

Varian Kualitatif Kacang Tanah Hasil Kultur *in Vitro* dan Hasil Seleksi *in Vitro*

*(Qualitative Variants of Peanut Plants Obtained from in-Vitro Culture
and in-Vitro Selection)*

ENNI SUWARSI RAHAYU, SUDARSONO

*Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Lt 1 Jl. Raya Sekaran Gunungpati Semarang 50229 Telp. (024) 8508033
** Departemen Agronomi dan Hortikultura Faperta Institut Pertanian Bogor
Jalan Meranti Kampus IPB Darmaga Bogor

ABSTRACT

Tissue cultures that have passed callus phase can induce somaclonal variation, of which the intensity was influenced by the addition of selective agents to culture media. Somaclonal variations of peanut plant obtained from in-vitro cultured and in-vitro selected somatic embryos using PEG was not yet understood. The objectives of this research were 1) to identify the qualitative variants of peanut plant var. Kelinci obtained from in-vitro cultured and in-vitro selected somatic embryos using PEG, 2) to estimate the factors that control the qualitative variants. The non-selected and the selected variant somatic embryos of peanut were germinated and cultured. From fertile R0 lines, sufficient number of R1 and R2 progenies were grown for evaluation. The results showed that phenotypic variations of qualitative characters can be observed among R0, R1 and R2 generations of somaclonal lines. Variant phenotypes of qualitative characters can be observed, these include wide branching, excessive branching, leaf variegation, leaflet number abnormality, leaf pointed tip, 'rosette' leaf, complete sterility and partial sterility. The data indicated that wide branching, excessive branching, leaflet number abnormality, partial sterility and complete sterility were genetically controlled, while variant phenotypes of 'rosette' leaf, leaf variegation, and leaf pointed tip were epigenetically controlled.

Key words: somaclonal variant, qualitative characters, in vitro selection, in vitro culture

PENDAHULUAN

Penggunaan teknik *in vitro* untuk mendapatkan plasma nutfah tanaman kacang tanah dengan karakter unggul baru memerlukan tersedianya teknik kultur jaringan yang efektif dan bahan penyeleksi yang tepat (Mohammed *et al.* 2000). Teknik kultur jaringan diperlukan untuk menghasilkan embrio somatik (ES), menginduksi variasi somaklonal dan meregenerasikan ES varian menjadi tanaman dalam jumlah banyak. Bahan penyeleksi yang tepat diperlukan untuk menapis ES varian dengan karakter unggul yang diinginkan di antara ES varian dengan karakter yang tidak diinginkan. Berdasar penelitian sebelumnya telah dikembangkan metode baku seleksi *in vitro* menggunakan PEG-6000 yang dapat digunakan untuk mengisolasi jaringan kacang tanah yang toleran cekaman kekeringan

(Rahayu 2006).

Teknik kultur jaringan, terutama yang melibatkan fase kalus, dapat menginduksi terjadinya variasi somaklonal, yaitu perubahan yang terjadi pada tanaman yang diregenerasikan dari kultur *in vitro* dan pada umumnya bersifat *heritable*. Variasi somaklonal dapat diketahui dengan menganalisis fenotip, protein, jumlah dan struktur kromosom, serta DNA. Selain variasi somaklonal, sumber variasi lain yang dapat diamati pada tanaman regenerasi adalah variasi epigenetik yang merupakan modifikasi ekspresi genetik, biasanya bersifat reversibel (Henikoff & Matzke 1997). Tipe dan intensitas variasi sering berbeda antar spesies atau kultivar maupun antar perlakuan. Dalam suatu percobaan mungkin terjadi perubahan yang sangat besar sehingga tanaman tampak abnormal, namun mungkin pula hanya sebagian kecil sedangkan sebagian besar

karakter lain tetap menyerupai induknya (Seliskar & Gallagher 2000).

Keragaman karakter kualitatif akibat variasi somaklonal pada tanaman kacang tanah hasil kultur *in vitro* dan hasil seleksi *in vitro* belum diketahui sehingga perlu dievaluasi. Masalah yang perlu diteliti adalah 1) bagaimanakah varian kualitatif tanaman kacang tanah hasil kultur *in vitro* dan hasil seleksi *in vitro*, 2) faktor-faktor apakah yang mengendalikan varian kualitatif. Pada penelitian ini tanaman hasil kultur *in vitro* adalah tanaman yang diregenerasikan dari ES yang berkembang dalam media *in vitro* (media MS + pikloram 16 μ M), sedang tanaman hasil seleksi *in vitro* diregenerasikan dari ES yang berkembang dalam media selektif (media MS + pikloram 16 μ M + PEG- 6000 15%).

Kultur jaringan kacang tanah yang menginduksi terbentuknya ES dan variasi somaklonal, serta meregenerasikan tanaman varian secara efisien telah dibakukan. Teknik yang dikembangkan terbukti mampu menginduksi keragaman karakter kualitatif dan kuantitatif serta toleransi terhadap toksin yang disekresikan cendawan *Sclerotium rolfisii* (Yusnita *et al.* 2005). Keragaman di antara kultur ES kacang tanah diduga juga berpotensi untuk menghasilkan varian ES dengan karakter toleran terhadap cekaman kekeringan.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman dan Induksi Variasi Somaklonal

Dalam penelitian ini digunakan kalus embriogen dengan ES sekunder kacang tanah kultivar Kelinci. Kalus embriogen yang berumur satu bulan di sub-kultur setiap bulan selama enam bulan dalam media MS-P16 (MS ditambah pikloram 16 μ M) padat untuk menginduksi terjadinya variasi somaklonal.

Pertumbuhan ES Varian dalam Media Kultur dan Media Selektif serta Regenerasinya menjadi Tanaman R0

Pada sebagian percobaan kalus embriogen dengan ES varian diseleksi dalam media selektif yang mengandung PEG-6000 15%. Pada sebagian percobaan yang lain kalus embriogen dengan ES varian ditumbuhkan dalam media kultur non-selektif, yaitu MS-P16 cair tanpa penambahan PEG. Untuk setiap bagian percobaan tersebut, pada awal percobaan ditanam 500 kalus embriogen, masing-masing dengan 8–10 ES sehingga jumlah total ES yang ditumbuhkan mencapai 4000–5000 ES. Kalus embriogen (lima

eksplan per botol) ditanam dalam media kultur dan disubkultur setiap bulan ke dalam media kultur yang masih segar, dalam kondisi gelap 24 jam. Setelah tiga bulan, ES yang masih hidup diisolasi dan ditanam dalam media MS-P16 padat selama dua bulan agar terjadi proliferasi. ES hasil proliferasi kemudian diregenerasikan menjadi tanaman R0.

Regenerasi dimulai dengan menanam ES dalam media MS yang ditambah arang aktif 2 g/l (media MSAC), kemudian dilakukan subkultur setiap bulan sampai berkembang sempurna, dan dicekambahkan dalam media MS yang ditambah BAP (6-benzylamino purine) sebanyak 22 μ M sampai terbentuk tunas. Tunas yang tumbuh dipilih yang mempunyai panjang 2–3 cm, dipindahkan ke media pengakaran yang tersusun dari media MS ditambah NAA (*naphthalene acetic acid*) sebanyak 10 mg/l selama satu minggu. Setelah itu dipindahkan lagi ke media MSAC dan ditumbuhkan sampai terbentuk akar yang sempurna. Pada semua tahap regenerasi, kultur diinkubasikan dalam ruang dengan temperatur konstan 25° C dan kondisi terang dengan pencahayaan lampu 1000 lux terus menerus.

Tunas yang telah berakar berkembang menjadi plantlet. Plantlet dengan 3-4 daun dan perakaran yang normal dipindahkan dari media *in vitro* ke media tanah melalui proses aklimatisasi. Akar plantlet dicuci bersih dari agar yang menempel, direndam dalam suspensi fungisida Dithane M45 (2 g/l), dan ditanam dalam pot plastik dengan volume 200 ml berisi media tanam steril campuran tanah:kompos:pasir (2:1:1, v/v). Plantlet disungkup dengan botol kultur untuk menjaga kelembaban dan diletakkan selama dua minggu pada rak kultur dalam kondisi terang terus menerus selama 24 jam. Plantlet disiram dengan larutan MS (½ konsentrasi) jika permukaan media tanam mengering.

Setelah menghasilkan daun dan perakaran baru, plantlet dipindahkan ke rumah kaca dan sungkup botol dibuka secara bertahap. Tanaman yang berhasil tumbuh dipindahkan ke dalam pot dengan diameter 50 cm dan tinggi 40 cm yang berisi 10 kg campuran tanah:kompos:pasir (1:1:1, v/v). Selanjutnya tanaman dipelihara di rumah kaca untuk menghasilkan benih R0:1 dan untuk pengamatan pertumbuhan tanaman.

Penanaman dan Pemeliharaan Tanaman R0, R1 dan R2

Benih R0:1 yang dihasilkan oleh tanaman R0 yang diregenerasikan dari ES hasil seleksi *in vitro* dalam media PEG 15% (yang selanjutnya disebut populasi R0-K15) dan yang

diregenerasikan dari ES hasil kultur *in vitro* tanpa seleksi PEG (yang selanjutnya disebut populasi R0-K0) ditanam untuk memperoleh tanaman generasi R1. Masing-masing nomor tanaman R0 ditumbuhkan 5–10 tanaman R1 tergantung pada jumlah polong bernas yang dihasilkan. Tanaman R1 ditumbuhkan dalam polybag berukuran 45 x 45 cm yang diisi 10 kg media tanam campuran tanah kebun, kompos dan pasir dengan perbandingan 2:1:1 (v/v) dan dipelihara di rumah kaca di Balitbiogen, Bogor. Pemeliharaan yang meliputi pemupukan, penyiraman, pengendalian gulma dan hama dilakukan seperti budidaya kacang tanah pada umumnya. Tanaman R1 dipelihara hingga panen, benih R1-2 dipanen secara terpisah dari setiap nomor.

Benih R1-2 yang berasal dari nomor tanaman R1 terpilih, yaitu beberapa nomor yang menghasilkan polong bernas paling banyak, ditanam untuk memperoleh tanaman generasi R2. Masing-masing nomor R1 terpilih tersebut ditanam 10 benih R1-2. Tanaman R2 ditumbuhkan dalam *polybag* yang berisi media tanam dengan komposisi dan jumlah yang sama

serta dipelihara dalam kondisi yang sama seperti penanaman R1. Pemeliharaan yang meliputi pemupukan, penyiraman, pengendalian gulma dan hama dilakukan seperti dijelaskan sebelumnya. Tanaman R2 dipelihara hingga panen, benih R2-3 dipanen secara terpisah dari setiap nomor. Sebagai kontrol adalah tanaman kacang tanah kultivar Kelinci yang ditumbuhkan dari benih yang diperoleh dari Balitbiogen, Bogor. Tanaman tersebut ditanam dan dipelihara dengan cara yang sama dengan tanaman yang berasal dari kultur.

Penentuan Varian

Karakter yang diamati adalah karakter kualitatif yang meliputi pola percabangan, intensitas percabangan, filotaksis (jumlah daun yang tumbuh pada satu buku), jumlah *leaflet* (anak daun) dalam satu daun majemuk, bentuk ujung daun, dan fertilitas. Pola percabangan dibedakan berdasarkan sudut antara batang dengan cabang primer menjadi tiga yaitu pola melebar (>60°), medium (30°–60°) dan meninggi (<30°) (Setiawan 1998; Gambar 1).



Gambar 1. Pola percabangan pada tanaman kacang tanah yang diregenerasikan dari ES hasil kultur dan seleksi *in vitro*. a. pola percabangan melebar, b. pola medium, c. pola meninggi

Intensitas percabangan ditentukan berdasarkan jumlah cabang primer yang tumbuh pada batang, jika ≥ 8 dinyatakan sebagai percabangan berlebihan. Filotaksis ditentukan berdasarkan jumlah daun majemuk yang tumbuh per buku pada sebagian besar buku yang terdapat pada suatu tanaman. Jika pada satu buku tumbuh lebih dari satu daun majemuk disebut daun roset. Jumlah anak daun ditentukan dengan menghitung jumlah anak daun dalam setiap daun majemuk, yang dalam satu individu mungkin tidak seragam. Bentuk ujung daun dibedakan menjadi dua macam, yaitu membulat dan meruncing. Daun dinyatakan abnormal bila mempunyai jumlah anak daun selain 4, ukuran anak-anak daun tidak sama, ujung meruncing. Dalam penelitian ini fertilitas dibedakan menjadi tiga, yaitu fertil (membentuk lebih dari lima polong per tanaman),

steril partial (membentuk polong 1–5 per tanaman) dan steril total (tidak membentuk bunga atau polong sama sekali).

Keberadaan varian kualitatif ditentukan dengan mengamati suatu karakter pada tanaman hasil kultur dan membandingkannya dengan karakter sejenis pada tanaman standar yang berasal dari benih. Karakter pada tanaman hasil kultur atau seleksi *in vitro* yang berbeda dengan karakter pada tanaman standar ditetapkan sebagai varian, kemudian dihitung frekuensinya.

Varian yang teramati pada generasi R0 dicatat dan diamati kembali pada generasi R1 dan R2 turunannya. Bila suatu varian muncul pada generasi R0 tetapi tidak muncul lagi pada generasi R1 maupun R2, maka varian tersebut diduga dikendalikan secara epigenetik. Sebaliknya bila suatu varian selalu tampak pada generasi R0, R1

dan R2 turunannya, atau tidak muncul pada R0 tetapi muncul pada R1 dan R2 diduga merupakan karakter genetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

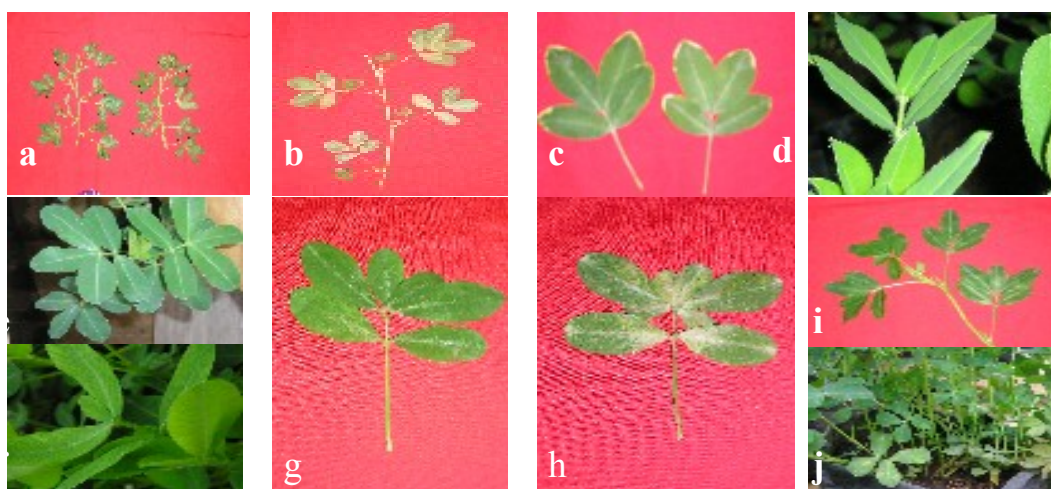
Tanaman R0, R1 dan R2

Regenerasi ES kacang tanah cv. Kelinci menghasilkan 38 tanaman hasil kultur *in vitro* (tanaman R0-K0) dan 24 tanaman hasil seleksi *in vitro* (tanaman R0-K15) yang mencapai umur reproduktif. Sepuluh tanaman R0-K0 tidak menghasilkan bunga, delapan tanaman membentuk benih yang tidak viabel, sehingga hanya zuriat dari 20 tanaman R0-K0 yang dievaluasi lebih lanjut. Pada R0-K15, hanya sembilan tanaman yang dapat membentuk benih yang viabel, sedangkan delapan tanaman tidak berbunga dan tujuh tanaman menghasilkan bunga namun biji tidak viabel. Zuriat dari sembilan tanaman tersebut dievaluasi lebih lanjut.

Varian Kualitatif

Tanaman standar yang ditumbuhkan dari benih mempunyai pola percabangan medium; percabangan normal (3-5 cabang primer); filotaksis tersebar (dalam satu buku tumbuh satu daun majemuk), daun majemuk tetrafoliat (empat anak daun), ujung daun membulat, dan fertil.

Karakter-karakter kualitatif pada populasi R0-K15 yang berbeda dengan tanaman standar meliputi percabangan melebar (Gambar 1.a), percabangan berlebihan (Gambar 2.j), daun pentafofoliat (Gambar 2.e, 2.f), steril partial dan steril total. Pada populasi R0-K0, selain beberapa karakter tersebut teridentifikasi pula daun roset (Gambar 2.a dan 2.b), varigata (Gambar 2.c) dan ujung daun meruncing (Gambar 2.d). Karakter kualitatif pada populasi R1-K15 yang berbeda dengan tanaman standar meliputi percabangan melebar, daun pentafofoliat dan steril partial.



Gambar 2. Varian kualitatif pada tanaman kacang tanah hasil kultur dan seleksi *in vitro*. a. Daun roset (pada satu buku tumbuh ≥ 2 daun majemuk), b. daun roset (pada satu buku tumbuh dua daun majemuk), c. varigata pada tepi ujung daun, d. bentuk ujung daun meruncing, e. daun majemuk dengan lima leaflet; ukuran leaflet sama, f. ukuran leaflet tidak sama, g. daun majemuk dengan enam leaflet, h. daun majemuk dengan 8 leaflet, i. daun majemuk dengan 4, 5, dan 6 leaflet pada yang tumbuh pada satu ranting, j. percabangan berlebihan

Pada populasi R1-K0, selain ketiga karakter tersebut teramati pula percabangan berlebihan dan daun hexafofoliat atau oktafofoliat (Gambar 2.g dan 2.h). Pada generasi berikutnya variasi kualitatif pada populasi R2-K15 hanyalah percabangan melebar dan daun pentafofoliat, sedangkan pada populasi R2-K0 tampak daun hexafofoliat dan steril parsial. Perbedaan-perbedaan tersebut merupakan varian somaklonal.

Persentase keberadaan varian suatu karakter berbeda antar populasi dan antar generasi. Pada umumnya persentase varian berkurang dari satu

generasi ke generasi berikutnya, kecuali varian daun hexafofoliat pada populasi K-0. Varian percabangan melebar dan daun pentafofoliat muncul pada generasi R0, R1 dan R2 baik pada populasi tanaman hasil kultur maupun hasil seleksi *in vitro*. Varian percabangan berlebihan teridentifikasi dalam persentase yang cukup tinggi pada generasi R0, pada populasi tanaman hasil kultur sebesar 71% dan hasil seleksi *in vitro* sebesar 75%. Pada generasi selanjutnya (R1) varian tersebut hanya muncul pada tanaman hasil kultur *in vitro* sebesar 5% (Tabel 1, Tabel 2).

Tabel 1. Jenis, frekuensi dan persentase varian kualitatif pada tanaman hasil kultur *in vitro* (K0) generasi R0, R1 zuriat R0 dan R2 zuriat R1

Jenis Varian	Frekuensi dan persentase varian pada generasi		
	R0	R1	R2
Percabangan melebar	38/38 (100)	16/20 (80)	2/20 (10)
Percabangan berlebihan	27/38 (71)	1/20 (5)	0/20 (0)
Filotaksis daun roset	4/38 (10)	0/20 (0)	0/20 (0)
Daun pentafoliat	10/38 (26)	10/20 (50)	5/20 (25)
Daun hexafoliat atau lebih	0/38 (0)	7/20 (35)	5/20 (25)
Ujung daun meruncing	6/38 (16)	0/20 (0)	0/20 (0)
Varigata pada ujung daun	3/38 (8)	0/20 (0)	0/20 (0)
Steril partial	8/38 (21)	4/20 (20)	4/20 (20)
Steril total	10/38 (26)	0/20 (0)	0/20 (0)

Keterangan:

Frekuensi dan persentase varian x/y (z) : x menunjukkan banyaknya nomor tanaman R0/R1/R2 yang mempunyai karakter varian, y menunjukkan banyaknya nomor tanaman R0/R1/R2 total yang dievaluasi, z merupakan angka persentase (x/y x 100%)

Varian filotaksis daun roset, ujung daun meruncing, dan daun varigata hanya tampak pada populasi tanaman hasil kultur *in vitro* generasi R0, masing-masing sebesar 10%, 16% dan 8%. Pada generasi selanjutnya dan pada populasi tanaman hasil seleksi *in vitro* varian tersebut tidak terdeteksi. Pada tanaman hasil kultur *in vitro*, varian daun hexafoliat tidak teridentifikasi pada generasi R0, namun muncul pada R1 (35%) dan R2 (25%) (Tabel 1). Pada populasi tanaman hasil

seleksi *in vitro*, tidak ada satupun tanaman yang menunjukkan varian tersebut (Tabel 2).

Evaluasi keragaman varian kualitatif juga menunjukkan bahwa varian steril partial muncul pada generasi R0, R1 dan R2 pada populasi tanaman hasil kultur *in vitro*, sedangkan pada tanaman hasil seleksi *in vitro* hanya muncul pada generasi R1 dan R2. Varian steril total hanya terdeteksi pada generasi R0 pada dua populasi yang dievaluasi (Tabel 1).

Tabel 2. Jenis, frekuensi dan persentase varian kualitatif pada tanaman hasil seleksi *in vitro* (K15) generasi R0, R1 zuriat R0 dan R2 zuriat R1

Jenis Varian	Frekuensi dan persentase varian pada generasi		
	R0	R1	R2
Percabangan melebar	24/24 (100)	8/9 (88)	1/9 (11)
Percabangan berlebihan	18/24 (75)	0/9 (0)	0/9 (0)
Filotaksis daun roset	0/24 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)
Daun pentafoliat	10/24 (42)	7/9 (77)	4/9 (44)
Daun hexafoliat atau lebih	0/24 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)
Ujung daun meruncing	0/24 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)
Varigata pada ujung daun	0/24 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)
Steril partial	7/24 (29)	1/9 (11)	0/9 (0)
Steril total	8/24 (33)	0/9 (0)	0/9 (0)

Keterangan:

Frekuensi dan persentase varian x/y (z): x menunjukkan banyaknya nomor tanaman R0/R1/R2 yang mempunyai karakter varian, y menunjukkan banyaknya nomor tanaman R0/R1/R2 total yang dievaluasi, z merupakan angka persentase (x/y x 100%)

Varian kualitatif yang muncul pada tanaman hasil seleksi *in vitro* dalam media dengan PEG 15% (populasi K15) lebih rendah tingkat keragamannya dibanding yang muncul pada tanaman hasil kultur *in vitro* (populasi K0). Pada populasi K15 muncul varian berupa percabangan melebar, percabangan berlebihan, daun pentafoliat, steril partial dan steril total;

sedangkan pada populasi K0, selain lima karakter tersebut teridentifikasi pula munculnya daun roset, daun varigata, ujung daun meruncing, daun hexafoliat, dan daun oktafoliat.

Perbedaan intensitas variasi tersebut diduga sebagai akibat perbedaan perlakuan yang dialami embrio somatik (ES) yang menghasilkan tanaman K0 dan K15. ES yang diregenerasikan menjadi

tanaman K0 mengalami subkultur sebanyak enam kali, sedangkan yang diregenerasikan menjadi tanaman K15 selain mengalami subkultur enam kali juga mengalami seleksi dalam media selektif PEG 15% selama tiga bulan dengan tiga kali subkultur. Dengan demikian variasi yang muncul pada tanaman K0 terjadi akibat pengaruh subkultur berulang terhadap perubahan materi atau ekspresi genetik pada jaringan eksplan atau kalus. Pikloram (asam 4-amina.3.5.6. trikloro-pikolinat, suatu herbisida yang dalam konsentrasi rendah berperan sebagai fitohormon auksin) yang ditambahkan dalam media kultur menginduksi pembelahan sel terus menerus dengan kecepatan yang tinggi. Pembelahan sel yang cepat tersebut dapat mengakibatkan perubahan dalam proses replikasi materi genetik atau pada faktor-faktor pengendali ekspresi genetik, sehingga juga mengakibatkan perubahan pada fenotipe tanaman (Wikipedia 2006). Perubahan yang terjadi bersifat acak pada berbagai karakter.

Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian pada kedelai. Frekuensi variasi somaklonal pada tanaman kedelai antara lain dipengaruhi oleh konsentrasi auksin dalam media tumbuh. Pada media dengan 22,5 μM 2.4.D terbentuk varian sebesar 40%, sedangkan dengan 18 μM terbentuk 3 % dari tanaman regeneran (Shoemaker *et al.* 1991).

Variasi yang muncul pada populasi K15 terjadi bukan hanya akibat pengaruh sub-kultur seperti di atas, melainkan juga pengaruh tekanan seleksi dari bahan penyeleksi PEG. Oleh karena itu variasi yang muncul akibat pengaruh subkultur ada kemungkinan tereliminasi oleh tekanan seleksi, sehingga keragaman yang muncul pada tanaman hasil seleksi lebih rendah dibandingkan tanaman hasil kultur *in vitro* (Skirvin *et al.* 2000).

Pada umumnya persentase munculnya varian kualitatif berkurang dari satu generasi ke generasi berikutnya. Varian percabangan berlebihan teridentifikasi dalam persentase yang cukup tinggi pada generasi R0, namun menurun tajam pada generasi R1. Varian filotaksis daun roset, ujung daun meruncing, dan daun varigata hanya tampak pada populasi tanaman hasil kultur *in vitro* generasi R0 dengan persentase yang relatif kecil. Pada generasi selanjutnya dan pada populasi tanaman hasil seleksi *in vitro* varian tersebut tidak terdeteksi. Persentase varian yang tinggi pada generasi R0 mungkin disebabkan oleh pengaruh kondisi kultur yang mampu mengubah fenotip tanaman, namun perubahan tersebut tidak permanen atau bersifat epigenetik. Epigenetik merupakan modifikasi dalam ekspresi genetik,

tetapi cenderung reversibel akibat perubahan struktur kromatin dan atau metilasi DNA, atau amplifikasi gen (Tremblay *et al.* 1999, Wikipedia 2006). Pada generasi lanjut perubahan pada mekanisme epigenetik makin berkurang sehingga keragaan tanaman yang diregenerasikan melalui tahap kultur *in vitro* lebih mendekati keragaan tanaman standar (Henikoff & Matzke 1997). Varian steril total tidak dapat dianalisis lebih lanjut karena tidak menghasilkan benih.

Varian percabangan melebar dan daun pentafoliat muncul pada generasi R0, R1 dan R2 baik pada populasi tanaman K0 maupun K15. Varian steril partial muncul pada generasi R0, R1 dan R2 untuk populasi tanaman K0. Varian karakter-karakter tersebut diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Hal ini berarti variasi somaklonal untuk tiga karakter tersebut diduga dikendalikan oleh faktor genetik, yang mungkin diakibatkan oleh perubahan dalam struktur gen-gen yang terlibat pada pola percabangan dan jumlah anak daun dalam satu daun majemuk. Varian genetik juga ditemukan pada tanaman gandum. Pada tanaman regeneran gandum terjadi variasi somaklonal sebesar 5% untuk sifat morfologi dan biokimia. Karakter tersebut, baik yang dikendalikan secara monogenik maupun poligenik, terbukti diturunkan sampai dua generasi (Larkin *et al.* 1984).

Pada tanaman hasil kultur *in vitro*, varian daun hexafoliat dan oktafoliat tidak teridentifikasi pada generasi R0, namun muncul pada R1 dan R2. Varian karakter tersebut diduga dikendalikan oleh gen resesif. Semua tanaman generasi R0 diduga mempunyai genotip heterozigot sehingga fenotip varian tersebut tidak muncul. Pada generasi selanjutnya mungkin terjadi rekombinasi gen yang mengakibatkan susunan genotip homozigot dan fenotip varian muncul pada beberapa tanaman.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa regenerasi tanaman yang melalui tahap kultur *in vitro* dan penggunaan fitohormon dalam kultur *in vitro* dapat menginduksi variasi somaklonal. Pada *Picea mariana* dan *P. glauca* yang diregenerasikan melalui embriogenesis somatik teridentifikasi ada sembilan kelompok varian untuk karakter kualitatif. Beberapa tipe varian terbentuk akibat instabilitas kromosom, khususnya aneuploid. Dalam penelitian tersebut instabilitas kromosom diakibatkan oleh perbedaan klon dan lama waktu dalam kultur (Tremblay *et al.* 1999). Induksi kalus dengan pikloram dan BA dapat menghasilkan variasi genetik pada *Lycopersicon esculentum* Mill. Koefisien kesamaan genetik menunjukkan bahwa semua

tanaman regenerasi mempunyai tingkat perbedaan genetik yang bervariasi dengan tanaman induk (Soniya *et al.* 2001).

Adanya variasi somaklonal karakter kualitatif pada tanaman hasil kultur *in vitro* dan hasil seleksi *in vitro* mengindikasikan adanya peluang untuk mendapatkan tanaman yang lebih toleran terhadap kekeringan, atau sama tingkat toleransinya tetapi dengan mekanisme yang berbeda dengan tanaman awal. Tanaman awal dalam penelitian ini adalah kacang tanah kultivar Kelinci yang selama ini diidentifikasi merupakan kultivar dengan tingkat toleransi medium. Untuk menguji peluang tersebut perlu dilakukan evaluasi toleransi tanaman varian terhadap cekaman kekeringan melalui berbagai pendekatan.

PENUTUP

Varian somaklonal kualitatif yang muncul pada tanaman kacang tanah hasil seleksi *in vitro* berupa percabangan melebar, percabangan berlebihan, daun pentafoliat, steril partial dan steril total. Varian somaklonal yang muncul pada tanaman hasil kultur *in vitro* lebih beragam, yaitu percabangan melebar, percabangan berlebihan, daun pentafoliat, steril partial, steril total, daun roset, daun varigata, ujung daun meruncing, daun hexafoliat, dan daun oktafoliat.

Varian kualitatif yang diduga dikendalikan secara genetik adalah percabangan melebar, percabangan berlebihan, daun pentafoliat, daun hexafoliat, daun oktafoliat dan steril partial. Varian daun hexafoliat, oktafoliat dan steril partial (pada populasi hasil seleksi *in vitro*) diduga dikendalikan oleh gen resesif. Varian yang dikendalikan secara epigenetik adalah daun roset, daun varigata dan ujung daun meruncing.

DAFTAR PUSTAKA

- Henikoff S & Matzke MA. 1997. Exploring and explaining epigenetic effects. *Trends Genetics* 13: 293-295.
- Larkin PJ, Ryan SA, Brettell RIS, Scowcroft WR. 1984. Heritable somaclonal variation in wheat. *Theor Appl Genet* 67:443 – 455.
- Mohamed MAH, Harris PJC, Henderson J. 2000. *In vitro* selection and characterisation of a drought tolerant clone of *Tagetes erecta*. *Plant Sci* 159:213 – 222.
- Rahayu ES, Ilyas S, Guhardja E dan Sudarsono. 2005. Polietilena glikol (PEG) dalam media *in vitro* menyebabkan kondisi cekaman yang menghambat perkembangan tunas kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Berkala Penelitian Hayati*. 11 (1):39-48.
- Rahayu ES, Ilyas S, Sudarsono. 2006. Seleksi *in vitro* embrio somatic kacang tanah pada medium dengan polietilen glikol untuk stimulasi kondisi cekaman kekeringan. *Biosfera* 23 (1):15-23.
- Seliskar DM dan Gallagher JL. 2000. Exploiting wild population diversity and somaclonal variation in the salt marsh grass *Distichlis spicata* (Poaceae) for marsh creation and restoration. *Am J Bot* 87:141-146.
- Setiawan K. 1998. Study on varietal differences of drought tolerance in peanut. *Disertasi*. Tokyo: Tokyo University of Agriculture, Graduate School of Agriculture
- Shoumaker RC, Amberger LA, Palmer RG, Oglesby L, Ranch JP. 1991. Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid concentration on somatic embryogenesis and heritable variation in soybean [*Glycine max* (L.) Merr]. *In vitro Cell Dev Biol* 27: 84 – 88
- Skirvin RM, Coyner M, Norton MA, Motoike S, Gorvin D. 2000. Somaclonal variation: do we know what causes it?. *Ag Biotech Net*. 2: ABN 048.
- Soniya EV, Banerjee NS, Das MR. 2001. Genetic analysis of somaclonal variation among callus-derived plants of potato. *Current Sci* 80(9):1213-1215.
- Tremblay L, Levasseur C, Tremblay FM. 1999. Frequency somaclonal variation in plants of black spruce (*Picea mariana*, Pinaceae) and white spruce (*P. glauca*, Pinaceae) derived from somatic embryogenesis and identification of some factors involved in genetic instability. *Am J Bot* 86:1373.
- Wikipedia. 2006. “http://en.wikipedia.org/wiki/Somaclonal_variation.” [18 Apr 2006].
- Yusnita, Widodo, Sudarsono. 2005. *In vitro* selection of peanut somatic embryos on medium containing culture filtrates of *Sclerotium rolfsii* and plantlet regeneration. *Hayati* 12:50-56.