

POLIETILENA GLIKOL (PEG) DALAM MEDIA IN VITRO MENYEBABKAN KONDISI CEKAMAN YANG MENGHAMBAT TUNAS KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)

Enni Suwarsi Rahayu*, Edi Guhardja**, Satriyas Ilyas***, dan Sudarsono***

*) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang, Jl Raya Sekaran Gunungpati, Semarang 50229

**) Jurusan Biologi FMIPA Institut Pertanian Bogor

***) Lab Biologi Molekuler Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura (AGRO-HORT), Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680. Penulis untuk korespondensi, e-mail: agrspsipb@indo.net.id; fax: 0251-629347

ABSTRACT

The objectives of this experiment were to determine response of epycotyl of nine peanut cultivars against polyethylene glycol (PEG 6000) induced stress under in vitro conditions, effective concentration of PEG to inhibit growth and development of epycotyl, evaluate tolerance of the cultivars against PEG stress, and evaluate changes in total proline content due to PEG stress. Growing epycotyls from peanut seeds (TDK) or from embryo axis (TTK) were planted on liquid MS-0 medium containing PEG 6000 (0%, 5%, 10%, 15%, and 20%). Growth, development, and the tissue damage score of the epycotyl were observed after six weeks. Total content of proline were analyzed for stressed and non stressed epycotyl to determine effect of PEG stress on proline accumulation. Results of the experiment indicated that addition of PEG 6000 in to MS-0 medium inhibited growth and development of peanut epycotyls and increased its total proline content. Addition of PEG 6000 might be used to simulate drought stress under in vitro condition. PEG at 15% concentration was effective for inhibiting growth and development of epycotyl explant. The response of peanut epycotyls against medium containing 15% PEG 6000 might be used as alternative methods for screening peanut tolerance against drought stress. The TDK and TTK might be used as explant, while increased in shoot length (TTK), in leaf number (TDK and TTK), in milted leaf number (TDK and TTK), in root number (TDK) and score of tissue damage (TDK) might be used as criteria for drought tolerance.

Key words: drought stress response, in vitro selection, PEG induced stress, total proline content

PENGANTAR

Ketersediaan air merupakan faktor pembatas utama dalam budi daya tanaman. Pada genotipe tanaman yang toleran terhadap cekaman kekeringan, penurunan daya akibat cekaman tidak sebesar yang terjadi pada genotipe peka sehingga penggunaan genotipe yang toleran mempunyai arti penting dalam budi daya tanaman di lahan kering. Seleksi dalam proses pengembangan genotipe tanaman yang toleran cekaman kekeringan umumnya dilakukan di lapang atau dalam pot dengan pengurangan penyiraman air (Sloane dkk., 1990; Carter dan Rufty, 1992; Thomas dkk., 1996; Sneller dan Dombek, 1997). Membuat kondisi kering yang homogen di lapang biasanya sulit dilakukan. Pada kondisi lapang, makin dalam dari permukaan tanah kadar air tanah biasanya makin tinggi. Kondisi kering yang homogen dalam pot juga sulit dijaga karena sulitnya menyiapkan media tanam yang homogen.

Untuk menghadapi cekaman kekeringan, pada umumnya tanaman mengembangkan mekanisme *avoidance* dengan cara meningkatkan pertumbuhan biomassa akar untuk menjangkau kedalaman tanah yang kadar airnya lebih tinggi (Monneaux dan Belhassen, 1996), tetapi mekanisme ini kurang efektif karena pertumbuhan biomassa akar yang

berlebihan dapat menurunkan daya hasil tanaman. Mekanisme toleransi terhadap cekaman kekeringan yang tidak berpengaruh negatif terhadap daya hasil lebih diinginkan dibandingkan dengan mekanisme *avoidance*.

Genotipe kacang tanah yang toleran terhadap cekaman kekeringan relatif terbatas jumlahnya. Kultivar kacang tanah yang ada kebanyakan mempunyai mekanisme *avoidance* untuk mentoleransi kondisi cekaman kekeringan, sehingga pengembangan plasma nutfah dengan sifat toleran masih perlu dilakukan. Seleksi *in vitro* dapat menjadi alternatif cara untuk mengembangkan plasma nutfah kacang tanah yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Penggunaan seleksi *in vitro* untuk mendapatkan plasma nutfah kacang tanah yang toleran cekaman kekeringan memerlukan tersedianya teknik kultur jaringan yang efektif untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dan untuk menginduksi keragaman somaklonal. Selain itu, agen penyeleksi (*selective agent*) yang dapat menapis sel/jaringan varian dengan sifat toleran di antara sel/jaringan yang peka cekaman kekeringan perlu tersedia. Manitol, sorbitol, garam, dan PEG telah digunakan sebagai agen penyeleksi dalam seleksi *in vitro* untuk toleransi terhadap cekaman kekeringan (Gulati dan Jaiwal, 1993; Rajashekar dkk., 1995; Dami dan Hughes, 1997).

Senyawa polietilena glikol (PEG) merupakan senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen. Penyiraman larutan PEG ke dalam media tanam diharapkan dapat menciptakan kondisi cekaman karena ketersediaan air bagi tanaman menjadi berkurang. Ukuran molekul dan konsentrasi PEG dalam larutan menentukan besarnya potensial osmotik larutan yang terjadi. Menurut Michel dan Kaufmann (1973), larutan PEG 6000 dengan konsentrasi 5% mempunyai potensial osmotik $-0,13$ MPa (1,26 bar) sedangkan konsentrasi 20% mempunyai potensial osmotik $-0,71$ MPa (7,06 bar). Tanah dalam kondisi kapasitas lapang mempunyai potensial osmotik 0,33 bar dan dalam kondisi titik kelembapan kritis (koefisien layu) mempunyai potensial osmotik 15 bar.

Sebagai agen penyeleksi, PEG 6000 dilaporkan lebih unggul dibandingkan manitol, sorbitol, atau garam karena tidak bersifat toksik terhadap tanaman (Verslues dkk., 1998), tidak dapat diserap oleh sel akar (Chazen dan Neumann, 1994), dan secara homogen menurunkan potensial osmotik larutan. Penggunaan larutan PEG 6000 dengan konsentrasi 5–20% diharapkan dapat menciptakan potensial osmotik yang setara dengan kondisi tanah kapasitas lapang dan titik kelembapan kritis.

Penambahan larutan PEG dalam media *in vitro* diharapkan dapat mensimulasi kondisi cekaman kekeringan. Eksplan yang ditanam dalam media selektif dengan penambahan PEG diharapkan memberikan respons yang sama dengan yang mengalami cekaman kekeringan. Evaluasi untuk menentukan respons eksplan kacang tanah terhadap cekaman PEG dalam media *in vitro* perlu dilakukan sebagai langkah awal penggunaan PEG dalam seleksi *in vitro*.

Salah satu respons tanaman terhadap cekaman kekeringan adalah meningkatkan kandungan osmolit dalam sel, antara lain dengan mengakumulasi senyawa prolina (Mundree dkk., 2002). Enam kultivar kacang tanah Indonesia yang diuji juga menunjukkan peningkatan akumulasi senyawa prolina sebagai respons terhadap cekaman kekeringan (Sudarsono dkk., 2004). Terjadinya peningkatan kandungan prolina jaringan eksplan kacang tanah yang ditanam dalam media dengan penambahan PEG dapat digunakan sebagai indikator kemampuan senyawa PEG untuk mensimulasikan cekaman kekeringan dalam media *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan menentukan respons eksplan epikotil dari sembilan kultivar kacang tanah Indonesia yang ditanam dalam media selektif dengan penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000, menentukan konsentrasi PEG yang

efektif untuk menghambat pertumbuhan dan perkembangan jaringan eksplan, dan mengevaluasi toleransi sembilan kultivar kacang tanah yang diuji terhadap cekaman PEG. Percobaan juga bertujuan mengevaluasi kandungan prolina jaringan sebagai respons terhadap cekaman PEG dalam media *in vitro*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Tanaman yang Digunakan

Dalam penelitian ini digunakan kacang tanah cv. Singa, Komodo, dan Jerapah yang dilaporkan toleran terhadap cekaman kekeringan (Hidayat dkk., 1999; Nursusilawati, 2003), Kelinci, Trenggiling, dan Gajah yang bersifat medium toleran, Simpai dan Macan yang dilaporkan peka (Nursusilawati, 2003), serta Badak yang belum diketahui responsnya terhadap cekaman kekeringan. Benih yang digunakan diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber daya Genetika Pertanian (Balitbiogen), Bogor.

Benih kacang tanah disterilkan dengan direndam dalam larutan pemutih komersial 100% ditambah dua tetes Tween 20, dikocok selama 2–3 menit, dan dibilas tiga kali dengan akuades steril. Pada sebagian percobaan, benih steril dikecambahkan pada media MS (Murashige dan Skoog 1962) tanpa penambahan zat pengatur tumbuh tanaman (ZPT), diinkubasikan dalam ruang kultur bersuhu 25°C , dan diberi penyinaran (1000 lux) selama 24 jam. Epikotil yang tumbuh dari benih dipotong dengan panjang 2 cm dan digunakan sebagai eksplan tunas kacang tanah tipe I (eksplan tunas dari benih dengan kotiledon, TDK). Pada percobaan yang lain, poros embrio diisolasi dari benih kacang tanah steril dan ditanam pada media MS. Kultur diinkubasikan dalam ruang kultur bersuhu 25°C , dan diberi penyinaran (1000 lux) selama 24 jam. Epikotil yang berkembang dari poros embrio dipotong dengan panjang 1 cm dan digunakan sebagai eksplan tunas kacang tanah tipe II (eksplan tunas dari poros embrio tanpa kotiledon, TTK).

Respons Eksplan terhadap Cekaman PEG

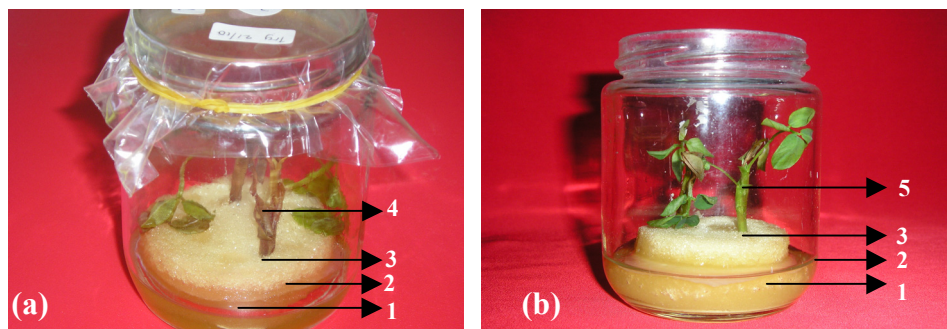
Media selektif yang digunakan terdiri atas komposisi hara makro dan mikro dalam media MS cair dengan penambahan senyawa PEG 6000 sesuai pelakuan. Konsentrasi PEG 6000 yang ditambahkan dalam media selektif terdiri atas 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%, yang masing-masing setara dengan potensial air 0; $-0,13$; $-0,19$; $-0,41$; dan $-0,71$ MPa (Michel dan Kaufmann, 1973). Media selektif sebanyak 25 ml dituangkan dalam botol kultur (volume 150 ml) dan di atas media cair diletakkan berturut-turut satu lembar busa yang pertama, kertas saring

dan satu lembar busa yang kedua, kemudian ditutup dengan lembaran plastik tahan panas. Media disterilkan dengan pemanasan selama 20 menit pada suhu 121 °C dan tekanan udara 1,2 bar menggunakan autoklaf.

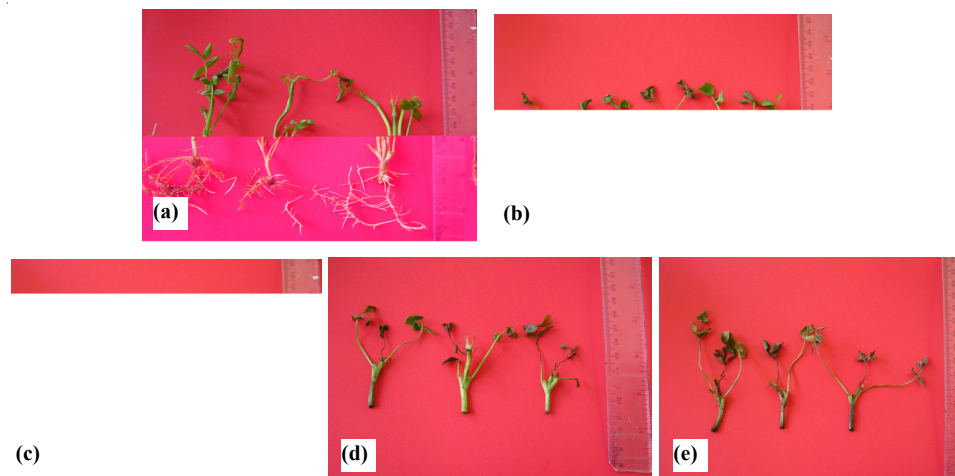
Eksplan tunas kacang tanah tipe I (TDK) dan tipe II (TTK) ditanam dalam lubang dengan diameter 2 mm pada lapisan busa yang kedua (bagian atas) sebagaimana yang terlihat pada Gambar 1. Kultur dipelihara selama enam minggu dalam ruang inkubasi bersuhu 25°C dan diberi

penyinaran 1000 lux selama 24 jam. Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Unit percobaan terdiri atas satu botol kultur yang ditanami empat eksplan TDK atau TTK dan untuk setiap kombinasi perlakuan diulang lima kali. Untuk setiap kombinasi perlakuan digunakan total 20 eksplan tunas yang ditanam dalam 5 botol kultur.

Pertumbuhan eksplan dalam media selektif diamati dengan mencatat pertambahan tinggi tunas dan jumlah daun,



Gambar 1. Media selektif berupa media cair MS (Murashige-Skoog 1962) tanpa zat pengatur tumbuh (MS-0) dengan penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000. (a) Eksplan tunas kacang tanah cv. Macan yang ditanam pada media selektif dengan penambahan PEG 15%. (b) Eksplan tunas kacang tanah cv. Singa yang ditanam pada media selektif dengan penambahan PEG 15%. 1. Lembaran busa pertama, 2. kertas saring, 3. lembaran busa kedua, dengan lubang untuk menanam eksplan tunas, 4. eksplan tunas yang mati setelah enam minggu ditanam dalam media selektif dengan PEG 15%, 5. eksplan tunas yang tetap tumbuh normal setelah enam minggu ditanam dalam media selektif dengan PEG 15%.



Gambar 2. Kriteria penentuan skor kerusakan eksplan tunas kacang tanah setelah ditanam dalam media selektif selama enam minggu. (a) skor 0: tunas sehat atau terjadi kerusakan < 5% dan eksplan tunas mampu berakar, (b) skor 1: terjadi kerusakan 5% - 25% pada daun atau sebagian batang, (c) skor 2: terjadi kerusakan 25% - 50% pada daun dan sebagian batang, (d) skor 3: terjadi kerusakan 50% - 75% pada daun dan sebagian atau seluruh batang, dan (e) skor 4: terjadi kerusakan > 75% pada daun dan seluruh batang, tunas telah mati

jumlah daun yang layu, jumlah akar yang terbentuk, dan tingkat kerusakan eksplan. Tingkat kerusakan eksplan diukur dengan sistem skoring (Gambar 2), yaitu: skor 0 (eksplan sehat atau mengalami kerusakan < 5% dan mampu berakar), skor 1 (kerusakan antara 5–25% pada daun atau sebagian batang), skor 2 (kerusakan antara 25–50% pada daun dan sebagian batang), skor 3 (kerusakan antara 50–75% pada daun dan sebagian atau seluruh batang), dan skor 4 (kerusakan > 75% pada daun dan seluruh batang, tunas telah mati). Data dianalisis menggunakan Anava dengan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

Pengukuran Kandungan Prolina Jaringan Eksplan

Pada akhir pengamatan, tunas yang tumbuh dalam media selektif dipanen dan dikeringkan selama 1 minggu dalam kantong plastik yang berisi *silica gel*. Contoh tanaman dari satu perlakuan yang sama yang telah kering dijadikan sebagai contoh komposit, disimpan dalam kantong plastik bersegel, diberi label sesuai perlakuan, dan disimpan dalam *freezer* (-20 °C) hingga saat dilakukan analisis kandungan prolina.

Analisis kandungan prolina dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Bates dkk. (1973). Sekitar 0,5 g jaringan contoh digerus dalam mortar porselin, dihomogenisasi dengan 10 ml asam sulfosalisilat 3%, dan disaring dengan kertas saring Whatman no. 42. Sebanyak

2 ml filtrat yang didapat direaksikan dengan campuran asam ninhidrin 2 ml dan asam asetat glasial 2 ml dalam tabung reaksi. Campuran dipanaskan hingga 100 °C dalam air mendidih selama 1 jam dan didinginkan dalam air es selama 5 menit. Setelah dingin, larutan diekstraksi menggunakan toluena 4 ml dan dihomogenisasi selama 15–20 detik menggunakan vorteks sampai terbentuk kromofor berwarna merah jambu hingga merah. Kromofor yang terbentuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm.

Untuk menentukan konsentrasi kandungan prolina digunakan kurva standar menggunakan larutan prolina dengan konsentrasi antara 0–1,0 mmol. Prolina dalam larutan standar diekstraksi dengan cara yang sama sebagaimana yang dilakukan untuk jaringan tunas kacang tanah. Kandungan prolina jaringan dinyatakan dalam mmol/g bobot jaringan kering.

HASIL

Respons Eksplan TDK terhadap Cekaman PEG

Penambahan PEG dalam media *in vitro* nyata berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan eksplan tunas kacang tanah tipe I (TDK) yang ditanam secara *in vitro*. Perlakuan PEG 5% nyata menurunkan pertambahan tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah akar utama (Tabel 1). Dampak yang nyata terhadap peningkatan jumlah daun layu dan skor kerusakan tunas terjadi akibat penambahan PEG 10%, 15%, atau 20% (Tabel 2).

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap pertambahan tinggi, jumlah daun dan jumlah akar utama pada eksplan tunas yang berasal dari benih dengan kotiledon (TDK) dan nilai relatifnya terhadap konsentrasi PEG 0%

Peubah dan kultivar	Toleransi*	Respon terhadap media dengan PEG**					Nilai relatif terhadap PEG 0%				
		0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%
Pertambahan tinggi tunas (cm) per eksplan											
Singa	TL	8,5a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Komodo	TL	7,9a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Jerapah	TL	8,2a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Kelinci	MT	7,0a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Gajah	MT	6,3a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Trenggiling	MT	6,7a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Simpai	PK	6,3a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Macan	PK	6,9a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Badak	-	6,3a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Pertambahan jumlah daun per botol											
Singa	TL	10,4a	10,4a	9,6a	2,4b	0,0b	100	100	92	23	0
Komodo	TL	10,0a	9,6a	8,0a	0,0b	0,0b	100	96	80	0	0
Jerapah	TL	10,4a	9,6a	8,8a	1,6b	0,0b	100	92	85	15	0
Kelinci	MT	8,8a	7,6a	7,6a	0,0b	0,0b	100	86	86	0	0
Gajah	MT	8,0a	4,8b	2,8c	0,0d	0,0d	100	60	35	0	0
Trenggiling	MT	8,0a	5,6b	3,2c	0,0d	0,0d	100	70	40	0	0
Simpai	PK	8,0a	0,8b	0,0b	0,0b	0,0b	100	10	0	0	0
Macan	PK	7,2a	2,0b	0,0c	0,0c	0,0c	100	28	0	0	0
Badak	-	7,6a	2,0b	0,8c	0,0c	0,0c	100	26	10	0	0
Jumlah akar utama per eksplan											
Singa	TL	9,2 a	3,3 b	0 c	0 c	0 c	100	36	0	0	0
Komodo	TL	9,0 a	3,0 b	0 c	0 c	0 c	100	33	0	0	0
Jerapah	TL	8,8 a	3,5 b	0 c	0 c	0 c	100	40	0	0	0
Kelinci	MT	7,3 a	0,2 b	0 b	0 b	0 b	100	3	0	0	0
Gajah	MT	7,2 a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Trenggiling	MT	6,8 a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Simpai	PK	5,9 a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Macan	PK	6,4 a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0
Badak	-	6,3 a	0 b	0 b	0 b	0 b	100	0	0	0	0

Keterangan: * TL: toleran, MT : medium toleran, PK: peka terhadap cekaman kekeringan (Hidayat dkk., 1999; Nursusilawati, 2003).

** Data dalam satu baris yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasar uji DMRT taraf signifikansi 5%

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap jumlah daun layu dan skor kerusakan tunas pada eksplan tunas yang berasal dari benih dengan kotiledon (TDK)

Peubah dan kultivar	Toleransi*	Respon terhadap media dengan PEG**				
		0%	5%	10%	15%	20%
Jumlah daun layu per botol						
Singa	TL	0,0 a**	0,0 a	0,0 a	1,0 b	2,0 c
Komodo	TL	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,5 b	3,0 c
Jerapah	TL	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	2,5 b
Kelinci	MT	0,0 a	0,0 a	0,0 a	2,0 b	3,5 c
Gajah	MT	0,0 a	0,0 a	1,0 a	3,5 b	4,5 b
Trenggiling	MT	0,0 a	0,0 a	0,0 a	3,0 b	4,0 c
Simpai	PK	0,0 a	0,0 a	1,5 b	5,0 c	7,0 d
Macan	PK	0,0 a	0,0 a	3,0 b	5,5 c	6,5 d
Badak	-	0,0 a	0,0 a	2,5 b	5,5 c	6,0 d
Skor kerusakan tunas per eksplan						
Singa	TL	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,8 b
Komodo	TL	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,0 b
Jerapah	TL	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,0 b
Kelinci	MT	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,3 a	1,2 b
Gajah	MT	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,5 b	1,6 c
Trenggiling	MT	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,2 a	1,5 b
Simpai	PK	0,0 a	0,0 a	1,0 b	2,2 c	3,0 c
Macan	PK	0,0 a	0,0 a	1,2 b	2,5 c	3,4 c
Badak	-	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,7 b	2,3 c

Keterangan: * TL: toleran, MT: medium toleran, PK: peka terhadap cekaman kekeringan (Hidayat dkk., 1999; Nursusilawati, 2003).

** Data dalam satu baris yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasar uji DMRT taraf signifikansi 5%

Kultivar kacang tanah yang diuji menunjukkan respons yang berbeda terhadap suatu konsentrasi PEG untuk peubah pertambahan jumlah daun, jumlah daun layu dan tingkat kerusakan tunas. Kacang tanah cv. Singa, Jerapah, Komodo yang toleran dan Kelinci yang medium toleran terhadap cekaman kekeringan mulai mengalami penurunan jumlah daun pada konsentrasi PEG 10–15%, sedangkan lima kultivar yang lain pada konsentrasi PEG 5% (Tabel 1). Jumlah daun layu nyata meningkat pada konsentrasi PEG 15% untuk kacang tanah cv. Singa, Komodo, Jerapah yang toleran, serta Kelinci, Gajah dan Trenggiling yang medium toleran. Untuk kacang tanah cv. Simpai dan Macan yang peka serta Badak, jumlah daun layu telah nyata meningkat pada konsentrasi PEG 10% (Tabel 2). Skor kerusakan tunas pada kacang tanah cv. Singa, Komodo dan Jerapah yang toleran, Kelinci dan Trenggiling yang medium toleran telah nyata meningkat pada konsentrasi PEG 20%, kacang tanah cv. Gajah yang medium toleran dan Badak, meningkat pada PEG 15%; sedangkan kacang tanah cv. Simpai dan Macan yang peka, meningkat pada PEG 10% (Tabel 2).

Semua kultivar kacang tanah yang diuji mempunyai pertambahan tinggi tunas dan jumlah akar utama yang tidak berbeda. Pertambahan tinggi tunas dan jumlah akar utama nyata menurun pada perlakuan penambahan PEG 5% dibandingkan dengan PEG 0% (Tabel 1). Pada perlakuan PEG 5%, tunas kacang tanah cv. Singa, Komodo, dan Jerapah yang toleran serta Kelinci yang medium toleran masih mempunyai akar utama, sedangkan kacang tanah yang lain tidak mempunyai akar utama (Tabel 1).

Respons Eksplan TTK terhadap Cekaman PEG

Penambahan PEG dalam media *in vitro* nyata berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan eksplan tunas kacang tanah tipe II (TTK) yang ditanam secara *in vitro*. Pengaruh nyata terhadap peubah pertambahan tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah daun layu sudah terjadi pada media selektif dengan penambahan PEG 5% (Tabel 3).

Kultivar kacang tanah yang diuji menunjukkan respons yang berbeda terhadap konsentrasi PEG untuk peubah pertambahan jumlah daun dan jumlah daun layu. Kacang tanah cv. Singa, Jerapah, dan Komodo yang toleran mulai mengalami penurunan jumlah daun pada media selektif dengan penambahan PEG 10%, Kelinci yang medium toleran mulai menurun pada media dengan PEG 15%, sedangkan Gajah dan Trenggiling yang medium toleran, Simpai dan Macan yang peka serta Badak mulai menurun pada konsentrasi PEG 5% (Tabel 3). Jumlah daun layu nyata meningkat pada konsentrasi PEG 10–15% untuk kacang tanah cv. Singa, Komodo, Jerapah yang toleran dan Trenggiling yang medium toleran, sedangkan lima kultivar yang lain telah meningkat pada konsentrasi PEG 5% (Tabel 4).

Untuk peubah pertambahan tinggi tunas dan jumlah akar utama tidak diperoleh perbedaan respons antarkultivar. Pertambahan tinggi tunas telah nyata menurun pada konsentrasi PEG 5%, dengan persentase penurunan yang bervariasi antarkultivar. Pada kacang tanah yang diidentifikasi toleran (Singa, Komodo, dan Jerapah)

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap pertambahan tinggi dan jumlah daun pada eksplan tunas yang berasal dari poros embrio tanpa kotiledon (TTK) dan nilai relatifnya terhadap konsentrasi PEG 0%

Peubah dan kultivar	Toleransi*	Respon terhadap media dengan PEG**					Nilai relatif terhadap PEG 0%				
		0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%
Pertambahan tinggi tunas (cm) per eksplan											
Singa	TL	0,9 a	0,8ab	0,7b	0,4c	0,0d	100	88	77	44	0
Komodo	TL	0,8 a	0,6 b	0,5c	0,2d	0,0e	100	75	62	25	0
Jerapah	TL	0,6 a	0,5 b	0,3c	0,0d	0,0d	100	83	50	0	0
Kelinci	MT	0,4 a	0,3 b	0,2c	0,1d	0,0d	100	75	50	25	0
Gajah	MT	0,4 a	0,3 b	0,1c	0,0d	0,0d	100	75	25	0	0
Trenggiling	MT	0,6 a	0,4 b	0,1c	0,0c	0,0c	100	67	17	0	0
Simpai	PK	0,3 a	0,2 b	0,0c	0,0c	0,0c	100	67	0	0	0
Macan	PK	0,6 a	0,1 b	0,1b	0,0b	0,0b	100	17	17	0	0
Badak	–	0,4 a	0,2 b	0,1c	0,1c	0,0d	100	50	26	25	0
Pertambahan jumlah daun per botol											
Singa	TL	3,2a	2,8 a	0,4b	0,4b	0,0b	100	88	13	13	0
Komodo	TL	3,2a	2,8 a	0,8b	0,0b	0,0b	100	88	25	0	0
Jerapah	TL	2,0a	1,6 a	0,0b	0,0b	0,0b	100	80	0	0	0
Kelinci	MT	2,4a	1,6 a	1,6a	0,4b	0,0b	100	67	67	17	0
Gajah	MT	1,6a	0,8 b	0,0c	0,0c	0,0c	100	50	0	0	0
Trenggiling	MT	2,8a	1,2 b	0,0c	0,0c	0,0c	100	43	0	0	0
Simpai	PK	2,0a	0,0 b	0,0b	0,0b	0,0b	100	0	0	0	0
Macan	PK	1,6a	0,4 b	0,0b	0,0b	0,0b	100	25	0	0	0
Badak	–	1,2a	0,0 b	0,0b	0,0b	0,0b	100	0	0	0	0

Keterangan: * TL: toleran, MT: medium toleran, PK: peka terhadap cekaman kekeringan (Hidayat dkk., 1999; Nursusilawati, 2003).

** Data dalam satu baris yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasar uji DMRT taraf signifikansi 5%

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap jumlah daun layu per botol pada eksplan tunas yang berasal dari poros embrio tanpa kotiledon (TTK)

Peubah dan kultivar	Toleransi *	Respon terhadap media dengan PEG**				
		0%	5%	10%	15%	20%
Singa	TL	0,0 a	0,0 a	1,0 b	1,5 b	4,0 c
Komodo	TL	0,0 a	0,0 a	1,0 ab	1,0 b	5,0 c
Jerapah	TL	0,0 a	1,0 a	1,0 a	2,5 b	5,0 c
Kelinci	MT	0,0 a	1,0 ab	1,0 b	3,0 b	4,0 c
Gajah	MT	0,0 a	2,5 b	3,5 c	6,0 d	7,0 d
Trenggiling	MT	0,0 a	1,0 a	1,0 a	3,5 b	5,0 c
Simpai	PK	0,0 a	3,5 b	6,0 c	6,0 c	7,0 c
Macan	PK	0,0 a	1,5 b	4,0 c	6,0 d	7,0 d
Badak	-	0,0 a	2,5 b	5,0 c	7,0 cd	8,0 d

Keterangan: * TL: toleran, MT: medium toleran, PK: peka terhadap cekaman kekeringan (Hidayat dkk., 1999; Nursusilawati, 2003).

** Data dalam satu baris yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasar uji DMRT taraf signifikansi 5%

pertambahan tinggi tunas pada konsentrasi PEG 5% mencapai 75–88%, sedangkan pada kacang tanah yang peka (Macan, Simpai) hanya mencapai 17–67% dibandingkan kontrol (Tabel 3). Eksplan tunas dari semua kultivar yang diuji tidak membentuk akar kecuali pada perlakuan PEG 0%.

Akumulasi Prolina Akibat Cekaman PEG

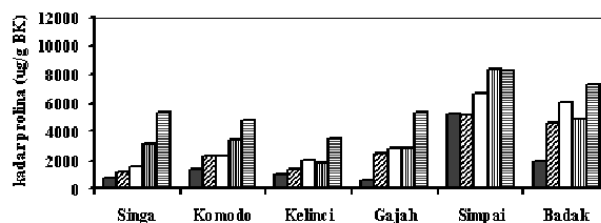
Penambahan PEG dalam media *in vitro* berpengaruh meningkatkan kandungan prolina total jaringan eksplan semua kultivar kacang tanah yang diuji. Pada semua kultivar kacang tanah yang diuji, peningkatan kadar prolina total yang diamati sejalan dengan meningkatnya konsentrasi PEG dalam media *in vitro*, dan penambahan PEG 20% menghasilkan kadar prolina total yang tertinggi.

Kacang tanah cv. Singa dan Komodo yang toleran, serta Kelinci dan Gajah yang medium toleran secara umum mempunyai kandungan prolina total lebih rendah dibandingkan kacang tanah tanah cv. Simpai yang peka terhadap cekaman kekeringan pada semua perlakuan PEG. Peningkatan kandungan prolina jaringan pada perlakuan PEG 20% untuk kacang tanah cv. Singa, Komodo, Kelinci dan Gajah menyamai kandungan prolina pada perlakuan PEG 5% untuk kacang tanah cv. Simpai. Hal ini mengindikasikan kacang tanah yang peka telah mengalami cekaman kekeringan pada perlakuan PEG 5%, sedangkan pada kacang tanah yang toleran dan medium toleran perlakuan PEG yang sama belum mampu menginduksi kondisi cekaman. Akibatnya tunas yang ditanam belum mengaktifkan respons terhadap cekaman yang antara lain dengan meningkatkan kandungan prolina. Kacang tanah cv. Badak cenderung mempunyai pola respons yang sama dengan Simpai (Gambar 3).

PEMBAHASAN

Penambahan PEG dalam media *in vitro* mengakibatkan terjadinya penghambatan pertumbuhan tunas yang

ditunjukkan dengan menurunnya pertambahan tinggi tunas, jumlah akar utama dan jumlah daun. Dibandingkan kontrol,



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap kadar prolina total jaringan pada eksplan tunas yang berasal dari benih dengan kotiledon (TDK) kacang tanah cv. Singa, Komodo, Kelinci, Gajah, Simpai dan Badak, setelah ditanam selama enam minggu dalam media selektif

perlakuan PEG 5% yang setara dengan potensial osmotik -0,13 MPa dapat menurunkan pertambahan tinggi tunas dan jumlah akar utama yang berkembang dari eksplan tunas semua kultivar kacang tanah yang diuji, serta menurunkan pertambahan jumlah daun yang berkembang dari eksplan TDK atau TTK kacang tanah cv. Gajah, Trenggiling, Simpai, Macan dan Badak. Penambahan PEG juga mengakibatkan peningkatan jumlah daun layu dan skor kerusakan tunas. Sebagian dari dampak negatif cekaman osmotik pada potensial air -0,01 hingga -0,5 MPa adalah penurunan sintesis dinding sel, sintesis protein, pembentukan protoklorofil dan pembelahan sel (Salisbury dan Ross, 1992). Lebih lanjut, hal tersebut dapat menyebabkan terhambatnya pertambahan tinggi tunas, regenerasi akar, dan pertambahan jumlah daun.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan penambahan PEG pada media *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan sebagaimana respons tanaman terhadap cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan di lapang telah dilaporkan menghambat pertumbuhan primordia dan pemanjangan daun jagung (Zhongjin dan Neumann, 1999),

berat kering total organ vegetatif dan luas daun buncis (Franca dkk., 2000), jumlah daun per tanaman dan ukuran daun *Quercus* (Fotelli dkk., 2000), serta tinggi tanaman dan bobot kering tajuk kacang tanah (Nursusilawati, 2003).

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan berbagai hasil penelitian sebelumnya. Penambahan PEG dalam media perkecambahan dilaporkan menurunkan pemanjangan akar jagung (Verslues dkk., 1998), potensial tumbuh maksimum akar kecambah kapri (Whalley dkk., 1998), pertumbuhan hipokotil *Arabidopsis thaliana* (Weele dkk., 2000), serta bobot kering kecambah dan panjang akar kedelai (Widoretno dkk., 2002). Semua fenotipik tersebut mencerminkan terhambatnya pembelahan dan perkembangan sel.

Konsentrasi PEG yang menghambat pertumbuhan dan perkembangan kacang tanah berbeda antara satu peubah dengan peubah yang lain. Pada eksplan TDK, perlakuan PEG 5% nyata telah menurunkan pertambahan tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah akar utama. Dampak yang nyata untuk jumlah daun layu dan skor kerusakan tunas baru terjadi akibat penambahan PEG minimal 10%. Pada eksplan TTK, pengaruh nyata terhadap peubah pertambahan tinggi tunas, jumlah daun, dan jumlah daun layu sudah mulai terjadi pada media selektif dengan penambahan PEG 5%. Hal tersebut mengindikasikan eksplan TTK lebih sensitif terhadap cekaman akibat penambahan PEG dalam media *in vitro*.

Dalam penelitian ini juga diamati adanya perbedaan respons pertumbuhan tunas antara kultivar kacang tanah yang toleran dengan kultivar yang peka terhadap cekaman kekeringan. Pertumbuhan daun kultivar kacang tanah yang bersifat toleran baru nyata menurun pada perlakuan PEG 15% untuk eksplan TDK dan PEG 10% untuk eksplan TTK. Sebaliknya pada kacang tanah yang peka, perlakuan PEG 5% telah nyata berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan tunas dari eksplan TDK dan TTK. Jumlah daun layu kultivar kacang tanah yang toleran nyata meningkat pada perlakuan PEG 15% untuk eksplan TDK dan 10% untuk eksplan TTK. Pada kacang tanah yang peka, peningkatan jumlah daun layu telah terjadi pada perlakuan PEG 10% untuk eksplan TDK dan 5% untuk eksplan TTK. Tingkat kerusakan tunas kultivar kacang tanah yang toleran baru terjadi pada perlakuan PEG 20%, sedangkan kacang tanah yang peka telah terjadi pada perlakuan PEG 10%. Perbedaan respons eksplan tunas dari kacang tanah yang peka dengan yang toleran cekaman kekeringan terhadap perlakuan PEG dapat dijadikan dasar penggunaan perlakuan PEG dalam media *in vitro* untuk identifikasi dan seleksi plasma nutfah yang toleran cekaman kekeringan. Tunas dari plasma nutfah kacang tanah yang toleran lebih dapat bertahan hidup dalam

media dengan konsentrasi PEG yang tinggi dibandingkan plasma nutfah yang peka.

Penggunaan PEG dalam media *in vitro* untuk identifikasi dan seleksi plasma nutfah yang toleran cekaman kekeringan memerlukan informasi tentang konsentrasi PEG yang dapat memisahkan kacang tanah ke dalam kelompok respons toleransi yang sesuai. Berdasarkan hasil yang didapat, konsentrasi PEG 15% dalam media *in vitro* disarankan sebagai konsentrasi diferensial yang dapat mengelompokkan kacang tanah toleran dan peka ke dalam kelompok yang berbeda, sehingga dapat digunakan untuk menapis respons tanaman kacang tanah terhadap cekaman kekeringan.

Kacang tanah yang sebelumnya telah diidentifikasi sebagai toleran mempunyai respons yang berbeda dengan kacang tanah yang peka untuk semua peubah. Kacang tanah cv. Singa, Komodo dan Jerapah yang dilaporkan toleran cekaman kekeringan menunjukkan respons yang nyata berbeda dengan kacang tanah cv. Macan dan Simpai yang peka untuk peubah pertambahan panjang tunas (eksplan TTK), pertambahan jumlah daun (eksplan TTK dan TDK), jumlah daun layu (eksplan TTK dan TDK), jumlah akar utama (eksplan TDK), dan tingkat kerusakan tunas (eksplan TDK).

Sebaliknya kacang tanah yang diidentifikasi sebagai medium toleran, untuk sejumlah peubah tertentu mempunyai respons yang sama dengan kacang tanah toleran dan untuk sejumlah peubah yang lain mempunyai respons sama dengan kacang tanah yang peka terhadap cekaman kekeringan. Kacang tanah cv. Kelinci, Gajah dan Trenggiling yang medium toleran mempunyai respons yang sama dengan kacang tanah peka untuk peubah pertambahan jumlah daun (eksplan TTK dan TDK), jumlah daun layu (eksplan TTK), dan jumlah akar utama (eksplan TDK), serta respons yang sama dengan kacang tanah yang toleran untuk peubah jumlah daun layu (eksplan TDK) dan tingkat kerusakan tunas (eksplan TDK). Kacang tanah cv. Badak cenderung mempunyai pola respons yang sama dengan Simpai dan Macan yang peka terhadap cekaman kekeringan.

Berdasarkan hasil tersebut, pertambahan panjang tunas (eksplan TTK), pertambahan jumlah daun (eksplan TTK dan TDK), jumlah daun layu (eksplan TTK dan TDK), jumlah akar utama (eksplan TDK), dan tingkat kerusakan tunas (eksplan TDK) dapat digunakan sebagai indikator tidak langsung respons toleransi tanaman kacang tanah terhadap cekaman kekeringan dalam evaluasi secara *in vitro*. Dalam hal ini, tunas dari tanaman kacang tanah yang diuji ditanam selama enam minggu dalam media MS-0 dengan penambahan PEG 6000 15%.

Penambahan PEG dalam media *in vitro* juga berpengaruh terhadap kandungan prolina total jaringan eksplan TDK. Pada semua kultivar kacang tanah yang diuji, penambahan PEG dalam media *in vitro* meningkatkan kandungan prolina total dan peningkatannya sejalan dengan peningkatan konsentrasi PEG. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya tentang pengaruh cekaman kekeringan di lapang pada *Medicago sativa* L. (Girousse dkk., 1996), *Populus euphratica* (Watanabe dkk., 2000), dan kacang tanah (Sudarsono dkk., 2004; Riduan dan Sudarsono, 2005).

Akumulasi prolina bersama senyawa osmolit yang lain dalam sel tanaman dilaporkan dapat menurunkan potensial osmotik sel ketika tanaman mengalami cekaman kekeringan (Blum, 1996). Dengan demikian tanaman dapat tetap mempertahankan tekanan turgor sel, penyerapan air dan kelangsungan berbagai proses fisiologis dalam sel (pembukaan stomata, fotosintesis, dan perkembangan sel). Akumulasi senyawa osmolit dilaporkan merupakan respons adaptif terhadap cekaman kekeringan pada berbagai jenis tanaman dan diyakini berperan dalam proses adaptasi pada lingkungan yang tercekam kekeringan (Serraj dan Sinclair, 2002).

Pada semua perlakuan konsentrasi PEG, kacang tanah yang toleran dan medium toleran secara umum mempunyai kandungan prolina total lebih rendah dibandingkan kacang tanah yang peka terhadap cekaman kekeringan. Hal yang sama juga diamati pada *barley* dan *alfalfa*. *Barley* cv. Proctor yang peka mempunyai kecepatan akumulasi prolina yang lebih tinggi selama cekaman kekeringan dibandingkan kultivar Exselsior yang toleran terhadap cekaman kekeringan (Hanson dkk., 1977). Dalam kondisi cekaman osmotik akibat pemberian PEG, galur *alfalfa* yang toleran dapat mempertahankan kadar prolina yang lebih rendah dibandingkan galur yang peka (Djilianov dkk., 1997).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa akumulasi prolina untuk kacang tanah yang peka (Simpai) pada perlakuan PEG 5% setara dengan akumulasi prolina untuk kacang tanah yang toleran (Singa dan Komodo) dan medium toleran (Kelinci dan Gajah) pada perlakuan PEG 20%. Berdasarkan hal ini dapat ditafsirkan bahwa perlakuan PEG 5% telah mampu menginduksi kondisi cekaman pada kultivar peka, namun belum mampu menginduksi cekaman pada kultivar toleran dan medium toleran.

Kemungkinan lain, kacang tanah yang toleran dan medium toleran telah mengalami cekaman pada perlakuan PEG 5%, tetapi melakukan mekanisme toleransi lain yang diduga berperan untuk mengatasi cekaman kekeringan, yaitu melalui 1) regulasi pertumbuhan dengan menurunkan

kecepatan fotosintesis, pembelahan dan pembentangan sel, 2) menjaga keseimbangan ionik dan osmotik dengan menambah jumlah vakuola, mengaktifkan mekanisme pompa ion dan saluran ion, atau 3) detoksifikasi senyawa oksigen radikal melalui pembentukan protein stres, antara lain protein proteksi, enzim antioksidan, dan protein regulator (Mundree dkk., 2002). Pada saat mengalami cekaman osmotik, jagung meningkatkan aktivitas enzim antioksidan di dalam daun (Jiang dan Zhang, 2002), sedangkan alfalfa meningkatkan aktivitas *acid phosphatase* untuk mempertahankan kadar fosfat an-organik di dalam sel (Ehsanpour dan Amini, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian pada kacang tanah ini dapat disimpulkan bahwa larutan PEG dalam media *in vitro* bersifat menghambat pertumbuhan tunas kacang tanah dan meningkatkan kandungan prolina total jaringan sehingga diduga mampu mensimulasikan kondisi cekaman kekeringan dalam media *in vitro*. Konsentrasi PEG 15% efektif menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan epikotil kacang tanah. Respons tunas kacang tanah terhadap media dengan penambahan PEG 15% dapat digunakan sebagai alternatif metode untuk menapis toleransi kacang tanah terhadap cekaman kekeringan. Tunas yang ditumbuhkan dari poros embrio dengan kotiledon (eksplan TDK) atau tanpa kotiledon (eksplan TTK) dapat digunakan sebagai eksplan; dan peubah pertambahan panjang tunas (eksplan TTK), pertambahan jumlah daun (eksplan TTK dan TDK), jumlah daun layu (eksplan TTK dan TDK), jumlah akar utama (eksplan TDK), dan tingkat kerusakan tunas (eksplan TDK) digunakan sebagai penduga toleransi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sebagian penelitian ini dibiayai oleh Hibah Penelitian Tim Pascasarjana (HPTP) angkatan I: *Rekayasa Genetika dan Seleksi In Vitro untuk Mendapatkan Plasma nutfah Kacang Tanah dengan Novel Characters: Toleran Cekaman Kekeringan dan Resisten terhadap Penyakit Busuk Batang Sclerotium*, No. Kontrak: 340/P4T/DPPM/IV/2003, Tanggal 25 April 2003, Departemen Pendidikan Nasional, Republik Indonesia. Enni S Rahayu mendapatkan beasiswa BPPS, Departemen Pendidikan Nasional, Republik Indonesia, untuk program S3 di Sekolah Pascasarjana, IPB, Bogor.

KEPUSTAKAAN

Bates LS, Waldren R, and Teare P, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soils* 39: 205–207.

- Blum A, Sullivan CY, and Nguyen HT, 1996. The effect of plant size on wheat response to agents of drought stress II. Water deficit, heat and ABA. *Aust. J. Plant Physiol.* 24:43–48.
- Carter TE, and Rufty TW, 1992. Soybean plant introduction exhibiting drought and aluminium tolerance. Di dalam *Proc Adaptation of Food Crops to Temperature and Eater Stress*. AVRDC, Taipei, 13–18 August 1992, 335–346.
- Chazen O, and Neumann PM, 1994. Hydraulic signals from the roots and rapid cell wall hardening in growing maize (*Zea mays* L.) leaves are primary responses to polyethylene glycol-induced water deficits. *Plant Physiol.* 104: 1385–1392.
- Dami I, and Hughes HG, 1997. Effect of PEG-induced water stress on in vitro hardening of ‘valliant’ grape. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 47:97–101.
- Djilianov D, Dragiiska R, Yordanova R, Doltchinkova V, Yordanov Y, and Atanassov A, 1997. Physiological changes in osmotically stressed detached leaf of alfalfa genotypes selected in vitro. *Plant Sci.* 129:147–156.
- Ehsanpour AA, and Amini F, 2003. Effect of salt and drought stress on acid phosphatase activities in alfalfa (*Medicago sativa* L.) explants under in vitro culture. *African J. Biotechnol.* 2(5):133–135.
- Fotelli MN, Radoglou KM, and Constantinidou HI, 2000. Water stress responses of seedlings of four Mediteranean oak species. *Tree Physiol.* 20: 065–1075.
- Franca MGC, Thi ATP, Pimentel C, Rossiello ROP, Zuily-Fadil Y, and Laffray D, 2000. Differences in growth and water relation among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 43:227–237.
- Girousse C, Bournoville R, and Bonnemain JL, 1996. Water deficit-induced changes in concentration in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa. *Plant Physiol.* 111:109–113.
- Gulati A, and Jaiwal PK, 1993. Selection and characterization of mannitol-tolerant callus lines of *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Plant Cell Tiss. Org. Cul.* 34:35–41.
- Hanson AD, Nelsen CE, and Everson EH, 1977. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Sci.* 17:720–726.
- Hidayat JR, Kartaatmadja S, dan Rais SA, 1999. *Teknik Produksi Benih Kacang Tanah*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor, 44, 53.
- Jiang M, and Zhang J, 2002. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulated the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *J. Exp. Bot.* 53 (379):2401–2410.
- Michel BE, and Kaufmann MR, 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 57:914–916.
- Mundree SG, Baker B, Mowla S, Peters S, Marais S, Willigen CV, Govender K, Maredza A, Muyanga S, Farrant JM., and Thomson JA, 2002. Physiological and molecular insight into drought tolerance. *African J. Biotechnol.* 1:28–38.
- Monneaux P, and Belhassen E, 1996. The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth Reg.* 20:85–92.
- Nursusilawati P, 2003. Respons 16 kultivar kacang tanah unggul nasional (*Arachis hypogaea* L.) terhadap kondisi stres kekeringan akibat perlakuan penyiraman PEG6000 dan evaluasi daya regenerasi embrio somatiknya secara in vitro [Tesis]. Bogor, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Rajashekar G, Palquist D, and Ledbetter CA, 1995. In vitro screening procedure for osmotic tolerance in *Prunus*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 41:159–164.
- Riduan A dan Sudarsono, 2005. Toleransi kultivar kacang tanah terhadap cekaman kekeringan pada fase vegetatif serta kandungan prolina dan gula total daun. *Hayati* 12(1):28–34.
- Salisbury FB and Ross CW, 1992. *Plant Physiology*, 4th ed. Wadwords Publishing Company, Belmont California, 476.
- Serraj R, and Sinclair TR, 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.* 25:333–350.
- Sneller CH and Dombek D, 1997. Use of irrigation in selection for soybean yield potential under drought. *Crop Sci.* 37:1141–1147.
- Sloane RJ, Patterson RP, and Carter TE, 1990. Field drought tolerance of a soybean plant introduction. *Crop Sci.* 30:118–123.
- Sudarsono, Riduan A, dan Aswidinnoor H, 2004. Toleransi kultivar kacang tanah terhadap cekaman kekeringan pada fase generatif serta kandungan prolina dan gula total daun. *J. Penel. Pertanian* 23:50–62.
- Thomas H, Dalton SJ, Evans C, Charlton KH, and Thomas ID, 1996. Evaluating drought resistance in germplasm of meadow fescue. *Euphytica* 92:401–411.
- Verslues PE, Ober ES, and Sharp RE, 1998. Root growth and oxygen relation at low water potentials. Impact of oxygen availability in polyethylene glycole solution. *Plant Physiol.* 116:1403–1412.
- Watanabe S, Kojima K, Ide Y, and Sasaki S, 2000. Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* in vitro. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 63:199–206.
- Weele CM van der, Spollen WG, Sharp RE, and Baskin TI, 2000. Growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings under water deficit studied by control of water potential in nutrient agar media. *J. Exp. Bot.* 51:1555–1562.
- Whalley WR, Bengough AG, and Dexter AR, 1998. Water stress induced by PEG decreases the maximum growth pressure of the roots of pea seedlings. *J. Exp. Bot.* 49:1689–1694.
- Widoretno W, Guhardja E, Ilyas S, dan Sudarsono, 2002. Efektivitas polietilena glikol untuk mengevaluasi tanggapan genotipe kedelai terhadap cekaman kekeringan pada fase perkecambahan. *Hayati* 9(2):33–36.
- Zhongjin L, and Neumann PM, 1999. Water stress inhibits hydraulic conductance and leaf growth in rice seedlings but not the transport of water via mercury-sensitive water channels in the root. *Plant Physiol.* 120:143–152.