

SELEKSI IN VITRO UNTUK MENDAPATKAN GALUR KACANG TANAH TOLERAN CEKAMAN KEKERINGAN DAN TAHAN PENYAKIT BUSUK BATANG *Sclerotium rolfsii*

A. Farid Hemon

PS Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Faperta, Universitas Mataram

ABSTRAK

Masalah utama penanaman kacang tanah di lahan kering adalah masalah kekurangan air dan serangan cendawan *S. rolfsii*. Upaya pengelolaan budidaya kacang tanah di lahan kering adalah menggunakan kultivar toleran kekeringan dan resisten infeksi *S. rolfsii*. Induksi variasi somaklonal dan seleksi in vitro dengan menggunakan agens penyeleksi merupakan metode yang layak untuk dikembangkan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan galur kacang tanah toleran kekeringan dan tahan penyakit busuk batang *S. rolfsii*. Percobaan diawali dengan menginduksi variasi somaklonal dengan media MS-P16. Media MS-P16 yang ditambah PEG 15% digunakan sebagai agens penyeleksi untuk cekaman kekeringan dan media MS-P16 dengan penambahan filtrat kultur *S. rolfsii* 30% sebagai agens penyeleksi untuk tahan *S. rolfsii*. Kalus embriogen ditempatkan dalam media PEG selama tiga bulan per siklus. Embrio somatik (ES) yang insensitif pada PEG diproliferasi, dan ES ini disebut ES *Pi*. Kalus embriogen *Pi* diseleksi kembali pada media filtrat kultur dan disebut ES *PiFi*. Semua ES insensitif hasil seleksi in vitro dikedambahkan sampai tumbuh planlet (generasi R0). Tanaman ini dipanen untuk mendapatkan benih R0:1. Benih ini ditanam kembali (generasi R1) untuk mendapatkan benih R1:2. Tanaman generasi R2 digunakan untuk menguji toleransi terhadap cekaman kekeringan dan ketahanan terhadap infeksi cendawan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman somaklon yang diregenerasikan dari seleksi in vitro pada media selektif PEG dan filtrat kultur lebih toleran terhadap cekaman kekeringan dan lebih tahan infeksi cendawan *S. rolfsii* dan memproduksi hasil polong kering lebih tinggi dibanding tanaman kacang tanah tanpa melalui seleksi in vitro.

ABSTRACT

***In-vitro* selection to produce drought tolerant and stem rot *Sclerotium rolfsii* resistant peanut.** The main limiting factors of peanut cultivation in dry land are insufficient water and *S. rolfsii* infection. The effort of peanut cultivation management in upland is use of drought tolerant and disease resistant cultivar. Application of somaclonal variation induction and in vitro selection using selective agent is a reliable method to be developed to create new peanut line. For this reason, the objectives of this research was to obtain drought tolerant and stem rot disease resistant peanut line. The experiment was initiated with induction of somaclonal variation in MS-P16. Medium of MS-P16 that added PEG 15% as selective agent for drought stress and MS-P16 medium with culture filtrate 30% as selective agent for disease resistance. Embriogenic calli were placed on PEG medium for three months per cycle. PEG insensitive somatic embryos (SE) were proliferated, and this SE named SE *Pi*. In vitro double selection was done with challenge SE *Pi* against culture filtrate medium, and insensitive SE named SE *PiFi*. All insensitive selected SEs were germinated to generate plantlets (R0 generation). These plants were harvested to obtain R0:1 seeds. The seeds were grown (R1 plant) to produce R1:2 seeds. These plants of R2 generation were used to somaclonal plant evaluation against water stress and pathogen infection. Result of this research showed somaclonal plants regenerated from in vitro selection against PEG and culture filtrate were more tolerance to water deficit and more resistance to *S. rolfsii* infection, and produced higher dry pod yield

PENDAHULUAN

Budidaya kacang tanah di Indonesia sebagian besar (70%) dilakukan di lahan kering sehingga cekaman kekeringan sering menjadi pembatas produksi. Cekaman kekeringan menyebabkan gangguan pada semua fase pertumbuhan dan berpengaruh buruk terhadap perkembangan daun, pemanjangan batang, dan proses fotosintesis (Riciardi *et al.* 2001). Cekaman air menyebabkan pengurangan biomasa daun dan polong kering kacang tanah (Collino *et al.* 2000) dan penurunan bobot kering polong yang diduga disebabkan oleh terhambatnya inisiasi dan pemanjangan ginofor (Chapman *et al.* 1993).

Selain cekaman kekeringan, penyakit busuk batang akibat infeksi *Sclerotium rolfsii* juga merupakan faktor pembatas produksi kacang tanah di lahan kering. Infeksi patogen dapat menurunkan jumlah dan mutu hasil kacang tanah. Menurut Backman dan Brenneman (1997) penurunan hasil akibat serangan patogen ini dapat mencapai 25–80%. *S. rolfsii* merupakan cendawan tertular tanah (*soil borne*) dan membentuk sklerotia yang menyebabkan cendawan ini mampu bertahan hidup cukup lama di dalam tanah. Kondisi lahan kering yang sulit diairi, menyebabkan inokulum cendawan sulit dihilangkan pada lahan kering (Benhamou & Chert 1996).

Pemuliaan varietas toleran kekeringan dan resisten terhadap penyakit dengan metode konvensional membutuhkan waktu yang lama dan tidak efisien. Kultur *in vitro* dapat digunakan sebagai alternatif untuk mendapatkan tanaman toleran cekaman kekeringan sekaligus tahan penyakit (Mohamed *et al.* 2000). Kultur *in vitro* dapat menginduksi variasi somaklonal dan penggunaan seleksi *in vitro* pada tingkat sel dan jaringan dengan agens penyeleksi diharapkan dapat diperoleh karakter yang diinginkan (Jain 2001). Seleksi *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan filtrat kultur yang dikeluarkan oleh *S. rolfsii* sebagai agens penyeleksi untuk mengidentifikasi sel atau jaringan tanaman kacang tanah yang tidak mati oleh filtrat kultur (Yusnita *et al.* 2005). Seleksi *in vitro* juga dilakukan dengan menggunakan polietilena glikol (PEG) yang dapat menstimulasi kondisi cekaman kekeringan untuk mengidentifikasi sel atau jaringan tanaman kacang tanah yang tidak mati oleh cekaman PEG (Dami & Hughes 1997; Rahayu *et al.* 2005).

Penelitian sebelumnya selalu menggunakan satu agens penyeleksi untuk mendapatkan satu karakter. Pada penelitian ini menggunakan dua agens penyeleksi (seleksi ganda) untuk mendapatkan karakter toleran kekeringan dan tahan penyakit busuk batang *S. rolfsii*. Seleksi ganda dalam media dengan penambahan PEG diikuti dalam media filtrat kultur *S. rolfsii* diharapkan dapat menghasilkan galur kacang tanah yang sekaligus toleran cekaman kekeringan dan tahan infeksi *S. rolfsii*.

Tujuan penelitian adalah mendapatkan galur kacang tanah toleran terhadap cekaman kekeringan dan resisten terhadap penyakit busuk batang *S. rolfsii* dengan menggunakan seleksi ganda dalam media PEG dan filtrat kultur.

BAHAN DAN METODE

Induksi ES Kacang Tanah

Penelitian menggunakan kacang tanah varietas Kelinci. Kalus embrio somatik (ES) diinisiasi dari eksplan daun embrio biji kacang tanah. Biji kacang tanah disterilisasi dengan larutan NaOCl (clorox). Daun embrio secara hati-hati dipisahkan dari poros embrio dan ditanam dalam media untuk menginduksi ES primer. Induksi ES kacang tanah dilakukan dalam media MS (Murashige & Skoog 1962) dengan penambahan pikloram (media MS-P16), campuran vitamin dan asam amino (glisin, tiamin, piridoksin, dan niasin) 0,1 mg/l, sukrosa 2%, dan agar 8 g/l (Sulichantini 1998; Edy 1998). Kalus embriogen dan ES yang didapat diproliferasikan dalam media MS-P16 secara terus-menerus. Kultur kalus embriogen dan ES sekunder yang telah berumur enam bulan digunakan dalam percobaan seleksi in vitro ganda.

Seleksi In Vitro dalam Media Selektif dengan Penambahan PEG

Media MS-P16 cair dengan penambahan PEG 15% (media selektif) dituangkan ke dalam botol kultur. Konsentrasi PEG 15% merupakan konsentrasi sub-lethal (Rahayu *et al.* 2005) yang menghambat proliferasi ES kacang tanah = 95%.

Lima kalus embriogen masing-masing dengan 8-10 ES ditanam dalam setiap botol kultur. Total yang dievaluasi minimal 500 kalus embriogen atau 4000 ES. Embrio somatik disub-kultur dua kali ke dalam media selektif yang masih segar selama periode tiga bulan. Biomasa kalus embriogen dan ES yang berhasil tumbuh serta berkembang dalam media selektif setelah tiga bulan diperbanyak dalam media MS-P16 tanpa PEG dan selanjutnya disebut sebagai ES yang insensitif PEG (ES *Pi*). Setelah biomasa kalus embriogen ES *Pi* diperoleh cukup banyak, sebagiannya digunakan untuk mengevaluasi respons kalus embriogen terhadap cekaman PEG dan filtrat kultur dan untuk percobaan seleksi ganda dalam media filtrat kultur. Sebagian ES *Pi* yang ada dikecambahkan untuk membentuk planlet *Pi*.

Seleksi Ganda dalam Media dengan PEG dan Filtrat Kultur *S. rolf sii*

Penyiapan filtrat kultur *S. rolf sii* dilakukan sebagaimana yang telah dilaporkan sebelumnya (Yusnita *et al.* 2005). Media selektif disiapkan dengan menambahkan 30% filtrat kultur *S. rolf sii* ke dalam media MS-P16 dan disterilisasi menggunakan autoklaf. Berdasarkan penelitian sebelumnya, 30% filtrat kultur *S. rolf sii* merupakan konsentrasi sub-lethal yang dapat menekan perkembangan ES kacang tanah = 95%.

Embrio somatik *Pi* digunakan sebagai eksplan dalam seleksi ganda dan ditumbuhkan dalam media MS-P16 dengan penambahan filtrat kultur dan di sub-kultur dua kali ke dalam media selektif yang masih segar selama periode tiga bulan. Kalus embriogen dan ES yang mampu bertahan hidup setelah seleksi ganda (seleksi I dengan agens penyeleksi PEG dan seleksi II dengan filtrat kultur, masing-masing selama 3 bulan) diproliferasi dalam media MS-

P16 untuk meningkatkan biomasa dan selanjutnya disebut sebagai ES yang insensitif terhadap PEG dan filtrat kultur (*PiFi*). Setelah proliferasi, ES *PiFi* yang didapat digunakan untuk evaluasi respons ES *PiFi* terhadap cekaman PEG dan filtrat kultur dan sebagian yang lain dikecambahkan untuk mendapatkan planlet *PiFi*.

Regenerasi Tanaman R0

Embrio somatik hasil seleksi in vitro (ES *Pi* dan *PiFi*) diregenerasikan menjadi planlet dan tanaman R0 melalui tahapan: maturasi, perkecambahan, serta pemanjangan dan pengakaran tunas dilakukan dalam media MS (Murashige & Skoog 1962) dengan penambahan 2 g/l arang aktif. Setelah mempunyai akar dan daun tetrafoliat, planlet diaklimatisasi pada media campuran tanah, pasir, dan arang sekam, disungkup dengan botol untuk menjaga kelembaban.

Populasi tanaman R0 yang mampu bertahan hidup dari tahapan aklimatisasi ditanam dalam pot plastik dan dipelihara di rumah kaca hingga panen. Benih R0:1 dipanen secara terpisah dari masing-masing tanaman R0 dan dikeringkan.

Evaluasi Tanaman terhadap Cekaman Kekeringan di Rumah Kaca

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah populasi generasi R2 hasil seleksi in vitro pada PEG dan filtrat kultur. Diuji juga populasi tanaman *Pi-0* (benih awal tanpa seleksi in vitro) sebagai tanaman standar

Perlakuan cekaman kekeringan diberikan ketika tanaman berumur 16–85 hari. Semua tanaman disiram sampai kapasitas lapang dari awal tanam sampai umur 15 hari. Kapasitas lapang ditentukan dengan menyiramkan air pada media tanam sampai jenuh. Pada saat tanaman memasuki umur 16 hari, sebagian tanaman disiram sampai dengan kapasitas lapang (kondisi optimum) dan sebagian yang lain dipelihara dalam kondisi cekaman sebagai akibat pengurangan pemberian air. Tanaman yang mendapat perlakuan cekaman disiram air sampai kapasitas lapang setiap 4 hari sekali (sehari setelah ada 70% gejala layu pada daun). Perlakuan cekaman kekeringan diberikan sampai tanaman berumur 85 hari. Tanaman selanjutnya diberikan kondisi optimum sampai tanaman panen.

Skrining tanaman somaklon terhadap infeksi *S. rolfsii*

Bahan tanaman yang digunakan adalah populasi tanaman generasi R2 hasil seleksi in vitro pada media selektif filtrat kultur *S. rolfsii* dan PEG.

Persiapan inokulum dilakukan dengan cara biakan murni isolat *S. rolfsii* disubkultur dalam media PDA. Biakan umur 14 hari digunakan sebagai inokulum. Inokulasi dilakukan pada umur tanaman 30 hari setelah tanam. Biakan cendawan yang telah dipotong-potong ditempelkan pada pangkal batang dan selanjutnya ditimbun dengan tanah.

Evaluasi ketahanan tanaman terhadap infeksi *S. rolfsii* dilakukan dengan menghitung skor gejala, jumlah tanaman mati, dan pertumbuhan tanaman. Skoring dilakukan pada setiap tanaman yang bergejala (Yusnita & Sudarsono (2004).

Skoring tanaman: 0 = tanpa serangan, 1 = nekrosis dengan luasan hingga 0,5 lingkaran batang, 2 = nekrosis 0,5–0,75 lingkaran batang, 3 = nekrosis telah melingkari batang, muncul bercak coklat yang telah meluas pada permukaan batang yang terinfeksi, 4 = seperti skor 3 dan batang yang terserang mulai terkulai dan sejumlah daun mulai layu, dan 5 = tanaman mati.

Penentuan toleransi terhadap cekaman kekeringan dan resistensi terhadap penyakit

Toleransi tanaman somaklon terhadap kekeringan dan resistensi terhadap penyakit dihitung berdasarkan indeks (I) sensitivitas kekeringan atau ketahanan terhadap penyakit pada semua peubah yang diamati. Perhitungan nilai I berdasarkan rumus Fischer dan Maurer (1978), yaitu: $I = (1-Y/Y_p) / (1-X/X_p)$, dengan (Y) = nilai rata-rata peubah tertentu (misal: jumlah cabang, tinggi tanaman, bobot polong kering, dan lain-lain) pada satu genotipe yang mengalami cekaman kekeringan/infeksi penyakit, (Y_p) = nilai rata-rata peubah tersebut pada satu genotipe lingkungan optimum, (X) = nilai rata-rata peubah tersebut pada semua genotipe yang mengalami cekaman kekeringan/infeksi penyakit, dan (X_p) nilai rata-rata peubah tersebut pada semua genotipe lingkungan optimum. Genotipe toleran cekaman kekeringan/tahan penyakit jika mempunyai nilai $I < 0,5$, agak toleran jika $0,5 = I = 1$, dan peka jika $I > 1$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

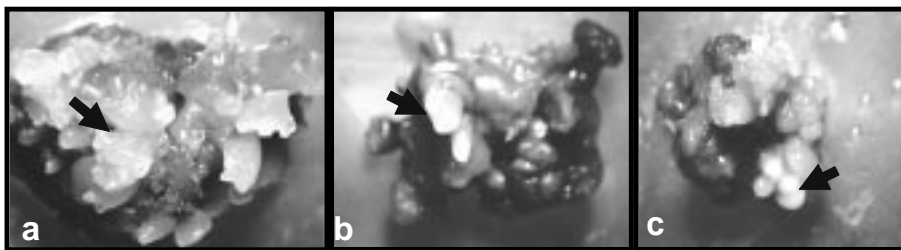
Embrio Somatik Hasil Seleksi In Vitro Berulang pada Cekaman PEG

Pertumbuhan eksplan embriogen kacang tanah varietas Kelinci pada akhir tahapan seleksi dalam media selektif PEG 15% atau dalam filtrat kultur *S. rolfsii* 30% berbeda nyata antara seleksi satu siklus (P_i) dan seleksi ganda ($P_i F_i$) (Tabel 1). Media selektif PEG 15% dan filtrat kultur menghambat perkembangan embrio somatik. Eksplan ES yang telah mengalami proses seleksi in vitro lebih insensitif terhadap PEG 15%. Embrio somatik yang telah mengalami proses seleksi dalam PEG mempunyai daya adaptasi terhadap media selektif dan adanya kemungkinan muncul sel atau jaringan mutan yang toleran selama tahapan seleksi. Sel atau jaringan mutan yang toleran tersebut akan mengalami proliferasi sehingga pada akhir seleksi menghasilkan sel/jaringan klonal yang lebih banyak. Embrio somatik yang telah diseleksi satu siklus dalam PEG 15% terjadi juga penghambatan perkembangan embrio somatik ketika diseleksi dalam media selektif filtrat kultur *S. rolfsii* 30%. Pada Tabel 1 terlihat juga, bahwa seleksi ganda menghasilkan persentase proliferasi, rata-rata ES per eksplan, dan total ES lebih banyak serta persentase penurunan total ES lebih rendah dibanding seleksi hanya pada PEG (P_i).

Tabel 1. Pertumbuhan ES kacang tanah varietas Kelinci hasil seleksi satu siklus (*Pi*) dalam media MS-P16 dengan PEG dan seleksi ganda dalam media PEG dan filtrat kultur (*PiFi*)

Siklus seleksi	Pertumbuhan ES			
	Proliferasi ES (%)	Rataan ES/ eksplan	Total ES	PP total ES*
<i>P0</i>	100 a	13,70 a	68,5 a	–
<i>Pi</i>	25 c	1,78 b	2,3 c	97
<i>PiFi</i>	48 b	1,97 b	4,9 b	93

*Persentase penurunan (PP) total ES dihitung dengan persamaan $PP = [(X_0 - X_t) / X_0] * 100\%$. X_0 adalah total ES pada media tanpa seleksi (*P0*) dan X_t – total ES untuk masing-masing siklus seleksi.



Gambar 1. Tanggapan pertumbuhan ES dalam media PEG (à= ES insensitif). Proliferasi kalus embriogen dan ES dalam media MS-P16 (a) tanpa PEG, (b) ES *Pi* dan (c) ES *PiFi*.

Sebagian besar eksplan yang diseleksi hanya dalam media PEG atau yang dilanjutkan diseleksi lagi dalam filtrat kultur *S. rolf sii* menjadi coklat kehitam-hitaman dan yang tidak tahan akan mati. Pada sebagian eksplan yang lain, di antara jaringan yang mati masih ada jaringan yang berkembang membentuk struktur embrio somatik atau kalus embriogen yang berwarna putih kekuningan (Gambar 1). Kalus embriogen dan embrio somatik yang terseleksi ini diduga berkembang dari sel/jaringan varian yang dapat hidup dalam kondisi selektif akibat penambahan PEG 15% atau dalam filtrat kultur.

Respons Embrio Somatik Hasil Seleksi terhadap PEG dan Filtrat Kultur *S. rolf sii*

Eksplan kalus embriogen yang telah diseleksi dalam media PEG satu siklus seleksi dan seleksi ganda dievaluasi kembali pertumbuhan ES pada media PEG dan filtrat kultur (Tabel 2).

Pada Tabel 2 terlihat bahwa embrio somatik yang hanya diseleksi dalam PEG (*Pi*) cenderung menghasilkan perkembangan embrio somatik yang lebih baik pada media selektif PEG dibanding dengan ES hasil seleksi ganda, namun ketika diseleksi pada media selektif filtrat kultur 30% cenderung

Tabel 2. Tanggapan terhadap cekaman PEG dari ES kacang tanah insensitif PEG yang telah melalui satu seleksi (*Pi*) dalam media PEG serta ES setelah melalui seleksi ganda (*PiFi*)

ES hasil seleksi	Cekaman PEG 15%	Cekaman filtrat kultur 30%
Persentase proliferasi ES (%)		
<i>Pi</i>	85,3 a	73,9 b
<i>PiFi</i>	86,2 a	92,6 a
Rataan ES per eksplan		
<i>Pi</i>	2,9 a	2,7 a
<i>PiFi</i>	2,6 a	3,0 a
Total ES		
<i>Pi</i>	10,6 a	6,4 b
<i>PiFi</i>	8,1 b	9,7 a

tidak menunjukkan pertumbuhan yang baik. Embrio somatik hasil seleksi ganda cenderung lebih tidak sensitif terhadap media filtrat kultur *S. rolfisii* dibanding dengan ES hasil seleksi in vitro pada media PEG. Embrio somatik yang telah terseleksi dalam seleksi ganda menghasilkan sel/jaringan varian yang toleran sekaligus terhadap media PEG dan filtrat kultur. Embrio somatik yang hanya diseleksi pada PEG cenderung menghasilkan ES yang tidak sensitif hanya pada PEG dan sangat sensitif pada filtrat kultur *S. rolfisii* 30%.

Regenerasi Tanaman R0

Embrio somatik hasil seleksi in vitro membentuk kecambah normal 54–63%, kecambah abnormal 22-29%, dan sisanya adalah kecambah mati. Kecambah abnormal ditandai dengan ketidakmampuan untuk membentuk akar primer atau daun primer. Embrio somatik yang telah berkecambah dipindahkan lagi ke dalam media MS dengan 2 g/l arang aktif. Pada media ini, kecambah yang ditanam berkembang menjadi planlet, yang ditandai dengan semakin memanjangnya epikotil, terbentuknya akar dan daun baru. Setelah terbentuk sistem perakaran dan daun yang baik, planlet diaklimatisasi pada media campuran tanah, pasir, dan kompos yang telah disterilkan, dan disungkup dengan botol untuk menjaga kelembaban. Keberhasilan tanaman yang dapat hidup dari tanaman aklimatisasi mencapai 80–90%. Planlet dipindahkan ke pot yang berisi media tanah setelah dua minggu dalam tahapan aklimatisasi. Tanaman ini mampu tumbuh normal, berbunga, dan membentuk polong berisi.

Evaluasi Tanaman terhadap Cekaman Kekeringan di Rumah Kaca

Tanaman kacang tanah yang tidak melewati seleksi in vitro (tanaman standar) dan yang dihasilkan dari seleksi ES pada PEG dan seleksi ganda mempunyai tanggapan yang berbeda terhadap cekaman kekeringan.

Tabel 3. Persentase penurunan bobot dan jumlah polong pada populasi *Pi-0* dan populasi somaklon generasi R2 yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi in vitro.

Populasi tanaman dari seleksi ES	Persentase penurunan = $(1-Y/Yp) \times 100$	
	Bobot polong kering	Jumlah polong
<i>Pi-0</i> (tanpa seleksi in vitro)	31,98	27,55
<i>Pi</i>	22,37	16,29
<i>PiFi</i>	21,39	22,49

Persentase penurunan, Y = bobot kering atau jumlah polong bernas pada kondisi cekaman kekeringan dan Yp = bobot kering atau jumlah polong bernas pada kondisi optimum

Tanaman yang tidak melewati seleksi in vitro mempunyai hasil polong yang paling rendah pada kondisi cekaman. Tabel 3 memperlihatkan bahwa persentase penurunan bobot kering dan jumlah polong bernas terjadi jauh lebih banyak pada tanaman standar dan paling sedikit pada tanaman hasil seleksi ES.

Tanaman hasil seleksi ES pada media selektif PEG 15% diduga mempunyai mekanisme toleransi untuk melawan cekaman kekeringan. Tanaman varian somaklon ini telah berubah susunan genetiknya setelah seleksi in vitro dalam media selektif PEG 15%. Akumulasi mutan sel/jaringan dalam media PEG menyebabkan sel/jaringan tersebut lebih beradaptasi pada PEG 15% dan tanaman yang dihasilkan lebih toleran terhadap cekaman kekeringan.

Untuk mengetahui tingkat toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan, perhitungan indeks sensitifitas (I) dilakukan berdasarkan besarnya penurunan bobot polong kering. Tingkat toleransi tanaman ini memberikan indikasi bahwa penurunan hasil polong dan pertumbuhan akar dapat terhindar dari pengaruh negatif cekaman kekeringan. Tanaman menghadapi cekaman kekeringan dengan mengekspresikan gen-gen toleran. Tanaman kacang tanah yang toleran terhadap kekeringan mampu melaksanakan proses fisiologis dengan baik seperti fotosintesis dan transpirasi. Proses fotosintesis berlangsung dengan baik, sehingga suplai fotosintat ke bagian-bagian sel atau organ tanaman dapat berjalan dengan lancar, dan kerusakan akibat dehidrasi dapat dihindari. Tingkat toleransi berbagai galur tanaman dapat dilihat pada Tabel 4.

Pada Tabel 4 terlihat bahwa seleksi in vitro satu siklus pada media selektif PEG dan seleksi ganda menghasilkan galur kacang tanah yang toleran dan agak toleran dibanding tanaman yang tidak melalui seleksi in vitro.

Skrining tanaman somaklon terhadap infeksi *S. rolfisii*

Pada Tabel 5 terlihat bahwa tanaman kacang tanah yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi in vitro pada filtrat kultur *S. rolfisii* menghasilkan persentase tanaman mati lebih sedikit dan lebih tahan lama untuk hidup dibanding tanaman standar.

Tabel 4. Indeks sensitivitas kekeringan (I) berdasarkan bobot kering dan jumlah polong pada populasi *Pi-0* (tanpa seleksi in vitro) dan galur populasi somaklon generasi R2 yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi in vitro.

Galur	Indeks sensitivitas kekeringan (I)		Fenotipe somaklon
	Bobot kering polong	Jumlah polong	
<i>Pi-0</i> :	1,57	1,63	P
<i>Pi</i> : 13-3	2,12	2,17	P
21-2	1,83	1,77	P
12-3	1,40	1,93	P
21-3	0,92	1,03	A
11-2	0,67	0,23	A
11-3	0,88	-0,40	A
14-4	-0,13	0,44	T
72-1	2,32	1,52	P
12-2	1,55	1,10	P
72-4	1,11	1,13	P
14-2	0,39	0,49	T
13-4	0,44	0,98	T
<i>PiFi</i> : 21-1	1,89	1,91	P
33-2	0,52	2,09	A
22-1	-0,28	-0,24	T
21-4	3,40	3,76	P
61-1	0,39	0,25	T
61-2	2,17	2,63	P
22-2	0,51	0,77	A
33-1	0,50	0,57	A

Fenotipe somaklon berdasarkan bobot polong kering. T = toleran, A = agak toleran, dan P = peka

Tabel 5. Persentase tanaman mati dan jumlah hari hidup dari awal inokulasi sampai tanaman mati pada tanaman yang diinokulasi dengan cendawan pada populasi *Pi-0* dan somaklon generasi R2 yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi in vitro.

Populasi tanaman dari seleksi ES	Tanaman mati (%)	Umur tanaman dari awal inokulasi sampai mati (hari)
<i>Pi-0</i> (tanpa seleksi in vitro)	30,0	14,3
<i>PiFi</i>	12,5	16,3

Seleksi in vitro pada media selektif filtrat kultur juga dapat meningkatkan jumlah galur tanaman agak tahan atau tahan terhadap infeksi *S. rolfsii* (Tabel 6). Dengan demikian seleksi in vitro dapat meningkatkan ketahanan tanaman dari tanaman rentan (tanaman standar) menjadi tanaman tahan. Berarti tanaman dari hasil seleksi ES adalah tanaman somaklon yang mempunyai susunan genetik yang dapat menginduksi ketahanan terhadap cendawan *S. rolfsii*.

Tabel 6. Indeks kerentanan terhadap penyakit (I) berdasarkan bobot kering polong dan jumlah polong pada populasi *pi-0* (tanpa seleksi in vitro) dan galur populasi somaklon generasi R2 yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi in vitro

Galur	Indeks kerentanan (I)		Fenotipe somaklon	Skor gejala
	Bobot kering polong	Jumlah polong		
<i>Pi-0</i> :	1,32	1,09	R	3,1
<i>PiF i</i> 33-2	2,67	1,93	R	4,3
22-1	-0,06	-1,76	T	0,7
21-4	3,60	3,65	R	4,7
61-1	1,21	1,39	R	1,0
22-2	3,25	3,26	R	3,3
33-1	1,34	0,53	R	1,7
21-1	0,43	0,00	T	1,3
61-2	-0,76	-0,33	T	1,0

Fenotipe somaklon berdasarkan bobot polong kering. T = tahan, A = agak tahan, dan R = rentan.

KESIMPULAN

Tanaman somaklon yang diregenerasikan dari seleksi in vitro dalam media selektif yang mengandung PEG 15% dan filtrat kultur 30% menghasilkan tanaman yang lebih toleran terhadap cekaman kekeringan dan tahan terhadap infeksi cendawan *S. rolfsii*. Galur kacang tanah 22-1 merupakan galur yang memiliki sifat toleran terhadap cekaman kekeringan dan tahan terhadap penyakit busuk batang *S. rolfsii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Backman PA, Brenneman TB. 1997. Stem-rot. *In* : Burelle NK, Porter DM, Kabana RR, Smith DH, Subrahmanyam P, (Ed.). Compendium of peanut disease. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Benhamou N, Chert I. 1996. Parasitism of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* : ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86:405-416.
- Cercarelli S. 1996. Positive interpretation of genotype by environment interaction in relation to sustainability and biodiversity. *In* : Cooper M, Harmers (Eds.), Plant adaptation and crop improvement, p. 467-486. CAB International, UK, ICRISAT, India, IRRI Manila.
- Chapman SC, Ludlow MM, Blamey FPC, Fisher KS. 1993. Effect of drought at pod filling on utilization of water and growth of cultivars of groundnut. *Field Crop Res.* 32:243-255.
- Collino DJ, Dardanelli JL, Sereno R, Racca RW. 2000. Physiological responses of argentine peanut varieties to water stress. Water uptake and water use efficiency. *Field Crop Res.* 68:133-142.
- Dami I, Hughes H. 1997. Effect of PEG-induced water stress on in vitro hardening of 'Valiant' grape. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 42:179-184.
- Eddy A. 1998. Induksi embrio somatik dan eksplan poros embrio pada beberapa

- kultivar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara in vitro. Thesis Magister Program Pasca Sarjana, IPB Bogor.
- Jain SM. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica* 118 :153–156.
- Mohamed MAH, Harris PJC, Henderson J. 2000. In vitro selection and characterisation of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*. *Plant Sci.* 159:213–222.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473–493.
- Rahayu ES, Guhardja E, Ilyas S, Sudarsono. 2005. Seleksi in vitro embrio somatik kacang tanah pada media dengan polietilena glikol untuk mensimulasikan cekaman kekeringan. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA*.
- Riciardi L, Polignano GB, Giovanni C. 2001. Genotype response of faba bean to water stress. *Euphytica* 118:39–46.
- Stoddard FL. 1986. Effect of drought on autofertility in faba bean *FABIS Newsletter* 15:22–26.
- Sulichantini, EDS. 1998. Induksi embrio somatik dari eksplant poros embrio dan embriogenik leaflet pada beberapa kultivar kacang tanah komersial di Indonesia. Thesis Magister Program Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Yusnita, Widodo, Sudarsono. 2005. In vitro selection of peanut somatic embryos on medium containing culture filtrate of *Sclerotium rolfsii* and plantlet regeneration. *Hayati* 12:50–56.