Peran Teknologi Induksi Mutasi dalam Pemuliaan Tanaman Pakan Ternak

(The Role of Mutation Induction Technology in Forage Breeding)

Achmad Fanindi dan Harmini

Balai Penelitian Ternak, Jl. Veteran III, PO. BOX 221 Ciawi Bogor, Indonesia
Kontributor utama: *Hmini2011@gmail.com*

(Diterima 16 Agustus 2021 – Direvisi 8 November 2021 – Disetujui 17 Desember 2021)

ABSTRACT

Mutation induction in breeding is one of many ways to improve the character of a plant, including forage crops. Formation of new variety of forage plants, especially grass is still very rare in Indonesia due to several obstacles, including the flower structure, ploid and reproductive systems of forage plants. Mutation induction in breeding as a method of producing new varieties of forage plants (grass and legume) can be utilized by eliminating the constraints in forage plants, because it can create new variety without being restricted by floral structure and reproductive system of plant. The paper aims to describe the mutation breeding and its methods on forage plants and its prospect to obtain new varieties of superior forage plants to meet the needs of forage in Indonesia. A number of factors, including mutation technique, mutagenic type, seed and other factors, are determining the success of mutational breeding. The creation of new types of forage plants by mutation-induction is aiming to increase productivity, improve forage performances and resist abiotic and biotic stress. Mutation breeding is expected to produce new varieties of superior forage plants in a relatively shorter time, because forage plants can be propagated in a vegetative or generative manner. It is expected that the assembly of new varieties of forage plants can meet the needs of forage in quantity and quality.

Key words: Forage, breeding, mutation, superior variety

ABSTRAK

Induksi Mutasi dalam pemuliaan merupakan salah satu cara untuk memperbaiki karakter suatu tanaman, termasuk tanaman pakan ternak. Pembentukan varietas baru tanaman pakan ternak, terutama rumput pakan masih jarang dilakukan di Indonesia, karena beberapa kendala diantaranya struktur bunga, ploidy dan sistem reproduksi. Pemuliaan mutasi dapat dijadikan sebagai salah satu metode untuk menghasilkan varietas tanaman pakan (rumput dan legum) baru dengan menghilangkan kendala yang terdapat pada tanaman pakan, karena pemuliaan mutasi dapat menghasilkan keragaman secara cepat, tanpa terkendala adanya struktur bunga maupun sistem reproduksi tanaman pakan. Makalah ini bertujuan menguraikan tentang pemuliaan mutasi dan metodenya pada tanaman pakan ternak dan prospeknya untuk menghasilkan kultivar baru tanaman pakan ternak unggul untuk memenuhi kebutuhan hijauan di Indonesia. Keberhasilan pemuliaan mutasi ditentukan oleh beberapa hal diantaranya teknik mutasi, jenis mutagen, benih dan faktor lainnya. Pembentukan varietas baru tanaman pakan melalui induksi mutasi diarahkan pada peningkatan produktivitas, perbaikan arsitektur tanaman dan ketahanan terhadap cekaman abiotik dan biotik. Pemuliaan mutasi diharapkan dapat menghasilkan varietas baru tanaman pakan yang unggul dalam waktu yang relatif cepat, karena tanaman pakan dapat dikembangkan secara vegetatif maupun generatif. Perakitan varietas baru tanaman pakan diharapkan dapat memenuhi kebutuhan pakan hijauan secara kuantitas maupun kualitas.

Kata kunci: Tanaman pakan ternak, pemuliaan, mutasi, varietas unggul

PENDAHULUAN

Kegiatan induksi mutasi dalam pemuliaan tanaman di dunia telah menghasilkan berbagai varietas, dan lebih dari 3200 varietas mutan telah dirilis sebagai varietas komersial dari 210 spesies tanaman di sekitar 70 negara. Sebagian besar varietas mutan yang dirilis terdiri dari sereal (49,5%), tanaman hias (21,9%) dan kacang-kacangan (15%). Selain itu dihasilkan juga varietas mutan tanaman pakan, walaupun dalam porsi yang masih kecil, yaitu sekitar 1,2%. Negara penghasil

mutan terbesar berada di wilayah Asia disusul Eropa dan Amerika utara (IAEA 2021). Induksi mutasi dalam pemuliaan di Indonesia telah menghasilkan kultivar-kultivar baru pada tanaman utama, seperti padi (Lestari et al. 2015) (Rahayu et al. 2013), termasuk padi lokal (Yunus et al. 2017) (Warman et al. 2015), kedelai (Asadi 2013), gandum (Amin et al. 2014), serta tanaman hias (Handayati 2013), sedangkan pemuliaan mutasi pada tanaman pakan ternak (TPT) belum banyak dilakukan karena kegiatan pemuliaan TPT secara umum belum banyak dilakukan.

Terbatasnya pemuliaan TPT di Indonesia menyebabkan masih jarang varietas TPT unggul baru yang dihasilkan, (PVTTP 2021). Beberapa pemuliaan TPT yang telah dilakukan diantaranya sorgum pakan (Wahyono et al. 2018); penggunaan dosis radiasi sinar gamma pada rumput *Brachiaria* (Respati et al. 2018) dan rumput benggala di lahan masam (Fanindi et al. 2019). Sebagian besar TPT yang ada dan dikembangkan oleh peternak merupakan varietas introduksi yang telah lama berkembang di Indonesia. Selain itu kegiatan eksplorasi untuk mengidentifikasi dan mengkoleksi plasma nutfah sebagai sumber keragaman TPT jarang dilakukan. Sumber keragaman yang rendah menjadi salah satu kendala dalam melakukan seleksi, selain itu pemuliaan TPT sangat kompleks karena jumlah spesies yang banyak, cara reproduksi dan sistem perkawinannya, serta variabel korelasi genetik antara spesies TPT (Resende 2013). Salah satu alternatif untuk menghasilkan keragaman pada tanaman pakan ternak (TPT) adalah melakukan pemuliaan mutasi.

Pemuliaan mutasi pada TPT di Indonesia, ditujukan untuk mendapatkan keragaman dalam waktu yang relatif singkat. Keragaman menjadi modal dalam pelaksanaan kegiatan pemuliaan serta memudahkan pemulia untuk menseleksi karakter-karakter TPT sesuai dengan tujuan yang diinginkan, terutama untuk menghasilkan kultivar baru TPT unggul. Pemuliaan mutasi juga dapat digunakan sebagai alternatif untuk memecahkan masalah yang ada di tanaman pakan ternak seperti adanya *self-incompatibility* dengan menghambat penyerbukan (Manzanares et al. 2016) sehingga sulit untuk melakukan persilangan secara konvensional. Kegiatan pemuliaan mutasi di Indonesia dapat dilakukan karena adanya dukungan fasilitas di Badan Atom Nasional (BATAN). Dalam tulisan ini dilakukan kajian untuk mendukung keberhasilan pemuliaan mutasi dan prospeknya untuk menghasilkan kultivar baru TPT unggul di Indonesia sehingga dapat memenuhi kebutuhan hijauan di Indonesia.

PEMULIAAN MUTASI

Pemuliaan mutasi pertama kali disampaikan oleh (Freisleben & Lein 1944), merujuk pada induksi yang disengaja dalam mengembangkan galur mutan untuk memperbaiki tanaman. Istilah ini juga digunakan dalam arti yang lebih luas termasuk eksploitasi dan mutan spontan, serta dalam setiap pengembangan varietas yang memiliki mutasi dari sumber apapun. Istilah pemuliaan mutasi menjadi populer karena menerangkan bagaimana usaha pemulia dan teknik-teknik khusus yang mereka gunakan dalam menciptakan dan memanfaatkan variasi yang diinginkan untuk mengembangkan galur unggul dan varietas budidaya (Foster & Shu 2011).

Metode pemuliaan mutasi untuk merakit varietas baru, dilakukan dengan cara menghasilkan dan memanfaatkan variabilitas genetik melalui mutagenesis kimia dan fisik. Pemuliaan mutasi merupakan salah satu dari tiga pilar pemuliaan tanaman modern, selain pemuliaan melalui rekombinan dan transgenik. Pemuliaan mutasi lebih mengeksplorasi kemajuan dalam genomik untuk memilih galur yang diinginkan secara genotif dibandingkan fenotif (Shu et al. 2012). Pemuliaan mutasi cukup unik dalam beberapa aspek sehingga sangat penting untuk memahami prinsip dan aplikasi pemuliaan mutasi dalam perbaikan tanaman. Beberapa prinsip pengertian yang perlu diperhatikan dalam pemuliaan mutasi diantaranya adalah mutagenesis, mutasi dan mutan.

Mutagenesis adalah proses dimana informasi genetik suatu organisme diubah secara stabil atau proses dimana mutasi itu dihasilkan. Hal ini terjadi karena adanya kesalahan dalam perbaikan DNA, mutagenesis dapat dilakukan dengan cara fisik, kimia dan biologis. Mutasi awalnya didefinisikan sebagai perubahan tiba-tiba yang diwariskan dalam materi genetik yang tidak disebabkan oleh rekombinasi atau segregasi. Perubahan tiba-tiba digunakan untuk membedakan antara perubahan halus yang dapat dijelaskan oleh proses rekombinasi yang normal. Namun, mutasi pada tingkat sekuens gen (genotipe) dapat menyebabkan perubahan fenotip yang kecil dan halus yang mungkin tidak segera terlihat dan ini sekarang dapat dideteksi menggunakan teknik molekuler (Shu et al. 2012).

Mutasi berkaitan dengan materi genetik, sehingga setiap bagian seluler yang di dalamnya terdapat DNA seperti nukleus, mitokondria dan plastida dapat terjadi mutasi. Mutasi telah diklasifikasikan oleh para peneliti, salah satunya adalah menurut Van Harten (1998) yang membagi klasifikasi menjadi 1) inti dan ekstra-inti mutasi, 2) mutasi spontan dan buatan, 3) makro dan mikro mutasi, 4) mutasi fenotipik. Klasifikasi mutasi yang lebih sederhana dan menarik bagi pemulia saat ini digolongkan menjadi mutasi yang terjadi di DNA pada inti sel (nukleus) dan pada organel sitoplasma. Mutasi pada inti sel terbagi menjadi mutasi di genom, kromosom dan gen (Lundqvista et al. 2011).

Mutasi gen biasanya terjadi pada jumlah dan komposisi gen, sedangkan mutasi kromosom biasanya terjadi pada set kromosom. Perubahan pada set kromosom ini disebut *aneuploid*, termasuk di dalamnya adalah terjadi penambahan atau pengurangan satu atau lebih kromosom atau bagian kromosom. Mutasi genom biasanya disebut juga sebagai mutasi ploidi, biasanya terjadi pengurangan pada jumlah ploidi seperti dari diploid menjadi haploid. Mutasi genom juga bisa terjadi dengan bertambahnya ploidi (*polyploidy*), baik terjadinya duplikasi (*autopolyploid*) atau penambahan genom (*allopolyploid*). Contoh tanaman yang mengalami

poliploidy adalah pada tanaman pisang, semangka dan apel (*triploid*) dan tanaman lainnya.

Individu tanaman yang terjadi mutasi disebut mutan dan dapat diidentifikasi menggunakan cara molekuler atau secara fenotipe. Berbagai jenis mutan dapat dihasilkan menggunakan mutagenesis buatan, atau dikenal dengan induksi mutasi (Shu et al. 2012). Agen mutagenik yang digunakan untuk mutasi induksi disebut mutagen, sehingga faktor apapun yang meningkatkan frekuensi mutasi di atas level spontan disebut sebagai mutagen. Secara umum mutagen yang digunakan terbagi menjadi 2 grup besar, yaitu mutagen fisik dan kimia (Maluszynski et al. 2017).

Mutagen fisik

Penggunaan mutagen fisik selama 80 tahun terakhir, terutama sinar gamma dan radiasi pengion lain seperti partikel alfa, beta dan neutron banyak digunakan untuk menghasilkan keragaman pada tanaman, dan sekitar 70% dari varietas mutan yang dihasilkan dirakit menggunakan mutagen fisik (Mba et al. 2012). Radiasi pengion merupakan radiasi elektromagnetik yang memiliki panjang gelombang dan karakteristik yang berbeda. Panjang gelombang sinar gamma 0,001 nm, sinar X 10 nm dan radiasi ultra violet 100-300 nm. Radiasi ini akan mengakibatkan kerusakan pada komponen seluler dan menginduksi perubahan DNA. Efek ini disebut dengan efek langsung, karena terjadi interaksi langsung antara energi langsung dengan DNA. Selain efek langsung, radiasi juga mengakibatkan efek tidak langsung pada abnormalitas DNA, dimana DNA akan berinteraksi dengan molekul yang sangat reaktif seperti ion, radikal bebas, atau molekul tereksitasi, yang dihasilkan oleh energi dari radiasi pengion. Sekitar 65% kerusakan DNA disebabkan oleh radikal hidroksil, sisanya diakibatkan oleh ionisasi langsung. Radiasi pengion ini dapat menyebabkan abnormalitas DNA secara luas yang akan muncul pada fenotipe akibat terjadinya mutasi gen dan penyimpangan kromosom (Maluszynski et al. 2017).

Sinar gamma dan sinar X merupakan mutagen fisik yang sering digunakan secara luas. Sinar gamma biasanya diperoleh dari peluruhan radioisotop Cobalt (Co^{60}), Cesium (Cs^{137}) dan sedikit Plutonium (Pu^{239}). Sumber-sumber sinar gamma yang mengandung salah satu radioisotop itu biasanya dipasang sebagai *irradiator gamma cell* (Mba 2013). Sinar-sinar yang berasal dari sumber radioaktif seperti Co^{60} dan Cs^{137} , menjadi umum digunakan secara luas, karena tersedia di banyak negara-negara berkembang melalui kerjasama dengan IAEA (Pathirana 2011). Sinar gamma memiliki efek langsung akibat deposit energi pengion dan efek tidak langsung dengan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) (Fan et al. 2014). Jika

ROS dan molekul abnormal yang dihasilkan oleh ionisasi ini meningkat dan menumpuk di dalam sel, dapat mengakibatkan kerusakan signifikan pada struktur sel dan kematian sel (Nishiguchi et al. 2012). Mutagen fisik selain sinar gamma atau sinar- X, diantaranya adalah neutron dan sinar ultraviolet (UV). Iradiasi neutron mempengaruhi struktur DNA, merusak basa nitrogen, substitusi nukleotida tunggal, serta terjadi penyisipan dan duplikasi gen (Li et al. 2016).

Penggunaan mutagen fisik ini terus berkembang, penggunaan sinar ion (*ion beam*) baik melalui implantasi atau iradiasi menjadi jenis mutagen fisik baru yang efisien dan menghasilkan variasi fenotip yang signifikan pada tanaman (Dong et al. 2016). Ion bermuatan positif dipercepat pada kecepatan tinggi (sekitar 20% - 80% dari kecepatan cahaya) dan membentuk radiasi linear energi transfer (LET). Nilai LET pada *ion beam* lebih tinggi dan memiliki deposit energi lebih tinggi jika dibandingkan sinar gamma (Tanaka et al 2015), sehingga dosis yang rendah pada *ion beam* akan memberikan efek yang besar jika dibandingkan dengan sinar gamma (Miyagi et al 2018). Radiasi LET ini menyebabkan efek biologis yang signifikan, seperti kerusakan kromosom (Liu et al 2013).

Perkembangan selanjutnya dari penggunaan mutagen fisik adalah dengan mempelajari seluk-beluk induksi mutasi di ruang angkasa, dengan mengirim bahan tanaman ke luar angkasa. Percobaan ini mengasumsikan bahwa lingkungan khusus ruang angkasa, seperti radiasi kosmik, gaya berat mikro, medan geomagnetik yang lemah dan faktor lainnya dapat menjadi agen potensial induksi mutasi (Kharkwal 2012). Contoh percobaan mutasi di luar angkasa ini adalah percobaan yang dilakukan oleh Shun-wu (2013) yang menemukan adanya keragaman pada tinggi dan waktu berbunga padi varietas Huhan 3 dan 7 setelah bijinya dibawa ke ruang angkasa. Namun, demikian pengetahuan tentang genetika yang mendasari mutagenesis *aerospace* masih perlu dipelajari lebih banyak.

Dosis yang tepat merupakan faktor penting dalam iradiasi dan dosis ini tergantung pada faktor intensitas radiasi dan durasi paparan. Jenis paparan bisa berbentuk kronis atau akut sehingga kualitas mutasi tidak selalu berkorelasi positif dengan tingkat dosis. Oleh karena itu, hal terpenting dalam mutasi adalah menentukan dosis yang tepat untuk suatu tanaman (Ulukapi & Ozmen 2018). Dosis iradiasi yang sering direkomendasikan adalah dosis yang mengurangi pertumbuhan dan kinerja morfogenik sampai 50% (LD_{50}) dibandingkan dengan kontrol (Suprasanna et al. 2011).

Dosis LD_{50} dipilih karena dapat menyebabkan sejumlah besar mutasi di setiap tanaman. Namun demikian dosis ini bisa mengakibatkan taraf mutasi

yang diinginkan hilang, karena terjadi kematian pada tanaman atau kinerja agronomi yang buruk secara turun-temurun setelah mutagenesis. Oleh karena itu, tingkat mutasi menggunakan taraf LD yang lebih rendah (mis. LD₂₀) dengan tingkat kelangsungan hidup 80% tampaknya lebih tepat untuk pemuliaan mutasi pada spesies tanaman (Oladosu et al. 2015). Dosis mutagenik untuk menambahkan sifat-sifat baru ke latar belakang genetik yang sudah berkualitas tinggi, seperti varietas atau galur pemuliaan elit harus agak rendah (Suprasanna et al. 2011).

Mutagen kimia

Mutagen kimia menjadi populer karena mudah digunakan dan tanpa memerlukan fasilitas yang rumit, serta menghasilkan mutasi lebih banyak dibandingkan dengan modifikasi yang tidak diinginkan (Gnanamurthy et al. 2014). Mutagen kimia cenderung menginduksi mutasi gen, polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) daripada mutasi kromosom. Mutagen kimia yang paling banyak digunakan adalah kelompok zat alkilasi, senyawa ini bereaksi dengan DNA dengan cara alkilasi kelompok fosfat serta purin dan pirimidin. Lebih dari 80% varietas tanaman mutan baru yang terdaftar di *International Atomic Energy Database Asosiasi* (IAEA) yang diperoleh melalui mutagenesis kimia diinduksi oleh agen alkilasi. Dari jumlah tersebut, tiga senyawa yang banyak digunakan adalah: etil metana sulfonat (EMS), 1-metil-1-nitrosourea dan 1-etil-1-nitrosourea.

Etil metana-sulfonat (EMS) secara selektif memurnikan purin khususnya guanin yang menyebabkan basa timin di atas residu sitosin yang berlawanan dengan O-6-etil guanin selama replikasi, yang menghasilkan mutasi titik secara acak (Sikora et al. 2011). Penggunaan EMS juga dapat meningkatkan sifat-sifat penting secara agronomis, seperti peningkatan laju fotosintesis pada daun dan pengurangan sel interveinal mesofil (Feldman et al. 2014). Mutan yang dihasilkan melalui induksi EMS telah menghasilkan tanaman toleran kekeringan (Mohapatra et al. 2014) dan efisiensi fotosistem II yang lebih tinggi (Poli et al. 2013), mutagenesis EMS juga digunakan dalam studi genetika terbalik untuk mengidentifikasi fungsi gen (Xu et al. 2017).

Mutagen kimia yang sering digunakan selain EMS adalah N-methyl-N-nitrosourea (MNU) dan sodium azide. Mutagen MNU adalah agen alkilasi monofungsional dan menghasilkan reaktivitas tinggi dengan atom oksigen dalam molekul DNA. Mutasi dimulai dengan penambahan gugus alkil ke basa nitrogen, terutama guanin dan sitosin. Induksi MNU, mendorong transisi G/C ke A/T melalui ketidaksesuaian dengan timin selama replikasi DNA (Viana et al. 2019). Penggunaan MNU pada tanaman

ditujukan untuk meningkatkan hasil (Itoh et al. 2017), peningkatan nilai nutrisi dan metabolisme tanaman (Sakata et al. 2016). Mutagen *sodium azide* adalah senyawa ionik yang melakukan mutasi melalui metabolit organik (analog dengan L-azidoalanine) dari senyawa azida yang dihasilkan oleh enzim O-asetilserin sulfhidrilase (Gruszka et al. 2012). Metabolit ini memasuki inti sel dan berinteraksi dengan DNA, menciptakan mutasi titik dalam genom. *Sodium azide* pada padi menyebabkan transisi dari G/C ke A/T dan sekuens serupa di lokasi mutasi diidentifikasi sebagai 5'-GGR-3 (Tai et al. 2016). Mutagen kimia selain EMS dan MNU adalah *colchicine*, berfungsi untuk menggandakan kromosom atau dikenal dengan meningkatkan ploidi, peningkatan ploidi cenderung meningkatkan hasil, karena terjadinya peningkatan organ tanaman (Viana et al. 2019). Peningkatan ploidi juga cenderung meningkatkan toleransi tanaman padi di lahan salin (Tu et al. 2014).

Faktor yang mempengaruhi efektivitas penggunaan mutagen kimia adalah konsentrasi mutagen, lamanya perendaman dan suhu di mana percobaan dilakukan. Selain itu, penyimpanan yang tepat untuk mutagen kimia menjadi hal penting untuk diperhatikan. Mutagen kimia umumnya bersifat karsinogenik sehingga perlu penanganan yang lebih baik, untuk melindungi kesehatan selama melakukan penelitian.

Penggunaan mutagen fisik dan kimia

Penggunaan mutagen fisik maupun mutagen kimia memiliki kelebihan dan kekurangan. Salah satu keuntungan utama menggunakan mutagenesis fisik dibandingkan dengan mutagenesis kimia adalah tingkat akurasi dan reproduktifitas yang tinggi, terutama untuk sinar gamma, yang memiliki daya tembus yang seragam dalam jaringan (Yamaguchi et al. 2003).

Namun demikian, penggunaan mutagen fisik maupun kimia, mempunyai peranan penting dalam meningkatkan keragaman pada spesies tanaman, karena pada mutasi spontan, frekuensi mutasi yang terjadi sangat rendah (Stearns & Fenster 2016). Mutasi induksi juga memungkinkan keragaman kultivar, yang penting secara ekonomi dengan hanya merubah beberapa gen yang diinginkan dengan tetap mempertahankan gen penting atau *genetic background* tanaman tersebut (Pérez-Jiménez & Pérez-Tornero 2020).

Pemikiran awal mengenai jenis mutagen fisik dan kimia adalah menyebabkan hasil yang beda terhadap proses mutasi yang dihasilkan. Mutagen kimia biasanya ditujukan untuk mutasi yang sifatnya tidak menghasilkan perubahan yang besar atau dikenal dengan mutasi titik, sedangkan mutagen fisik diperuntukan untuk perubahan mutasi yang sifatnya besar, seperti perubahan kromosom. Namun fakta

sekarang, menunjukkan bahwa perubahan mutasi tersebut ditentukan oleh dosis dan paparan, bukan dari jenis mutagen itu sendiri. Sehingga penentuan dosis yang optimal untuk melakukan mutasi induksi menjadi lebih penting ketika akan melakukannya dalam skala yang lebih luas (Mba 2013).

Keberhasilan teknik mutasi menggunakan mutagen fisik dan kimia tidak hanya ditentukan oleh jenis dari mutagennya, namun lebih ditentukan oleh dosis dan paparan mutagen tersebut, selain itu penggunaan jenis mutagen juga lebih ditentukan oleh tujuan dari mutasi yang akan dilakukan.

PEMULIAAN MUTASI PADA TPT

Teknik mutasi dapat dilakukan untuk memperbaiki TPT sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Pemuliaan mutasi dilakukan untuk menghasilkan varietas unggul TPT dilihat dari aspek, berikut: peningkatan produksi/hasil panen, toleransi terhadap cekaman biotik maupun abiotik, peforman/bentuk tanaman, reproduksi tanaman dan sifat agronomi lainnya.

Peningkatan produksi/hasil panen

Pemuliaan mutasi digunakan oleh para peneliti untuk meningkatkan produksi tanaman atau hasil panen. Potensi hasil yang tinggi dan stabil dalam kondisi lingkungan tertentu merupakan tujuan yang penting dalam program pemuliaan tanaman. Produksi tanaman/hasil panen merupakan sifat yang kompleks dan sangat dipengaruhi oleh sifat lain, sehingga agak sulit untuk meningkatkan potensi hasil panen yang baik pada tanaman yang sebelumnya merupakan hasil pemuliaan tanaman yang intensif. Namun bagi spesies

baru untuk pertanian atau yang dihasilkan dari pemuliaan yang terbatas seperti tanaman obat, herba atau TPT, dapat ditingkatkan potensi hasilnya dengan membentuk ideotipe tanaman yang baru, misal dengan merubah tinggi tanamannya (Shu et al. 2012).

Peningkatan hasil panen akibat pemuliaan mutasi pada TPT dapat dilihat pada Tabel 1. Tanaman pakan ternak yang dimutasi menunjukkan peningkatan produktivitas hijauan. Peningkatan produktivitas akibat induksi mutasi bervariasi antar spesies TPT. Rumput benggala (*Panicum maximum*) yang diinduksi sinar gamma mengalami peningkatan sekitar 79% jika dibandingkan dengan kontrolnya sedangkan rumput gajah yang diradiasi menggunakan sinar gamma mengalami peningkatan produksi hijauan sebesar 25,11%. Hal ini menunjukkan bahwa mutagenesis adalah alat yang potensial untuk digunakan dalam perbaikan produktivitas tanaman pakan ternak.

Peningkatan ketahanan TPT terhadap cekaman biotik

Pemuliaan mutasi merupakan salah satu metode untuk memperoleh TPT yang tahan terhadap cekaman biotik. Mejri et al. (2018) melaporkan bahwa penggunaan teknik radiasi menggunakan sinar gamma telah menghasilkan genotipe baru kacang Babi (*Vicia faba* L) yang tahan terhadap parasit tanaman *Broomrape* (*Orobanchae* spp). Ketahanan ini diakibatkan oleh meningkatnya aktivitas peroksidase, polifenol oksidase dan ammonia-lyase fenilalanin pada kacang babi yang memperoleh induksi sinar gamma pada dosis rendah (150 gy). Penggunaan radiasi juga dapat menurunkan infeksi mikroorganisme pada tanaman *Tall fescue* (Amirikhaha et al. 2019).

Tabel 1. Peningkatan produksi beberapa spesies tanaman pakan ternak melalui mutasi

Spesies TPT	Produksi		Peningkatan (%)	Mutagen	Benih yang dimutasi	Referensi
	Tanpa mutasi	Mutasi				
<i>Brachiaria brizantha</i> (ton/ha)	0,69	2,55	269	Sinar gamma	biji	Respati et al. 2018
Rumput benggala (<i>Panicum maximum</i>) (g/rumpun)	26,47	47,61	79,86	Sinar gamma	biji	Fanindi et al. 2016
Rumput gajah (segar) (g/rumpun)	438	548	25,11	EMS	setek	Munasik et al. 2012
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) (g/pohon)	185,63	211,34	13,85	Sinar gamma	biji	Shen et al. 2020
Bahia grass (<i>Paspalum notatum</i> cv Argentine) (g/rumpun)	0,91	1,64	80,22	Sinar gamma	biji	Rios et al. 2013

Penggunaan mutasi untuk menghasilkan genotipe tahan terhadap cekaman biotik, juga diduga karena radiasi sinar gamma berpengaruh terhadap jalur biosintesis tanaman, sehingga mengakibatkan terakumulasinya metabolit sekunder yang merupakan representatif dari ketahanan tanaman terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Vardhan & Shukla 2017).

Stres biotik terutama penyakit disebabkan oleh jamur, bakteri, virus, sementara kerusakan pada tanaman disebabkan oleh hama seperti serangga, hewan, nematoda dan gulma. Metode pemuliaan mutasi telah cukup berhasil dalam meningkatkan ketahanan terhadap penyakit tanaman. Penyakit melibatkan interaksi yang kompleks antara tanaman inang dan patogen. Mutasi diinduksi dapat mengubah interaksi dan menghambat langkah-langkah tertentu dalam mekanisme infeksi. Banyak mutan telah dikembangkan melalui induksi mutasi, Rekayasa genetika memiliki peluang besar untuk memperbaiki sifat tanaman seperti ketahanan terhadap hama dan penyakit tanaman. Teknik rekayasa genetika telah digunakan dalam upaya perbaikan sifat tanaman untuk ketahanan terhadap cekaman biotik (Herman 2010). *Genome editing* merupakan teknologi terbaru untuk merakit tanaman unggul tahan terhadap hama penyakit tanaman (Bahagiawati et al. 2019). Stress biotik dapat diatasi dengan bioteknologi seperti, mutagenesis *in vitro* serta transformasi genetika. (Roy et al. 2016).

Peningkatan toleransi TPT terhadap cekaman abiotik

Cekaman abiotik merupakan kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi tanaman, seperti salinitas tanah, pH ekstrim, kekurangan dan kelebihan air, serta iklim. Respon tanaman terhadap stress abiotik berbeda-beda. Pendekatan yang digunakan dalam program ini terkadang cukup sederhana. Sebagai contoh, tanaman M2 padi ditaburkan di sawah salin tinggi dan kalus M1 ditransplantasikan pada medium dengan konsentrasi garam tinggi (Lee et al. 2003) untuk menghasilkan galur mutan yang toleran salin. Pendekatan yang lebih kompleks perlu dilakukan ketika saat ini terjadi ancaman pemanasan global dan perubahan iklim karena akan memaksa tanaman beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Salah satu langkah yang dapat dilakukan adalah eksplorasi sumber daya genetika (SDG) yang dilanjutkan dengan perakitan varietas unggul baru tanaman pakan ternak (TPT) adaptif pada perubahan iklim (Harmini & Fanindi 2020).

Beberapa gen berperan dalam mekanisme toleran cekaman abiotik. Sebagai contoh gen prekursor MicroRNA156 (miR156) pada alfalfa mampu meningkatkan kandungan protein dan produksi biomassa pada kondisi stress kekeringan dan

peningkatan kadar garam (Wang et al. 2021), sementara gen TaSnRK2 pada gandum mampu meningkatkan produksi biji dengan beberapa toleransi stress, sehingga seleksi dengan bantuan penanda harus dilakukan untuk meningkatkan frekuensi alel yang menguntungkan pada perbaikan gandum (MIAO et al. 2021). Pada kondisi stress tekanan osmotik pada bibit jagung Gen ZmATG8 dan ZmATG12 melakukan aktivasi transkripsi sehingga membuka peluang studi lebih lanjut tentang protein ATG (Tejeda et al. 2020).

Pemilihan metode pemuliaan *in vitro* untuk mendapatkan tanaman toleran abiotik tergantung pada variasi somaklonal yang dihasilkan (Maleki et al. 2019). Metode selain *in vitro*, penentuan sensitivitas benih terhadap iradiasi sinar gamma harus akurat untuk menentukan dosis yang sesuai dalam menghasilkan mutan yang diinginkan (Pérez-Jiménez et al. 2020). Sejumlah besar genotipe yang memiliki potensi bermanfaat telah dihasilkan baik dari penelitian pemuliaan mutasi maupun program pemuliaan konvensional dan tersedia dalam koleksi plasma nutfah, seperti toleransi terhadap dingin, panas, panjang hari dan kekeringan.

Kualitas nutrisi

Kualitas TPT biasanya mengacu pada komposisi senyawa organik yang diproduksi dan disimpan oleh tanaman, seperti pati, protein, asam lemak, vitamin, maupun senyawa yang lain. Pemuliaan tanaman berpengaruh terhadap pengembangan varietas yang meningkatkan nutrisi dan akan memperbaiki produktivitas ternak (Kingston-Smith et al. 2013). Disamping hasil, nilai nutrisi dari tanaman pakan ternak (TPT) adalah tujuan utama dari pemuliaan tanaman. Pada legum indikator peningkatan kualitas melalui pemuliaan adalah peningkatan kandungan protein dan pencernaan bahan kering, namun perlu diperhatikan kandungan karbohidrat struktural (NDF dan ADF) dan non struktural (pati) (Vasiljevic et al. 2009). Pemuliaan pada *red clover* (*Trifolium pretense* L.) berkorelasi positif dengan keragaan agronomis dan kualitas tanaman kecuali kandungan NDF dan ADF dalam bahan kering (Tucak et al. 2013). Sorgum mutan (G5 dan G8) hasil iradiasi sinar gamma mempunyai kandungan NDF (52,56 dan 53,25%), ADF (30,53 dan 31,39%) dibanding varietas lokal Pahat NDF dan ADF masing-masing 50,18 dan 27,14% yang berpengaruh terhadap produksi gas optimal dan pencernaan *in vitro* dibanding varietas lokal (Wahyono et al. 2019). Biosintesis lignin di alam dapat meningkatkan kompleksitas karena stress dari faktor biotik maupun abiotik yang berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Moura et al. 2010). Ratan sorgum hasil mutan mempunyai kandungan bahan kering yang lebih rendah dibanding tanaman utama

(Vinutha et al. 2017). Untuk meningkatkan kualitas dan hasil TPT, penelitian ke depan perlu melibatkan genomik dan bioinformatik melalui pengeditan gen (Capstaff & Miller 2018). Perbaikan produksi tanaman dan perbaikan pencernaan dinding sel tidak hanya berhubungan dengan pencernaan dinding sel, tetapi juga berhubungan dengan genetik tanaman secara komprehensif (Barrière et al. 2005).

Morfologi tanaman

Morfologi tanaman merupakan aspek yang penting dalam pemuliaan tanaman. Jumlah cabang pada tajuk yang tinggi dengan pertumbuhan yang baik, serta pertumbuhan kembali yang tinggi memiliki persistensi yang tinggi pada tanaman pakan ternak (Van Minnebruggen et al. 2011). Pada awal pembungaan, tanaman membutuhkan suhu lebih rendah dan ketersediaan air, sehingga kekurangan air akan berpengaruh terhadap performa tanaman, *light interception*, biomassa dan kandungan biji (Trethewey 2015). Panjang daun merupakan faktor yang dapat mempengaruhi produksi hijauan. Panjang daun sangat dipengaruhi oleh lingkungan mikro, termasuk interaksinya dengan organ lain, sehingga perlu diestimasi nilai (Barre et al. 2015). Arsitektur akar

yang berbeda berpengaruh terhadap strategi pertumbuhan akar tanaman yang terkait dengan kemampuan tanaman dalam menerima dan menyumbangkan N (Pirhofer-Walzl et al. 2012). Jumlah cabang, pola percabangan dan diameter akar dikendalikan oleh faktor genetik yang kompleks yang akan memodulasi pertumbuhan dan respon perkembangan dalam menanggapi faktor lingkungan (Manikanta et al. 2020). Pada *Medicago sativa* pengaruh lingkungan memiliki dampak yang lebih besar terhadap kualitas tanaman dibanding faktor genetik (Pecetti et al. 2017). Perubahan morfologi akibat mutasi sinar gamma juga terjadi pada rumput gajah cv Taiwan (Gambar 1). Perubahan morfologi terjadi pada tinggi tanaman, ukuran batang dan jumlah anakan yang lebih banyak (Harmini et al. 2020)

Maturity

Panen pada fase *maturity* (dewasa generatif) menyebabkan penurunan pada kualitas hijauan kandungan PK dan TDN (Turk & Albayrak 2019). Waktu panen yang tepat sorgum untuk silase adalah sebelum masak fisiologis karena mempunyai kandungan bahan kering yang tinggi dan produksi CO₂ rendah (Atis et al. 2013). Pada fase awal berbunga dan

Gambar 1. Perubahan morfologi rumput gajah cv Taiwan setelah mendapatkan radiasi sinar gamma (koleksi pribadi Balitnak)

berbunga pada pemotongan pertama, TPT mempunyai kecernaan bahan kering tertinggi (Østrem et al. 2013). Pengembangan varietas yang lebih cepat masak pada kedelai mampu meningkatkan produksi biji dan pakan ternak sebesar 2,2% (Tefera et al. 2009). Jagung hibrida mempunyai kandungan nutrisi dan karakteristik agronomi yang berbeda, pada awal *maturity* berat biji, kecernaan bahan kering, kecernaan NDF nya lebih tinggi pada jagung hibrida dibandingkan dengan jagung biasa, serta dapat meningkatkan performa ternak (Hetta et al. 2012).

Peran induksi mutasi dalam menghasilkan tanaman yang memiliki *maturity* lebih awal/genjah telah banyak dilaporkan. Varietas barley Mari dari Swedia merupakan salah satu varietas hasil mutan yang genjah (Shu et al. 2012). Varietas genjah sangat penting pada daerah-daerah subtropis atau daerah kering, karena memungkinkan tanaman untuk berproduksi lebih awal sebelum terjadi musim dingin/es atau musim kering. Penggunaan induksi mutasi juga dilakukan untuk menghasilkan tanaman-tanaman genjah di Indonesia seperti pada kedelai (Asadi 2013), padi lokal (Warman et al. 2015); (Haris et al. 2017) dan (Sobrizal 2017). Induksi mutasi pada TPT untuk tanaman genjah, ditujukan agar tanaman lebih cepat dalam pertumbuhan dan produksi hijauannya lebih tinggi. Induksi mutasi memungkinkan untuk mendapat varietas TPT yang genjah, karena terbukti bisa menghasilkan varietas tanaman lain yang genjah. Induksi mutasi untuk memperoleh TPT genjah juga dapat diarahkan pada TPT yang menghasilkan benih dalam bentuk biji, sehingga dalam waktu singkat diperoleh benih yang diinginkan, dengan tetap memperhatikan produksi hijauan yang dihasilkan.

Masa depan pemuliaan mutasi TPT di Indonesia

Pemuliaan TPT merupakan kegiatan untuk memperbaiki karakter tanaman yang dapat diturunkan pada generasi selanjutnya. Sampai saat ini, pemuliaan TPT di Indonesia belum berkembang dibanding dengan tanaman utama lainnya seperti tanaman pangan maupun perkebunan. Umumnya, rumput untuk TPT diseleksi melalui pemuliaan konvensional. Dan menunggu perkembangan tanaman secara asexual maupun seksual mempunyai kelemahan dalam hal akurasi dan waktu yang cukup lama (Nuraida 2012). Perlakuan induksi mutasi dengan radiasi sinar gamma di Indonesia baru dilakukan terbatas pada satu atau dua jenis tanaman pakan. Masih terbuka luas pemanfaatan teknologi induksi mutasi untuk mempercepat diperoleh varietas unggul baru. Selain itu, teknologi sekuensing dan seleksi genom (SG) juga diperlukan untuk menunjang program pemuliaan tanaman mutasi, sehingga menjadi efektif dan efisien (Tasma 2016),

karena mempercepat waktu seleksi, kualitas dan keakuratan hasil (Hayes et al. 2013). Keberadaan marka sangat membantu pemuliaan mutasi juga dapat mengatasi kendala yang sering muncul pada pemuliaan konvensional terutama untuk seleksi karakter kualitatif yang dikendalikan oleh gen resesif dan seleksi untuk karakter kuantitatif (Azrai 2016). Penggunaan induksi mutasi untuk menghasilkan TPT toleran lahan dengan cekaman biotik maupun abiotik yang banyak terjadi di Indonesia akan semakin terarah dan cepat, karena dapat dibantu oleh seleksi dengan penanda genetik (molekuler) yang terikat pada sifat – sifat yang diinginkan..

KESIMPULAN

Pemuliaan melalui induksi mutasi untuk menghasilkan varietas baru TPT yang unggul dapat dilakukan. Pemuliaan mutasi dapat menghasilkan keragaman yang tinggi sehingga memungkinkan peneliti untuk melakukan seleksi sesuai tujuan pemuliaan. Varietas baru TPT dapat diarahkan untuk meningkatkan produktivitas, meningkatkan kemampuan toleransi TPT pada kondisi biotik maupun abiotik, serta memperbaiki performa tanaman. Pemuliaan mutasi juga memiliki prospek yang baik dengan dukungan bioteknologi seperti teknologi sekuensing, penanda genetik, dan seleksi genom sehingga akan lebih akurat dan keberhasilan untuk menghasilkan varietas baru TPT lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin N, Human S, Triosoemaningtyas T. 2014. Keragaman genetik gandum populasi mutan M3 di agroekosistem tropis. J Ilmu Aplikasi Isotop Radiasi. 10:35–44.
- Amirikhaha R, Etemadia N, Mohammad R, Sabzalianb M, Nikbakhta A, Eskandari A. 2019. Physiological consequences of gamma ray irradiation in tall fescue with elimination potential of *Epichloë* fungal endophyte. Ecotoxicol Environ Saf. 182.
- Asadi. 2013. Pemuliaan mutasi untuk perbaikan terhadap umur dan produktivitas pada kedelai. J AgroBiogen. 9:135–142.
- Atis I, Duru M, Konuskan O, Gozubenli H. 2013. Effects of plant maturity stage on silage quality of some silage sorghum cultivars Effects of plant maturity stage on silage quality of some silage sorghum cultivars. J Food Agric Environ. 11:534–537.
- Azrai M. 2016. Pemanfaatan markah molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. J AgroBiogen. 1:26–37.

- Bahagiawati B, Satyawan D, Santoso TJ. 2019. Tanaman hasil genome editing dan tantangan pengaturan keamanannya di Indonesia. *J AgroBiogen*. 15:93–106.
- Barre P, Turner LB, Escobar-gutiérrez AJ. 2015. Leaf length variation in perennial forage grasses. *Agriculture*. 5:682–696.
- Barrière Y, Alber D, Dolstra O, Lapierre C, Motto M, Ordas A, Van Waes J, Vlaswinkel L, Welcker C, Monod JP. 2005. Past and prospects of forage maize breeding in Europe. I. The grass cell wall as a basis of genetic variation and future improvements in feeding value. *Maydica*. 50:259–274.
- Capstaff NM, Miller AJ. 2018. Improving the yield and nutritional quality of forage crops. *Front Plant Sci*. 9:1–18.
- Dong X, Yan X, Li W. 2016. Plant mutation breeding with heavy ion irradiation at IMP. *J Agric Sci*. 8:34–41.
- Fan J, Shi M, Huang J, Xu J, Wang Z, Guo D. 2014. Regulation of photosynthetic performance and antioxidant capacity by ^{60}Co γ -irradiation in *Zizania latifolia* plants. *J Environ Radioact*. 129:33–42.
- Fanindi A, Sutjahjo S, Aisyah S, Purwantari ND. 2016. Characteristic morphology and genetic variability of Benggala grass (*Panicum maximum* cv Purple guinea) through gamma ray irradiated on acid land. *JITV*. 21:205–214.
- Fanindi A, Sutjahjo SH, Aisyah SI, Purwantari ND. 2019. Morphological characteristics and productivity of Guinea Grass (*Panicum maximum* CV Purple Guinea) irradiated with Gamma-Ray. *Trop Anim Sci J*. 42:97–105.
- Feldman A, Murchie E, Leung H, Baraoidan M, Coe R, Yu S. 2014. Increasing leaf vein density by mutagenesis: laying the foundations for C4 rice. *PLoS One*. 9:e94947.
- Foster B, Shu Q. 2011. Plant mutagenesis in crop improvement: Basic terms and application. In: Shu Q, Foster B, Nakagawa N, editors. *Plant mutant breed biotechnol*. Vienna (Austria): Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency. p. 9–21.
- Freisleben R, Lein A. 1944. Möglichkeiten und praktische Durchführung de Mutationszüchtung. *Kühn-Archiv*. 60:21–22.
- Gruszka D, Szarejko I, Maluszynski M. 2012. Sodium azide as a mutagen. in: *Plant mutation breeding and biotechnology*. Wallingford (UK): CABI International.
- Handayati W. 2013. Perkembangan pemuliaan mutasi tanaman hias di Indonesia. *J Ilmu Aplikasi Isotop Radiasi*. 9:67–80.
- Haris A, Boceng A, Tjoneng A. 2017. Pemanfaatan dosis letal efektif radiasi sinar gamma untuk mutan pendek dan genjah padi lokal (ase buluh) sulawesi selatan. *Agroplanta*. 7:1–7.
- Harmini H, Fanindi A. 2020. Strategi adaptasi tanaman pakan ternak terhadap perubahan iklim. *Wartazoa*. 30:201–210.
- Harmini H, Sajimin S, Fanindi A, Husni A. 2020. Keragaan agronomi rumput gajah (*Pennisetum purpureum* cv Taiwan) hasil irradiasi sinar gamma. *JINTP*. 18:62–66.
- Hayes BJ, Cogan NOI, Pembleton LW, Goddard ME, Wang J, Spangenberg GC, Forster JW. 2013. Prospects for genomic selection in forage plant species. *Plant Breed*. 132:133–143.
- Herman M. 2010. Aplikasi teknik rekayasa genetik dalam perbaikan sumber daya genetik tanaman untuk ketahanan cekaman biotik. *Bul Plasma Nutfah*. 16:72–84.
- Hetta M, Mussadiq Z, Gustavsson A, Swensson C. 2012. Effects of hybrid and maturity on performance and nutritive characteristics of forage maize at high latitudes, estimated using the gas production technique. *Anim Feed Sci Technol*. 171:20–30. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.09.015.
- [IAEA] International Atomic Energy Agency. 2021. Mutant variety database [Internet]. Available from: <https://mvd.iaea.org/>.
- Itoh Y, Crofts N, Abe M, Hosaka Y, Fujita N. 2017. Characterization of the endosperm starch and the pleiotropic effects of biosynthetic enzymes on their properties in novel mutant rice lines with high resistant starch and amylose content. *Plant Sci*. 258.
- Kingston-Smith AH, Marshall AH, Moorby JM. 2013. Breeding for genetic improvement of forage plants in relation to increasing animal production with reduced environmental footprint. *Animal*. 7:79–88. doi: 10.1017/S1751731112000961.
- Lestari E, Dewi I, Yunita R. 2015. Seleksi galur mutan padi Fatmawati tahan terhadap penyakit blas dan evaluasi karakter agronomi di rumah kaca dan di lahan sawah. *Bul Plasma Nutfah*. 21:79–88.

- Lundqvista U, Franckowiak J, Forster B. 2011. Mutation categories. In: Shu Q, Foster B, Nakagawa H, editors. Plant mutant breed biotechnol. Vienna (Austria): Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency. p. 47–56.
- Maleki M, Ghorbanpour M, Nikabadi S. 2019. In vitro screening of crop plants for abiotic stress tolerance. In: Wani SH, editor. Recent Approaches Omi Plant Resil to Clim Chang. Switzerland: Springer. p. 75–91.
- Maluszynski M, Szarejko I, Maluszynski J, Szurman-Zubrzycka M. 2017. Mutation techniques. *Encycl Appl Plant Sci*. 2:215–228.
- Manikanta CHLN, Goud B, Sowndarya K. 2020. Root system architecture-a key to drought tolerance. In: Adv Agric Biotechnol. AkiNik Publications AkiNik. 24 hlm.
- Manzanares C, Yates S, Ruckle M, Nay M, Studer B. 2016. TILLING in forage grasses for gene discovery and breeding improvement. *N Biotechnol*. 33:594–603.
- Mba C. 2013. Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. *Agronomy*. 3:200–223.
- Mejri S, Saidi M, Mabrouk Y, Belhadj O. 2018. Improving faba bean crop for biotic stress resistance through mutation breeding using gamma irradiation technique (IAEA-CN--263). Vienna (Austria): International Atomic Energy Agency (IAEA).
- Miao L Li, Li Y Ying, Zhang H Juan, Zhang H Ji, Liu X Lin, Wang J Yi, Chang X Ping, Mao X Guo, Jing R Lian. 2021. TaSnRK2.4 is a vital regulator in control of thousand-kernel weight and response to abiotic stress in wheat. *J Integr Agric*. 20:46–54. doi: 10.1016/S2095-3119(19)62830-3.
- Mohapatra T, Robin S, Sarla N, Sheshasayee M, Singh A, Singh K. 2014. EMS induced mutants of upland rice variety Nagina22: generation and characterization. In: Indian Natl Sci Acad. 80:163.
- Moura JCMS, Bonine CA V, Viana JOF, Dornelas MC, Mazzafera P. 2010. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. *J Integr Plant Biol*. 52:360–376.
- Munasik, Sutrisno CI, Anwar S, Prayitno CH. 2012. The growth, yield and quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) specific tolerant of acid soils by mutagenesis with ethylmethane sulfonate. *J Anim Prod*. 14:87–91.
- Østrem L, Volden B, Larsen A. 2013. Morphology, dry matter yield and phenological characters at different maturity stages of × *Festulolium* compared with other grass species. *Acta Agric Scand Sect B - Soil Plant Sci*. 63:531–542.
- Pathirana R. 2011. Plant mutation breeding in agriculture. *CAB Rev Perspect Agric Vet Sci Nutr Nat Resour*. 6:1–20.
- Pecetti L, Annicchiarico P, Scotti C, Paolini M, Nanni V, Palmonari A. 2017. Effects of plant architecture and drought stress level on lucerne forage quality. *Grass Forage Sci*. 72:714–722.
- Pérez-Jiménez M, Pérez-Tornero O. 2020. Improved salt-tolerance in *Citrus macrophylla* mutant rootstocks. *Sci Hortic*. 259:1–9.
- Pérez-Jiménez M, Tallón CI, Pérez-Tornero O. 2020. Inducing mutations in *Citrus* spp.: Sensitivity of different sources of plant material to gamma radiation. *Appl Radiat Isot*. 157:1–7.
- Pirhofer-Walzl K, Rasmussen J, Høgh-Jensen H, Eriksen J, Sjøgaard K, Rasmussen J. 2012. Nitrogen transfer from forage legumes to nine neighbouring plants in a multi-species grassland. *Plant Soil*. 350:71–84.
- [PVTTP] Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian. 2021. Sistem informasi database varietas tanaman [Internet]. Available from: aplikasi.pertanian.go.id.
- Rahayu S, Dewi A, Yulidar Y, Wirnas D, Aswidinnoor H. 2013. Analisis stabilitas dan adaptabilitas beberapa galur padi dataran tinggi hasil mutasi induksi. *J Ilmu Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 9:81–90.
- Resende, RMS, Casler, MD, Vilela de Resende M. 2013. Selection methods in forage breeding: A quantitative appraisal. *Crop Sci*. 53:1925–1936.
- Respati AN, Umami N, Hanim C. 2018. Growth and production of *Brachiaria brizantha* cv. MG5 in three difference regrowth phase treated by gamma radiation dose. *Trop Anim Sci J*. 41:179–184.
- Rios E, Blount A, Erickson J, Quesenberry K, Altpeter F, Cellon C. 2013. Root and shoot characterization of mutant turf-type bahiagrasses. *Int Turfgrass Soc Res J*. 12.
- Roy AK, Malaviya DR, Kaushal P. 2016. Genetic improvement of fodder legumes especially dual purpose pulses. *Indian J Genet Plant Breed*. 76:608–625.

- Sakata M, Seno M, Matsusaka H, Takahashi K, Nakamura Y, Yamagata Y. 2016. Development and evaluation of rice giant embryo mutants for high oil content originated from a high-yielding cultivar "Mizuhochikara." *Breed Sci.* 66:425–433.
- Shen XH, Jiang C, Zheng W, Feng P, Wang Q, Lai YC. 2020. Mutagen effect on the growth, physiology and microstructure of alfalfa (*Medicago sativa* L). *Appl Ecol Environ Res.* 18:3497–3510.
- Shu Q, Forster B, Nakagawa H. 2012. Principles and applications of plant mutation breeding. In: Shu Q, Foster B, Nakagawa H, editors. *Plant mutant breed biotechnol.* Vienna (Austria): Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency. p. 301-326.
- Sobrizal S. 2017. Potensi pemuliaan mutasi untuk perbaikan varietas padi lokal Indonesia. *J Ilmu Aplikasi Isotop Radiasi.* 12:23–36.
- Soedjono S. 2003. Aplikasi mutasi induksi dan variasi somaklonal dalam pemuliaan tanaman. *J Penelitian Pengembangan Pertanian.* 22:70–78.
- Stearns F, Fenster C. 2016. The effect of induced mutations on quantitative traits in *Arabidopsis thaliana*: Natural versus artificial conditions. *Ecol Evol.* 6:8366–8374.
- Tai TH, Chun A, Henry IM, Ngo KJ, Burkart-Wako D. 2016. Effectiveness of sodium azide alone compared to sodium azide in combination with methyl nitrosurea for rice mutagenesis. *Plant Breed Biotech.* 4:453–461.
- Tasma IM. 2016. Pemanfaatan teknologi sekuensing genom untuk mempercepat program pemuliaan tanaman. *J Penelitian Pengembangan Pertanian.* 34:159–168.
- Tefera H, Kamara AY, Dashiell KE. 2009. Improvement in grain and fodder yields of early-maturing promiscuous soybean varieties in the guinea savanna of Nigeria. *Crop Sci.* 49:2037–2042.
- Tejeda LHC, Viana VE, Maltzahn LE, Busanello C, Barros LM, da Maia LC, Costa de Oliveira A, Pegoraro C. 2020. Abiotic stress and self-destruction: ZmATG8 and ZmATG12 gene transcription and osmotic stress responses in maize. *Biotechnol Res Innov.* 3:1–9.
- Trethewey JAK. 2015. Crop architecture and light interception in forage rape (*Brassica napus* L.) grown for seed. *Agron New Zeal.* 39:47–57.
- Tu Y, Jiang A, Gan L, Hossain M, Zhang J, Peng B, Xiong Y, Song Z, Cai D, Xu W, Zhang J, He Y. 2014. Genome duplication improves rice root resistance to salt stress. *Rice.* 7:15.
- Tucak M, Popović S, Čupić T, Španić V, Meglič V. 2013. Raudonojo dobilo (*Trifolium pratense* L.) selekciniu populiaciju ir veisliu derlingumas, pašaro kokybes bei morfologiniu požymiu ivairavimas. *Zemdirbyste.* 100:63–70.
- Turk M, Albayrak S. 2019. Effect of harvesting stages on forage yield and quality of different leaf types pea cultivar. *Turkish J F Crop.* 17:111–114.
- Ulukapi K, Ozmen S. 2018. Study of the effect of irradiation (60 Co) on M 1 plants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars and determined of proper doses for mutation breeding. *J Radiat Res Appl Sci.* 11:157–161.
- Vardhan P, Shukla L. 2017. Gamma irradiation of medicinally important plants and the enhancement of secondary metabolite production. *Int J Radiat Biol.* 93:767–979.
- Vasiljevic S, Milic D, Mikic A. 2009. Chemical attributes and quality improvement of forage legumes. *Biotechnol Anim Husb Biotechnol Stoc.* 25:493–504.
- Van Harten A. 1998. Mutation breeding: theory and practical applications. Cambridge (UK): Cambridge University Press.
- Van Minnebruggen A, Van Bockstaele E, Rohde A, Cnops G. 2011. Morphological variation of plant architecture in red clover (*Trifolium pratense*). *Commun Agric Appl Biol Sci.* 76:215–2
- Viana V, Pegoraro C, Busanello C, de Oliveira A. 2019. Mutagenesis in rice: the basis for breeding a new super plant. *Front Plant Sci.* 10.
- Vinutha KS, Anil Kumar GS, Blümmel M, Srinivasa Rao P. 2017. Evaluation of yield and forage quality in main and ratoon crops of different sorghum lines. *Trop Grasslands-Forrajers Trop.* 5:40–49.
- Wahyono T, Nugrahini S, Hardani W, Ansori D, Handayani T. 2018. Profil pencernaan *in vitro* tanaman sorgum hasil. In: *Pros Semin Nas APISORA 2018.* p. 9–18.
- Wahyono T, Sugoro I, Jayanegara A, Wiryawan KG, Astuti DA. 2019. Nutrient profile and *in vitro* degradability of new promising mutant lines sorghum as forage in Indonesia. *Adv Anim Vet Sci.* 7:810–818.

- Wang K, Liu Y, Teng F, Cen H, Yan J, Lin S, Li D, Zhang W. 2021. Heterogeneous expression of Osa-MIR156bc increases abiotic stress resistance and forage quality of alfalfa. *Crop J.* [in press].
- Warman B, Sobrizal S, Suliansyah I, Swasti E, Syarif A. 2015. Perbaikan genetik kultivar padi beras hitam lokal sumatera barat melalui mutasi induksi. *J Ilmu Aplikasi Isotop Radiasi.* 11:125–136.
- Xu J, Shi S, Wang L, Tang Z, Lv T, Zhu X. 2017. OsHAC4 is critical for arsenate tolerance and regulates arsenic accumulation in rice. *New Phytol.* 2015:1090–1101.
- Yunus A, Hartati S, Brojokusumojo R. 2017. Performance of Mentik Wangi rice generation M1 from the results of gamma ray irradiation. *Agrosains.* 19:6–14.
- Zhang Y, Zhang D. 2007. Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants. *Front Biol China.* 2:256–262.