

# Pembentukan Benih Somatik Dewasa Kedelai dan Aklimatisasi serta Uji terhadap Indikator Sifat Toleransi Kekeringan

Ali Husni, Sri Hutami, Mia Kosmiatin, dan Ika Mariska

## ABSTRAK

Seleksi untuk toleransi/ketahanan terhadap kekeringan sangat kompleks karena adanya pengaruh interaksi antara genotipa dengan lingkungan yang menimbulkan perbedaan tanggap terhadap kekeringan. Kesulitan lain adalah kemampuan tanaman untuk tetap berproduksi tinggi pada kondisi kekeringan ditentukan oleh banyak faktor dan komponen, setiap faktor berbeda pada kondisi yang berbeda pula. Untuk mendapatkan tanaman kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan telah dilakukan penelitian seleksi *in vitro* tanaman kedelai untuk toleransi terhadap kekeringan. Seleksi dilakukan dengan irradiasi sinar gamma dan komponen penyeleksi PEG. Konsentrasi PEG ditentukan dengan penelitian penapisan *in vitro* pada genotipa-genotipa kedelai yang sudah diketahui tanggapnya terhadap cekaman kekeringan. Keberhasilan untuk mendapatkan kultivar atau varietas baru tanaman hasil kultur *in vitro* sangat ditentukan oleh keberhasilan memindahkan planlet yang dihasilkan ke lingkungan luar (aklimatisasi). Kondisi planlet yang berasal dari botol masih sangat rentan, terutama terhadap suhu dan kelembaban udara serta patogen dalam tanah. Keberhasilan tersebut sangat menentukan bisa tidaknya dilakukan pengamatan dan pengujian berikutnya terhadap keragaman yang diperoleh. Benih somatik muda tanaman kedelai varietas Sindoro dan Willis yang toleran terhadap PEG dipindahkan ke media MS atau ½ MS tanpa zat pengatur tumbuh untuk perakaran sehingga terbentuk benih somatik dewasa. Benih somatik yang telah dewasa kemudian diaklimatisasi di rumah kaca dalam media campuran tanah dengan kompos (1 : 1) dan dipelihara sampai menghasilkan polong G1. Benih G1 diuji sifat toleransi kekeringannya dengan 2 komponen ketahanan, yaitu daya tembus akar dan kandungan prolin dalam daun. Uji daya tembus akar dilakukan menggunakan campuran parafin dengan vaselin setebal 3 cm dengan perbandingan 60% : 40% yang setara dengan 12 bar dan analisis kandungan prolin pada daun yang mendapat cekaman kekeringan. Hasil pengujian yang dilakukan terhadap 15 somaklon hasil generasi pertama (G1) dari G0 yang tahan terhadap cekaman kekeringan akibat perlakuan PEG 20% diperoleh bahwa terdapat variasi kemampuan daya tembus akar terhadap lapisan uji di antara somaklon yang diuji. Hanya 7 somaklon yang mempunyai kemampuan menembus lapisan campuran parafin dan vaselin. Tiga somaklon mempunyai daya tembus akar yang lebih cepat dibandingkan varietas pembanding (Tanggamus dan Nanti), yaitu somaklon No. 2, No. 8, dan No. 12. Pengamatan terhadap komponen pertumbuhan, tidak memperlihatkan adanya korelasi antara daya tembus akar dengan panjang dan diameter akar. Hasil analisis kandungan prolin diperoleh 1 somaklon yang mempunyai kadar prolin jauh lebih tinggi dibandingkan dengan varietas pembanding, yaitu somaklon No. 4 dengan jumlah 1545 µmol/g berat basah daun. Sifat ketahanan terhadap cekaman kekeringan semua somaklon meningkat yang ditunjukkan oleh kandungan prolinya lebih tinggi dari tanaman asal (Sindoro)

**Kata kunci:** Kedelai, aklimatisasi, toleransi kekeringan.

## PENDAHULUAN

Salah satu upaya yang dilakukan untuk menunjang pengembangan garibisnis kedelai di Indonesia adalah memenuhi kebutuhan yang terus meningkat dari tahun ke tahun serta mengurangi ketergantungan akan impor. Sejalan dengan upaya tersebut, percepatan peningkatan produksi di dalam negeri melalui perluasan areal tanaman kiranya perlu mendapat perhatian, khususnya sumber daya lahan kering karena semakin terbatasnya lahan subur yang dapat digunakan. Oleh karena itu, upaya perbaikan varietas yang unggul pada lingkungan yang optimal sekaligus unggul di lingkungan yang suboptimal merupakan salah satu tujuan dalam program pemuliaan masa kini.

Masalah kekeringan (*drought tolerance*) dalam budi daya kedelai merupakan salah satu faktor pembatas utama produksi sehingga diperlukan suatu varietas yang mempunyai kemampuan untuk hidup dan berfungsi secara metabolis pada cekaman tersebut. Ketahanan suatu tanaman terhadap kekeringan merupakan suatu fenomena yang kompleks baik dalam fisiologi dan genetiknya. Suatu tanaman dikatakan toleran terhadap kekeringan apabila memiliki kemampuan melanjutkan fungsi-fungsinya di bawah kondisi air yang terbatas. Untuk itu, diperlukan suatu varietas atau galur kedelai yang toleran terhadap cekaman tersebut.

Teknologi kultur *in vitro* melalui keragaman somaklonal dapat menghasilkan individu-individu baru sebagai dampak dari instabilitas somatik selama pengkulturan. Keragaman dapat dipacu bila kultur *in vitro* diinduksi dengan mutagen fisik atau kimiawi pada populasi sel yang embriogenik. Regenerasi sel embriogenik membentuk tanaman melalui embriogenesis somatik memberikan peluang yang tinggi untuk mendapatkan mutan yang diinginkan karena propagul yang dihasilkan sangat banyak jumlahnya (Amirata 1985). Namun demikian, regenerasi dengan cara ini lebih sulit karena formulasi media yang digunakan berbeda untuk setiap tahapan perkembangan mulai dari tahap globular, jantung, torpedo sampai berkecambah membentuk benih somatik (Mariska 1997). Selanjutnya Nagatomi (1996) melaporkan bahwa dengan radiasi pada kultur *in vitro* dapat menyebabkan terjadinya mutasi non khimerik dengan peluang yang tinggi dan dapat menghasilkan genotipe baru yang tidak terdapat pada *gen pool* yang sudah ada.

Keberhasilan untuk mendapatkan kultivar atau varietas baru tanaman hasil kultur *in vitro* sangat ditentukan oleh keberhasilan memindahkan planlet yang dihasilkan ke lingkungan luar (aklimatisasi). Kondisi planlet yang berasal dari botol masih sangat rentan, terutama terhadap suhu dan kelembaban udara serta patogen dalam tanah. Keberhasilan tersebut sangat menentukan bisa tidaknya dilakukan pengamatan dan pengujian berikutnya terhadap keragaman yang diperoleh (Husni 2004).

Tujuan jangka pendek dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode pembentukan benih somatik, metode aklimatisasi, dan nomor-nomor harapan baru kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Tujuan jangka panjangnya adalah untuk mendapatkan nomor-nomor harapan baru kedelai yang dapat digunakan sebagai populasi dasar untuk merakit varietas baru yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Keluaran yang diharapkan adalah nomor-nomor harapan (berbagai somaklon/regeneran) yang dapat digunakan sebagai populasi dasar untuk merakit varietas padi dan kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Pembentukan Benih Somatik Dewasa**

Benih somatik muda tanaman kedelai varietas Sindoro dan Wilis yang toleran terhadap PEG (hasil Penelitian TA 2003) dipindahkan ke media MS atau  $\frac{1}{2}$  MS tanpa zat pengatur tumbuh untuk perakaran sehingga terbentuk benih somatik dewasa. Benih somatik yang telah dewasa kemudian diaklimatisasi di rumah kaca dalam media campuran tanah dengan pupuk kandang atau tanah dengan kompos (1 : 1) dan dipelihara sampai menghasilkan polong yang tua. Kemudian benih G1 diuji sifat daya toleransi kekeringannya dengan salah satu komponen sifat ketahanan, yaitu dengan daya tembus akar dalam media campuran parafin dengan vaselin (60% : 40%) setebal 3 mm dan uji kandungan prolin dalam daun. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap.

Peubah yang diamati pada percobaan ini adalah jumlah benih somatik dewasa yang dihasilkan, persentase keberhasilan aklimatisasi, daya tembus akar, dan kadar prolin.

Penilaian toleransi somaklon kedelai terhadap kekeringan dikaji melalui uji daya tembus akar menggunakan campuran parafin dengan vaselin setebal 3 cm dengan perbandingan 60% : 40% yang setara dengan 12 bar (Suardi dan Moeljopawiro 1999) dan analisis kandungan prolin pada daun yang mendapat cekaman kekeringan. Penelitian dilakukan di rumah kaca BB-Biogen dan Laboratorium PSVT, IPB Deramaga dari bulan Mei-September 2004.

### **Uji Daya Tembus Akar**

Bahan tanaman yang digunakan dalam pengujian sebanyak 15 benih kedelai somaklon yang berasal dari varietas Sindoro generasi 0 (G1) yang tahan terhadap cekaman kekeringan hasil

regenerasi *in vitro* dari sel-sel somatik embriogenik setelah diradiasi dan diseleksi dengan PEG (BM 6000) 20% selama selama 2 bulan.

Uji daya tembus akar dilakukan di rumah kaca dengan cara mengecambahkan 15 benih somaklon dalam pot gelas plastik ukuran 250 ml. Media yang digunakan untuk pengujian daya tembus akar terdiri dari campuran tanah : pasir : pupuk kandang dengan perbandingan 6 : 2 : 1. Campuran parafin dengan vaselin dimasukkan dalam gelas plastik setebal 3 cm. Kemudian dimasukkan media tumbuh sebanyak  $\pm 250$  g/gelas. Pot-pot percobaan ditempatkan di atas gelas plastik lainnya yang telah diberi larutan hara sebanyak 200 ml larutan hara Soepandi (Tabel 1), agar akar yang telah menembus lapisan dasar pot (campuran parafin dengan vaselin) tumbuh normal. Sebagai pembanding digunakan varietas tahan kekeringan (Nanti dan Tanggamus) dan tanaman asal (Sindoro).

Pengamatan dilakukan terhadap waktu berkecambah, daya tembus akar, tinggi tanaman, panjang akar, jumlah akar, dan diameter akar setiap individu tanaman.

### Analisis Kadar Prolin

Tanaman hasil dari percobaan uji daya tembus akar dipindahkan ke polibag yang besar  $\emptyset$  40 cm setelah umur 2 minggu setelah tanam (mst). Media yang digunakan adalah campuran tanah dengan pupuk kandang (2 : 1). Pada saat tanaman berumur 4 mst, pemberian air dihentikan selama 1 minggu. Kemudian daun ketiga dan keempat dari pucuk diambil dengan pisau dan disimpan dalam lemari es yang digunakan untuk analisis kadar prolin.

Analisis kandungan prolin dilakukan di Laboratorium PSVT, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Daun dari masing-masing somaklon dan varental ditimbang sebanyak 0,5 g. Kemudian ditambah dengan 5 ml *sulfosalic acid* konsentrasi 3% dan digerus dengan mortal, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit. Setelah itu, supernatan diambil dan dipindah pada wadah lainnya sehingga tinggal residunya saja. Residu ditambah kembali dengan 4 ml *sulfosalic acid* dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Supernatan awal digabung dengan supernatan akhir dan ditera menjadi 10 ml dan dikocok sampai merata. Untuk menentukan kadar prolin dilakukan dengan cara mengambil 2 ml supernatan + 2 ml asam ninhidrin + 2 ml asetat glacial dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam. Kemudian didinginkan dalam *ice bath* dan ditambah dengan 4 ml toluen, lalu dikocok selama  $\pm 15$  detik. Kemudian didiamkan sampai terbentuk 2 fase, fase toluen diambil dan diukur kadar prolinnya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nano meter. Penghitungan dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\mu\text{M/g basah} = \frac{\text{Konsentrasi} \times \text{ml toluen}}{\text{BM prolin/bobot basah}}$$

Hasil penghitungan dari masing-masing sampel dibandingkan dengan prolin standar.

**Tabel 1.** Komposisi larutan Soepandi yang digunakan dalam percobaan.

No.	Bahan kimia	Konsentrasi
1.	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,5 mM
2.	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,0 mM
3.	KCl	1,0 mM
4.	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,4 mM
5.	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,0 mM
6.	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,5 mM
7.	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,5 mM
8.	FeEDTA	68 $\mu$ M
9.	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,05 ppm
10.	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,02 ppm
11.	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,01 ppm

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembentukan Benih Somatik Dewasa

Banyaknya jumlah embrio somatik yang dihasilkan setelah dilakukan seleksi dengan PEG akan mempengaruhi keberhasilan pada pengujian tahap berikutnya. Banyaknya jumlah struktur embrio somatik yang dapat berkembang setelah dilakukan seleksi dengan PEG sangat jauh berbeda dengan jumlah struktur embrio somatik yang tidak dilakukan seleksi dengan PEG baik pada varietas Sindoro maupun Willis. Semakin tinggi konsentrasi PEG yang diberikan, maka semakin sedikit pula embrio somatik yang dihasilkan (Tabel 2). Hal ini disebabkan oleh pengaruh sifat PEG yang dapat mengikat air dan mempunyai berat molekul yang tinggi ( $\geq 4000$ ) sehingga menyebabkan penurunan potensial air dalam medium (Lawyer 1970). Penurunan potensial air dalam media menyebabkan penurunan kemampuan sel/kalus embriogenik tumbuh dan berkembang ke arah selanjutnya. Karena mengalami stres kekurangan air.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa jumlah embrio somatik yang dapat tumbuh dan berkembang membentuk benih somatik yang sempurna jumlahnya sangat sedikit, bahkan pada perlakuan PEG 30% tidak menghasilkan benih somatik yang sempurna (0) pada kedua varietas yang digunakan. Benih somatik yang dihasilkan diduga merupakan somaklon yang benar-benar toleran terhadap stres air akibat perlakuan PEG. Hal ini disebabkan oleh struktur embrio somatik yang terbentuk selama seleksi tidak semuanya dapat berkembang membentuk benih somatik yang sempurna. Pennypacker *et al.* (1990) mengatakan bahwa kondisi stres air mempunyai efek yang sangat besar terhadap proses fisiologis dan metabolisme di dalam tanaman. Terganggunya proses metabolisme tersebut akan menghambat proses perkecambahan embrio somatik membentuk benih somatik yang sempurna.

Terbentuknya benih somatik yang sempurna merupakan faktor yang menentukan dalam keberhasilan aklimatisasi. Sempurna atau tidaknya benih somatik yang dihasilkan dapat dilihat dari adanya tunas yang berkembang setelah berkecambah dan terbentuknya akar skunder dari akar primer (Gambar 1).

Banyaknya jumlah benih somatik yang dihasilkan dari varietas Sindoro adalah 24 (30,4%) dari PEG 0%, 6 (17,1%) dari PEG 10%, 4 (13,8%) dari PEG 20%, dan 0 dari PEG 30%. Sedangkan jumlah benih somatik yang dihasilkan dari varietas Willis adalah 19 (26,4%) dari PEG 0%, 8 (26,7%) dari PEG 10%, 3 (18,8%) dari PEG 20%, dan 0 dari PEG 30%.

### Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan salah satu tahapan yang harus dilalui dalam kegiatan kultur *in vitro*. Aklimatisasi merupakan adaptasi planlet dari lingkungan *in vitro* ke lingkungan *in vivo* sebelum ditanam di lapang. Diperolehnya tanaman yang dapat hidup dan berkembang setelah aklimatisasi akan menentukan bisa tidaknya pengamatan dan pengujian tahap berikutnya dalam program perbaikan tanaman melalui kultur *in vitro*. Karena setiap planlet/benih somatik yang dihasilkan merupakan individu baru yang akan diuji sesuai tujuan yang akan diperoleh.

**Tabel 2.** Banyaknya jumlah struktur embrio somatik dan benih somatik yang dihasilkan setelah dilakukan seleksi.

Varietas PEG (%)	Jumlah struktur embrio somatik yang dapat berkembang setelah seleksi	Persentase dan jumlah benih somatik yang dapat berkembang sempurna setelah seleksi
Sindoro	0	30,4(24/79)
	10	17,1(6/35)
	20	13,8(4/29)
	30	0
Willis	0	26,4(19/72)
	10	26,7(8/30)
	20	18,8(3/16)
	30	0

Dari 21 benih somatik yang diaklimatisasi dari seluruh perlakuan PEG diperoleh bahwa keberhasilan benih somatik yang dapat hidup umur 2 minggu setelah aklimatisasi adalah antara 66,7-100% pada varietas Sindoro dan 33,3-62,5% pada varietas Willis. Keberhasilan aklimatisasi setelah 4 minggu aklimatisasi semakin sedikit, yaitu hanya 1 individu yang berasal dari perlakuan PEG 20% dari varietas Sindoro sebesar 25% (Gambar 2). Somaklon mulai ada yang mati pada hari ke-3 yang dimulai dengan busuknya batang bagian bawah dan diikuti oleh daun yang mulai layu. Semakin lama waktu aklimatisasi maka semakin banyak benih yang mati. Hasil yang sama juga diperoleh Husni *et al.* (2004) pada somaklon benih somatik kedelai yang diseleksi dengan PEG 25%, yaitu 1 individu.

Somaklon yang hidup dipelihara dengan cara pemupukan dan penyiraman yang rutin sampai menghasilkan biji generasi pertama (G1). Somaklon yang hidup dapat tumbuh dan berkembang membentuk bunga dan dapat menghasilkan polong sehingga diperoleh biji generasi pertama. Jumlah bunga yang dihasilkan sebanyak 42 bunga. Dari 42 bunga yang terbentuk hanya 24 bunga yang dapat berkembang menjadi polong dengan jumlah biji sebanyak 34 biji dengan kisaran antara 1-3 biji/polong. Tinggi tanaman 50,2 cm, jumlah bunga 42 kuntum, jumlah polong sebanyak 24 polong, jumlah biji 34 butir, jumlah biji/polong 1-3 butir, ukuran biji 0,55-0,82 mm, berat polong 12,85 g, berat biji 9,8 g, dan umur 90 hari (Tabel 3). Dari 34 biji yang dihasilkan, 19 biji digunakan untuk pengujian kadar prolin dan 15 biji digunakan untuk uji daya tembus akar. Penampakan beberapa deskripsi somaklon dapat dilihat pada Gambar 3.

### Uji Daya Tembus Akar

Dari hasil pengamatan terhadap kemampuan benih berkecambah dari 15 somaklon yang diuji tidak berbeda antara somaklon dengan varietas pembanding. Waktu berkecambah benih awal somaklon adalah 2 hari, kecuali somaklon No. 14 pada hari ke-3 setelah tanam. Sedangkan varietas pembanding daya kecambahnya adalah 2,2 hari untuk Tanggamus dan Sindoro dan 2,3 hari untuk varietas Nanti (Tabel 5). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat viabilitas benih sangat tinggi. Menurut Richards (1996), vigor benih merupakan salah satu parameter penting untuk daya tembus akar. Perbedaan vigor akan mempengaruhi pertumbuhan, keseragaman berkecambah, dan hasil biji (Seshu *et al.* 1998).

Uji kemampuan daya tembus akar dari 15 galur/varietas, ternyata hanya 7 somaklon yang mampu menembus campuran lapisan parafin dengan vaselin, dengan rentang 4-7 hari (Tabel



**Gambar 1.** Penampakan benih somatik kedelai yang dihasilkan (planlet) setelah perlakuan PEG.

6). Sedangkan semua varietas pembanding mampu menembus lapisan parafin dengan vaselin, dengan kecepatan daya tembus sekitar 5 hari untuk Tanggamus dan 6 hari pada varietas Nanti dan Sindoro. Penampakan gambar uji daya tembus akar dapat dilihat pada Gambar 4.

Kemampuan akar tanaman menembus lapisan dasar pot yang diberi campuran parafin dengan vaselin dapat ditentukan oleh vigor, perbedaan perlakuan kekerasan dan ketebalan lapisan, perbedaan pemeliharaan terhadap setiap tanaman atau perbedaan sifat toleransi terhadap kekeringan (Suardi dan Moeljopawiro 1999). Pada kajian ini diperoleh tiga galur yang mempunyai daya tembus akar lebih baik daripada daya tembus akar varietas tahan maupun donor, yaitu No. 2, No. 7, dan No. 11.

Ketahanan suatu tanaman terhadap kekeringan juga ditentukan oleh kemampuan tanaman tersebut memanfaatkan air yang berada di bagian tanah yang lebih dalam. Kemampuan memanfaatkan air yang ada pada bagian tanah yang lebih dalam ditentukan oleh kekuatan daya tembus dan panjang akar. Menurut Suardi (2000), sifat fisik akar yang berupa perakaran yang panjang, padat, dan diameter akar yang besar menjadi tolok ukur galur/varietas tahan kekeringan.

Dari hasil pengamatan terhadap panjang akar, jumlah akar, diameter akar, dan tinggi tanaman dari somaklon yang diuji diperoleh adanya variasi dalam somaklon atau varietas (Tabel



**Gambar 2.** Aklimatisasi somaklon dari bibit somatik yang dihasilkan.

**Tabel 3.** Banyaknya jumlah benih somatik yang diaklimatisasi dan persentase keberhasilannya.

Varietas PEG (%)	Jumlah benih somatik yang diaklimatisasi	Jumlah benih somatik yang hidup (Minggu)		Persentase benih somatik yang hidup (Minggu)	
		2	4	2	4
Sindoro					
10	6	4	0	66.7	0
20	4	4	1	100	25
30	0	0	0	0	0
Wilis					
10	8	5	0	62.5	0
20	3	1	0	33.3	0
30	0	0	0	0	0

**Tabel 4.** Deskripsi somaklon kedelai yang hidup setelah diaklimatisasi di rumah kaca.

Komponen yang diamati	Jumlah/ukuran
Tinggi tanaman (cm)	50.2
Jumlah bunga (kuntum)	42
Jumlah polong (polong)	24
Jumlah biji (butir)	34
Jumlah biji/polong (butir)	1-3
Ukuran biji (mm)	0,55-0,82
Berat polong (g)	12,85
Berat biji (g)	9,80
Umur (hari)	90

7). Variasi panjang akar dari somaklon yang diuji antara 3,5-21 cm. Bila dilihat dari panjang akar, diperoleh bahwa somaklon No. 7 menghasilkan akar paling panjang, yaitu 21 cm, diikuti No. 13 dan No. 2. Bila dibandingkan dengan varietas pembanding (Tanggamus, Nanti, dan Sindoro) diperoleh bahwa somaklon No. 7 mempunyai ukuran akar yang paling panjang. Bila dilihat dari diameter akar, semua galur somaklon yang diuji mempunyai lingkaran akar lebih besar dari lingkaran akar Tanggamus, Nanti maupun Sindoro, kecuali somaklon No. 6 hanya sebesar 0,6 mm. Diameter akar paling besar berasal dari somaklon No. 13, yaitu 1,2 mm dan diikuti somaklon No. 12 sebesar 1,1 mm. Somaklon yang mempunyai panjang dan diameter akar yang lebih kecil mempunyai tinggi tanaman paling tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Miller (1986) yang menyatakan bahwa kemampuan suatu tanaman menghasilkan akar yang panjang mempengaruhi pertumbuhan organ-organ tanaman yang berada di atas tanah seperti tinggi tanaman, jumlah daun, dan lain lain, sehingga tanamannya menjadi lebih pendek.

Berdasarkan pengamatan terhadap komponen pertumbuhan yang dilakukan, tidak memperlihatkan adanya korelasi antara daya tembus akar dengan panjang dan diameter akar.



**Gambar 3.** Penampakan beberapa deskripsi dari somaklon yang hidup.

**Tabel 5.** Kecambah muncul benih somaklon dan varietas pembanding pada media campuran tanah : pasir : pupuk kandang dengan perbandingan 6 : 2 : 1.

Somaklon/varietas	Kecambah muncul (hari)
No. 1	2
No. 2	2
No. 3	2
No. 4	2
No. 5	2
No. 6	2
No. 7	2
No. 8	2
No. 9	2
No. 10	2
No. 11	2
No. 12	2
No. 13	2
No. 14	3
No. 15	2
Tanggamus	2,2
Nanti	2,4
Sindoro	2,2

**Tabel 6.** Daya tembus akar somaklon dan varietas pembanding pada media campuran parafin dan vaselin 60% : 40% dengan ketebalan 3 mm, 2 minggu setelah tanam.

Somaklon dan varietas	Daya tembus akar (hari setelah tanam)
No. 1	-
No. 2	4
No. 3	5
No. 4	-
No. 5	-
No. 6	7
No. 7	6
No. 8	4
No. 9	-
No. 10	-
No. 11	-
No. 12	4
No. 13	5
No. 14	-
No. 15	-
Tanggamus	5
Nanti	6
Sindoro	6



**Gambar 4.** Penampakan gambar uji daya tembus akar dari galur-galur yang diuji.

### Analisis Kadar Prolin

Ketahanan terhadap kekeringan merupakan suatu fenomena yang kompleks baik dalam fisiologinya maupun genetiknya. Hasil penelitian pada banyak tanaman menunjukkan bahwa penurunan potensial air dipengaruhi oleh konsentrasi dan komposisi dari fraksi nitrogen terlarut, khususnya perubahan kandungan prolin (Stewart dan Larher 1980). Akumulasi prolin bebas dalam tanaman selama periode stres air berkorelasi nyata dengan kecepatan penyembuhan kembali pada periode post-stres. Prolin bebas bertindak sebagai senyawa penyimpan karbon dan nitrogen selama periode stres air. Karena pada saat itu sintesis karbohidrat dan protein dihambat maka dalam hal ini prolin berfungsi sebagai senyawa penyimpan energi yang akan digunakan untuk pertumbuhan setelah tanaman disiram kembali (Hanson *et al.* 1977).

Liu *et al.* (1987) mengatakan bahwa kemampuan mengakumulasi prolin bebas pada varietas yang toleran selama kondisi stres air sangat nyata dibandingkan dengan varietas peka. Penurunan kadar prolin juga jelas lebih cepat apabila perlakuan stres air dihentikan. Korelasi yang nyata antara penurunan kadar prolin dan kecepatan penyembuhan (*recovering*) menunjukkan bahwa pada kondisi stres air, prolin memainkan peranan yang penting sebagai sumber energi respirasi dalam upaya penyembuhan tanaman. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa karakter fisiologi dan reaksi biokimia tanaman dapat dijadikan sebagai indikator seleksi ketahanan terhadap kekeringan.

Dari hasil analisis yang diperoleh terhadap kandungan prolin yang terdapat pada daun pada somaklon dan varietas kedelai yang diberikan perlakuan stres air ditampilkan pada Tabel 8.

**Tabel 7.** Rata-rata panjang akar, jumlah akar, diameter akar dan tinggi tanaman yang dapat menembus lapisan media campuran parafin dan vaselin.

Somaklon dan varietas	Panjang akar (cm)	Jumlah akar	Diameter akar (mm)	Tinggi tanaman (cm)
No. 1	-	-	-	8
No. 2	15	1	1	8,5
No. 3	5	1	1	5
No. 4	-	-	-	6
No. 5	-	-	-	7,5
No. 6	3,5	1	0,6	9,5
No. 7	21	1	1	7,0
No. 8	12	1	1	6,5
No. 9	-	-	-	5
No. 10	-	-	-	6
No. 11	-	-	-	5,5
No. 12	13	1	1,1	7
No. 13	15,5	1	1,2	7,5
No. 14	-	-	-	1
No. 15	-	-	-	7
Tanggamus	11,9	1	0,83	8,6
Nanti	15	1	0,97	6,9
Sindoro	13	1	0,98	8

**Tabel 8.** Kandungan prolin somaklon dan varietas pembanding yang diuji pada kondisi cekaman kekeringan.

Somaklon dan varietas	Kandungan prolin ( $\mu\text{mol/g}$ berat basah)
No. 1	160,3
No. 2	99,2
No. 3	175,3
No. 4	1545
No. 5	127,6
No. 6	143,5
No. 7	155
No. 8	104,6
No. 9	136,9
No. 10	145,2
No. 11	175,5
No. 12	100,8
No. 13	126,9
No. 14	-
No. 15	123,8
Tanggamus	220
Nanti	193,5
Sindoro	77,9

Dari Tabel 8 dapat dilihat bahwa kandungan prolin pada masing-masing somaklon bervariasi, mulai dari yang tidak terdeteksi sampai yang sangat tinggi. Kandungan kadar prolinnya berkisar antara 99,2-1545  $\mu\text{mol/g}$  berat basah. Kadar prolin paling tinggi berasal dari somaklon No. 4 sebanyak 1545  $\mu\text{mol/g}$  berat basah. Bila dibandingkan dengan tanaman asal, kandungan prolin semua somaklon lebih tinggi dibandingkan dengan Sindoro. Tetapi bila dibandingkan dengan kadar prolin varietas tahan (Tanggamus dan Nanti), hanya 1 somaklon yang memberikan kandungan prolin yang lebih tinggi, yaitu somaklon No. 4.

## KESIMPULAN

Dari pengujian yang telah dilakukan terhadap 15 somaklon hasil generasi pertama (G1) dari G0 yang tahan terhadap cekaman kekeringan akibat perlakuan PEG 20% diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat variasi kemampuan daya tembus akar terhadap lapisan campuran parafin dan vaselin (60% : 40%) di antara somaklon yang diuji.
2. Hanya 7 somaklon yang mempunyai kemampuan menembus lapisan campuran parafin dan vaselin.
3. Terdapat tiga somaklon mempunyai daya tembus akar yang lebih cepat dibandingkan dengan Tanggamus dan Nanti, yaitu somaklon No. 2, No. 8, dan No. 12.
4. Dari hasil pengamatan terhadap komponen pertumbuhan, tidak memperlihatkan adanya korelasi antara daya tembus akar dengan panjang serta diameter akar.
5. Dari hasil analisis kandungan prolin diperoleh 1 somaklon yang mempunyai kadar prolin lebih tinggi dibandingkan dengan Tanggamus, Nanti, dan Sindoro, yaitu somaklon No. 4 dengan jumlah 1545  $\mu\text{mol/g}$  berat basah daun.
6. Kadar prolin semua somaklon lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman asal (Sindoro).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arsyad, D.M. 2003.** Varietas unggul kedelai adaptif di lahan kering masam. Makalah dalam Seminar Puslitbang Tanaman Pangan Bogor, 5 Juni. 25 hlm.
- Bates, L.S., R.P. Waldren, and I.D. Teare. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39:205-207.
- Blum, A. and A. Ebercane. 1976.** Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science* 16:428-430.
- Bray, E.A. 1988.** Drought-and ABA-induced changes in polypeptide and mRNA accumulated in tomato leaves. *Plant Physiol.* 88:1210-1214.
- Ekanayake, I.J. and D.J. Midmore. 1992.** Genotypic variation for root pulling resistance in potato and its relationship with yield under water-deficit stress. *Euphytica* 61:43-53.
- Hanson, A.D., E. Charles, E.H. Nelsen, and Everson. 1977.** Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Science* 17:720-726.
- Husni, A., S. Hutami, M. Kosmiatin, dan I. Mariska. 2004.** Seleksi *in vitro* tanaman kedelai untuk meningkatkan sifat ketahanan terhadap cekaman kekeringan. Laporan Tahunan Penelitian BB-Biogen TA 2003. 16 hlm.
- Liu, W.F., S.T. Ho, Y.H. Chen, and W.S. Chen. 1987.** Relationship between free proline accumulation in leaves and yields of sugarcane varieties under water stressed condition. *Taiwan Sugar*. p. 117-120.
- Miller, D.E. 1986.** Root systems in relation to stress tolerance. *Hort Sci.* 21:233-237.
- Richards, R.A. 1996.** Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regulation* 20:157-166.
- Sheu, Y.S. 1996.** Rating of drought resistance in sugarcane. *Proceedings XXII ISSCT.* 2:75-79.
- Suardi, D. dan S. Moeljopawiro. 1999.** Daya tembus akar padi pada media parafin dan vaselin. *Jurnal Penelitian Pertanian* 18(1):23-28.
- Suardi, D. 2000.** Kajian metode skrining padi tahan kekeringan. *Buletin AgroBio* 3(2):67-73.
- Stewart, C.R. and F. Larher 1980.** Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. *In* B.J. Minflin (*Ed.*). *Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise.* Vol. 5. Amino Acids Derivates. Academic Press. 670 p.

- Venhatanama and Singh. 1987.** Membrane thermoostability and NRA in relation to water stress tolerance of young sugarcane plants. *New Phyrol.* 107:335-340.
- Vos, J. and J. Groenwold. 1986.** Root growth of potato crops on a marine-clay soil. *Plant Soil* 94:17-33.