

PENAPISAN CEPAT BEBERAPA VARIETAS KEDELAI TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN PADA FASE PERKECAMBAHAN

○Warid1*, Nurul Khumaida2**, Agus Purwito2**, Muhamad Syukur2**, Sintho Wahyuning AArdie2**

1*Universitas Trilogi, 2**Institut Pertanian Bogor

E-Mail: 1*warid@trilogi.ac.id

Abstract/Intisari

Produksi kedelai di Indonesia sangat rendah dibandingkan kebutuhan domestik. Beberapa penyebab rendahnya produksi adalah rendahnya produktivitas karena budidaya yang kurang tepat dan penggunaan benih bermutu rendah karena penyimpanan yang kurang tepat. Salah satu cara untuk meningkatkan produksi kedelai adalah ekstensifikasi ke lahan kering. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari respon varietas kedelai terhadap cekaman kekeringan yang disimulasikan oleh polietilena glikol (PEG-6000) pada fase perkecambahan dan untuk memilah varietas kedelai toleran terhadap kekeringan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Benih AGH-IPB pada bulan September – November 2013. Rancangan acak lengkap dipakai untuk memilah 8 varietas toleran kekeringan menggunakan 4 taraf konsentrasi PEG-6000. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PEG-6000 dapat menghambat semua peubah perkecambahan kedelai. Konsentrasi 5% PEG-6000 sudah mampu memberikan perbedaan yang signifikan terhadap semua peubah perkecambahan antara perlakuan dan kontrol. Berdasarkan metode pewarnaan akar, varietas Argomulyo, Kaba dan Tanggamus merupakan varietas kedelai yang toleran kekeringan, sedangkan Anjasmoro, Burangrang dan Detam-1 termasuk varietas yang agak toleran. Grobogan dan Wilis merupakan varietas kedelai yang peka kekeringan. PEG-6000 dapat digunakan untuk memilah kedelai toleran kekeringan pada fase perkecambahan.

Kata kunci: Bahan reaksi Schiff, indeks sensitivitas, PEG-6000

Keywords: bahan reaksi Schiff, indeks sensitivitas, PEG-6000, UKDdp, pewarnaan

1. Pendahuluan

Upaya peningkatan luas area tanam kedelai di Indonesia dihadapkan pada kendala terbatasnya lahan yang subur sehingga perluasan area tersebut akan memanfaatkan lahan-lahan marginal, diantaranya lahan kering. Permasalahan utama yang terjadi pada lahan kering adalah terbatasnya air yang dapat digunakan untuk budidaya pertanian sehingga tanaman seringkali mengalami cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan dapat sangat menurunkan produktivitas tanaman sehingga penggunaan varietas kedelai yang toleran kekeringan merupakan solusi yang tepat untuk mengurangi penurunan hasil kedelai akibat cekaman kekeringan.

Metode seleksi untuk sifat toleran kekeringan dapat dilakukan dengan menanam populasi yang diseleksi di lapangan target atau dalam media pot dengan pengurangan pemberian air. Meski demikian, metode tersebut memiliki kelemahan yaitu keseragaman tekanan seleksi yang sulit dijaga dan tidak dapat ditentukan retensi air secara relatif (Sugihono, 2011). Metode penapisan cepat secara *in vitro* bisa digunakan sebagai solusi untuk seleksi genotipe kedelai yang toleran kekeringan. Keunggulan komparatif dari metode ini adalah waktu seleksi lebih singkat, tidak membutuhkan ruang luas, mudah dikontrol, dan tidak dibatasi oleh musim.

Polyethylene glycol (PEG) dapat digunakan sebagai agen seleksi pada penapisan cepat untuk toleransi kekeringan, baik secara *in vitro* (Kosmiatin *et al.*, 2005) maupun *ex vitro* (Widoretno, 2011). Larutan PEG-6000 dengan bobot molekul 6000 mampu menahan air sehingga menjadi tidak tersedia bagi tanaman (Michel dan Kaufmann, 1973). Metode seleksi dengan larutan PEG-6000 juga telah digunakan untuk mengidentifikasi respon tanaman kedelai terhadap cekaman kekeringan pada fase perkecambahan. Konsentrasi 10% digunakan untuk menapis varietas kedelai yang toleran kekeringan berdasarkan peubah panjang hipokotil, sedangkan konsentrasi 15% PEG-6000 digunakan untuk menapis varietas kedelai yang toleran kekeringan berdasarkan peubah daya berkecambah (Widoretno *et al.*, 2002). Menurut Mexal *et al.* (1975), PEG-6000 dengan berat molekul 6000 pada konsentrasi

5%, 10%, 15%, dan 20% yang dilarutkan aquades berturut-turut memberikan potensial osmotik sebesar -0.3 bar, -1.9 bar, -4.1 bar, dan -6.7 bar.

Penapisan *ex vitro* untuk toleransi kedelai terhadap cekaman kekeringan dalam percobaan ini menggunakan 8 varietas kedelai pada fase perkecambahan. PEG-6000 digunakan sebagai simulasi cekaman kekeringan. Berdasarkan hasil penapisan ini diharapkan dapat diketahui respon perkecambahan dan tingkat toleransi terhadap cekaman kekeringan dari 8 varietas kedelai nasional yang diuji.

2. Metodologi

2.1. Bahan Tanam

Bahan tanaman yang digunakan adalah 8 varietas kedelai nasional yaitu Anjasmoro, Argomulyo, Burangrang, Detam-1, Grobogan, Kaba, Tanggamus, dan Wilis yang diperoleh dari Balitkabi, Malang.

2.2. Metode Penelitian

Percobaan dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap dua faktor. Faktor pertama adalah 8 varietas kedelai nasional dan faktor kedua konsentrasi PEG 6000 (0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%). Percobaan dilaksanakan pada bulan September hingga November 2013 di Laboratorium Biologi dan Biofisik Benih AGH-IPB.

2.3. Pelaksanaan Penelitian

Percobaan terdiri atas dua pendekatan. Pendekatan pertama dilakukan dengan menanam benih dalam metode uji kertas digulung dalam plastik dan didirikan (UKD)dp dan kultur air untuk pewarnaan akar. Pendekatan (UKD)dp dilakukan dengan menanam benih kedelai dalam kertas buram/stansil yang direndam larutan perlakuan. Benih ditanam dalam substrat kertas stensil yang telah dibasahi dengan larutan PEG 6000 sesuai konsentrasi perlakuan selama 1 jam perendaman. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan setiap perlakuan terdiri dari 25 butir benih. Kertas yang digunakan dalam setiap gulungan sebanyak lima lembar, 3 lembar sebagai alas dan 2 lembar sebagai penutup, kemudian digulung dalam plastik. Selanjutnya gulungan plastik didirikan dan diinkubasi dalam alat pengecambah benih (APB) tipe IPB 72-1. Pengamatan UKDdp dilakukan pada 5 HST dengan peubah pengamatan indeks vigor, daya berkecambah (DB), potensi tumbuh maksimum (PTM), panjang akar, panjang hipokotil, rasio panjang akar/hipokotil, dan bobot kering kecambah normal (BKKN).

Pendekatan kultur air dilakukan dengan menanam benih dalam wadah gelas plastik. Benih kedelai ditanam dalam gelas plastik berisi kapas yang dibasahi aquades. Setelah benih berumur 3 hari, kemudian benih yang tumbuh dipindahkan ke kultur air yang disimpan dalam toples plastik berisi air larutan perlakuan selama 3 hari. Setelah itu, kecambah dipindahkan dan diamati di Laboratorium Mikroteknik AGH-IPB. Pengamatan kerusakan akar dilakukan dengan menggunakan bahan reaksi *Schiff's* di bawah mikroskop stereo. Akar primer kecambah kedelai dipotong sepanjang sekitar 5 cm, kemudian direndam dalam bahan reaksi *Schiff's* selama 10 menit, lalu dibilas dalam larutan 0.5% (w/v) $K_2S_2O_5$ dalam 0.05 M HCl. Setelah itu, akar diamati di bawah mikroskop stereo untuk melihat kerusakan akar yang terjadi akibat cekaman kekeringan (Tistama *et al.*, 2012). Akar tanaman yang mengalami kerusakan oksidatif akan terwarnai menjadi jingga atau merah cerah.

2.4. Analisis Data

Data percobaan diolah dengan menggunakan SAS untuk sidik ragam. Apabila dalam sidik ragam terdapat perbedaan yang signifikan pada taraf nyata 5%, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Analisis data menggunakan program SAS portabel versi 9.1.

Perhitungan indeks kepekaan terhadap kekeringan (ISK) diperoleh berdasarkan formula yang dikembangkan oleh Fischer dan Maurer (1978), yaitu sebagai berikut:

$$ISK = \frac{1 - (H_p/H_k)}{1 - (H_{pr}/H_{kr})}$$

Keterangan:

ISK = Indeks sensitivitas kekeringan varietas tertentu

H_p = Hasil pengamatan peubah dari varietas tertentu pada perlakuan cekaman kekeringan

H_k = Hasil pengamatan peubah dari varietas tertentu pada perlakuan cekaman kontrol

H_{pr} = Rata-rata hasil pengamatan dari seluruh varietas pada perlakuan cekaman kekeringan

H_{kr} = Rata-rata hasil pengamatan dari seluruh varietas pada perlakuan cekaman kontrol

Menurut Clarke *et al.*, (1984) dalam Sumartini *et al.*, (2013) Suatu varietas digolongkan sebagai varietas peka apabila memiliki nilai ISK sebagai berikut:

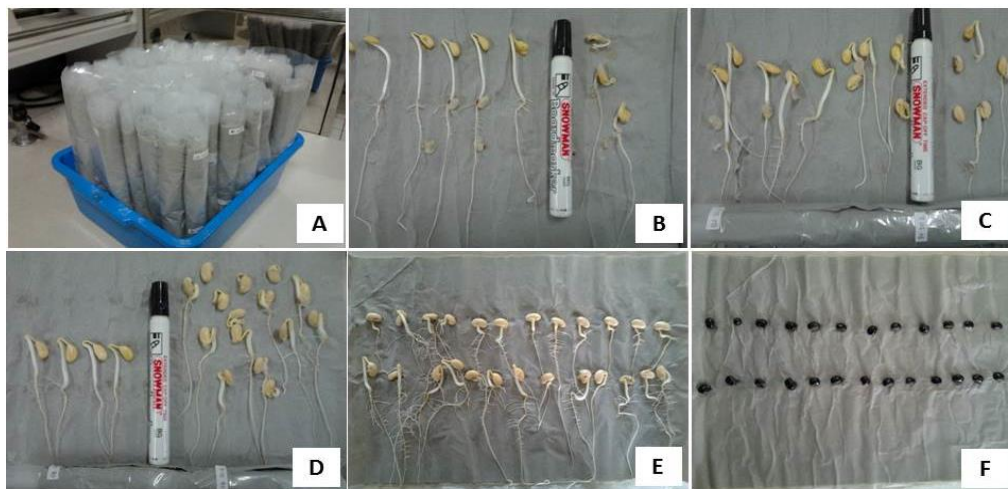
ISK < 0.50 = relatif toleran kekeringan

0.50 < ISK < 1.0 = agak toleran kekeringan

ISK ≥ 1.0 = relatif tidak toleran kekeringan

3. Hasil dan Pembahasan

Penapisan cepat bertujuan untuk memilah tanaman yang toleran terhadap kekeringan secara cepat pada fase perkecambahan tanpa harus menanam tanaman di lapangan hingga panen. Percobaan ini dilakukan sebagai alternatif metode seleksi di lapangan. Karakter yang diamati pada percobaan ini diantaranya adalah indeks vigor (IV), daya berkecambah benih (DB), potensi tumbuh maksimum (PTM), bobot kering kecambah normal (BKKN), panjang akar, panjang hipokotil, rasio akar/tajuk kecambah, dan kerusakan akar.



Gambar 1. Cara pengecambahan metode UKDdp (A) dan keragaan kecambah kedelai pada berbagai konsentrasi PEG (B=konsentrasi 0%, C=konsentrasi 5%, dan D=konsentrasi 10% menggunakan varietas Burangrang; E=konsentrasi 15% varietas Grobogan; dan F=konsentrasi 20% varietas Detam-1)

3.1. Pengaruh konsentrasi PEG pada perkecambahan kedelai

Penambahan PEG 6000 dalam media tanam perkecambahan benih kedelai berpengaruh negatif terhadap berbagai peubah perkecambahan. Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi PEG yang digunakan jumlah kecambah normal semakin rendah, bahkan pada konsentrasi 20% tidak ada satupun benih yang mampu berkecambah. PEG merupakan senyawa osmotik yang mampu menurunkan potensial air dalam media (Kong *et al.*, 1998). Menurut Mexal *et al.* 1975, konsentrasi 5% PEG-6000 setara dengan tekanan osmotik sebesar -0.3 bar. Heartherly dan Russel (1979) menyatakan bahwa potensial air untuk kapasitas lapang di lahan produksi sebesar -0.3 bar. Hal ini berarti bahwa penambahan PEG 5% dalam media relatif sama dengan kondisi kapasitas lapang di lahan produksi sehingga penggunaan PEG-6000 di atas konsentrasi 5% sudah mampu mensimulasikan kondisi kekeringan di lahan produksi.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap peubah perkecambahan benih kedelai pada 8 varietas kedelai nasional

PEG	IV (%)	DB (%)	PTM (%)	PA (cm)	PH (cm)	Rasio	BKKN (g)
0%	15.6a	73.2a	90.0a	12.5a	8.4a	1.55d	0.54a
5%	8.7b	59.3b	82.3b	10.9b	4.3b	2.57c	0.31b
10%	0.1c	16.8c	74.0c	8.8c	2.2c	4.22b	0.07c
15%	0c	0d	41.7d	3.9d	0.8d	6.11a	0d
20%	0c	0d	0.8e	0e	0e	0e	0d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan DMRT. IV: Indeks Vigor; DB: Daya Berkecambah; PTM: Potensi Tumbuh Maksimum; PA: Panjang Akar; PH: Panjang Hipokotil; Rasio: Rasio panjang akar/tajuk; BKKN: Bobot Kering Kecambah Normal

Respon peubah perkecambahan ditentukan oleh konsentrasi PEG yang digunakan. Pengaruh PEG yang nyata mulai terlihat pada perlakuan 5% untuk peubah indeks vigor, daya berkecambah, potensi tumbuh maksimum, bobot kering kecambah normal, panjang akar, dan panjang hipokotil. Hanya pada peubah rasio panjang akar terhadap hipokotil PEG terlihat secara relatif dapat meningkatkan panjang akar secara nyata sampai dengan konsentrasi 15%. Penurunan berbagai peubah perkecambahan yang diamati bukan disebabkan oleh mutu benih awal yang kurang baik, perlakuan kontrol (0% PEG) pada lot benih yang diuji menunjukkan daya berkecambah benih rata-rata sebesar 73.2% (Tabel 1) sehingga bisa dikatakan bahwa penurunan tersebut disebabkan oleh penambahan PEG 6000 dalam media perkecambahan.

3.2. Respon varietas kedelai terhadap simulasi kekeringan dengan PEG

Setiap varietas kedelai yang diuji mempunyai respon yang berbeda pada berbagai konsentrasi PEG yang digunakan. Penambahan PEG 6000 dalam media perkecambahan dengan konsentrasi 5% (setara -0.3 bar) sudah mampu menurunkan peubah perkecambahan. Pengamatan terhadap indeks vigor menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi PEG 6000 dalam media perkecambahan dapat mengakibatkan penurunan indeks vigor yang sangat tajam bahkan pada konsentrasi 10% nyaris tidak ada benih yang mampu tumbuh normal pada 3 hari pertama perkecambahan.

Indeks vigor tertinggi diperoleh pada varietas Wilis dalam kondisi optimum maupun suboptimum (cekaman), sedangkan indeks vigor paling rendah pada kondisi optimum diperoleh pada varietas Burangrang dan pada kondisi suboptimum diperoleh varietas Tanggamus (Tabel 2). Tanggamus yang merupakan varietas cek toleran kekeringan seharusnya memiliki indeks vigor yang tinggi, akan tetapi pada percobaan ini Tanggamus menunjukkan nilai yang rendah pada semua peubah pengamatan. Rendahnya nilai peubah amatan pada Tanggamus ini kemungkinan disebabkan oleh mutu benih yang rendah. Hal ini dapat dilihat dari nilai daya berkecambah benih pada Tabel 3. Benih Tanggamus juga banyak terinvestasi cendawan sehingga ketika dikecambahkan banyak benih yang mati karena terserang cendawan. Selain itu, menurut Sugihono (2011) kondisi media perkecambahan benih 15% PEG memiliki kandungan air yang lebih rendah sehingga memungkinkan menjadi media yang cocok bagi pertumbuhan miselia.

Indeks vigor yang rendah menunjukkan lemahnya vigor benih. Rendahnya indeks vigor ini disebabkan oleh pertumbuhan akar dan tunas yang terhambat. Michel dan Kaufmann (1973) menyatakan bahwa penurunan pertumbuhan akar dan tunas pada benih yang dikecambahkan dalam media yang mengandung PEG karena air menjadi tak tersedia bagi benih atau tanaman karena PEG mengikat air.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap indeks vigor benih kedelai (%)

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasmoro	18.0ABa	8.0Bb	0Ac	0	0
Argomulyo	12.3B-Da	10.0ABa	0Ab	0	0
Burangrang	10.7Da	9.7ABa	0Ab	0	0
Detam-1	16.0A-Da	10.0ABb	0Ac	0	0
Grobogan	17.3A-Ca	7.7Bb	0Ac	0	0

Kaba	17.0A-Ca	8.7ABb	0Ac	0	0
Tanggamus	11.7CDa	2.7Cb	0Ac	0	0
Wilis	21.7Aa	12.7Ab	1Ac	0	0
Rataan	15.58a	8.67b	0.12c	0d	0d

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama dan angka yang diikuti huruf kapital yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan DMRT.

Sidari *et al.* (2008) menyatakan bahwa PEG menginduksi penghambatan perkecambahan berkaitan dengan cekaman osmotik. Laju perkecambahan benih dan persentase perkecambahan serta jumlah air yang diserap benih sangat rendah dengan semakin naiknya tingkat cekaman osmotik (Jajarmi, 2009). Implikasinya adalah semakin rendahnya laju pertumbuhan kecambah yang mengakibatkan indeks vigor menurun.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap daya berkecambah benih (%) pada 8 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	85.3Aa	62.7Ab	6.7CDc	0	0
Argomulyo	68.0BCa	69.3Aa	20.0ABb	0	0
Burangrang	56.0Ca	54.7Aa	24.0Ab	0	0
Detam-1	78.7ABa	68.0Aa	13.3BCb	0	0
Grobogan	81.3ABa	70.7Aa	18.7ABb	0	0
Kaba	81.3ABa	72.0Aa	25.3Ab	0	0
Tanggamus	57.3Ca	2.7Bb	0Db	0	0
Wilis	77.3Ca	74.7Aa	26.7Ab	0	0
Rataan	73.17a	59.33b	16.83c	0d	0d

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama dan angka yang diikuti huruf kapital yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan DMRT.

Karakter daya berkecambah merupakan peubah viabilitas untuk menilai viabilitas benih, khususnya viabilitas optimum. Semakin tinggi nilai daya berkecambah, maka kemungkinan hidup dan berproduksi dengan normal pada tanaman dari benih tersebut semakin tinggi. Daya berkecambah benih pada 8 varietas kedelai yang digunakan dalam percobaan berikisar dari 56% hingga 85.3% (Tabel 3). Nilai tersebut memberi indikasi bahwa beberapa varietas yang digunakan masih memiliki mutu benih yang baik, kecuali Argomulyo, Burangrang, dan Tanggamus. Mutu benih yang baik sesuai persyaratan sertifikasi benih bina untuk kedelai yaitu standar minimal daya berkecambah benih 80%.

Berdasarkan daya berkecambah benih pada kondisi optimal, beberapa varietas kedelai yang memiliki nilai daya berkecambah rendah (> 70%) tidak diikutsertakan dalam analisis selanjutnya. Oleh karena itu, hanya varietas Anjasromo, Detam-1, Grobogan, Kaba, dan Wilis yang terus dilakukan analisis. Hal ini dilakukan dengan tujuan agar analisis yang dilakukan tidak bias karena mutu benih yang kurang baik.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap daya berkecambah benih (%) pada 5 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	85.33	62.67	6.67	0	0
Detam-1	78.67	68.00	13.33	0	0
Grobogan	81.33	70.67	18.67	0	0
Kaba	81.33	72.00	25.33	0	0
Wilis	77.33	74.67	26.67	0	0
Rataan	80.80a	69.60b	18.13c	0d	0d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan DMRT.

Semua perlakuan PEG secara nyata mampu menurunkan daya berkecambah benih kedelai (Tabel 4). Semakin tinggi konsentarsi PEG maka semakin rendah pula daya berkecambah benih, bahkan benih tidak mampu tumbuh normal pada konsentrasi 15% PEG 6000 (setara -4.1 bar). Varietas yang

masih memiliki daya berkecambah yang baik pada konsentrasi 10% yaitu Wilis dan Kaba. Sementara Grobogan, Detam-1 dan Anjasromo memiliki daya berkecambah yang rendah. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, memang banyak peneliti yang menyatakan bahwa Wilis merupakan varietas yang memiliki sifat toleransi yang baik terhadap perlakuan cekaman kekeringan dengan PEG. Anugrah *et al.* (2012) melaporkan bahwa Wilis merupakan varietas kedelai yang dapat tumbuh dengan baik dibandingkan varietas lainnya pada kadar air media 80% kapasitas lapang.

Penurunan daya berkecambah kemungkinan disebabkan oleh sulitnya benih mengambil air dari media perkecambahan karena adanya penambahan PEG 6000. Penambahan PEG 6000 dapat menurunkan potensial air media perkecambahan sehingga benih kesulitan untuk berimbibisi dan perkecambahan benih menjadi terganggu. Semakin tinggi konsentrasi PEG yang dilarutkan maka semakin sulit benih mengakses air untuk berimbibisi sehingga benih yang membutuhkan banyak air untuk berkecambah secara normal mengalami penurunan daya berkecambah. Widoretno *et al.* (2011) melaporkan bahwa terhambatnya perkecambahan benih akibat penambahan konsentrasi PEG 6000 diduga terjadi karena terhambatnya proses imbibisi benih sehingga metabolisme dan pembelahan sel menjadi terhambat.

Perbedaan nilai daya berkecambah dipengaruhi oleh genotipe kedelai. Berdasarkan pengamatan selama percobaan, varietas Detam-1 membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mencapai kriteria normal dibandingkan varietas lainnya. Hal ini dapat dilihat dari nilai potensi tumbuh maksimumnya yang masih tinggi (Tabel 5). Selain itu, varietas Detam juga sering dijumpai adanya benih keras (sekitar 8%) sehingga mempengaruhi nilai daya berkecambah dan potensi tumbuh maksimum.

Potensi tumbuh maksimum merupakan persentase jumlah benih yang mampu berkecambah, baik kecambah normal maupun abnormal, terhadap jumlah keseluruhan benih yang ditanam. Berdasarkan Tabel 5, peubah potensi tumbuh maksimum benih kedelai pada kondisi optimum (kontrol) berkisar antara 89.3% hingga 97.3%. Penambahan PEG 6000 pada media perkecambahan mampu menurunkan potensi tumbuh maksimum benih kedelai secara nyata, bahkan ketika konsentrasi PEG hanya 5% penurunan potensi tumbuh maksimum secara rata-rata mencapai 1.6%. Menurut Heartherly dan Russel (1979) potensi tumbuh maksimum yang tinggi untuk benih kedelai tidak akan tercapai jika potensial air pada media tumbuhnya kurang dari -0.06 Mpa atau sekitar 6% PEG 6000.

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap peubah potensi tumbuh maksimum (%) pada 5 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	96.0	88.0	86.7	50.67	0
Detam-1	89.3	90.7	89.3	41.3	0
Grobogan	97.3	98.7	94.7	57.3	0
Kaba	97.3	97.3	81.3	61.3	1.3
Wilis	97.3	94.7	88.0	36.0	5.3
Rataan	95.47a	93.87a	88.00b	49.33c	1.3d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan uji DMRT.

Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa hanya varietas Wilis dan Kaba yang masih mampu berkecambah pada konsentrasi 20%. Sedangkan Grobogan yang selalu mempunyai PTM tertinggi sampai konsentrasi 15% sudah tidak mampu berkecambah pada konsentrasi 20%. Oleh karena itu, berdasarkan nilai PTM dapat dikatakan bahwa varietas Wilis dan Kaba memiliki vigor benih yang baik dan kemungkinan merupakan varietas yang toleran kekeringan.

Bobot kering kecambah normal (BKKN) merupakan tolok ukur viabilitas potensial yang menggambarkan banyaknya cadangan makanan yang tersedia sehingga bila dikondisikan pada lingkungan yang sesuai mampu tumbuh dan berkembang dengan baik (Sadjad, 1989). BKKN yang tinggi dapat menggambarkan pemanfaatan cadangan makanan dalam benih yang efisien. BKKN yang semakin meningkat atau konstan dengan semakin meningkatnya konsentrasi PEG menandakan suatu kecambah memiliki metabolisme yang baik dan kemungkinan merupakan varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan. BKKN pada kondisi optimum berkisar antara 0.54 g hingga 0.73 g

sedangkan pada kondisi suboptimum 5% PEG berkisar antara 0.29 g hingga 0.51 g (Tabel 6).

Tabel 6. Pengaruh konsentrasi PEG terhadap peubah bobot kering kecambah normal (g) pada 5 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	0.62ABa	0.29Bb	0.02Bc	0	0
Detam-1	0.54Ba	0.29Bb	0.03Bc	0	0
Grobogan	0.73Aa	0.51Ab	0.10Ac	0	0
Kaba	0.59ABa	0.38ABb	0.12Ac	0	0
Wilis	0.58ABa	0.36ABb	0.12Ac	0	0
Rataan	0.52a	0.31b	0.07c	0d	0d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan uji DMRT. Huruf kapital dalam kolom yang sama, sedangkan huruf kecil dalam baris yang sama.

Berdasarkan Tabel 6, secara keseluruhan semua varietas mengalami penurunan bobot kering kecambah normal seiring dengan peningkatan konsentrasi PEG 6000. Varietas yang mampu mempertahankan BKKN pada kondisi suboptimal kemungkinan merupakan varietas yang memiliki toleransi yang baik terhadap kekeringan sehingga metabolisme kecambah masih bekerja dengan baik meskipun dalam kondisi kekurangan air dalam media perkecambahan. Serraj *et al.* (2009) menyatakan bahwa tanaman toleran merespon defisit air mungkin dengan mengoptimalkan proses-proses fisiologis pada fase-fase kritis sehingga tanaman dapat tetap tumbuh dan menghemat air.

BKKN yang tinggi pada varietas Grobogan kemungkinan disebabkan oleh ukuran benih varietas ini yang paling besar dibandingkan varietas kedelai lain yang digunakan dalam percobaan. Ukuran benih yang besar menunjukkan banyaknya cadangan makanan yang tersimpan dalam benih. Cadangan makanan dalam benih yang banyak memungkinkan kecambah untuk memiliki bobot kering yang tinggi dibandingkan dengan benih yang berukuran kecil atau sedikit cadangan makanan.

Panjang akar merupakan peubah yang banyak diamati terkait toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan. Secara keseluruhan, semua varietas mengalami penurunan panjang akar secara nyata seiring dengan peningkatan konsentrasi PEG dalam media perkecambahan (Tabel 7). Panjang akar pada kondisi optimum berkisar antara 12.1 cm hingga 16.8 cm, sedangkan pada kondisi suboptimal 5% panjang akar berbeda signifikan dengan kisaran panjang antara 11.2 cm hingga 14.7 cm.

Semua varietas tidak mengalami penurunan panjang akar yang signifikan pada konsentrasi 5% (Tabel 7). Penurunan panjang akar antar varietas secara signifikan baru terjadi pada konsentrasi 10% yaitu hanya varietas Anjasromo yang mengalami penurunan. Kulkarni dan Deshpande (2007) menyatakan bahwa genotipe tomat yang memiliki kemampuan pemanjangan akar yang cepat dalam kondisi defisit air kemungkinan merupakan genotipe yang toleran terhadap cekaman kekeringan dan mereka mampu mempertahankan pemanjangan akar dengan cara menyuling air dalam kondisi tercekam.

Tabel 7. Pengaruh PEG terhadap peubah panjang akar (cm) pada 5 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	12.1BCab	14.7Aa	7.7Bbc	3.3Acd	-
Detam-1	12.9BCa	11.2Ab	10.6Ab	5.1Ac	-
Grobogan	16.8Aa	12.4Aab	10.3Ab	5.0Ac	-
Kaba	12.6BCa	12.1Aa	10.5Ab	5.5Ac	-
Wilis	13.7ABa	11.7Aab	10.9Ab	4.1Ac	-
Rataan	12.52a	10.86b	8.83c	3.91d	-

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan uji DMRT. Huruf kapital dalam kolom yang sama, sedangkan huruf kecil dalam baris yang sama.

Berdasarkan Tabel 8, peubah panjang hipokotil mengalami penghambatan akibat penambahan PEG 6000 dalam media perkecambahan. Pengaruh penambahan PEG terhadap panjang hipokotil

sudah dapat terlihat pada konsentrasi 5% PEG 6000. Panjang hipokotil pada kondisi optimum berkisar antara 8.2 cm hingga 9.1 cm, terjadi penurunan sebesar 50%. Meskipun secara keseluruhan panjang hipokotil mengalami penurunan seiring dengan peningkatan konsentrasi PEG, namun secara genotipe hanya varietas Wilis yang terlihat selalu memiliki panjang hipokotil yang paling panjang dibandingkan varietas lainnya.

Tabel 8. Pengaruh PEG terhadap peubah panjang hipokotil (cm) pada 5 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	8.3Aa	4.1CDb	1.5Dc	0.6Bd	-
Detam-1	8.2Aa	3.7Db	1.8Dc	0.5Bd	-
Grobogan	8.4Aa	4.3B-Cb	2.5Cc	0.7Bd	-
Kaba	8.3Aa	4.5BCb	2.8A-Cc	0.7Bd	-
Wilis	9.1Aa	4.7A-Cb	3.2Ac	0.8Bd	-
Rataan	8.44a	4.31b	2.18c	0.76d	-

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan uji DMRT. Huruf kapital dalam kolom yang sama, sedangkan huruf kecil dalam baris yang sama.

Widoretno *et al.* (2002) menyatakan bahwa peubah panjang hipokotil kecambah kedelai lebih sensitif terhadap cekaman kekeringan dibandingkan dengan peubah panjang akar. Kondisi defisit air membuat tanaman lebih mementingkan pertumbuhan akar sehingga pertumbuhan hipokotil terhambat. Zapico *et al.* (2008) melaporkan bahwa selama perkecambahan padi dalam kondisi defisit air, pertumbuhan plumula lebih terhambat dibandingkan akar kecambah karena distribusi karbohidrat lebih banyak dipasok ke akar kecambah.

Bukti lain bahwa pertumbuhan akar lebih diutamakan daripada hipokotil adalah dari peubah rasio panjang akar terhadap hipokotil. Rasio panjang akar terhadap hipokotil diamati untuk mengetahui proporsi pertumbuhan kedua bagian tanaman tersebut. Penambahan PEG-6000 dalam media perkecambahan benih berpengaruh nyata terhadap rasio panjang akar/hipokotil pada konsentrasi 5% (Tabel 9). Rasio ini pada kondisi optimum berkisar antara 1.48 hingga 2.17 dan pada kondisi suboptimum 5% terjadi peningkatan sebesar 39.7%. Peningkatan ini terus terjadi hingga benih tak mampu berkecambah lagi pada konsentrasi 20%.

Tabel 9. Pengaruh PEG terhadap peubah rasio panjang akar terhadap hipokotil pada 5 varietas kedelai nasional

Varietas	Konsentrasi PEG (%)				
	0	5	10	15	20
Anjasromo	1.48Bc	3.75Ab	6.17Aa	5.85Ba	-
Detam-1	1.69ABc	3.2ABbc	6.97Ab	12.13Aa	-
Grobogan	2.17Ac	2.88BCbc	4.68Bb	7.23Ba	-
Kaba	1.57ABcd	2.77B-Dbc	4.03Bb	9.04ABa	-
Wilis	1.54ABc	2.59B-Dbc	3.59Bab	4.53BCa	-
Rataan	1.55d	2.57c	4.22b	6.11a	-

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5% berdasarkan uji DMRT. Huruf kapital dalam kolom yang sama, sedangkan huruf kecil dalam baris yang sama.

Mekanisme pertumbuhan yang lebih mengutamakan pertumbuhan akar merupakan ciri adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan. Rasio panjang akar/hipokotil semakin meningkat seiring dengan semakin meningkatnya konsentrasi PEG dalam media perkecambahan sampai konsentrasi 15%. Hal ini sama dengan yang dilaporkan Sumartini *et al.* (2013) pada kecambah kapas bahwa pengamatan terhadap peubah perkecambahan dalam media yang mengandung PEG 6000 mengalami penurunan kecuali rasio panjang akar/hipokotil.

Peningkatan rasio yang besar seiring dengan peningkatan konsentrasi PEG diperoleh varietas Detam-1. Varietas ini terlihat berupaya memaksimalkan pertumbuhan akar dibandingkan hipokotil untuk mendapatkan air. Begitu juga dengan Kaba, Grobogan, dan Anjasromo. Sementara varietas Wilis terlihat masih berusaha memanjangkan hipokotil meskipun dalam kondisi kekurangan air.

Peubah rasio panjang akar/plumula dapat digunakan sebagai kriteria seleksi toleransi cekaman kekeringan pada padi fase kecambah (Ai *et al.*, 2010).

3.3. Penggunaan PEG untuk seleksi kekeringan pada kedelai

Varietas kedelai yang digunakan dalam percobaan ini mempunyai perbedaan dalam ukuran benih. Oleh karena itu, pengamatan terhadap peubah perkecambahan tidak dapat langsung digunakan untuk menilai tanggap terhadap cekaman kekeringan. Kelemahan tersebut dapat dikurangi dengan melakukan perhitungan indeks terhadap peubah perkecambahan yang diamati. Indeks yang dilakukan berdasarkan kepekaan varietas terhadap cekaman kekeringan pada konsentrasi PEG yang memberikan perbedaan pengaruh yang signifikan. Peubah perkecambahan rasio panjang akar/hipokotil tidak dapat diikutsertakan karena memiliki respon yang berlawanan terhadap indeks kepekaan.

Berdasarkan Tabel 10 dapat diketahui bahwa tidak ada satupun varietas yang memiliki ISK < 1 pada semua peubah perkecambahan. Hanya varietas Kaba dan Wilis yang memiliki ISK < 1 pada 5 peubah, selanjutnya Grobogan memiliki 4 peubah, Detam 3 peubah, dan Anjasmoro 2 peubah perkecambahan. Indeks yang beragam di setiap peubah perkecambahan ini menjadi alasan bahwa tidak semua peubah perkecambahan dapat digunakan sebagai kriteria seleksi.

Tabel 10. Indeks sensitivitas terhadap cekaman kekeringan pada berbagai peubah perkecambahan

Varietas	Peubah perkecambahan					
	IV 5%	DB 5%	PTM 10%	PA 5%	PH 5%	BKKN 5%
Anjasmoro	1.254	1.404	0.544	-1.616	1.026	1.314
Detam-1	0.846	1.073	0	0.990	1.113	1.143
Grobogan	1.253	0.906	0.150	1.969	0.990	0.744
Kaba	1.102	0.824	0.924	0.298	0.929	0.879
Wilis	0.936	0.657	0.537	1.098	0.981	0.937

Keterangan: IV : Indeks vigor; DB : daya berkecambah; PTM : Potensi tumbuh maksimum; PA : panjang akar; PH : panjang hipokotil; BKKN : bobot kering kecambah normal

Menurut Widoretno *et al.* (2002), peubah daya berkecambah merupakan peubah perkecambahan yang biasanya digunakan untuk mengukur kualitas fisiologi benih dalam kondisi optimum sehingga pada kondisi cekaman kekeringan (suboptimum) peubah ini tidak direkomendasikan untuk menilai respon toleransi tanaman terhadap kekeringan. Begitu juga dengan peubah bobot kering kecambah normal, tidak direkomendasikan untuk menilai respon tanaman terhadap cekaman kekeringan mengingat pengukuran BKKN bersifat destruktif. Savitri (2011) menyatakan bahwa peubah panjang hipokotil dapat digunakan sebagai kriteria untuk menggolongkan toleransi varietas kedelai terhadap kekeringan. Sumartini *et al.* (2013) juga menggunakan indeks sensitivitas pada peubah panjang kecambah untuk menggolongkan toleransi kapas terhadap cekaman kekeringan.

Apabila hanya indeks sensitivitas pada peubah panjang hipokotil yang menjadi kriteria, maka varietas Grobogan dan Wilis yang termasuk ke dalam agak toleran. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Savitri (2011) yang melaporkan bahwa Grobogan termasuk varietas kedelai peka terhadap cekaman kekeringan berdasarkan indeks sensitivitas panjang hipokotil setelah dikecambahkan dalam media kertas yang mengandung PEG 6000. Namun, ada kesamaan penggolongan pada varietas Anjasmoro dan Detam-1. Kedua varietas tersebut termasuk ke dalam varietas peka kekeringan berdasarkan ISK > 1.

Savitri (2011) memutuskan menggunakan ISK peubah panjang hipokotil sebagai kriteria penapisan kemungkinan dikarenakan pada peubah tersebut sudah mampu memberikan perbedaan yang signifikan meskipun dengan menggunakan PEG pada konsentrasi terendah. Sedangkan percobaan yang kami lakukan, semua peubah memberikan perbedaan yang signifikan pada konsentrasi terendah, yaitu 5% PEG 6000. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode lain sebagai alternatif untuk melakukan penapisan cepat. Salah satunya adalah melalui pewarnaan akar menggunakan bahan reaksi Schiff's untuk mendeteksi kerusakan akar akibat cekaman kekeringan.

3.4. Penapisan cepat kedelai terhadap toleransi kekeringan melalui pengamatan pewarnaan kerusakan akar

Metode pewarnaan akar merupakan alternatif solusi untuk menggolongkan suatu varietas termasuk peka atau toleran cekaman abiotik, seperti kekeringan, yang disebabkan oleh beberapa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan menggunakan larutan Schiff's (Tistama *et al.*, 2012). Tistama *et al.* menggunakan metode ini untuk mempelajari mekanisme toleransi tanaman jarak pagar terhadap cekaman alumunium. Yamamoto *et al.* (2001) menggunakan bahan reaksi Schiff's untuk mendeteksi peroksidasi lipid pada akar kacang kapri yang tercekam alumunium. Penggunaan bahan reaksi Schiff's untuk mendeteksi toleransi tanaman kedelai terhadap cekaman kekeringan belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, percobaan ini diharapkan dapat digunakan pada tanaman kedelai.

Tanaman kedelai yang dikultur dalam larutan perlakuan mengalami penghambatan pertumbuhan akar. Penghambatan pertumbuhan akar sangat terlihat dengan semakin meningkatnya konsentrasi PEG 6000 dalam larutan. Beberapa varietas mengalami penggembungan pada bagian ujung akar primer seperti Anjasmoro, Argomulyo, dan Detam-1 (Gambar 2). Penggembungan ini kemungkinan merupakan mekanisme toleransi tanaman kedelai terhadap kondisi defisit air melalui pemendekan sel.



Gambar 2. Keragaan akar 8 varietas kedelai setelah perlakuan bahan reaksi Schiff's (AN=Anjasmoro; AR=Argomulyo; BU=Burangrang; DT=Detam-1; GB=Grobogan; KB=Kaba; TG=Tanggamus; WL=Wilis)

Berdasarkan pewarnaan akar yang terbentuk menggunakan bahan reaksi Schiff's pada Gambar 2 dapat terlihat dengan jelas bahwa varietas Grobogan dan Wilis mengalami kerusakan yang berat pada ujung akar primer setelah dikultur pada media yang mengandung 20% PEG 6000. Cekaman kekeringan menginduksi cekaman oksidatif yang disebabkan oleh ROS sehingga terjadi peningkatan peroksida lipid di dalam akar. Apabila akar mengandung peroksida lipid maka ketika diberikan bahan reaksi Schiff's akan terjadi pewarnaan. Warna jingga yang muncul pada akar menunjukkan terjadinya kerusakan akar. Semakin kuat dan luas warna jingga, semakin parah tingkat kerusakan yang dialami akar tersebut. Kerusakan akar yang terjadi pada tanaman akibat kondisi defisit air diduga merupakan penciri sensitivitas tanaman terhadap cekaman kekeringan. Oleh karena itu, metode ini dapat digunakan sebagai alternatif penapisan kedelai pada fase kecambah.

Tabel 11. Persentase kerusakan akar relatif terhadap kontrol

Varietas	Akar sehat (mm)	Akar rusak (mm)	Kerusakan relatif (%)
Anjasmoro	50	2	4
Argomulyo	50	0	0
Burangrang	50	3	6
Detam-1	50	2	4
Grobogan	50	10	20
Kaba	50	0	0
Tanggamus	50	0	0
Wilis	50	23	46

Jika kerusakan akar relatif dijadikan rentang indeks untuk menentukan toleransi tanaman kedelai

terhadap cekaman kekeringan, maka kecambah dengan kerusakan akar di atas 20% kemungkinan merupakan varietas peka kekeringan (Tabel 11). Sedangkan kerusakan akar di bawah 20% kemungkinan merupakan varietas kedelai yang agak toleran (medium) dan kecambah yang tidak mengalami kerusakan akar sama sekali merupakan varietas yang toleran kekeringan. Oleh karena itu, Grobogan dan Wilis dapat diduga merupakan varietas kedelai yang peka; Anjasmoro, Burangrang, dan Detam-1 merupakan varietas kedelai yang agak toleran; sedangkan Argomulyo, Kaba, dan Tanggamus diduga merupakan varietas kedelai yang toleran kekeringan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa:

- PEG 6000 dapat menghambat perkecambahan kedelai yang ditandai dengan menurunnya peubah perkecambahan pada indeks vigor, daya berkecambah, potensi tumbuh maksimum, panjang akar, panjang hipokotil, rasio panjang akar/hipokotil dan bobot kering kecambah normal.
- Konsentrasi 5% PEG 6000 sudah mampu memberikan perbedaan yang signifikan terhadap semua peubah perkecambahan antara perlakuan dan kontrol.
- Berdasarkan metode pewarnaan akar, varietas Argomulyo, Kaba dan Tanggamus diduga merupakan varietas kedelai yang toleran kekeringan, sedangkan Anjasmoro, Burangrang dan Detam-1 termasuk varietas yang agak toleran. Grobogan dan Wilis merupakan varietas kedelai yang peka kekeringan.

5. Acknowledgment

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada program I-MHERE batch 2c atas bantuan biaya penelitian selama di Institut Pertanian Bogor.

References

- Ai, N.S, Tondais, S.M, Butarbutar, R. 2010. Evaluasi indikator toleransi cekaman kekeringan pada fase perkecambahan padi (*Oryza sativa* L.). J Biologi 16(1): 50-54.
- Anugrah, H.Y., Rahmawati, N., Hasanah, Y. 2012. Pertumbuhan dan produksi beberapa varietas kedelai (*Glycine max* L. MERILL.) pada berbagai kondisi air tanah. J Online Agroekoteknologi 1(1): 91 – 98.
- Heatherly, C.D. And Russel, W.J. 1979. Effect of soil water potensial of two soils on soybean emergence. Agron J 71: 980-982.
- Jajarmi, V. 2009. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. PWASET 37:105-106.
- Kong, L., Attree, S.M., Fowke, L.C. 1998. Effects of polyethylene glycol and methylglyoxal bis (guanylhydrazone) on endogenous polyamine levels and somatic embryo maturation in white spruce (*Picea glauca*). Plant Sci 133: 211-220.
- Kosmiatin, M., Hutami, S., Husni, A., Mariska, I. 2005. Penapisan cepat toleransi terhadap kekeringan secara in vitro. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 24(3): 159-167.
- Kulkarni, M. dan Deshpande, U. 2007. In vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. Afr J Biotech 6: 691-696.
- Mexal, J., Fisher, J.T., Osteryoung, J., Patrick, R.C.P. 1975. Oxygen availability in polyethylene glycol solutions and its implications in plant-water relation. Plant Physiol 55: 20-24.
- Michel, B.E. And Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol 57:

9914-916.

- Sadjad, S. 1989. Konsepsi Steinbauer-Sadjad sebagai Landasan Pengembangan Matematika Benih di Indonesia. [Pidato Guru Pengukuhan Guru Besar] Bogor : Fakultas Pertanian IPB.
- Savitri, E.S. 2011. Seleksi toleransi kekeringan perkecambahan beberapa varietas kedelai (*Glycine max* L. Merr) menggunakan PEG (Polyethylene glycol) 6000. Berk Penel Hayati Edisi Khusus 7A: 129-131.
- Serraj, R. 2009. Improvement of drought resistance in rice. *Advances in Agron* 103: 41-99.
- Sidari, M., Mallamaci, C., Muscolo, A. 2008. Drought, salinity and heat differently affect seed germination of *Pinus pinea*. *J Forest Res* 13: 326-330.
- Sugihono, C. 2011. Penapisan varietas kedelai toleran kekeringan pada fase perkecambahan dan kemampuan simbiosisnya dengan rhizobium. [Tesis]. Bogor : Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sumartini, S., Sulistyowati, E., Mulyani, S., Abdurrahman. 2013. Skrining galur kapas (*Gossypium hirsutum* L.) toleran terhadap kekeringan dengan PEG-6000 pada fase kecambah. *J Littri* 19(3): 139-146.
- Tistama, R., Widyastuti, U., Sopandie, D., Yokota, A., Akashi, K., Suharsono. 2012. Physiological and biochemical responses to aluminum stress in the root of a biodiesel plant *Jatropha curcas* L. *Hayati* 19(1): 37-43.
- Widoretno, W. 2011. Skrining untuk toleransi terhadap stres kekeringan pada 36 varietas kedelai pada fase perkecambahan. *Berk Penel Hayati* 16: 133-142.
- Widoretno, W., Guhardja, E., Ilyas, S., Sudarsono. 2002. Efektivitas polietilena glikol untuk mengevaluasi tanggapan genotipe kedelai terhadap cekaman kekeringan pada fase perkecambahan. *Hayati* 9(2): 33-36.
- Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Matsumoto, H. 2001. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Phys* 125: 199-208.
- Zapico, F.L., Miranda, J.G., Pare, M.I. 2008. Physiological characterization for drought tolerance of selected rice varieties in Lake Sebu, Philippines. *USM R & D J* 16(1): 13-16.