et al.*, (2013) menggunakan mutagen EMS dengan konsentrasi rendah 0,05%, 0,1%, dan 0,2% pada kacang tanah berdampak daya kecambah benih. Konsentrasi tertinggi 0,2% memiliki daya kecambah lebih rendah, artinya mutagen selain menimbulkan mutasi juga memiliki kekurangan menghambat perkecambahan baik di laboratorium maupun dilapang. Efek samping lainnya adalah sterilitas polen yang juga berkaitan dengan gagalnya perkawinan bunga kacang tanah walaupun daya hidup mutan lebih baik dibandingkan pada konsentrasi EMS lebih rendah (Tabel 2.6).



Tabel 2.6 Beberapa konsentrasi EMS sebagai mutagen benih kacang tanah

Treatments EMS	Germination (%)		Seedling growth		Pollen sterility (%)	Days to 50 % flowering	Mortality %
	Lab	Field	Root lenght (cm)	Shoot lenght (cm)			
T4 - 0,05 % EMS	84,33	72,50	16,83	13,10	14,32	34,20	35,86
T5 - 0,1% EMS	77,00	64,50	16,70	10,70	16,18	34,80	40,31
T6 - 0,2% EMS	74,66	57,50	13,83	9,90	20,30	35,00	48,70

Sumber : Burghate *et al.*, (2013) (Edited)

Tabel 2.7 Pengaruh beberapa konsentrasi EMS sebagai mutagen benih kacang tanah Varietas VRI

Treatment	Germination %	Seedling Survival	Days to First flower (days)	Plant height (cm)	No. Of Leaved/ plant (30days)	No. Of Kernal/ plant	100 Seed Weight (g)	Kernal Yield/ Plant (g)	Fresh Weight (g)	Dry Weight (g)
Control	93,00	90,25	35,38	42,58	50,12	29,50	35,30	19,25	95,53	35,28
EMS 0,1%	88,13	86,56	35,99	40,10	48,36	25,39	34,12	18,00	90,20	33,55
0,2%	81,61	79,24	36,14	38,95	45,25	22,42	33,98	16,25	85,46	31,02
0,3%	73,48	71,49	36,50	37,45	43,58	20,13	33,15	14,36	80,08	29,55
0,4%	60,58	56,28	37,02	36,25	40,10	16,58	31,57	12,80	71,46	26,54
0,5%	51,25	47,10	37,45	32,85	36,26	14,46	31,22	12,14	65,29	24,18
0,6%	41,46	35,85	38,50	30,75	33,75	13,52	30,35	10,55	60,40	22,90

Sumber: Gunasekaran dan Pavadai (2015) (edited)

Gunasekaran dan Pavadai (2015) melakukan pengamatan mutasi pada kacang tanah menggunakan mutasi secara fisika dan kimia. Secara kimia konsentrasi maksimal yang dapat diterima dimana *Lethal dosage (LD<sub>50</sub> Value)* pada kacang tanah yang digunakan adalah 0,5%. Mutasi secara kimia menggunakan EMS sebagai mutagen melengkapi data dari Burghate dengan dosis perlakuan lebih tinggi. Hasil pengamatan dapat dirangkum pada Tabel 2.7.

Penggunaan dosis EMS terlalu tinggi (0,6%) diketahui memiliki LD<sub>50</sub> lebih dari 50%. Pengaruh negatif dari perlakuan mutagen dengan konsentrasi terlalu tinggi dapat dilihat pada parameter-parameter pertumbuhan seperti jumlah daun tinggi tanaman, dan jumlah cabang. Tentunya terhambatnya pertumbuhan berdampak juga pada parameter generatif seperti waktu pembungaan. Akibatnya produksi tanaman terhambat hingga berat segar dan berat kering produk serta berat 100 benih kacang tanah lebih rendah dari konsentrasi bawahnya. Konsentrasi 0,5% EMS juga memiliki pertumbuhan lebih rendah, namun dilihat dari daya kecambah tanaman masih mampu bertahan dengan persentase kecambah lebih dari 50% serta berat 100 benih sebagai parameter produksi yang tidak terlalu rendah.

## **2.9 Pengaruh Mutasi pada kandungan asam lemak kacang tanah**

Induksi mutasi menggunakan EMS memungkinkan adanya perubahan kualitas internal biji kacang tanah. Nutrisi dalam bentuk karbohidrat, protein, dan lemak suatu produk kacang tanah dihasilkan dari proses metabolisme tanaman. Perubahan akan sulit diprediksi karena luasnya dampak dari mutasi bahkan hingga berpengaruh pada metabolit sekunder tanaman. Pada dasarnya perubahan genetik dari tanaman kacang tanah akan mempengaruhi seluruh mekanisme metabolisme tanaman yang berhubungan langsung maupun tak langsung dengan gen yang bersangkutan.

Biosintesis lemak pada tanaman dikode oleh berbagai macam gen. Gen pengkode sintesis lemak yang diketahui terdiri dari *fab1*, *fab2*, *act1*, *fad1*, *fad2*, *fad3*, *fad4*, *fad5*, *fad6*, *fad7*, dan *fad8*. Selain gen yang berperan langsung, ada juga gen-gen yang secara tidak langsung berpengaruh dalam mekanisme biosintesis lemak. Gen-gen tersebut bertanggungjawab atas tersedianya beberapa enzyme

sebagai katalis sebuah reaksi. Beberapa enzyme diantaranya Glycerol 3-phosphate acyltransferase, Lysophosphatidate acyltransferase dan DAG acyltransferase serta sekitar 20 enzyme utama lainnya yang saat ini diketahui terlibat dalam sintesis asam lemak. Dari sekian banyak gen, tidak mudah untuk memprediksi gen mana yang mengalami mutasi dan mempengaruhi komposisi asam lemak dari suatu biji kacang tanah. Namun dapat dilakukan seleksi dari mutan-mutan yang terbentuk dengan memilih mutan sesuai dengan komposisi asam lemak yang diinginkan.

Tabel 2.8 Kandungan protein, lemak, dan asam lemak biji kacang tanah hasil mutasi

Identitas Mutan	Kandungan Protein	Lemak Total (%)	Asam Oleat (%)	Asam Linoleat (%)
E1-1D5	28,06	48,99 **	54,52	28,05
E1-2D4	28,50	51,30	50,38	31,03
E1-3D6	28,40	51,89	48,48	33,18 **
E1-4D5	27,50	50,55	53,99	28,09
E1-5D10	28,60	50,66	52,13	30,04
E1-6D5	27,96	50,62	52,65	29,27
E1-7D8	27,32	49,03 *	54,64	27,26
E2-5D7	29,87	54,86 **	56,12	26,41
E2-6D7	27,60	51,08	50,19	31,89
E2-7D8	28,12	51,56	58,07	24,70 *
E2-16D6	28,37	44,50 *	53,02	29,65
E3-1D6	28,20	52,30	47,36	33,78 **
E3-2D3	28,63	52,47	49,88	31,91
E3-3D11	28,99	52,22	50,83	30,87
E3-4D9	29,15	52,79	50,60	30,85
<b>Luhua 11</b>	<b>28,93</b>	<b>52,29</b>	<b>53,72</b>	<b>28,46</b>

Sumber : Wang, *et al.*, (2007)

Hasil penelitian Wang, *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa induksi mutasi dengan menggunakan EMS sebagai mutagen menghasilkan beberapa mutan dari kacang tanah Luhua 11. Diperoleh mutan dengan kode E1-1D5, E1-7D8 dan E2-16D6 memiliki lemak total lebih rendah dengan kontrol. Sebaliknya mutan E2-5D7 memiliki total lemak lebih tinggi dari kontrol. E1-3D6 dan E3-1D6 sebagai mutan dengan kandungan Asam Linoleat lebih tinggi serta E2-7D8 dengan Asam Linoleat lebih rendah dari kontrol (Tabel 2.8).

Mutan yang dihasilkan cenderung acak, lebih baik atau lebih buruk sifatnya yang kemungkinan besar mengalami perubahan struktur gen tertentu yang

fungsinya telah diketahui. Beberapa gen dikembangkan dengan pendekatan-pendekatan untuk mengetahui pengaruhnya dalam sintesis asam lemak. Gen FAD2A dan FAD2B diketahui terlibat dalam proses konversi asam oleat dan asam linoleat dalam biji kacang tanah, hasil ini diperoleh dari studi analisis genetik dan biokimia pada penelitian asam lemak kacang tanah (Wang *et al.*, 2011).

### 2.10 Hipotesis

Berdasarkan telaah pustaka yang telah dilakukan maka dapat diperoleh dugaan sementara hasil penelitian mutasi kacang tanah dengan konsentrasi EMS yang berbeda yaitu:

1. Terbentuk satu atau lebih mutan dari induksi mutasi dengan konsentrasi mutagen EMS tertentu yang memiliki morfologi dan fisiologis lebih baik dari kontrol.
2. Diperoleh satu atau beberapa mutan dengan potensi produksi yang lebih baik dari kontrol.
3. Didapatkan satu atau lebih mutan pada konsentrasi EMS tertentu yang memiliki kandungan lemak jenuh lebih rendah dan lemak tak jenuh jenis *Polyunsaturated Fatty Acid* lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

## BAB 3. METODOLOGI

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan tanaman dan *Green house* Agronomi – Fakultas Pertanian – Universitas Jember pada bulan September 2015 sampai Maret 2016. Penelitian ini dilakukan dalam 3 rangkaian kegiatan, yang pertama perlakuan induksi mutasi dengan perendaman bahan tanam pada larutan mutagen EMS yang dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman. Kegiatan kedua penanaman bahan tanam (mutan) yang telah dilakukan mutasi secara kimia dilakukan di *Green house* Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Kegiatan ketiga adalah analisis hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian dan Laboratorium CDAST – Universitas Jember.

### 3.2. Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.2.1. Bahan Penelitian

1. Benih kacang tanah varietas Takar 2 sebagai bahan mutasi.
2. Larutan Mutagen *Ethyl Methane Sulfonate* sebagai mutagen.
3. Aquadest sebagai larutan *presoaked* dan pembilas mutagen.
4. Metanol sebagai pelarut klorofil daun.
5. *Boron trifluorida* (BF<sub>3</sub>) sebagai larutan melitasi asam lemak.
6. Pupuk NPK dan pestisida.

#### 3.2.2. Alat Penelitian

1. Bak perendaman sebagai media dalam perhitungan persentase kecambah.
2. Peralatan kebun teknis di lapang.
3. Alat ukur dan berat.
4. Spektrofotometri sebagai alat pengukur absorbansi analisis klorofil.
5. *Gass chromatography* sebagai alat identifikasi komposisi asam lemak.
6. *Mini PAM* sebagai alat pengukuran indeks fotosintesis daun.



### 3.3. Rancangan Percobaan

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap satu faktor yaitu perendaman benih kacang tanah selama 6 jam pada larutan *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) dengan 6 taraf konsentrasi (Gunasekaran dan Pavadai, 2015) yaitu: Kontrol [K0]; 0,1 % [K1]; 0,2 % [K2]; 0,3 mg/l [K3]; 0,4 mg/l [K4]; dan 0,5 mg/l [K5]. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan selanjutnya dianalisis sumber keragaman (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Setiap unit perlakuan diulang sebanyak 5 kali dengan uji lanjut menggunakan Dunnet. Model matematik dari rancangan percobaan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$	=	nilai pengamatan pada ulangan ke- j yang memperoleh perlakuan taraf ke-i dari faktor K
$\mu$	=	nilai rata-rata umum
$\delta_i$	=	pengaruh perlakuan faktor K pada taraf ke- i
$\epsilon_{ij}$	=	pengaruh galat pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Perlakuan Perendaman

Praperendaman benih, direndam dalam aquades selama 12 jam. Benih direndam selama 6 jam dengan mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang telah dilarutkan dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan. Benih di bilas dengan aquades menggunakan air mengalir untuk menghilangkan dampak/efek residu mutagen. Sedangkan sebagai kontrol dilakukan perendaman aquades selama 12 jam supaya mendapatkan perlakuan perendaman yang sama dengan unit percobaan lainnya. Saat pembibitan juga dilakukan analisis daya kecambah benih dan keseragaman benih untuk menentukan kemampuan hidup benih pasca dilakukan mutasi.





Gambar 3.1 Perendaman benih kacang tanah dengan EMS sesuai konsentrasi perlakuan

### 3.4.2 Penanaman kacang tanah

Benih mutan hasil perendaman dengan larutan EMS ditumbuhkan sebagai bibit baru. Dilakukan pengamatan seperti daya kecambah dan daya tumbuh benih. Selanjutnya bibit yang sudah siap tanam dipindahkan ke *greenhouse* untuk ditumbuhkan sebagai tanaman dewasa. Bibit ditanam pada *polybag* 20 kg dengan komposisi (1:1:1) kompos, pasir dan tanah. Tanah yang digunakan dalam *polybag* masuk dalam jenis tanah *inceptisol* diambil dari sekitar lingkungan Universitas Jember dengan asumsi kesuburan yang sama. Kondisi lingkungan tempat penanaman memiliki suhu rata-rata 25,8°C dengan kelembaban udara relative 81-95% (Climate-data, 2016). Dilakukan pemupukan NPK (1:1:1) yaitu setara dengan 1 g urea, 1,3 g SP36 dan 0,8 g KCL, selanjutnya dilakukan perawatan.



(a)

(b)

(c)

Gambar 3.2 Persiapan media tanam (a), pengujian kecambah (b) dan perawatan di greenhouse (c)

### 3.4.3 Tahap Analisis Hasil

Analisis hasil variabel pengamatan percobaan sebagai indikator dilakukan sesuai dengan metode dan waktu pengamatan yang telah ditentukan. Terdapat beberapa variabel pengamatan yang mendukung untuk menjawab permasalahan dan tujuan penelitian seperti morfologi tanaman, fisiologi tanaman, dan komposisi lemak produk biji kacang tanah.

#### 3.4.3.1 Pertumbuhan Tanaman

Pengamatan terhadap morfologi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan tanaman-tanaman hasil mutasi dengan tanaman kontrol sebagai pembading secara visual. Variabel pengamatan mengenai morfologi tanaman meliputi : tipe tumbuh, tinggi tanaman, jumlah daun, warna daun, jumlah cabang, volume akar, berat akar, awal muncul bunga, jumlah bunga, jumlah ginofor, warna ginofor, berat basah brangkasan, dan berat kering brangkasan. Metode pengamatan

1. Tinggi tanaman: Menggunakan mistar setiap 2 minggu sekali dengan cara mengukur panjang batang utama dari pangkal batang hingga titik tumbuh daun baru.
2. Jumlah daun: Dihitung secara manual dengan menggunakan *hand counter* setiap dua minggu sekali
3. Diameter batang: Diukur menggunakan jangka sorong sampling 3 batang pada saat panen.
4. Jumlah cabang: Dihitung secara manual dan dilakukan setiap 2 minggu sekali.
5. Volume akar: Diukur dengan menggunakan *beaker glass* yang diisi air penuh, kemudian akar dimasukkan dalam air. Air yang tumpah menggambarkan volume akar yang diukur menggunakan gelas ukur.
6. Warna daun: Pengukuran dengan menggunakan *munsell plant color chart* dan dibuat scoring berdasarkan warna daun yang diperoleh. Scoring dan deskripsi warna hijau daun (Ferguson, 2012) ditampilkan pada Gambar 3.3 dan Table 3.1.



Gambar 3.3 Range warna daun pada pengamatan menggunakan *munsell plant color chart*

Tabel 3.1 Deskripsi warna daun dari munsell color chart

Scoring Warna	Kode Warna Munsell	Deskripsi Warna
1	2,5GY5/8	Strong Yellow Green
2	2,5GY5/6	Moderate yellow green
3	5GY4/8	Deep Yellow Green
4	7,5GY4/6	Moderate Olive green
5	7,5GY4/4	Moderate olive green
6	7,5GY3/4	Moderate olive green
7	2,5G4/4	Dark Yellowish green
8	5G3/4	Dark Green
9	5G3/2	Very dark grayish green
10	2,5G3/4	Dark Yellowish green
11	2,5G3/2	Dark Grayish green

Sumber : Ferguson (2012).

7. Berat segar brangkasan: Pengukuran menggunakan timbangan analitik pada saat panen dan dilakukan pagi hari untuk mengurangi penguapan. Berat segar brangkasan dibedakan menjadi bagian akar dan tanaman bagian atas.
8. Berat kering brangkasan: cara kering anginkan seluruh bagian tanaman kemudian dilakukan pemanasan dengan oven selama 2-3 hari dengan suhu 60-80°C lalu dilakukan pengukuran menggunakan timbangan analitik.
9. Waktu awal berbunga: Pengamatan setiap hari hingga muncul bunga pada pertama kali.
10. Jumlah Bunga: Dilakukan pengamatan setiap pagi hari. Pengamatan dilakukan sekitar jam 07.00-09.00 yang merupakan waktu dimana bunga mekar, karena bunga kacang tanah dapat muncul setiap hari dan layu saat menjelang sore.
11. Jumlah ginofor: Dilakukan saat panen dengan menghitung semua ginofor baik yang membentuk polong maupun yang gagal membentuk polong.

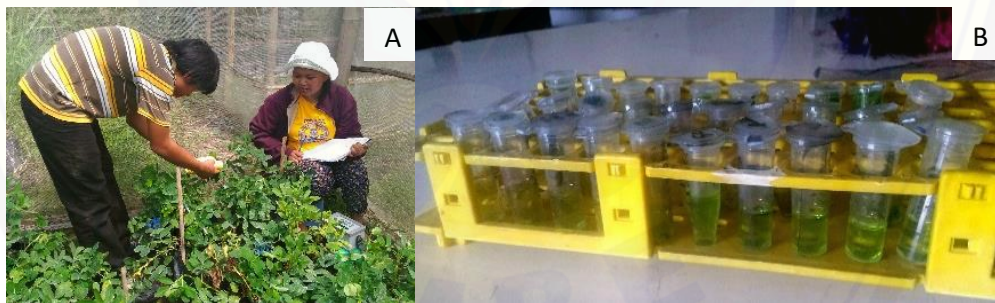


### 3.4.3.2 Fisiologi Tanaman

Pengamatan terhadap fisiologi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan karakter fisiologis tanaman-tanaman hasil mutasi dengan tanaman kontrol sebagai pembading. Variabel pengamatan mengenai fisiologi tanaman meliputi : laju fotosintesis dan kandungan klorofil.

1. Laju fotosintesis dilakukan pada fase vegetatif dan awal generatif dengan *Photosynthesis Yield Analyzer (Mini-PAM)*. Daun yang dipilih adalah daun dewasa sekitar daun ke 3 sampai ke 4 pada tanaman.
2. Analisa kandungan klorofil menggunakan daun ketiga dari kuncup yang dianggap merupakan daun dewasa. Daun ketiga dianggap produktif dan mampu menyuplai fotosintat bagi pertumbuhan dan hasil tanaman. Kandungan klorofil pada daun dilakukan pada fase vegetatif yaitu pada masa stationer pertumbuhan tanaman dengan metode Wintermans & de Motts (1965). Kandungan klorofil total, klorofil a dan klorofil b diperoleh dengan perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{Klorofil a} &= 13,7 \text{ D-665} - 5,76 \text{ D-649} \text{ (mg/l)} \\ \text{Klorofil b} &= 25,8 \text{ D-649} - 7,60 \text{ D-665} \text{ (mg/l)} \\ \text{Total klorofil} &= 20,0 \text{ D-649} + 6,10 \text{ D-665} \text{ (mg/l)} \end{aligned}$$



Gambar 3.4 Pengamatan indeks fotosintesis (A) dan analisis klorofil (B)

### 3.4.3.3 Analisis Hasil Tanaman

Analisis hasil atau produksi dilakukan pada saat panen dan pasca panen dengan mengukur hasil secara kuantitatif dan kualitatif. Secara kuantitatif dilakukan untuk mengetahui potensi produksi dari mutan-mutan yang terbentuk. Kuantitas hasil tanaman kacang tanah dilakukan dengan variabel pengamatan

seperti jumlah polong per-tanaman, berat polong/tanaman, jumlah biji per-polong, dan berat seratus biji.

1. Jumlah polong/tanaman: Perhitungan secara manual polong yang memiliki kondissi prima.
2. Berat polong /tanaman: Perhitungan menggunakan timbangan analitik pada seluruh polong yang dihasilkan.
3. Berat 100 biji: perhitungan dengan menggunakan timbangan analitik dengan memilih 10 biji secara random.
4. Jumlah biji/polong: pengamatan secara visual.

Sedangkan kualitas hasil merupakan tujuan dari mutasi pada kacang tanah yaitu untuk menghasilkan tanaman rendah lemak dari mutan-mutan yang berhasil dibentuk. Kualitas hasil diketahui dengan mengukur kadar air, kandungan lemak serta komposisi asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acid*) dan tak jenuh (*Mono UnSaturated Fatty Acid* dan *Poly UnSaturated Fatty Acid*) biji.

1. Kadar air biji diukur dengan cara biji kacang tanah yang sudah dikeringkan mencapai kadar air 9 % kemudian dilakukan pengeringan dengan oven hingga kering. Biji dihancurkan kemudian dilakukan pengeringan di oven pada suhu 60-70°C hingga tidak ada perubahan pada berat serbuk kacang. Bobot stabil menggambarkan sudah hampir tidak ada lagi kandungan air dalam produk. Kadar air biji diperoleh dengan cara selisih antara bobot segar biji dengan bobot oven stabil dibandingkan dengan bobot segar biji.
2. Lemak total biji diketahui dengan menggunakan metode *Soxhlet* (lampiran 1)
3. komposisi asam lemak biji diketahui dengan analisis menggunakan metode *Gas Chromatography* (Panagan *et al.*, 2011) (lampiran 2).



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Diperoleh mutan kacang tanah dengan perlakuan konsentrasi EMS 0,1% dan 0,4% sebagai mutan dengan volume akar terbaik, serta mutan EMS 0,2% dan 0,3% dengan indeks fotosintesis lebih baik dibandingkan dengan tanaman normal varietas Takar 2.
2. Beberapa konsentrasi EMS yang digunakan sebagai mutagen belum dapat menghasilkan mutan kacang tanah yang memiliki potensi hasil melebihi tanaman kontrol.
3. Didapatkan mutan dari varietas Takar 2 pada konsentrasi EMS 0,5% sebagai mutan dengan kadungan asam lemak jenuh terendah dan asam lemak tak jenuh jenis MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*) tertinggi, namun induksi mutasi pada seluruh konsentrasi cenderung meningkatkan kandungan asam lemak jenuh dan menurunkan kandungan asam lemak tak jenuh minyak biji kacang tanah dibandingkan dengan kontrol.

### 5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu:

1. Perlu pengamatan lanjutan secara molecular mengenai pengaruh EMS sebagai mutagen untuk lebih memastikan pengaruh mutasi terhadap taraf gen dari tanaman kacang tanah
2. Perlu pengembangan penelitian pada mutan kacang tanah yang memiliki kandungan asam lemak dengan rantai karbon panjang (C:22) yaitu jenis asam lemak *Erucic Acid* (C22:1n9) dan *Cis-13,16-Docosahexanoic Acid* (C22:2) masing-masing pada perlakuan 0,3%, 0,4% dan 0,5% EMS.

**DAFTAR PUSTAKA**

- AAK. 1989. Kacang Tanah. Kanisius (Anggota IKAPI). Yogyakarta
- Andaka, G. 2009. Optimasi Proses Ekstraksi Minyak Kacang Tanah Dengan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknologi*. Vol. 2 (1):80-88
- Animasaun, D. A., Oyedeji, S., Azeez, M. A., and Onasanya, A. O. 2014. Evaluation of the Vegetative and Yield Performances of Groundnut (*Arachis hypogaea*) Varieties Samnut 10 and Samnut 20 Treated With Sodium Azide. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4 (3): 1-10.
- Animasaun, D.A., Oyedeji, S., Azeez, M.A., and Onasanya, A.O. 2014. Alkylating Efficiency of Sodium Azide on Pod Yield, Nut Size and Nutrition Composition of Samnut 10 and Samnut 20 Varieties of Groundnut (*Arachis Hypogea L.*) *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 14 (7): 9497-9510.
- Ariraman, M., S. Gnanamurthy, D. Dhanavel, T. Bharathy and S. Murugan. 2014. Mutagenic Effect on Seed Germination, Seedling Growth and Seedling Survival of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). *International Letters of Natural Sciences* Vol.21:41-49
- Ayoola, P. B., Adeyeye, A., and Onawumi, O.O. 2012. Chemical Evaluation of Food Value of Groundnut (*Arachi Hypogaea*) Seeds. *American Journal of Food and Nutrition*, 2 (3): 55-57.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2014. *Produksi Tanaman Pangan Angka Ramalan 2014*. Badan Pusat Statistik. Jakarta
- Begum, T., dan Dasgupta, T. 2010. A comparison of the effects of physical and chemical mutagens in sesame (*Sesamum indicum L.*). *Genetics and Molecular Biology* Vol 33 (4): 761-766
- Berry, Shiv, K. 1982. Fatty Acid Composition of 16 Groundnut (*Arachis hypogaea*, L.) Cultivars grown under Malaysian Conditions. *Pertanika* Vol 5(1):20-24
- Burghate, S. K., Mishra, M. N., Chikhale, N. J., Mahalle, A.M., and Dhole, V.J. 2013. Impact of Mutagens its Efficiency and Effectiveness in Groundnut (*Arachis Hypogaea L.*). *Scholarly Journal of Agricultural Science*, 3 (7): 284-288
- Cartegni. 2002. Listening to Silence and Understanding Nonsense: Exonic Mutations That Affect Splicing. *Nature Reviews Genetics* Vol 3:285-298

- Climate data. 2016. Iklim: Jember. [Edisi Online] <http://id.climate-data.org/location/50421/> (diakses pada 17 mei 2016)
- Daryono, B. S. dan Rahmadani, W. D. 2009. Karakter Fenotipe Tanaman Krisan (*Dendranthema Grandiflorum*) Kultivar Big Yellow Hasil Perlakuan Kolkisin. *Jurnal Agrotropika*, 14(1): 15 – 18
- Devi, A.S., dan Mullainathan, L. 2011. Genotoxicity Effect of Ethyl Methanesulfonate on Root Tip Cells of Chilli (*Capsicum annuum L.*). *World Journal of Agricultural Sciences* 7 (4): 368-374
- Estiti, B.H. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Penerbit ITB. Bandung
- Eshun, G., Emmanuel Adu Amankwah, and John Barimah. 2013. Nutrients Content and Lipid Characterization of Seed Pastes of Four Selected Peanut (*Arachis Hypogaea*) Varieties from Ghana. *African Journal of Food Science*, 7 (10): 375-381
- Ferguson, J. 2012. *Color Name Diagrams for the Munsell Color Charts for Plant Tissues*. Dept. of Near and Middle Eastern Civilizations University of Toronto. Canada
- Gunasekaran, A and Pavadai, P. 2015. Studies on Induced Physical and Chemical Mutagenesis in Groundnut (*Arachis hypogia*). *International Letters of Natural Sciences* (8):25-35
- Hanafiah, D.S., Trikoesoemaningtyas, Sudirman Yahya, dan Desta Wirnas. 2011. Penggunaan Mikro Irradiasi Sinar Gamma untuk Meningkatkan Keragaman Genetik pada Varietas Kedelai Argomulyo [*Glycine max (L) Merr*]. *Jurnal natur Indonesia* 14 (1):80-85
- Hendriyanti, Ika. S, dan Setiari, N. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna Sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal sains dan Matematika* Vol. 17 (3):145-150
- Jabeen, N and Mirza, B. 2004. *Ethyl Methane Sulfonate* Induces Morphological Mutations in *Capsicum annuum*. *International Journal Of Agriculture & Biology*, 6 (2):340-345
- Kharade. M. R., S.V. Yamgar, and A.R. Phadtare. 2015. Studied on Effect of Mutagenesis in Groundnut to Induce Variability in Seed Quality Parameters (*Arachis Hypogaea L.*). *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science* Vol 8 (7):1-7

- Khalifa, A. dan Hamad, S. 2015. Hiding Secret Information in DNA Sequences Using Silent Mutations. *British Journal of Mathematics & Computer Science* 11(5): 1-11
- Kostik, V., Memeti, S., dan Bauer, B. 2008. Fatty Acid Composition of Edible Oils and Fats. *Journal of Hygienic Engineering and Design* UDC 664.3:577.115.3: 112-116
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. PT Rajagrafindo Persada. Jakarta, hal 24.
- Litbang Kabupaten Pati. 2012. *Strategi Pengembangan Kacang Tanah di Kabupaten Pati*. [Edisi Online] <http://litbang.patikab.go.id/> (diakses pada 12 Oktober 2015)
- Mba, C. 2013. Induced Mutations Unleash the Potentials of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. *Journal Agronomy*, (3):200-231
- Mondal, S. and Badigannavar, M. A. 2010. Induction of Genetic Variability for Fatty Acid Composition in A Large-Seeded Groundnut Variety Through Induced Mutagenesis. *Journal of Icrisat*, (8):1-8
- Mutation Enhanced Technologies for Agriculture (META). 2015. *Mutant Variety Database (MVD)* [Edisi Online] <http://mvgs.iaea.org/Search.aspx>[diakses pada tanggal 6 april 2015]
- Noverita, S. V., 2005. Pengaruh Pemberian Nitrogen dan Kompos Terhadap Komponen Pertumbuhan Tanaman Lidah Buaya (*Aloe Vera*). *Jurnal Penelitian bidang Ilmu Pertanian* Vol.3(3):95-105
- Panagan, A. T., Yohandini, H., dan Gultom, J. U. 2011. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Lemak Tak Jenuh Omega-3 dari Minyak Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) dengan Metoda Kromatografi Gas. *Jurnal Penelitian Sains*, 14 (4): 38-42
- Pratama, R.I., Awaluddin, M. Y., dan Ishmayana, S. 2011. Analisis Komposisi Asam Lemak yang Terkandung dalam Ikan Tongkol, Layur dan Tenggiri Dari Pameungpeuk, Garut. *Jurnal Akuatika*, 2 (2):1-10
- Prihatman, K. 2000. *Kacang Tanah (Arachis Hypogaeae L.)*. Sistim Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan. Proyek Pemd, Bappenas
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. 2015. *Deskripsi Varietas*. [EdisiOnline]<http://www.puslittan.bogor.net/index.php?bawaan=varietas/ge rbang&proses=daftarstok&varietas=1>[diakses pada tanggal 6 april 2015]



- Pusparini. 2006. Low Density Lipoprotein Padat Kecil sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis. *Universa Medicina*, 25 (1): 22-32
- Ristanti, E. Y. 2008. Potensi Lemak dan Minyak dari Tanaman Perkebunan Sebagai bahan Baku Material Pembawa dalam Sistem Penghantaran Obat. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 3 (2):61-68
- Rustini, N. K. D. dan Pharmawati, M. 2014. Aksi Ethyl Methane Sulphonate terhadap Munculnya Bibit dan Pertumbuhan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens L.*). *Jurnal Bioslogos*, 4 (1): 1-8
- Sales, R. L. Coelho, S. B., Costa, N. M. B., Bressan, B., Lyer, S., Boateng, L. A., Lokko, P., and Mattes, R. D. 2008. The Effect of Peanut Oil on Lipid Profile of Normolipidemic Adults: Athree-country Collaborative Study. *Journal of Applied Research*, 8 (2):216-225
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 2. Terjemahan. Penerbit ITB. Bandung
- Santosa, B. A. S. 2010. Inovasi Teknologi Defatting: Peluang Peningkatan Diversifikasi Produk Kacang Tanah dalam Industri Pertanian. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 3 (3): 199-211
- Saptowo, J Pardal. 2014. *Teknik Mutasi untuk Pemuliaan Tanaman*. Artikel [Edisi Online] <http://biogen.litbang.pertanian.go.id/index.php/2014/05/teknik-mutasi-untuk-pemuliaan-tanaman/> [diakses pada tanggal 6 april 2016]
- Sartika, R. D. A. 2008. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 2 (4): 154-160
- Sartika, R. D. A. 2009. Pengaruh Suhu dan Lama Proses Menggoreng (Deep Frying) terhadap Pembentukan Asam Lemak Trans. *Makara Sains*, 13 (1): 23-28
- Shad, M. A., Pervez, H., Zafar, Z. I., Nawaz, H., And Khan, H. 2012. Physicochemical Properties, Fatty Acid Profile and Antioxidant Activity of Peanut Oil. *Pak. J. Bot.*, 44 (1): 435-440
- Shu, Q.Y., Forster, B.P. dan nakagawa, H. 2011. *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome. Italy
- Silalahi, J. 2000. Hypocholesterolemic Factors in Food : A Review. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 7 (1): 26-35.
- Soim, A. 2015. *Sorotan: Kacang Tanah, SOS!*. Tabloid Sinar Tani. Jakarta



- Syahrullah, R. R., Assa, Y., dan Tiho, M. 2013. Gambaran Kadar High Density Lipoprotein Darah pada Laki-Laki Berusia 40-59 Tahun dengan Indeks Massa Tubuh  $\geq 23$  Kg/M<sup>2</sup>. *Jurnal e-Biomedik*, 1 (1):50-52
- Trustinah dan Kasno, A. 2012. Karakterisasi Kandungan Asam Lemak Beberapa Genotipe Kacang Tanah. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 31 (3): 145-151
- Tuminah, Sulistyowati. 2009. Efek Asam Lemak Jenuh dan Asam Lemak Tak Jenuh "Trans" Terhadap Kesehatan. *Artikel Media Penelit. dan Pengembang. Kesehat*, 19 (2):19-26
- Usmiati, S., dan Utami. T. 2008. Pengaruh Bakteri Probiotik Terhadap Mutu Sari Kacang Tanah Fermentasi. *Jurnal Pascapanen*, 5 (2): 27-36
- Wang, C. T., Yang, X. D., Tang, Y. Y., Zhang, J. C., Xu, J. Z., and Liu, G. Z. 2007. Ems-Induced Variations in Pod Characters of Peanut. *Electronic Journal Of Environmental Agricultural And Food Chemistry*, 6 (10): 2427-2433
- Wang, M. L., Barkley, N. A., Chen, Z., dan Pittman, R. N. 2011. FAD2 gene mutations significantly alter fatty acid profiles in cultivated peanuts (*Arachis hypogaea*). *Biochemical Genetics*, 49 (11): 748-759
- Wani, A.A. 2011. Induced Polygenic Variability for Quantitative Traits in Chickpea var. Pusa-372. *Comunicata Scientiae*, 2 (2): 100-106
- Wijaya, M. D., Wirajana, I. N. dan Yowani, S.C. 2014. Amplifikasi dan Identifikasi Mutasi pada Fragmen 0,5 Kb Gen rpoB Isolat 134 Mycobacterium Tuberculosis Multidrug Resistant dengan Metode Nested Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Kimia*, 8 (2):166-170
- Winangsih, Erma Prihastanti, dan Sarjana Parman. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.) *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 21 (1):19-25

## Lampiran 1. Metode Soxhlet

### Prinsip Analisis

Metode ini berlaku untuk penetapan kadar lemak bahan dan minyak dalam tanaman yang berkadar air rendah. Lemak adalah bagian bahan yang bebas terekstraksi oleh pelarut pada kondisi uji tertentu. Ekstraksi lemak dengan pelarut lemak seperti petroleumeter, petroleumbenzena, dietileter, aseton, methanol, dll. Berat lemak diperoleh dengan cara memisahkan lemak dengan pelarutnya (menguapkan pelarut dengan pemanasan). Ekstraksi lemak bebas dengan pelarut nonpolar, bagian bahan yang terekstrak dibagi contoh adalah kadar lemak yang ditentukan.

### Bahan dan Pereaksi

- a. Petroleum Benzene
- b. Thimble bebas lemak
- c. Kapas bebas lemak
- d. Batu didih

### Peralatan

- a. Neraca Analitik sampai ketelitian 0,1 g
- b. Labu lemak 250 ml
- c. Alat soxhlet
- d. Pemanas listrik
- e. Oven listrik 105 ° C
- f. Penangas air

### Cara Kerja

1. Contoh dihaluskan sampai cukup halus (<1 mm).
2. Timbang dengan teliti 2-4 g contoh, masukkan ke dalam thimble atau dan tutup rapat dengan kapas dijaga jangan sampai bocor.
3. Ekstrak dengan petroleum benzen dalam alat soxhlet selama 4 jam.
4. Atur suhu penangas air dimana labu didih dipanaskan pada suhu 60-70 ° C.
5. Masukkan thimble berisi contoh ke dalam soxhlet.
6. Labu lemak berisi batu didih yang digunakan sebelumnya telah diketahui bobot tetap (W1).

7. Sulingkan dan keringkan labu lemak yang berisi residu lemak atau minyak dalam oven pada suhu 105° C sampai tidak berbau pelarut selama 3 jam.
8. Dinginkan dalam desikator selama 30-45 menit
9. Timbang labu berisi minyak
10. Kerjakan blanko, lalu hitung dengan perhitungan:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{W1 - W2 - \text{Blk}}{W} \times 100 \%$$

Dimana :

W = bobot contoh dalam (g)

W1 = bobot labu + residu minyak telah  
sekstaksi dalam (g)

W2 = bobot labu sebelum ekstaksi dalam (g)

Blk = Berat blanko (g)

Catatan :

- Nilai blanko diperhitungkan untuk mengoreksi hasil analisis bila bobot blanko bertambah.
- Jika setelah pengeringan, bobot blanko berkurang maka nilai blanko diabaikan.

## Lampiran 2. Metode *Gas Chromatography*

### Prinsip Analisis

Pada dasarnya asam lemak dan gliserida penyusun ekstrak sampel diubah terlebih dahulu menjadi bentuk metil esternya menggunakan metanol dan Boron trifluorida ( $\text{BF}_3$ ) sebagai katalis. Bentuk metil ester asam lemak ini kemudian diinjeksikan kedalam alat GC-MS.

### Preparasi bahan

Biji kacang tanah dicuci sampai bersih, dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam sampai kering. Kemudian diiris tipis-tipis dan digerus/dihaluskan menggunakan blender. Setelah halus atau berbentuk serbuk, disimpan dalam eksikator untuk dilakukan uji selanjutnya.

### Ekstraksi minyak lemak

Ditimbang seksama kurang lebih 70 gram serbuk yang telah dihaluskan, dicampur dengan 5 gram  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat, dimasukkan ke longsong kertas dan longsong dimasukkan ke dalam labu Soxhlet. Penyari Soxhlet dirakit, kondensor diberi aliran air dingin kemudian tempat penyarian dialiri dengan pelarut petroleum eter 2 -3 kali sirkulasi. Penyarian selama 6 jam pada suhu tangas  $65^\circ \text{C}$  atau sampai warna pelarut tidak menunjukkan warna sampel lagi. Petroleum eter yang telah mengandung sari lemak dan minyak lemak, dikeringkan menggunakan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat, diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu  $35^\circ \text{C}$ . Minyak lemak yang diperoleh hasilnya dikumpulkan dan ditimbang untuk analisis selanjutnya.

### Analisis asam lemak dengan kromatografi gas

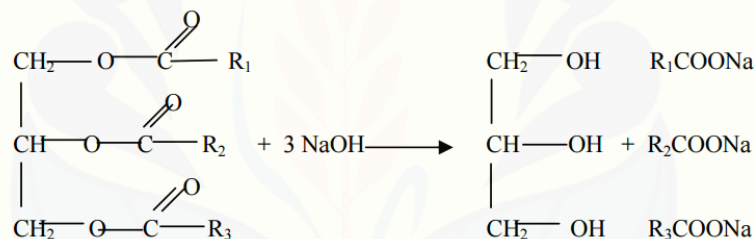
1. 50 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup kemudian ditambahkan ke dalam tabung 0,5 ml larutan  $\text{BF}_3$  dalam metanol 20%.
2. Tabung dipanaskan dalam tangas air pada suhu  $50^\circ \text{C}$  selama 10 menit untuk reaksi transesterifikasi, dari gliserida menjadi metilester asam lemak.
3. Didinginkan selama 15 menit dalam suhu kamar. Sampel yang telah jadi ester ditambah dengan 1,0 ml n-heksana dengan mikropipet, untuk menyari ester asam lemak. Digunakan 1,0  $\mu\text{l}$  fase n-heksana untuk diinjeksikan ke dalam kromatografi gas. Kromatografi ini dilengkapi dengan fase diam dietilen glikol suksinat (DEGS), sebanyak 15 % dengan pendukung Anakrom AW

70/80, dalam kolom spiral, panjang 2,5 m dan diameter bagian dalam 4,8 mm. Suhu tempat injeksi 215°C, suhu kolom 185°C dan detektor (Flame ionization) pada 210°C, kecepatan alir fase gerak (gas nitrogen) 40 ml per menit (Paradis dan Nawar, 1981 dalam Eni dan Sumarno, 2001).

#### Penetapan Analisis Asam Lemak

Dasar : Gliserida dan pospolipida tersabunkan sedangkan asam-asam lemak terpisah dan kemudian diesterifikasikan dengan adanya Boron trifluorida sebagai katalis. Metode ini cocok untuk asam lemak yang berasal dari binatang maupun tumbuhan. Senyawa yang tak tersabunkan tidak dipisahkan dan bila terdapat dalam jumlah yang besar dapat mengganggu hasil analisis.

Reaksi :



#### 2. Persiapan Metilasi Asam Lemak (IUPAC, 1987) dan AOCS Official Method Ce 1b-89, 1992

Ditimbang 0,2 gr lipid, tambahkan 2 ml larutan NaOH/metanol 0,5 N kemudian di vorteks. Panaskan penangas air pada suhu 100°C selama 20 menit lalu dinginkan. Setelah itu ditambahkan 2 ml BF<sub>3</sub>- metanol kemudian di vorteks. Panaskan dalam penangas air pada suhu 80°C, selama 20 menit, lalu di dinginkan. Selanjutnya ditambahkan 2 ml larutan heksan, kemudian di vorteks. Di diamkan sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan di atas diambil dengan menggunakan pipet tetes, kemudian dimasukkan ke dalam vial yang sudah diisi Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrous. Selanjutnya di hembus dengan N<sub>2</sub> untuk mengusir oksigen. Sampel kemudian disuntikkan pada kromatografi gas.



### 3. Pembuatan Standar

Ditimbang masing-masing 0,2 gr serbuk standar (asam lemak laurat, miristat, palmitat, kaprilat, kaproat, kaprat, oleat dan linoleat) kemudian ditambahkan NaOH /metanol 0,5 N 2 ml dan dipanaskan pada suhu 800 C selama 20 menit lalu didinginkan. Sebanyak 2 ml larutan BF<sub>3</sub> ditambahkan kemudian panaskan kembali pada suhu 800 C selama 20 menit, setelah itu sampel dibiarkan pada temperatur ruang selanjutnya ditambahkan larutan NaCl jenuh 2 ml dan 2 ml heksan kemudian divorteks agar merata sesudah itu diambil lapisan heksan. Standar siap untuk diinjeksi ke dalam kolom kromatografi gas yang telah dikondisikan. Analisis Kromatografi Gas Kondisi alat Kromatografi

Gas yang digunakan untuk asam lemak:

Jenis Alat : Hitachi-263.50

Detektor : Detektor Ionisasi Nyala

Jenis Kolom : Peking Isi

Kolom : DEGS (Dietilen Glikol Suksinat)

Suhu Awal : 1500 C

Suhu Akhir : 1800 C

Kenaikan : 50 C/menit Suhu

Injektor : 2000 C

Suhu Detektor : 2500 C

Volume Injek : 2 µl.

Laju Alir Nitrogen : 1 kg f/cm<sup>2</sup>

Laju Alir Hidrogen : 0,5 kg f/cm<sup>2</sup>

Hasil dari preparasi metilasi asam lemak kemudian diinjeksikan ke alat kromatografi gas yang telah di kondisikan. Kromatogram sampel kemudian di bandingkan dengan kromatogram standar. Analisis Data Analisis kuantitatif asam lemak dilakukan dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut

$$\% \text{ kadar Asam Lemak} = \frac{\text{konsentrasi asam lemak X}}{100 - \text{konsentrasi pelarut}} \times 100\%$$

## Lampiran 3. Data Hasil Analisis Anova Variabel Pengamatan

## Tinggi Tanaman

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	35.92	34.40	28.30	35.80	36.38	<b>33.60</b>	<b>170.79</b>
EMS 0,1%	37.33	27.36	37.86	30.60	43.75	<b>33.29</b>	<b>176.90</b>
EMS 0,2%	37.50	34.17	50.70	39.29	27.17	<b>40.41</b>	<b>188.82</b>
EMS 0,3%	45.00	29.50	24.33	32.80	27.89	<b>32.91</b>	<b>159.52</b>
EMS 0,4%	35.86	36.67	32.00	43.00	46.40	<b>36.88</b>	<b>193.92</b>
EMS 0,5%	38.67	36.57	42.60	50.80	21.80	<b>42.16</b>	<b>190.44</b>
<b>TOTAL</b>	<b>230.3</b>	<b>198.7</b>	<b>215.8</b>	<b>232.3</b>	<b>203.4</b>	<b>36.01</b>	<b>1080.40</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	178.86	35.77	0.64	2.06	2.7	ns
Galat	24	1343.43	55.9762				
Total	29	1522.29					

cv: 0.2077

sd: 3.7409

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 4.73

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	33.60		12.78	
EMS 0,1%	33.29	0.32	12.78	ns
EMS 0,2%	40.41	6.81	12.78	ns
EMS 0,3%	32.91	0.70	12.78	ns
EMS 0,4%	36.88	3.28	12.78	ns
EMS 0,5%	42.16	8.56	12.78	ns

## Jumlah Cabang

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	13	10	10	11	8	11.00	52.00
EMS 0,1%	6	11	7	10	8	8.50	42.00
EMS 0,2%	6	6	10	7	6	7.25	35.00
EMS 0,3%	13	8	9	5	9	8.75	44.00
EMS 0,4%	7	6	9	8	5	7.50	35.00
EMS 0,5%	6	7	5	5	5	5.75	28.00
<b>TOTAL</b>	<b>51.00</b>	<b>48.00</b>	<b>50.00</b>	<b>46.00</b>	<b>41.00</b>	<b>7.87</b>	<b>236.00</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	71.07	14.21	3.86	2.06	2.7	**
Galat	24	88.40	3.6833				
Total	29	159.47					

cv: 0.2440

sd: 0.9596

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 1.21

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	11.00		3.28	
EMS 0,1%	8.50	2.50	3.28	ns
EMS 0,2%	7.25	3.75	3.28	*
EMS 0,3%	8.75	2.25	3.28	ns
EMS 0,4%	7.50	3.50	3.28	*
EMS 0,5%	5.75	5.25	3.28	*

## Jumlah Daun

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	140.00	129.00	110.00	128.00	108.00	126.75	615.00
EMS 0,1%	91.00	122.00	102.00	124.00	110.00	109.75	549.00
EMS 0,2%	79.00	85.00	135.00	90.00	76.00	97.25	465.00
EMS 0,3%	130.00	63.00	90.00	73.00	108.00	89.00	464.00
EMS 0,4%	111.00	78.00	108.00	106.00	65.00	100.75	468.00
EMS 0,5%	86.00	90.00	85.00	85.00	45.00	86.50	391.00
<b>TOTAL</b>	<b>637.00</b>	<b>567.00</b>	<b>630.00</b>	<b>606.00</b>	<b>512.00</b>	<b>98.40</b>	<b>2952.00</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	6133.60	1226.72	2.99	2.06	2.7	**
Galat	24	9853.60	410.5667				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>15987.20</b>					

cv: 0.2059

sd: 10.1312

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5

2.70

Dunnet sd = 12.82

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	126.75		34.60	
EMS 0,1%	109.75	17.00	34.60	ns
EMS 0,2%	97.25	29.50	34.60	ns
EMS 0,3%	89.00	37.75	34.60	*
EMS 0,4%	100.75	26.00	34.60	ns
EMS 0,5%	86.50	40.25	34.60	*

## Diameter Batang

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	0.40	0.37	0.38	0.35	0.38	<b>0.375</b>	<b>1.883</b>
EMS 0,1%	0.37	0.37	0.40	0.40	0.48	<b>0.383</b>	<b>2.017</b>
EMS 0,2%	0.38	0.42	0.42	0.42	0.28	<b>0.409</b>	<b>1.920</b>
EMS 0,3%	0.45	0.34	0.33	0.37	0.42	<b>0.373</b>	<b>1.907</b>
EMS 0,4%	0.39	0.45	0.42	0.45	0.43	<b>0.428</b>	<b>2.147</b>
EMS 0,5%	0.37	0.41	0.38	0.47	0.35	<b>0.406</b>	<b>1.973</b>
<b>TOTAL</b>	<b>2.357</b>	<b>2.347</b>	<b>2.343</b>	<b>2.450</b>	<b>2.350</b>	<b>0.395</b>	<b>11.847</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	0.01	0.0019	1.01	2.06	2.7	ns
Galat	24	0.04	0.0019				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>0.05</b>					

cv: 0.1097

sd: 0.0217

Perlakuan	Tabel dunnet 95%, db=24, t=5			Notasi
	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	
Kontrol	0.38		0.074	
EMS 0,1%	0.38	0.008	0.074	ns
EMS 0,2%	0.41	0.034	0.074	ns
EMS 0,3%	0.37	0.003	0.074	ns
EMS 0,4%	0.43	0.053	0.074	ns
EMS 0,5%	0.41	0.031	0.074	ns



## Volume Akar

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	7.00	5.00	3.50	4.50	8.50	<b>5.00</b>	<b>28.50</b>
<b>EMS 0,1%</b>	8.50	7.50	11.00	13.50	12.50	<b>10.13</b>	<b>53.00</b>
<b>EMS 0,2%</b>	7.50	8.00	9.50	8.50	8.00	<b>8.38</b>	<b>41.50</b>
<b>EMS 0,3%</b>	7.00	10.00	5.00	8.50	7.50	<b>7.63</b>	<b>38.00</b>
<b>EMS 0,4%</b>	12.00	9.50	8.00	12.50	11.50	<b>10.50</b>	<b>53.50</b>
<b>EMS 0,5%</b>	10.50	7.50	8.00	7.00	3.00	<b>8.25</b>	<b>36.00</b>
<b>TOTAL</b>	<b>52.50</b>	<b>47.50</b>	<b>45.00</b>	<b>54.50</b>	<b>51.00</b>	<b>8.35</b>	<b>250.50</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	97.47	19.50	4.58	2.06	2.7	**
Galat	24	102.10	4.2542				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>199.58</b>					

cv: 0.2470

sd: 0.9224

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Tabel dunnet 95%, db=24, t=5	
			Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	5.00		3.522	
EMS 0,1%	10.13	5.125	3.522	*
EMS 0,2%	8.38	3.375	3.522	ns
EMS 0,3%	7.63	2.625	3.522	ns
EMS 0,4%	10.50	5.500	3.522	*
EMS 0,5%	8.25	3.250	3.522	ns

## Warna Daun

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	5.67	5.33	5.33	5.33	5.00	<b>5.42</b>	<b>26.67</b>
<b>EMS 0,1%</b>	5.33	4.67	3.67	6.00	2.67	<b>4.92</b>	<b>22.33</b>
<b>EMS 0,2%</b>	4.00	5.67	5.33	5.67	5.33	<b>5.17</b>	<b>26.00</b>
<b>EMS 0,3%</b>	3.67	4.33	4.00	6.00	5.33	<b>4.50</b>	<b>23.33</b>
<b>EMS 0,4%</b>	5.33	4.67	5.33	4.67	2.33	<b>5.00</b>	<b>22.33</b>
<b>EMS 0,5%</b>	4.33	2.33	5.67	3.67	4.00	<b>4.00</b>	<b>20.00</b>
<b>TOTAL</b>	<b>28.3</b>	<b>27.0</b>	<b>29.3</b>	<b>31.3</b>	<b>24.7</b>	<b>4.7</b>	<b>140.7</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	6.25	1.25	1.21	2.06	2.7	ns
Galat	24	24.84	1.04				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>31.1</b>					

cv: 0.2170

sd: 0.455

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 0.64

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	5.42		1.74	
EMS 0,1%	4.92	0.50	1.74	ns
EMS 0,2%	5.17	0.25	1.74	ns
EMS 0,3%	4.50	0.92	1.74	ns
EMS 0,4%	5.00	0.42	1.74	ns
EMS 0,5%	4.00	1.42	1.74	ns

**Berat Segar Tanaman**

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	305.27	277.31	219.31	288.35	274.71	<b>272.56</b>	<b>1364.95</b>
<b>EMS 0,1%</b>	241.10	237.45	247.08	224.60	279.97	<b>237.56</b>	<b>1230.20</b>
<b>EMS 0,2%</b>	201.15	195.00	329.11	245.15	132.30	<b>242.60</b>	<b>1102.71</b>
<b>EMS 0,3%</b>	290.18	171.10	203.94	175.40	214.80	<b>210.16</b>	<b>1055.42</b>
<b>EMS 0,4%</b>	216.90	218.19	237.97	280.34	180.74	<b>238.35</b>	<b>1134.14</b>
<b>EMS 0,5%</b>	229.67	203.28	195.94	266.33	117.03	<b>223.81</b>	<b>1012.25</b>
<b>TOTAL</b>	<b>1484.3</b>	<b>1302.3</b>	<b>1433.4</b>	<b>1480.2</b>	<b>1199.6</b>	<b>229.99</b>	<b>6899.67</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F- hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	16608.77	3321.75	1.48	2.06	2.7	ns
Galat	24	53738.22	2239.09				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>70346.99</b>					

cv: 0.2057

sd: 21.1617

Tabel dunnet 95%, db=24,

t=5

2.70

Dunnet sd = 29.93

Perlakuan	Rata-rata	[Ems- K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	272.56		80.80	
EMS 0,1%	237.56	35.00	80.80	ns
EMS 0,2%	242.60	29.96	80.80	ns
EMS 0,3%	210.16	62.40	80.80	ns
EMS 0,4%	238.35	34.21	80.80	ns
EMS 0,5%	223.81	48.75	80.80	ns

## Berat Kering Tanaman

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	69.24	74.76	53.37	75.55	74.86	<b>68.23</b>	<b>347.76</b>
<b>EMS 0,1%</b>	62.36	57.97	70.61	56.08	72.33	<b>61.75</b>	<b>319.33</b>
<b>EMS 0,2%</b>	53.91	52.68	82.71	65.13	34.99	<b>63.60</b>	<b>289.40</b>
<b>EMS 0,3%</b>	51.21	57.58	58.43	50.74	52.10	<b>54.49</b>	<b>270.04</b>
<b>EMS 0,4%</b>	57.50	60.89	64.61	77.02	55.01	<b>65.00</b>	<b>315.01</b>
<b>EMS 0,5%</b>	58.44	57.17	48.05	68.32	28.91	<b>57.99</b>	<b>260.87</b>
<b>TOTAL</b>	<b>352.6</b>	<b>361.0</b>	<b>377.8</b>	<b>392.8</b>	<b>318.2</b>	<b>60.08</b>	<b>1802.43</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F- hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	1084.02	216.80	1.71	2.06	2.7	ns
Galat	24	3039.14	126.63				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>4123.16</b>					

cv: 0.1873

sd: 5.0325

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 7.12

Perlakuan	Rata-rata	[Ems- K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	68.23		19.22	
EMS 0,1%	61.75	6.47	19.22	ns
EMS 0,2%	63.60	4.62	19.22	ns
EMS 0,3%	54.49	13.74	19.22	ns
EMS 0,4%	65.00	3.22	19.22	ns
EMS 0,5%	57.99	10.24	19.22	ns

**Klorofil Total**

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	19.36	17.13	19.46	17.95	20.20	<b>18.48</b>	<b>94.10</b>
<b>EMS 0,1%</b>	12.73	17.90	18.96	15.45	8.68	<b>16.26</b>	<b>73.72</b>
<b>EMS 0,2%</b>	14.82	18.53	16.95	19.38	13.98	<b>17.42</b>	<b>83.67</b>
<b>EMS 0,3%</b>	19.71	15.98	16.56	17.20	16.74	<b>17.36</b>	<b>86.18</b>
<b>EMS 0,4%</b>	16.66	20.02	19.51	20.86	17.09	<b>19.26</b>	<b>94.13</b>
<b>EMS 0,5%</b>	20.06	18.06	17.79	17.26	16.71	<b>18.29</b>	<b>89.88</b>
<b>TOTAL</b>	<b>103.34</b>	<b>107.62</b>	<b>109.24</b>	<b>108.09</b>	<b>93.40</b>	<b>17.39</b>	<b>521.68</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	59.53	11.91	2.28	2.06	2.7	*
Galat	24	125.46	5.2273				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>184.98</b>					

cv: 0.1315

sd: 1.0225

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 1.45

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	18.48		3.90	
EMS 0,1%	16.26	2.22	3.90	ns
EMS 0,2%	17.42	1.05	3.90	ns
EMS 0,3%	17.36	1.12	3.90	ns
EMS 0,4%	19.26	0.79	3.90	ns
EMS 0,5%	18.29	0.18	3.90	ns



**Klorofil A**

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	13.2	11.97532	13.3	12.23516	13.64254	<b>12.66</b>	<b>64.28</b>
<b>EMS 0,1%</b>	8.8232	12.27984	13.1	10.46722	6.17082	<b>11.18</b>	<b>50.89</b>
<b>EMS 0,2%</b>	10.38408	12.77896	11.8	13.22842	9.76088	<b>12.04</b>	<b>57.92</b>
<b>EMS 0,3%</b>	13.55224	11.10256	11.4	11.91118	11.39338	<b>12.00</b>	<b>59.40</b>
<b>EMS 0,4%</b>	11.61756	13.63382	13.3	14.25702	11.81886	<b>13.21</b>	<b>64.64</b>
<b>EMS 0,5%</b>	13.48172	12.4349	12.1	11.84704	11.4323	<b>12.46</b>	<b>61.28</b>
<b>TOTAL</b>	<b>71.03</b>	<b>74.21</b>	<b>75.01</b>	<b>73.95</b>	<b>64.22</b>	<b>11.95</b>	<b>358.41</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	25.75	5.15	2.30	2.06	2.7	*
Galat	24	53.78	2.2410				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>79.54</b>					

cv: 0.1253

sd: 0.6695

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi
	Kontrol	12.66		3.90
EMS 0,1%	11.18	1.48	3.90	ns
EMS 0,2%	12.04	0.86	3.90	ns
EMS 0,3%	12.00	0.04	3.90	ns
EMS 0,4%	13.21	1.20	3.90	ns
EMS 0,5%	12.46	0.74	3.90	ns

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 0.95

**Klorofil B**

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	6.21	5.18	6.23	5.74	6.58	<b>5.84</b>	<b>29.94</b>
<b>EMS 0,1%</b>	3.92	5.64	5.84	5.00	2.52	<b>5.10</b>	<b>22.92</b>
<b>EMS 0,2%</b>	4.46	5.77	5.21	6.18	4.24	<b>5.40</b>	<b>25.85</b>
<b>EMS 0,3%</b>	6.18	4.89	5.13	5.31	5.37	<b>5.38</b>	<b>26.88</b>
<b>EMS 0,4%</b>	5.06	6.41	6.22	6.63	5.29	<b>6.08</b>	<b>29.60</b>
<b>EMS 0,5%</b>	6.60	5.65	5.73	5.43	5.30	<b>5.85</b>	<b>28.71</b>
<b>TOTAL</b>	<b>32.43</b>	<b>33.54</b>	<b>34.37</b>	<b>34.28</b>	<b>29.30</b>	<b>5.46</b>	<b>163.91</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	7.14	1.43	2.22	2.06	2.7	*
Galat	24	15.45	0.6439				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>22.59</b>					

cv: 0.1469

sd: 0.3589

Dunnet Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70  
sd = 0.51

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	5.84		3.90	
EMS 0,1%	5.10	0.74	3.90	ns
EMS 0,2%	5.40	0.30	3.90	ns
EMS 0,3%	5.38	0.02	3.90	ns
EMS 0,4%	6.08	0.70	3.90	ns
EMS 0,5%	5.85	0.23	3.90	ns

## Indeks Fotosintesis

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	424.67	427.67	425.00	426.67	426.00	<b>426.00</b>	<b>2130.00</b>
<b>EMS 0,1%</b>	422.33	430.00	435.33	431.33	424.00	<b>429.75</b>	<b>2143.00</b>
<b>EMS 0,2%</b>	438.33	435.00	456.33	427.33	438.00	<b>439.25</b>	<b>2195.00</b>
<b>EMS 0,3%</b>	448.33	428.00	445.00	440.67	438.33	<b>440.50</b>	<b>2200.33</b>
<b>EMS 0,4%</b>	421.67	431.67	442.00	442.67	438.67	<b>434.50</b>	<b>2176.67</b>
<b>EMS 0,5%</b>	438.67	432.00	423.33	437.00	431.33	<b>432.75</b>	<b>2162.33</b>
<b>TOTAL</b>	<b>2594</b>	<b>2584</b>	<b>2627</b>	<b>2606</b>	<b>2596</b>	<b>434</b>	<b>13007</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	790.12	158.02	2.99	2.06	2.7	**
Galat	24	1270.31	52.9296				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>2060.43</b>					

cv: 0.0168

sd: 3.2536

Dunnet Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70  
sd = 4.60

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	426.00		12.42	
EMS 0,1%	429.75	3.75	12.42	ns
EMS 0,2%	439.25	13.25	12.42	*
EMS 0,3%	440.50	14.50	12.42	*
EMS 0,4%	434.50	8.50	12.42	ns
EMS 0,5%	432.75	6.75	12.42	ns

## Jumlah Bunga

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	162	168	155	139	127	<b>156.00</b>	<b>751.00</b>
<b>EMS 0,1%</b>	76	162	93	116	154	<b>111.75</b>	<b>601.00</b>
<b>EMS 0,2%</b>	122	102	150	95	52	<b>117.25</b>	<b>521.00</b>
<b>EMS 0,3%</b>	131	148	144	83	157	<b>126.50</b>	<b>663.00</b>
<b>EMS 0,4%</b>	149	101	207	216	70	<b>168.25</b>	<b>743.00</b>
<b>EMS 0,5%</b>	96	101	83	189	70	<b>117.25</b>	<b>539.00</b>
<b>TOTAL</b>	<b>736.0</b>	<b>782.0</b>	<b>832.0</b>	<b>838.0</b>	<b>630.0</b>	<b>127.3</b>	<b>3818.0</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	9852.27	1970.45	1.16	2.06	2.7	ns
Galat	24	40617.60	1692.40				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>50469.9</b>					

cv: 0.3232

sd: 18.398

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Tabel dunnet 95%, db=24, t=5	
			Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	156.00		70.25	
EMS 0,1%	111.75	44.25	70.25	ns
EMS 0,2%	117.25	38.75	70.25	ns
EMS 0,3%	126.50	29.50	70.25	ns
EMS 0,4%	168.25	12.25	70.25	ns
EMS 0,5%	117.25	38.75	70.25	ns

## Jumlah Ginofor

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	133	94	84	76	99	<b>96.75</b>	<b>486.0</b>
<b>EMS 0,1%</b>	52	99	84	96	89	<b>82.75</b>	<b>420.0</b>
<b>EMS 0,2%</b>	82	53	122	59	40	<b>79.00</b>	<b>356.0</b>
<b>EMS 0,3%</b>	95	44	85	47	105	<b>67.75</b>	<b>376.0</b>
<b>EMS 0,4%</b>	113	61	110	103	39	<b>96.75</b>	<b>426.0</b>
<b>EMS 0,5%</b>	58	49	47	137	29	<b>72.75</b>	<b>320.0</b>
<b>TOTAL</b>	<b>533.0</b>	<b>400.0</b>	<b>532.0</b>	<b>518.0</b>	<b>401.0</b>	<b>79.47</b>	<b>2384.0</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	3468.27	693.65	0.75	2.06	2.7	ns
Galat	24	22161.20	923.38				
Total	29	25629.47					

cv: 0.3824

sd: 13.5896

Dunnet Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70  
sd = 19.22

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	96.75		51.89	
EMS 0,1%	82.75	14.00	51.89	ns
EMS 0,2%	79.00	17.75	51.89	ns
EMS 0,3%	67.75	29.00	51.89	ns
EMS 0,4%	96.75	0.00	51.89	ns
EMS 0,5%	72.75	24.00	51.89	ns



## Jumlah Polong

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	36	35	34	35	29	35	169
EMS 0,1%	26	34	18	27	26	26	131
EMS 0,2%	21	22	34	34	22	28	133
EMS 0,3%	36	15	46	27	39	31	163
EMS 0,4%	24	24	16	34	29	25	127
EMS 0,5%	32	29	26	34	16	30	137
<b>TOTAL</b>	<b>175</b>	<b>159</b>	<b>174</b>	<b>191</b>	<b>161</b>	<b>29</b>	<b>860</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	322.27	64.45	1.20	2.06	2.7	ns
Galat	24	1294.40	53.9333				
Total	29	1616.67					

cv: 0.2562

sd: 3.2843

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70  
Dunnet sd = 4.64

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	35.000		12.541	
EMS 0,1%	26.250	8.750	12.541	ns
EMS 0,2%	27.750	7.250	12.541	ns
EMS 0,3%	31.000	4.000	12.541	ns
EMS 0,4%	24.500	10.500	12.541	ns
EMS 0,5%	30.250	4.750	12.541	ns

## Berat Biji per Tanaman

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	8.79	19.83	12.15	25.70	17.41	<b>16.62</b>	<b>83.9</b>
<b>EMS 0,1%</b>	10.83	9.00	12.44	3.38	17.08	<b>8.91</b>	<b>52.7</b>
<b>EMS 0,2%</b>	10.83	13.72	10.97	17.44	9.31	<b>13.24</b>	<b>62.3</b>
<b>EMS 0,3%</b>	2.70	26.77	17.03	21.33	9.80	<b>16.96</b>	<b>77.6</b>
<b>EMS 0,4%</b>	10.32	19.81	18.08	24.31	24.33	<b>18.13</b>	<b>96.9</b>
<b>EMS 0,5%</b>	13.81	20.65	9.57	14.31	10.22	<b>14.59</b>	<b>68.6</b>
<b>TOTAL</b>	<b>57.3</b>	<b>109.8</b>	<b>80.2</b>	<b>106.5</b>	<b>88.2</b>	<b>14.73</b>	<b>441.9</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	250.36	50.07	1.36	2.06	2.7	ns
Galat	24	886.12	36.92				
Total	29	1136.48					

cv: 0.4125

sd: 2.7174

Dunnet Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70  
sd = 3.84

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	16.62		10.38	
EMS 0,1%	8.91	7.71	10.38	ns
EMS 0,2%	13.24	3.38	10.38	ns
EMS 0,3%	16.96	0.34	10.38	ns
EMS 0,4%	18.13	1.51	10.38	ns
EMS 0,5%	14.59	2.03	10.38	ns

## Berat 10 Biji

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	4.03	5.74	5.49	6.34	6.33	<b>5.40</b>	<b>27.9</b>
<b>EMS 0,1%</b>	5.33	4.18	4.97	3.24	6.56	<b>4.43</b>	<b>24.3</b>
<b>EMS 0,2%</b>	5.57	6.08	4.72	5.72	5.24	<b>5.52</b>	<b>27.3</b>
<b>EMS 0,3%</b>	4.20	6.12	5.59	5.65	3.05	<b>5.39</b>	<b>24.6</b>
<b>EMS 0,4%</b>	5.04	6.56	6.89	6.44	5.15	<b>6.23</b>	<b>30.1</b>
<b>EMS 0,5%</b>	5.26	5.69	4.60	4.82	5.21	<b>5.09</b>	<b>25.6</b>
<b>TOTAL</b>	<b>29.4</b>	<b>34.4</b>	<b>32.3</b>	<b>32.2</b>	<b>31.5</b>	<b>5.33</b>	<b>159.8</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	4.96	0.99	1.14	2.06	2.7	ns
Galat	24	20.94	0.87				
Total	29	25.90					

cv: 0.1753

sd: 0.4177

Dunnet Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70  
sd = 0.59

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	5.40		1.59	
EMS 0,1%	4.43	0.97	1.59	ns
EMS 0,2%	5.52	0.12	1.59	ns
EMS 0,3%	5.39	0.01	1.59	ns
EMS 0,4%	6.23	0.83	1.59	ns
EMS 0,5%	5.09	0.31	1.59	ns

**Kadar Air Biji**

Perlakuan	ULANGAN					rata-rata	Total
	I	II	III	IV	V		
<b>Kontrol</b>	60%	52%	52%	39%	44%	<b>0.51</b>	<b>2.47</b>
<b>EMS 0,1%</b>	56%	53%	56%	60%	45%	<b>0.56</b>	<b>2.70</b>
<b>EMS 0,2%</b>	50%	47%	51%	53%	50%	<b>0.50</b>	<b>2.51</b>
<b>EMS 0,3%</b>	62%	44%	43%	40%	59%	<b>0.47</b>	<b>2.48</b>
<b>EMS 0,4%</b>	53%	37%	48%	41%	37%	<b>0.45</b>	<b>2.15</b>
<b>EMS 0,5%</b>	53%	39%	53%	44%	38%	<b>0.47</b>	<b>2.26</b>
<b>TOTAL</b>	<b>3.33</b>	<b>2.72</b>	<b>3.03</b>	<b>2.77</b>	<b>2.72</b>	<b>0.49</b>	<b>14.57</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	0.04	0.01	1.50	2.06	2.7	ns
Galat	24	0.12	0.0051				
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>0.16</b>					

cv: 0.1463

sd: 0.0318

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 0.04

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi 5%
Kontrol	0.507		0.121	
EMS 0,1%	0.563	0.056	0.121	ns
EMS 0,2%	0.503	0.004	0.121	ns
EMS 0,3%	0.473	0.034	0.121	ns
EMS 0,4%	0.446	0.060	0.121	ns
EMS 0,5%	0.470	0.037	0.121	ns

**Kandungan Lemak Total**

Perlakuan	ULANGAN				rata-rata	Total
	I	II	III	IV		
<b>Kontrol</b>	40	66	47	42	<b>49.05</b>	<b>196.21</b>
<b>EMS 0,1%</b>	46	46	45	42	<b>44.67</b>	<b>178.69</b>
<b>EMS 0,2%</b>	48	41	43	40	<b>42.79</b>	<b>171.16</b>
<b>EMS 0,3%</b>	41	51	38	58	<b>47.10</b>	<b>188.39</b>
<b>EMS 0,4%</b>	35	37	31	32	<b>33.60</b>	<b>134.41</b>
<b>EMS 0,5%</b>	39	42	32	55	<b>41.90</b>	<b>167.59</b>
<b>TOTAL</b>	<b>248.5</b>	<b>283.1</b>	<b>236.4</b>	<b>268.3</b>	<b>43.2</b>	<b>1036.5</b>

## Analisis Sidik Ragam

Sd	db	JK	KT	F-hitung	5%	1%	Notasi
Perlakuan	5	582.36	116.47	2.05	2.101	2.878	ns
Galat	18	1023.58	56.87				
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>1605.9</b>					

cv: 0.1746

sd: 3.770

Perlakuan	Rata-rata	[Ems-K]	Nilai tabel 5%	Notasi
				5%
Kontrol	49.05		14.40	
EMS 0,1%	44.67	4.38	14.40	ns
EMS 0,2%	42.79	6.26	14.40	ns
EMS 0,3%	47.10	1.95	14.40	ns
EMS 0,4%	33.60	15.45	14.40	*
EMS 0,5%	41.90	7.15	14.40	ns

Tabel dunnet 95%, db=24, t=5 2.70

Dunnet sd = 5.33