

**EFEKTIVITAS FILTRAT KULTUR DAN IDENTIFIKASI EMBRIO SOMATIK DAN  
KECAMBAH KACANG TANAH KULTIVAR LOKAL BIMA  
PADA FILTRAT KULTUR CENDAWAN *Fusarium sp***

***EFFECTIVENESS OF CULTURE FILTRATE AND IDENTIFICATION OF LOCAL BIMA  
PEANUT EMBRYO SOMATIC AND SEEDLING TO MEDIUM CONTAINING  
CULTURE FILTRATE *Fusarium sp****

**Wahyu Astiko dan A. Farid Hemon,**

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mataram

Email: faridhemon\_1963@yahoo.com

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas filtrat kultur dan mengidentifikasi ketahanan embrio somatik (ES) dan kecambah kacang tanah Lokal Bima pada media yang mengandung filtrat kultur fusarium. Percobaan diawali dengan menginduksi ES variasi somaklonal pada medium MS yang mengandung Pikloram. Media MS ditambah dengan berbagai konsentrasi filtrat kultur (0, 10, 20, 30, dan 40%). Media MS juga dipersiapkan dengan menambah berbagai konsentrasi filtrat kultur pada media MS yang mengandung Pikloram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 1) filtrat kultur fusarium efektif menghambat pertumbuhan ES dan kecambah kacang tanah dan 2) ES varian somaklonal yang resisten terhadap filtrat kultur fusarium telah berhasil diregenerasikan menjadi planlet. Planlet-planlet ini selanjutnya diaklimatisasi pada kondisi rumah kaca untuk memproduksi biji generasi R1 dan R2. Biji-biji tersebut ditanam kembali untuk mengevaluasi ketahanannya terhadap infeksi fusarium.

Kata kunci: embrio somatik, filtrat kultur, fusarium

**ABSTRACT**

*This research was to know the effectiveness of culture filtrate and identification somatic embryo (SE) of Local Bima peanut to medium containing culture filtrate of fusarium. The experiment was initiated with induction of SE and somaclonal variation in MS medium containing Picloram. MS medium was added with different concentration of culture filtrate (0, 10, 20, 30, 40%). Other medium was also prepared with adding MS medium containing picloram with different concentration of culture filtrate. Results of the experiment showed that 1) culture filtrate of fusarium could be effective to inhibit SE growth and peanut seedling growth and 2) somatic embryos somaclonal variant that resistance to culture filtrate of fusarium have been obtained and regenerated become plantlets. These plantlets will be acclimated under green house condition to produce R1 and R2 seeds for peanut resistance evaluation to fusarium infection.*

*Key words: somatic embryo, cultur filtrate, fusarium*

**PENDAHULUAN**

Salah satu penyakit serius pada kacang tanah adalah penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium sp*. Serangan cendawan fusarium dapat menyebabkan pengurangan hasil sampai mencapai 70% (Hartman *et al.*, 1995). Cendawan ini merupakan cendawan tertular tanah (*soil borne*) dan mampu bertahan hidup cukup lama di dalam tanah dan berkolonisasi. Usaha tani kacang tanah yang biasa dilakukan di lahan kering menyebabkan sulitnya diterapkan sistem pengairan, sehingga inokulum cendawan sulit dihilangkan pada usaha tani lahan kering, dan inokulum selalu berada sepanjang musim tanam. Serangan patogen ini

dapat menyebabkan penurunan produksi dan gagal panen.

Penggunaan varietas resisten penyakit merupakan alternatif yang praktis dan ekonomis untuk meningkatkan daya hasil kacang tanah. Di Indonesia, tetua varietas kacang tanah yang tahan terhadap penyakit layu fusarium belum ada, sehingga persilangan konvensional dengan varietas-varietas lain yang berdaya hasil tinggi tidak dapat dilakukan. Oleh karena itu, penyediaan plasma nutfah kacang tanah yang memiliki sifat resisten terhadap penyakit layu fusarium menjadi sangat penting.

Upaya untuk mendapatkan plasma nutfah kacang tanah dapat dilakukan dengan meningkatkan variabilitas genetik tanaman melalui variasi

somaklonal dan diikuti dengan seleksi *in vitro* (Karp 1995 ; Matsumoto *et al.* 1995).

Metode kultur jaringan yang efektif untuk menginduksi embrio somatik (ES) serta media selektif untuk menginduksi kondisi selektif merupakan persyaratan untuk menghasilkan variasi somaklonal. Penapisan secara *in vitro* dapat digunakan untuk menyeleksi varian atau mutan yang resisten terhadap penyakit. Seleksi sel-sel mutan telah dilakukan pada tomat untuk resistensi terhadap penyakit layu bakteri (Bobisud *et al.* 1996), pisang resisten pada layu fusarium (Matsumoto *et al.* 1995), dan resistensi kacang tanah terhadap cendawan *Sclerotium rolfsii* (Yusnita *et al.* 2005 ; Hemon *et al.* 2006).

Kultur *in vitro* dan seleksi *in vitro* pada tingkat sel dan jaringan dengan agens penyeleksi diharapkan dapat menghasilkan karakter yang diinginkan (Jain 2001). Seleksi *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan filtrat kultur yang dikeluarkan oleh *Fusarium sp* sebagai agens penyeleksi untuk mengidentifikasi sel atau jaringan tanaman kacang tanah yang tidak mati oleh filtrat kultur (Matsumoto *et al.* 1995). Sel atau jaringan yang tidak mati karena filtrat kultur diharapkan akan berkembang menjadi tanaman yang resisten terhadap infeksi *Fusarium sp*. Untuk lebih meyakinkan penggunaan filtrat kultur sebagai agens penyeleksi, diperlukan pengujian efektivitas filtrat kultur fusarium terhadap pertumbuhan embrio somatik atau kecambah kacang tanah secara *in vitro*. Percobaan ini sangat perlu dilakukan agar agens penyeleksi filtrat kultur dapat mengidentifikasi sel atau jaringan mutan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas filtrat kultur dalam menekan pertumbuhan embrio somatik dan kecambah kacang tanah dan sebagai agens penyeleksi untuk mengidentifikasi ketahanan embrio somatik kacang tanah cv. Lokal Bima terhadap filtrat kultur cendawan *Fusarium sp*.

## METODE PENELITIAN

### Media filtrat kultur fusarium

Cendawan *Fusarium sp* diisolasi dari pertanaman kacang tanah di lapangan yang terinfeksi oleh cendawan *Fusarium sp*. Kultur cendawan *Fusarium sp* disiapkan dengan menanam 2 potongan agar ( $\pm 1 \times 1 \text{ cm}^2$ ) dari isolat *Fusarium sp* ke dalam media MS cair. Kultur fusarium dibiarkan tumbuh pada suhu kamar selama 14 hari. Kultur fusarium selanjutnya disterilkan dengan menggunakan autoklaf dan selanjutnya ekstrak filtrat kultur fusarium dipisahkan dari massa meselium dengan proses penyaringan.

Media selektif yang mengandung filtrat kultur fusarium (toksin metabolit) untuk kegiatan seleksi *in vitro* disiapkan dengan mencampur filtrat kultur konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% dengan media MS (Murashige dan Skoog, 1962), yang telah diperkaya dengan Pikloram.

### Induksi embrio somatik (ES) dari eksplan leaflet embrio aksis kacang tanah

Seleksi *in vitro* dilakukan pada jaringan tanaman kacang tanah yang bersifat embriogenik. Untuk itu sejumlah besar ES perlu disiapkan sebagai bahan yang diperlukan untuk kegiatan penelitian selanjutnya. Benih kacang tanah dikupas dari polong kacang tanah tua yang telah dipanen minimal dua bulan sebelumnya dan disterilkan dengan perendaman dalam larutan NaOCl (*Clorox* 25%) selama 20 menit.

Poros embrio diisolasi dari benih kacang tanah yang telah disterilkan dan digunakan sebagai sumber eksplan. Bagian leaflet dari poros embrio diisolasi dan digunakan sebagai eksplan untuk menginduksi pembentukan embrio somatik.

Media induksi ES terdiri atas media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962), vitamin B5 (Gamborg *et al.* 1968), gula sukrosa (30 g/L), agar-agar (8 g/L), dan Pikloram Media diatur dengan pH 5,6 sebelum disterilisasi. Setelah agar-agar terlarut dalam media dengan pemanasan, media dituangkan dalam botol kultur ukuran 150 mL masing-masing sebanyak 25 mL dan ditutup dengan plastik. Media yang telah disiapkan disterilkan dengan pemanasan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 20 menit.

Penanaman eksplan dilakukan dalam media induksi dengan 10 eksplan/ botol. Kultur yang ditanam diinkubasikan dalam ruang kultur dengan temperatur yang diatur konstan 24 C° siang dan malam. Ruangan tetap dijaga dalam kondisi gelap selama 24 jam.

Kalus embriogenik dan embrio somatik yang didapat selanjutnya diisolasi dan ditanam kembali dalam media induksi yang masih segar selama 3-4 periode sub-kultur. Penanaman kalus embriogenik dan embrio somatik selama beberapa periode sub-kultur dilakukan untuk menginduksi variasi somaklonal diantara populasi embrio somatik.

### Penentuan efektifitas filtrat kultur *Fusarium* dan identifikasi ES

Media selektif MS yang mengandung Pikloram dan filtrat kultur fusarium (10%, 20%, 30%, dan 40%) yang telah disiapkan sebelumnya ditanami dengan 5 eksplan kalus embriogen, masing-masing dengan 8-10 ES/botol. Efektivitas

filtrat kultur *Fusarium* dihitung berdasarkan kemampuan berbagai konsentrasi filtrat kultur untuk menghambat pertumbuhan ES.

Kultur eksplant kalus embriogen ditanam dalam media selektif dan diinkubasikan dalam ruangan bersuhu 26°C dalam kondisi gelap. Total eksplan yang dievaluasi dalam siklus I sebanyak minimal 300 kalus embriogen atau 2400 ES. Eksplan disub-kultur dua kali ke dalam media selektif filtrat kultur yang masih segar selama periode tiga bulan. Selama dalam media selektif diamati pertumbuhan ES pada berbagai konsentrasi filtrat kultur *Fusarium*. Kalus embriogen dan ES yang mampu tumbuh dalam media selektif diperbanyak dalam media MS yang mengandung Pikloram tanpa filtrat kultur *Fusarium*. Embrio somatik yang insensitif terhadap filtrat kultur dikecambahkan untuk membentuk planlet.

#### Penentuan efektifitas filtrat kultur *Fusarium* dan identifikasi kecambah kacang tanah

Metode lain untuk mengamati efektivitas filtrat kultur *Fusarium* yaitu dengan mengamati pertumbuhan kecambah kacang tanah pada media selektif MS (tanpa Pikloram) yang telah ditambahkan filtrat kultur *Fusarium*. Kecambah kacang tanah ditanam dalam media selektif filtrat kultur selama 1 bulan. Kecambah kacang tanah diamati pertumbuhannya dan dibandingkan dengan pertumbuhan kacang tanah pada media tanpa filtrat kultur.

#### Perkecambahan ES yang resisten hasil seleksi *in vitro*

Embrio somatik yang lolos dari tekanan media seleksi cekaman filtrat kultur perlu diregenerasikan menjadi tanaman kacang tanah lengkap. Proses regenerasi tanaman lengkap dari embrio somatik biasanya melalui beberapa tahapan : maturasi ES, penkecambahan ES dan tahapan regenerasi planlet (tanaman lengkap). Embrio somatik yang resisten filtrat kultur perlu ditanam dalam media MS dengan penambahan arang aktif (1 g/L) agar ES yang terbentuk berkembang sempurna (*mature*).

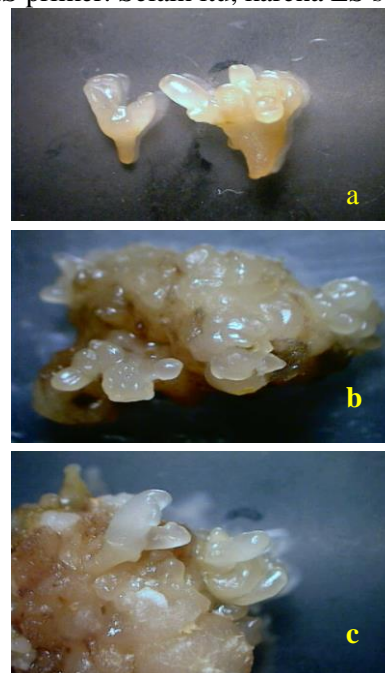
Embrio somatik hasil seleksi *in vitro* yang telah melewati tahapan maturasi dikecambahkan dalam media MS dengan penambahan BAP (22 µM). Penanaman ES dalam media penkecambahan dilakukan sampai terbentuknya tunas yang berkembang dari embrio somatik. Hal ini biasanya memerlukan waktu 1-2 bulan dalam media penkecambahan (tergantung pada perkembangan embrio somatik yang dikecambahkan).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengembangan populasi varian somaklonal ES kacang tanah cv.Lokal Bima

Embriogenesis kacang tanah dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan leaflet dari embrio biji kacang tanah yang sudah matang, yang ditanam pada media MS dengan penambahan auxin pikloram (16-20 µM). Induksi embrio somatik ini sebelumnya telah dilakukan oleh Edy (1998) dan penelitian Sinaga (1998) menunjukkan bahwa kacang tanah hasil kultur *in vitro* tersebut menghasilkan variasi fenotipe tanaman kacang tanah. Menurut Adkins *et al.* (1995) bahwa kondisi *in vitro* mampu menginduksi terjadinya mutasi pada sel/jaringan tanaman yang dikultur, seleksi *in vitro* dapat digunakan untuk menapis sel/jaringan varian.

Pembentukan kalus sudah mulai terbentuk pada umur kultur 4 minggu setelah tanam. Sub kultur dilakukan terus menerus setiap 4 minggu sampai terbentuk kalus embriogenik primer. Pada bagian kalus muncul ES berwarna putih cerah, dan mulai tumbuh pada umur kalus 2 x 4 minggu (Gambar 1). Embrio somatik primer ini diperlukan untuk pembentukan embrio somatik sekunder. Induksi ES sekunder merupakan bahan tanaman yang sangat efektif untuk kegiatan induksi variasi somaklonal dan seleksi *in vitro*. Dengan ES sekunder, regenerasi sejumlah besar populasi ES akan lebih mudah dilakukan dibandingkan dengan ES primer. Selain itu, karena ES sekunder



Gambar 1. Induksi kalus embriogenik. (a) pembentukan kalus (b) embrio somatik primer, dan (c) embrio somatik sekunder

yang telah lebih lama berada dalam kultur *in vitro* biasanya juga akan lebih banyak mengalami variasi somaklonal dibandingkan dengan ES primer.

Umur embrio somatik sekunder yang siap digunakan untuk bahan seleksi *in vitro* yaitu 6 bulan. Diduga ES ini telah menghasilkan variasi genetik dan diharapkan gen pengendali sifat resisten terhadap layu fusarium ada pada populasi ES sekunder. Populasi embrio somatik sekunder yang telah membentuk variasi genetik (variasi somaklonal) diperlukan untuk proses seleksi *in vitro* dengan media selektif yang mengandung filtrat kultur *Fusarium* sp.

### Penentuan efektifitas filtrat kultur *Fusarium* dan identifikasi ES

Sebelum digunakan sebagai agens penyeleksi, media filtrat kultur diuji efektivitasnya terhadap pertumbuhan ES. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat kultur sampai 40%, semakin menekan pertumbuhan ES terutama jumlah ES per eksplan pada pengamatan 1 bulan dalam media seleksi (Tabel 1).

Dari Tabel 1 terlihat bahwa konsentrasi filtrat kultur mampu menekan jumlah eksplan yang memproduksi ES dan jumlah ES per eksplan. Persentase penurunan ES per eksplan mencapai 35.5% ketika media ditambahkan filtrat kultur 10% dan mencapai 53.4% ketika ditambahkan sampai 40%. Cendawan fusarium selama infeksi tanaman akan mengeluarkan asam fusarat (Thrane 2001). Penggunaan filtrat kultur dari fusarium ini diduga mampu menghambat perkembangan ES karena telah mengandung asam fusarat. Sekresi asam fusarat diduga dapat meningkatkan virulensi cendawan. Beberapa enzim cendawan yang dikeluarkan selama invasi jaringan tanaman (seperti poligalakturonase) dapat berfungsi secara maksimal ketika pH rendah. Asam fusarat dapat meningkatkan virulensi dengan mengubah apoplastik pH ke nilai yang lebih cocok untuk enzim-enzim yang mendegradasi dinding sel tanaman (Bateman & Beer 1965). Selain itu, fusarat juga dapat secara langsung menjadi toksin pada tanaman inang, karena keasaman dapat menyebabkan tanaman menjadi lemah (Noyes & Hancock 1981). Pergantian  $Ca^{2+}$  pada dinding sel oleh anion fusarat menyebabkan fungsi  $Ca^{2+}$  tergantung pada respons pertahanan dan dapat melemahkan fungsi dinding sel tanaman (Bateman & Beer 1965). Dari penjelasan Tabel 1 dapat diputuskan untuk menggunakan filtrat kultur 30% sebagai agens penyeleksi untuk ketahanan tanaman kacang tanah terhadap penyakit layu fusarium.

### Seleksi *in vitro* kalus embriogenik terhadap filtrat kultur fusarium

Kalus embriogenik yang mengandung embrio somatik sekunder diseleksi dalam media yang mengandung filtrat kultur 30% untuk simulasi infeksi fusarium. Hasil seleksi *in vitro* menunjukkan bahwa terdapat embrio somatik yang insensitif terhadap media selektif filtrat kultur. Di bawah ini disajikan perkembangan embrio somatik selama dalam media filtrat kultur.

Setelah tersedianya embrio somatik sekunder dan media selektif filtrat kultur fusarium yang efektif, maka kegiatan selanjutnya adalah melakukan seleksi *in vitro* pada embrio somatik sekunder. Hasil pengamatan pertumbuhan ES menunjukkan bahwa semakin lama ES berada dalam media selektif menyebabkan rendahnya persentase kalus yang hidup, persentase eksplant yang memproduksi ES, jumlah ES per eksplant, dan meningkatnya persentase penurunan jumlah ES /eksplan (Tabel 2).

Media selektif filtrat kultur fusarium 30% menghambat pertumbuhan embrio somatik. Embrio somatik yang sensitif pada filtrat kultur akan mati yang ditandai dengan kalus yang berwarna hitam kecoklatan. Embrio somatik yang telah mengalami proses seleksi kemungkinan muncul sel atau jaringan varian yang resisten selama seleksi, yang ditandai dengan tumbuhnya ES diantara sel/jaringan yang mati yang berwarna putih kekuningan (Gambar 2). Sel atau jaringan varian yang resisten tersebut akan mengalami proliferasi sehingga pada akhir seleksi akan menghasilkan sel/jaringan klonal yang resisten terhadap infeksi fusarium.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi filtrat kultur terhadap pertumbuhan embrio somatik

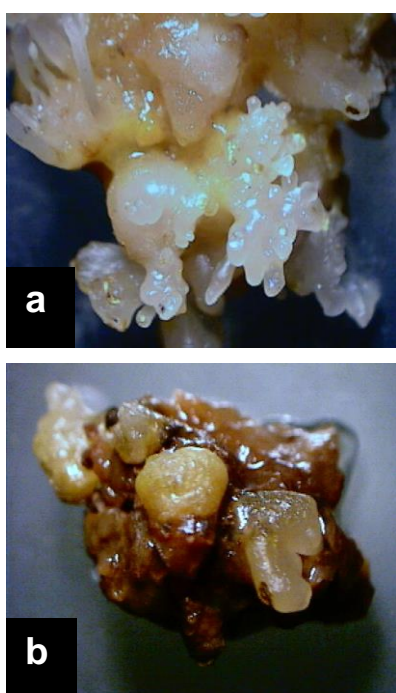
Konsentrasi Filtrat Kultur (%)	% eksplan yang memproduksi ES	Jumlah ES per eksplan	% penurunan jumlah ES/eksplan*)
0	100	14.6	0.0
10	86.8	10.5	35.5
20	84.7	8.4	48.5
30	75.7	7.5	53.6
40	65.4	5.8	53.4

\*) Penurunan jumlah ES dihitung dengan persamaan =  $[(X_0 \cdot Y_0 - X_t \cdot Y_t) / X_0 \cdot Y_0] \cdot 100\%$ .  $X_0$  dan  $Y_0$  adalah persentase eksplan yang ada ES dan jumlah ES per eksplan (kontrol = tanpa media selektif) sedangkan  $X_t$  dan  $Y_t$  adalah dalam media selektif yang mengandung filtrat kultur

Tabel 2. Respons pertumbuhan embrio somatik dalam media selektif yang mengandung filtrat kultur

Waktu Seleksi	Pertumbuhan Embrio Somatik (ES)				
	% eksplan hidup	% eksplan mati	% eksplan yang memproduksi ES	Jumlah ES per eksplan	% penurunan jumlah ES /eksplan *)
Setelah 1 bulan	86,7	13,3	75,6	6,7	86,4
Setelah 2 bulan	75,6	24,4	54,8	3,2	93,2
Setelah 3 bulan	58,6	41,4	25,5	2,4	96,6

\*) Penurunan jumlah ES dihitung dengan persamaan =  $[(X_0 \cdot Y_0 - X_t \cdot Y_t) / X_0 \cdot Y_0] \cdot 100\%$ .  $X_0$  dan  $Y_0$  adalah persentase eksplan yang ada ES dan jumlah ES per eksplan (kontrol = tanpa media selektif) sedangkan  $X_t$  dan  $Y_t$  adalah dalam media selektif yang mengandung filtrat kultur 30%



Gambar 2. Perkembangan ES. (a) Pertumbuhan ES pada media MS tanpa filtrat kultur dan (b) Pertumbuhan ES pada media filtrat kultur

Dari Tabel 2 terlihat bahwa pertumbuhan ES semakin menurun dengan semakin lamanya ES dalam media selektif. Embrio somatik yang insensitif pada media selektif setelah tiga bulan diduga merupakan mutan.

Kalus embriogenik yang telah berada dalam media seleksi in vitro dapat menyebabkan akumulasi sel/jaringan mutan yang resisten terhadap cekaman filtrat kultur *fusarium*. Sel/jaringan varian yang resisten selama periode seleksi akan mengalami proliferasi sehingga akan diperoleh ES yang resisten terhadap filtrat kultur. Menurut Yusnita *et al.* (2005) ES insensitif terhadap filtrat kultur *S. rolfsii* mampu melakukan mekanisme detoksifikasi terhadap asam oksalat. Embrio somatik anggur dapat toleran pada media selektif yang mengandung filtrat kultur *Elsinoe ampelina* karena adanya induksi enzim detoksifikasi selama seleksi in vitro (Kulsova *et al.* 1997).

#### Evaluasi ketahanan beberapa kultivar kacang tanah terhadap filtrat kultur fusarium

Hasil penelitian menunjukkan bahwa masing-masing kultivar mempunyai respons yang berbeda terhadap filtrat kultur fusarium 30% (Tabel 3).

Tabel 3. Pertumbuhan dan persentase daun layu bibit kacang tanah yang ditanam secara in vitro pada media filtrat kultur fusarium

Cultivar	Pertumbuhan bibit				Fenotipe	
	Tinggi (cm)	Jumlah daun (helai)	Berat kering tanaman (g)	Berat kering akar (g)		
Sima	8.35 b	6.40 c	0.32 c	0.20 a	73,4 *)	R
Zebra	9.25 a	6.35 c	0.37 b	0.13 b	78.6	R
Lokal Bima	9.34 a	7.25 b	0.41 ab	0.11 b	76.8	R
Gajah	8.30 b	8.40 a	0.45 a	0.14 b	65.6	AR
Landak	8.20 b	6.70 bc	0.44 a	0.13 b	67.4	AR
Jerapah	9.07 a	6.25 c	0.41 ab	0.11 b	76.8	R
Pelanduk	8.08 b	4.25 d	0.38 ab	0.10 b	80.6	R
Macan	8.67 b	6.38 c	0.48 a	0.11 b	76.7	R
Biawak	8.83 ab	7.17 b	0.43 a	0.08 ab	75.4	R
Turangga	8.75 b	6.67 bc	0.37 b	0.20 a	76.8	R
Tupai	4.50 d	2.30 e	0,22 d	0.03 c	96.7	R
Singa	7.00 c	4.00 d	0.30 c	0.20 a	84.5	R

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan 5%.

\*)Persentase daun layu : 0-20% = tahan (T); 21-40% = Agak tahan (AT); 41-70% = agak rentan (AR); 71-100% = rentan (R). Data pertumbuhan cultivar pada media tanpa filtrat kultur (kontrol) tidak ditampilkan.

Diamati pada persentase daun layu, ternyata semua cultivar kacang tanah yang dievaluasi menunjukkan fenotipe agak rentan sampai rentan. Tidak ada satupun cultivar yang menunjukkan agak tahan atau tahan. Dari Tabel 3 terlihat juga bahwa filtrat kultur mampu menekan pertumbuhan bibit kacang tanah ketika dibandingkan dengan tanaman kontrol. Pada Gambar 3 terlihat perbedaan pertumbuhan akar bibit yang ditanam pada media filtrat kultur dengan bibit yang ditanam pada media tanpa filtrat kultur.



Gambar 3. Pertumbuhan akar bibit kacang tanah pada media tanpa filtrat kultur (panah kiri) dan pada media filtrat kultur (kanan)

Pengamatan pertumbuhan akar terlihat bahwa tanaman yang ditumbuhkan pada media yang mengandung filtrat kultur menghasilkan akar yang kerdil dan sulit berkembang dibandingkan dengan tanaman kontrol tanpa filtrat kultur (Gambar 3). Ini menunjukkan bahwa pemberian filtrat kultur 30%

pada media MS telah mampu menghambat pertumbuhan bibit kacang tanah secara in vitro.

#### Maturasi dan perkecambahan ES insensitif

Embrio somatik yang insensitif hasil seleksi pada media selektif filtrat kultur fusarium dikulturkan dalam media maturasi MS dengan penambahan 2 g/l arang aktif. Embrio somatik yang telah masak ditandai dengan terbentuknya struktur embrio lengkap dengan kotiledon dan radikula. Embrio somatik yang telah masak dikecambahkan terus dalam media perkecambahan MS dengan penambahan 2 g/l arang aktif. Setelah dikecambahkan selama satu bulan dalam media perkecambahan, ES yang telah masak mengalami pemanjangan epikotil dan lebih kurang tiga bulan kecambah mulai membentuk akar dan daun primer. Kecambah yang ditanam berkembang menjadi planlet, yang ditandai dengan semakin memanjangnya epikotil, terbentuknya akar dan daun baru. Setelah terbentuk sistem perakaran dan daun yang baik, planlet diaklimatisasi pada media campuran tanah, pasir dan kompos dan disungkup dengan botol untuk menjaga kelembaban dan selanjutnya ditanam di rumah kaca untuk memproduksi biji generasi R1 dan R2. Biji generasi R1 dan R2 inilah yang akan digunakan untuk mempelajari keragaman morfologi dan agronomis yang mungkin muncul dan responsnya terhadap infeksi *Fusarium* sp.

## KESIMPULAN

1. Kalus embriogenik kacang tanah cv. Lokal Bima dapat diinduksi dengan menggunakan eksplan leaflet embrio kacang tanah yang dikulturkan secara terus menerus dalam media MS ditambah pikloram
2. Filtrat kultur fusarium 30% efektif digunakan sebagai agens penyeleksi untuk mengidentifikasi embrio somatik dan kecambah kacang tanah untuk mendapatkan tanaman kacang tanah cv. Lokal Bima yang resisten terhadap penyakit layu fusarium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adkins SW, Kunanuvatshidah R, Godwin ID. 1995. Somaclonal variation in rice drought tolerance and other agronomic characters. *Aust J Bot* 43:201-209.
- Bateman, D.F. and S.V. Beer, 1965. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathol.* 55:204-211.
- Bobisud CA, Martin SP, Sekioka TT. 1996. Field testing bacterial wilt-resitant tomato somaclones. *Journal of the Amer. Soc. Horti. Sci.*121:384-387.
- Edy A. 1998. Induksi embrio somatik dan eksplan poros embrio pada beberapa kultivar kacang tanah (*Arachis hipogaea* L.) secara in vitro. Thesis Magister Program Pasca Sarjana, IPB Bogor.
- Hartman GL., Noel GR., Gray LE. 1995. Occurance of soybean sudden death syndrome in east-central Illinois and associated yield losses. *Plant Dis.* 79:314-318.
- Hemon AF. 2006. Efektivitas seleksi in vitro berulang untuk mendapatkan plasma nutfah kacang tanah toleran cekaman kekeringan dan resisten terhadap penyakit busuk batang *Sclerotium rolfsii*. Disertasi Doktor Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Jain SM. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica* 118 :153-156.
- Karp A. 1995. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. Kluwer Acad. Publ. The Netherlands.
- Matsumoto K, Barbosa ML, Souza LAC, Teixeira JB. 1995. Race I fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. *Euphytica* 84:67-71.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-493.
- Noyes RD, Hancock JG. 1981. Role of oxalic acid in the sclerotinia wilts of sunflower. *Physiol. Plant Pathol.* 18:123-132.
- Kuksova VB, Piven NM, Gleba YY. 1997. Somaclonal variation and in vitro induced mutagenesis in grapevine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 49:17-27.
- Sinaga S. 1998. Variasi somaklonal pada kacang tanah kultivar Gajah hasil kultur jaringan : Evaluasi pada generasi R0. Thesis Magister Program Pasca Sarjana, IPB, Bogor
- Thrane U. 2001. Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites. In : Sumerell BA, Leslie JF, Backhouse D, Bryden WL, Burgess LW, (Ed.) *Fusarium* Paul E. Nelson Memorial Symposium. Minnesota : APS Press. P 29-49.
- Yusnita, Widodo, Sudarsono. 2005. In vitro selection of peanut somatic embryos on medium containing cultur filtrate of *Sclerotium rolfsii* and plantlet regeneration. *Hayati* 12:50-56.