



Pengaruh Perlakuan PEG (*Polyethylene Glycol*) Pada Media Kultur *In Vitro* Terhadap Anatomi Akar, Kandungan Katalase dan Akumulasi Malondialdehid Kedelai Varietas Deja 2 (*Glycine max* cv. “deja 2”)

The Effect of PEG (*Polyethylene Glycol*) Supplemented Into *In Vitro* Culture Media on Root Anatomy, Catalase Activity and Lipid Peroxide Accumulation of Seedlings Soybean Variety Deja 2 (*Glycine max* cv. “Deja 2”)

Mohammad Fadhil Arif^{1*}, Suyitno Aloysius¹

¹Universitas Negeri Yogyakarta

Jl. Colombo Yogyakarta No.1, Karang Malang, Caturtunggal, Kec. Depok, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

Email: mohammadfadhil.2019@student.uny.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

This study aims to determine the response of soybean variety Deja 2 under drought stress conditions with parameters of accumulation of lipid peroxide (malondialdehyde = MDA), content of catalase (CAT) and root anatomy structure. This research was carried out by means of *in vitro* seed culture using ½ MS medium (Murashige & Skoog) treated with PEG (*Polyethylene Glycol*) 6000. The independent variables in this study were PEG concentration which included 0%; 2.5%; 5%; and 7.5%. The dependent variables were the quantity of MDA accumulation, CAT content and the anatomical characteristics of Deja 2 soybean roots. The controlled variables included the type and method of using PEG, environmental conditions, and the characteristics of the seeds used. The MDA test used Gechev's method with 532 nm and 600 nm spectrophotometer readings. Catalase testing was carried out using the Aebi and Lester method with a 240 nm spectrophotometer reading. The results showed that MDA accumulation increased with increasing PEG concentration up to 5% concentration, and decreased at 7.5% concentration. CAT content also increased even up to 7.5% PEG. PEG treatment have no significant effect on root area, stele length and cortex thickness but on the thickness of the epidermal structure.

Keywords: catalase, deja 2, *in vitro*, malondialdehyde, polyethylene glycol

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon kedelai varietas Deja 2 pada kondisi cekaman kekeringan dengan parameter akumulasi malondialdehid (MDA), kandungan katalase (CAT) dan struktur anatomi akar. Penelitian ini dilakukan dengan eksperimen melalui kultur *in vitro* biji menggunakan media ½ MS (*Murashige & Skoog*) yang diberi PEG (*Polyethylene Glycol*) 6000. Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi PEG meliputi 0%; 2,5%; 5%; dan 7,5%. Variabel terikatnya adalah kuantitas akumulasi MDA, kandungan CAT dan karakter anatomis akar kedelai Deja 2. Variabel terkontrol meliputi jenis dan cara penggunaan PEG, kondisi lingkungan, dan karakteristik benih yang digunakan. Pengujian MDA menggunakan metode dari Gechev dengan pembacaan spektrofotometer 532 nm dan 600 nm. Pengujian kandungan katalase dilakukan dengan metode Aebi dan Lester dengan pembacaan spektrofotometer 240 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa akumulasi MDA meningkat seiring meningkatnya konsentrasi PEG sampai konsentrasi 5%, dan menurun pada konsentrasi 7,5%. Kandungan CAT juga meningkat bahkan sampai pada PEG 7,5%. Perlakuan PEG tidak memberikan pengaruh signifikan pada luas akar, panjang stele dan tebal korteks melainkan pada tebal struktur epidermisnya.

Kata kunci: katalase, deja 2, *in vitro*, malondialdehid, polyethylene glycol

Diterima: 27 Mei 2023, Direvisi: 1 Juli 2023, Disetujui: 16 November 2023



Pendahuluan

Dalam memenuhi kebutuhan pasar untuk kedelai salah satu usaha yang dapat dilakukan adalah ekstensifikasi pertanian di lahan marginal. Namun metode ekstensifikasi memiliki kelemahan, yaitu tanaman tidak selalu berproduksi maksimal akibat cekaman abiotik lahan. Pemilihan varietas yang toleran dapat menjadi solusi dalam budidaya di lahan marginal (Ulinuha & Rohman, 2020). Diketahui varietas Dering 1, Dering 2, dan Dering 3 yang dapat menjadi solusi dalam mengatasi salah satu bentuk cekaman, yaitu kekeringan. Namun, dengan adanya keberadaan varietas yang sudah ada, bukan berarti pemasalahan terhadap kekeringan sudah selesai. Masih diperlukan pemuliaan varietas tahan kekeringan lebih lanjut untuk dapat beradaptasi pada cekaman yang semakin kuat sebagai akibat dari perubahan iklim sehingga dapat tetap tumbuh secara optimal. Pemuliaan ini juga diperlukan untuk dapat memanfaatkan lahan marginal yang masih belum ditoleransi oleh varietas yang ada sebagai lahan produktif (Suhartina dan Kuswantoro, 2011). Salah satu jenis cekaman pada lahan marginal adalah kekeringan yang diakibatkan oleh minimnya pengairan.

Kekeringan diketahui dapat merusak keseimbangan turgor pada sel, sistem persinyalan dan kerusakan langsung pada sel seperti pada *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Ahmad, 2014). ROS adalah salah satu produk sampingan dari fotosintesis. keberadaan ROS biasanya dikendalikan oleh enzim antioksidan seperti *catalase* (CAT), *askorbat peroksidase* (APX), dan *glutathione peroksidase* (GPX). Pada kondisi kekeringan, sintesis ROS mengalami peningkatan dan dapat merusak sel secara masif. Tingkat kerusakan ini juga dapat tampak pada kuantitas peroksida yang merupakan bentuk reaksi dari lipid dengan ROS.

Kerusakan oleh meningkatnya ROS ini dapat terjadi pada keseluruhan anatomi tanaman. Bagian yang diketahui dapat menampilkan perubahan akibat kekeringan adalah akar (Rosawanti, 2015). Perubahan pada akar terjadi lebih nyata, disebabkan akar merupakan bagian yang aktif membelah walaupun pada periode cekaman, dan merupakan jalur transfer air dan hara. Salah

satu tanaman yang terpengaruh pada kekeringan adalah kedelai. Untuk itu, seleksi kedelai toleran kekeringan penting dilakukan. Ada banyak benih kedelai unggul di pasaran namun belum diketahui tingkat toleransinya terhadap kekeringan, salah satunya adalah kultivar Deja 2. Untuk itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji tingkat toleransi kultivar Deja-2 terhadap kekeringan secara *in vitro*. Kondisi cekaman kekeringan disimulasikan menggunakan *polyethylene glycol* (PEG) 6000 pada konsentrasi 0%, 2,5%, 5%, dan 7,5% dengan media *Murashige & Skoog* (MS).

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Laboratorium Kultur Jaringan FMIPA UNY, Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY, Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tanaman (UGM), selama Agustus – November 2022.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu botol jar, timbangan analitis, sarung tangan, tisu, masker, pinset, skalpel, penggaris, gelas beaker, gelas penutup, gelas ukur, gelas petri, pipet kecil, pipet besar, jarum preparat, botol kimia, botol fiksasi, pensil, pompa penghisap, mikroskop, meja pemanasan, set mikrometri, mikrotom, silet, tempat pewarnaan, botol balsam, tabung eppendorf, *magnetic stirrer* PMC, sentrifuge BioRad, *cuvete* GMBH+ spektrofotometer ThermoScientific Genesys 10s UV-Vis dan *laminar air flow* shimadzu SCB-1000A

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *murashige & skoog*, alkohol 70%, *aquadest*, etanol 96%, klorox, aluminium foil, plastik wrap, *polyethylene glycol* (PEG), *pH stick*, NaOH, HCl, agar, sukrosa, alkohol 70%, 80%, 95%, 100%, *xilol*, *parafin*, asam asetat glasial, gliserin, *albumin*, *kanada balsam*, *thiobarbituric acid* (TBA), *trichloroacetic acid* (TCA), *buffer* potassium fosfat (pH=7,0), dan H₂O₂.

Sterilisasi dan Penanaman Biji Kedelai

Penelitian diawali dengan persiapan alat bahan, pembuatan media. Biji yang digunakan

adalah Varietas Deja 2 kelas *Foundation Seed* (FS) produksi dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi). Pada tahap persiapan, dilakukan sterilisasi biji dengan pencucian biji pada deterjen selama 5 menit, kemudian dilakukan pembilasan dua kali dengan akuades dan perendaman klorox 20 % selama 10 menit. Selanjutnya, kedelai dibilas kembali sebanyak dua kali dan dilanjutkan perendaman pada etanol 70% selama 5 menit. Kedelai kemudian dibilas Kembali sebanyak satu kali lalu ditiriskan/dikeringkan pada kertas saring steril.

Media tanam dibuat dengan media MS 4,43 gram per liter, 3% sukrosa, 0,7% Agar, dan PEG sesuai perlakuan (0%, 2,5%, 5%, 7,5%). Pembuatan media diawali dengan melarutkan PEG, sukrosa dan MS dengan akuades pada *magnetic stirrer*. Setelah homogen, diuji pH nya apabila tidak sesuai kadar yang ditentukan (5,8) ditambahkan NaOH ataupun HCl. Selanjutnya, larutan ditambahkan agar dan akuades hingga takaran yang diperlukan kemudian dituangkan pada botol jam dan di sterilisasi selama 15 menit. Adapun pada kultur biji, dilakukan secara aseptif di LAF (*Laminar Air Flow*), masing-masing sebanyak 5 biji per botol, kemudian botol ditutup, diwrap, dilabeli, dan diletakkan pada rak kultur.

Analisis Morfologi dan Anatomi Kedelai

Analisis morfologi dilakukan dengan memotong ± 10 cm ujung akar yang kemudian diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 40 kali. Sedangkan analisis anatomi dilakukan dengan menggunakan metode *embedding* dengan prosedur seperti yang dilakukan Sutikno (2018). Preparat difiksasi dengan larutan FAA (*Formalin Aseto Alkohol*) selama 24 jam, dihidrasi dengan alkohol dan *xilol* secara bertingkat, diparafinisasi, kemudian diiris dengan *rotary microtome* dengan ketebalan 6-12 mikrometer, diwarnai dengan safranin, dan ditutup dengan kaca penutup yang dibubuhi kanada balsam. Preparat kemudian diamati dengan NIS (*Nikon Imaging System*) dan dianalisis dengan *Software Image J* dengan perbesaran lensa 40 kali.

Pengujian Malondialdehid (MDA)

Pengujian MDA dilakukan dengan metode Gechev (2013). Pengujian diawali dengan menggerus 50 mg akar dengan

ditambah 1 ml 0,25% *thiobarbituric acid* (TBA) yang dilarutkan pada 10% *trichloroacetic acid* (TCA). Larutan kemudian dimasukkan dalam eppendorf dan dipanaskan pada suhu 85°C selama 30 menit, lalu dinginkan pada es. Larutan disentrifuge pada kecepatan maksimal 10.000 Rpm selama 10 menit. Larutan kemudian ukur pada spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang 532 nm dan 600 nm.

Pengujian Katalase (CAT)

Pengujian kandungan CAT dilakukan menggunakan metode Aebi dan Lester (1984). Prosedur diawali dengan membuat larutan ekstrak menggunakan mortar yang kemudian diencerkan 200 kali dalam 50mM buffer potassium fosfat (pH=7,0). Sebanyak 2 ml larutan dicampurkan 1 ml H₂O₂ 10mM. Sebagai blankonya adalah larutan tanpa ekstrak. Absorbansi diukur dengan panjang gelombang 240 nm.

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif pada MDA dan CAT, yang diolah menggunakan software SPSS 26 menggunakan uji *One Way ANOVA* dan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Sedangkan anatomis akar dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan penjabaran secara visual dan pengukuran *software* untuk melihat perbedaan struktur anatomi akar tanaman perlakuan dengan tanaman kontrol.

Hasil dan Pembahasan

Ketersediaan air merupakan faktor yang sangat diperlukan pada proses metabolisme (Schneider et al, 2020), khususnya pada pertumbuhan dan perkembangan sel (Yadav et al., 2016). Pada penelitian ini dilakukan perlakuan stres air menggunakan simulasi PEG 6000 yang bersifat mengikat, dan menurunkan potensial air. Keberadaan stres ini kemudian dapat memacu akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Rejeb et al., 2014), dan merusak sel utamanya struktur membran (Shahid et al.,2014).

Ketika terjadi kerusakan, tanaman tidak akan membiarkan kerusakan terjadi begitu saja, tetapi melakukan respon untuk mengatasi kerusakan tersebut. Contoh perilaku tanaman

melawan kerusakan akibat peroksida lipid dengan antioksidan ditemukan oleh Mittler (2017) yakni meningkatkan produksi katalase, yang merupakan jenis antioksidan untuk mengatasi salah satu bentuk ROS, yaitu H₂O₂. Pada penelitian ini, cekaman kekeringan dengan konsentrasi 0%; 2,5%; 5%; dan 7,5% PEG 6000 mengakibatkan kenaikan pada kandungan katalase secara keseluruhan walaupun tidak signifikan.

Tampak pada analisis lanjutan DMRT, PEG mengakibatkan pergeseran rata-rata yang semakin tinggi pada setiap pergeseran konsentrasi, dan berbeda nyata pada konsentrasi 0% ke 2,5%, namun pada konsentrasi 5% dan 7% kenaikannya tidak berbeda nyata. Kenaikan ini menunjukkan bahwa terjadi aktivitas katalase pada tanaman akibat kenaikan konsentrasi PEG dari 0% ke 2,5%, dan kenaikan konsentrasi katalase ini juga menggambarkan perubahan dari bentuk sistem antioksidan yang kurang aktif menjadi aktif.

Data yang tersedia merupakan akumulasi dari katalase. Jika dikorelasikan dengan katalase, kenaikan akumulasi menggambarkan semakin tolerannya tanaman terhadap cekaman. Penggunaan PEG pada metode *in vitro* jika dibandingkan dengan menggunakan metode larutan memiliki tekanan lebih tinggi. Mexal (1975) menyatakan

bahwa tekanan 10% (0,1) memiliki tekanan sebesar -0,19 Mpa. Menurut Mehmandar et al. (2023), PEG 1,5% saja sudah memberikan tekanan -1,2 Mpa. Jika lipatkan akan diperoleh bahwa pada PEG 2,5%, 5,0% dan 7,5% secara berturut-turut akan memberikan tekanan -2,3 Mpa; 5,05 Mpa; dan -7,8 Mpa.

Pengaruh penggunaan PEG untuk uji daya toleransi kekeringan pernah dilakukan pada banyak varietas kedelai terdahulu. Pada Varietas kedelai Tambora dan Burangrang, PEG menurunkan aktifitasnya mulai pada -0,03 Mpa. Sedangkan pada varietas daeng dan tidar yang dikenal toleran kekeringan, PEG belum memberi pengaruh pada tekanan -0,03 Mpa, dan efeknya terlihat meningkat drastis pada -0,19 Mpa. Jika dikorelasikan, respon deja 2 yang mengalami peningkatan katalase pada -2,3 Mpa adalah selaras dengan respon varietas kedelai toleran. Berdasarkan responnya terhadap PEG ini, varietas Deja 2 dapat dikategorikan cukup toleran.

Malondialdehid (MDA) adalah salah satu hasil peroksida lipid (Ayala, 2014). Karena kemudahan dalam pengukurannya, MDA biasa digunakan sebagai penanda biologis (*biomarker*) stres oksidatif (Dimitrio, 2017). Kuantitas tinggi dari molekul ini, menandakan seberapa tingginya cekaman dan besaran adaptasi kedelai pada kekeringan.

Tabel 1. Hasil Uji DMRT Kadar Katalase (nmol.g⁻¹)

No	Perlakuan	Rata-Rata
1	0%	3880±1038,54 ^a
2	2,50%	6467,5±1308,02 ^b
3	5%	6667,5±2003,86 ^b
4	7,50%	7145±2703,16 ^b

Tabel 2. Hasil Uji DMRT Kadar Malondialdehid (nmol.g⁻¹)

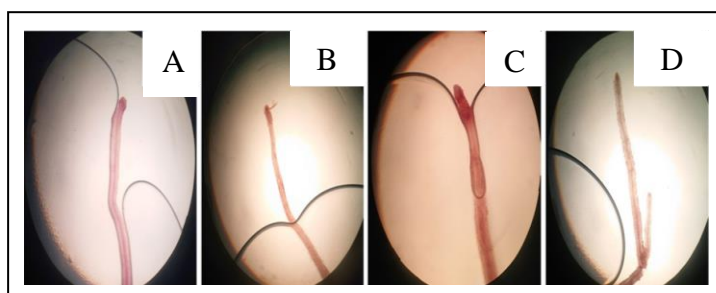
No	Perlakuan	Rata-Rata
1	0%	16670,966±3995,21 ^a
2	2,5%	24696,776±3252,277 ^{ab}
3	5%	23122,582±8838,66 ^b
4	7,5%	29909,678±5871,61 ^{ab}

Dari hasil analisis DMRT, ditemukan fakta bahwa pada perlakuan PEG 5%, kandungan MDA secara signifikan meningkat namun menurun pada PEG 7,5. Penurunan kandungan MDA pada PEG 7,5% ini dapat menggambarkan bahwa kecambah kedelai Deja 2 justru berada dalam kondisi yang sangat tercekam. Peningkatan kandungan MDA sampai pada PEG 5% kemungkinan sebagai bentuk respon hormesis. Pola hormesis ini merupakan fenomena dimana cekaman dengan konsentrasi rendah mengakibatkan *trigger* positif, sebaliknya pada konsentrasi tinggi mengakibatkan *trigger* negatif (Jalal, 2021).

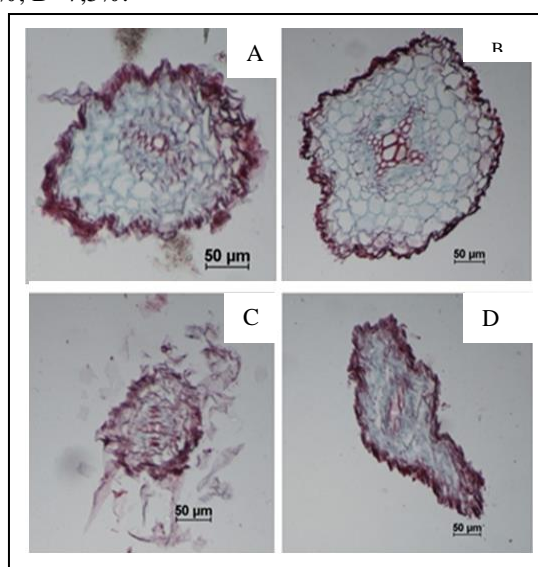
Adapun kenaikan konsentrasi MDA pada konsentrasi dibawah 5% dapat diartikan sebagai besaran kerusakan oksidatif yang terjadi pada setiap tingkat perlakuan. Semakin besar konsentrasi dari MDA, semakin besar kerusakan yang terjadi (Alché, 2019). Respon kenaikan konsentrasi MDA juga ditemukan

pada varietas kedelai lain, yakni BU 1, Bina 1, Galarsum dan BARI 5 (Sarkar et al., 2016). Pada varietas lokal, fakta ini terjadi pada kedelai Grobogan, Wilis, Anjasmoro, Burangrang, Detam-1, Argomulyo, Kaba, dan Tanggamus (Warid, 2014).

Perubahan yang terjadi pada stres kekeringan tidak hanya terjadi pada proses fisiologis dan biokemis. Untuk mengatasi kekeringan, tanaman juga melakukan adaptasi atau perubahan lain (Suharti et al., 2017). Pada kondisi cekaman, perubahan yang dapat terjadi pada tanaman adalah pada struktur anatomi (Rewald et al. 2013), dan variasi genetik akar untuk mencapai lapisan tanah yang lebih dalam guna mendapatkan air secara maksimal (Comas et al., 2013). Perubahan ukuran dan struktur akar juga dapat dilakukan sebagai tanggapan atas persaingan sumber daya air dalam populasi tanaman (Siregar et al., 2021).



Gambar 2. Morfologi akar deca 2 pada perbesaran 40x; A-D merupakan tingkat konsentrasi PEG, dengan A= 0%, B=2,5%, C= 5%, D=7,5%.



Gambar 1. Anatomi Akar pada perbesaran 40x; A-D merupakan tingkat konsentrasi PEG, dengan A= 0%, B=2,5%, C= 5%, D=7,5%.

Tabel 3. Karakteristik Luasan Potongan Anatomis

Parameter	0%		2.5%		5%		7.5%	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
DS	0,054	0,102	0,118	0,165	0,03	0,078	0,024	0,101
K	0,017	0,085	0,029	0,096	0,006	0,027	0,023	0,126
E	0,007	0,04	0,017	0,057	0,021	0,078	0,012	0,112
L	127,9		132,1		118,5		116,0	

Keterangan : Ds = Diameter stele, K= Tebal korteks, E = Tebal epidermis, L = Luas

Pada penelitian ini tampak pada gambar 2 tidak ditemukan penyimpangan pada bentuk akar seperti terjadinya penggembungan atau pemendekan pada ujung akar, kecuali pada PEG 7,5% dimana akar mengalami percabangan. Keberadaan cabang ini mengindikasikan adanya adaptasi morfologis pada akar Deja 2. Pada PEG di atas 5%, akar mengalami penyusutan diameter. Penyusutan bentuk dan ukuran akar telah diketahui merupakan salah satu bentuk adaptasi dari kekeringan. Menurut Lynch (2013), fenotipe akar yang tumbuh lebih panjang dan berada pada lapisan tanah yang lebih dalam dapat membantu dalam menghindari pengerasan tanah pada tanah lapisan atas yang mengering.

Akar tipis dengan kerapatan jaringan yang rendah memiliki efisiensi lebih tinggi secara metabolik dalam eksplorasi tanah dan konduktansi hidrolis yang lebih rendah dari akar normal (Strock & Lynch 2020). Umumnya akar yang lebih tebal memiliki kemampuan penetrasi yang lebih besar pada tanah yang keras. Namun, akar yang lebih kecil memiliki fleksibilitas lebih tinggi dalam menembus lapisan tanah. Akar kecil mengakibatkan penautan lebih baik pada biopori dan retakan di dalam tanah sehingga dapat menguntungkan di lingkungan dengan tekanan mekanis.

Fakta lain yang ditemukan adalah belum adanya perubahan pola yang jelas baik pada stele maupun korteks akar kedelai Deja 2, kecuali pada bagian epidermis. Penebalan epidermis akar menurut Lynch et al. (2019) berhubungan dengan kapasitas adaptasi tanaman dalam toleransi kekeringan seiring dengan pengurangan luas korteks. Pengurangan korteks dan penebalan epidermis melalui kematian sel akan mengurangi area yang dibutuhkan pada metabolisme, sehingga energi dapat digunakan untuk eksplorasi tanah lebih luas.

Penebalan epidermis akar juga ditemukan oleh Colombi et al. (2019) pada respon tanaman terhadap tekanan kepadatan tanah. Menurut Schneider et al. (2020) penebalan epidermis tidak terkait dengan kedalaman perakaran pada tanah. Penebalan akibat kepadatan berhubungan dengan sistem hormon, dimana tanah yang dipadatkan dapat mengurangi difusi etilen sehingga meningkatkan konsentrasi etilen di dekat jaringan akar. Perilaku persinyalan yang dipicu oleh akumulasi etilen dapat menghambat pertumbuhan akar melalui tanah yang keras (Pandey et al. 2021).

Simpulan dan Saran

Perlakuan PEG 6000 sampai konsentrasi 7,5% tidak menimbulkan perubahan yang jelas pada jaringan korteks dan stele akar kedelai Deja 2, melainkan pada tebal epidermis. Dari parameter yang diamati menunjukkan bahwa kedelai varietas Deja 2 cukup toleran kekeringan. Variasi konsentrasi PEG-6000 mensimulasi cekaman mengakibatkan akumulasi malondialdehid (MDA). Cekaman kekeringan juga meningkatkan kandungan katalase seiring kenaikan konsentrasi PEG, walaupun tingkat kenaikannya belum signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa Deja 2 cukup toleran terhadap kekeringan.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih disampaikan pada Dekan Fakultas FMIPA yang telah memberikan dana DIPA Fakultas yang telah membiayai penelitian kelompok dosen (RG) fisiologi dan biologi molekuler 2022 dimana saya turut mengambil data guna penyelesaian tugas akhir skripsi dan menjadi bahan artikel ilmiah ini.

Daftar Pustaka

- Ahmad, P. (2014). *Oxidative damage to plants antioxidant networks and signaling*. Elsevier Science & Technology. Amsterdam.
- Alché, J. , De Dios (2019). A concise appraisal of lipid oxidation and lipoxidation in higher plants. *Redox biology* 23: 101136
- Aldoobie, N. F., & Beltagi, M. S. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. *African Journal of Biotechnology* 12(29):4614-4622.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2014: 1-31.
- Ben Rejeb, I., Pastor, V., & Mauch-Mani, B. (2014). Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants* 3(4): 458-475.
- Budiarti, D. A. (2019). *Respons Anatomi Akar Padi (Oryza sativa L.) terhadap Cekaman Kekeringan [Tesis]*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Colombi, Anke Marianne Herrmann, Pernilla Vallenback, Thomas Keller. Cortical Cell Diameter Is Key To Energy Costs of Root Growth in Wheat. (2019). *Plant Physiology* 180(4): 2049–2060.
- Comas, L. H., Becker, S. R., Cruz, V. M. V., Byrne, P. F., & Dierig, D. A. (2013). Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in plant science* 4(442): 1-16.
- Dietz, K. J., Mittler, R., & Noctor, G. (2016). Recent Progress in Understanding the Role of Reactive Oxygen Species in Plant Cell Signaling. *Plant physiology* 171(3): 1535–1539.
- Dimitrios Tsikas.(2017).Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry* 524(2017): 13-30.
- Gechev, T., Mehterov, N., Denev, I., & Hille, J. (2013). A simple and powerful approach for isolation of Arabidopsis mutants with increased tolerance to H₂O₂-induced cell death. *Methods in enzymology* 527: 203–220.
- Hidayati, Nur, Rina Laksmi Hendrati, Arie Triani, Sudjino Sudjino. (2017).Pengaruh Kekeringan Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Nyamplung (*Callophylum Inophyllum* L.) Dan Johar (*Cassia Florida* Vahl.) Dari Provenan Yang Berbeda. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 11(2): 99-111.
- Huang, Q., Zhan, L., Cao, H., Li, J., Lyu, Y., Guo, X., Zhang, J., Ji, L., Ren, T., An, J., Liu, B., Nie, Y., & Xing, J. (2016). Increased mitochondrial fission promotes autophagy and hepatocellular carcinoma cell survival through the ROS-modulated coordinated regulation of the NFKB and TP53 pathways. *Autophagy* 12(6): 999–1014.
- Lynch JP (2013) Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Ann Bot.* 112: 347–357.
- Lynch JP Strock CF, BurrIDGE J, Massas ASF, Beaver J, Beebe S, Camilo SA, Fourie D, Jochua C, Miguel M, Miklas PN, Mndolwa E, Nchimbi-Msolla S, Polania J, Porch TG, Rosas JC, Trapp JJ, .(2019). Seedling root architecture and its relationship with seed yield across diverse environments in *Phaseolus vulgaris*. *Field Crop Res* 237: 53– 64.
- Mehmandar, Maryam Nekoe, Farzad Rasouli, Mousa Torabi, Giglou, Seyed Morteza Zahedi, Mohammad Bagher Hassanpouraghdam, Mohammad Ali Aazami, Rana Panahi Tajaragh, Pavel Ryant, and Jiri Mlcek. (2023)..Polyethylene Glycol and Sorbitol-Mediated In Vitro Screening for Drought Stress as an Efficient and Rapid Tool to Reach the Tolerant Cucumis melo L.*Genotypes. Plants* 12(4): 1-17.
- Mendes, Y.D.R, Cuenca, J.C., & Romero, H.M. 2016. Physiological responses of oil 8 palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under different water soil conditions. *Agronomía Colombiana* 34(2): 163-171.
- Mexal, J., Fisher, J. T., Osteryoung, J., & Reid, C. P. (1975). Oxygen availability in polyethylene glycol solutions and its implications in plant-water relations. *Plant Physiology*, 55(1): 20-24.
- Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in plant science* 22(1): 11-19.

- Ning, W., Zhai, H., Yu, J. et al. (2017). Overexpression of Glycine soja WRKY20 enhances drought tolerance and improves plant yields under drought stress in transgenic soybean. *Mol Breeding* 37(19): 1-10.
- Olmedilla, Adela & Sandalio, Luisa. (2019). Selective Autophagy of Peroxisomes in Plants: From Housekeeping to Development and Stress Responses. *Frontiers in Plant Science* 10(1021): 1-7.
- Pandey, B. K., Huang, G., Bhosale, R., Hartman, S., Sturrock, C. J., Jose, L., Martin, O. C., Karady, M., Voeselek, L. A. C. J., Ljung, K., Lynch, J. P., Brown, K. M., Whalley, W. R., Mooney, S. J., Zhang, D., & Bennett, M. J. (2021). Plant roots sense soil compaction through restricted ethylene diffusion. *Science* (New York, N.Y.) 371(6526): 276–280.
- Rewald, B., & Meinen, C. (2013). Plant roots and spectroscopic methods—analyzing species, biomass and vitality. *Frontiers in Plant Science* 4 :393.
- Rewald, B., Shelef, O., Ephrath, J. E., & Rachmilevitch, S. (2013). Adaptive plasticity of salt-stressed root systems. *Ecophysiology and responses of plants under salt stress* 4: 169-201.
- Rosawanti, P. (2015). Respon pertumbuhan kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap cekaman kekeringan. *J. Ilmiah Pertanian dan Kehutanan* 2(1): 35-44.
- Rosawanti, P. (2015). *Toleransi Beberapa Genotipe Kedelai Terhadap Cekaman Kekeringan [Doctoral Dissertation]*. Bogor Agricultural University (IPB). Bogor.
- Rosawanti, P., Ghulamahdi, M., & Khumaida, N. (2015). Respon anatomi dan fisiologi akar kedelai terhadap cekaman kekeringan. *Jurnal Agronomi Indonesia. Indonesian Journal of Agronomy* 43(3): 186-192.
- Sarkar, K., Mannan, M., Haque, M., & Ahmed, J. (2016). Physiological basis of water stress tolerance in soybean. *Bangladesh Agronomy Journal* 18(2): 71–78.
- Schneider, HM, Strock, CF, Hanlon, MT, Vanhees, DJ, Perkins, AC, Ajmera, IB, Sidhu, HS, Mooney, SJ, Brown, KM, Lynch, JP. (2021). Multiseriate cortical sclerenchyma enhance root penetration in compacted soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(6): 1-11.
- Schneider, J. R., Müller, M., Klein, V. A., Rossato-Grando, L. G., Barcelos, R. P., Dalmago, G. A., & Chavarria, G. (2020). Soybean Plant Metabolism under Water Deficit and Xenobiotic and Antioxidant Agent Application. *Biology* 9(266): 1-23.
- Shahid, M., Dumat, C., Pourrut, B., Silvestre, J., Laplanche, C., & Pinelli, E. (2014). Influence of EDTA and citric acid on lead-induced oxidative stress to *Vicia faba* roots. *Journal of soils and sediments* 14: 835-843.
- Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M., & Pinelli, E. (2014). Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Reviews of environmental contamination and toxicology* 232: 1–44.
- Siregar, A. O., Hanum, C., & Hanafiah, D. S. (2021). Morphological characterization of soybean (*Glycine max* L. Merrill) in drought stress condition and P fertilizer application. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 713(1): 012019
- Strock CF, Lynch JP (2020) Root secondary growth: an unexplored component of soil resource acquisition. *Ann Bot* 126: 205–218.
- Suharti, Mukarlina, & Gusmalawati, D. (2017). *Struktur Anatomi Akar, Batang Dan Daun Gaharu (Aquilaria Malaccensis Lamk.) Yang Mengalami Cekaman Kekeringan* 6(2): 38-44.
- Suhartina dan Heru Kuswantoro. (2011). Pemuliaan Tanaman Kedelai Toleran Terhadap Cekaman Kekeringan. *Bul. Palawija* 21: 26–38.
- Sutikno. (2018). *Buku Panduan Mikroteknik Tumbuhan (BIO 30603). Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ulinuha, A., & Rohman, F. (2020). *Pemanfaatan padi varietas Inpago Unsoed 1 sebagai solusi pemberdayaan petani Kabupaten Sragen pada masa kekeringan*. Prosiding University Research Colloquium. Yogyakarta.
- Warid, Khumaida, Nurul, Purwito, Agus, Syukur, Muhamad. (2014). *Pengembangan Kedelai (Glycine max (L.) Merr.) Toleran terhadap Cekaman Kekeringan Menggunakan*

Iradiasi Sinar Gamma [Tesis]. Institut
Pertanian Bogor. Bogor.

Yadav, S. and Sharma, K.D. (2016). *Molecular and
morphophysiological analysis of drought
stress in plants.* In Tech. Rijeka.