

Seleksi *In Vitro* untuk Ketenggangan terhadap Aluminium pada Empat Genotipe Jagung

In Vitro Selection for Al Tolerance on Four Genotypes of Maize

Surjono Hadi Sutjahjo

*Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB
Kampus IPB Darmaga
suryono@yahoo.com*

ABSTRACT

The objective of this research were to develop an effective in vitro selection for Al tolerance and to evaluate somaclon variants in vitro selected Al tolerance on red yellowist podsolic soil. Plant material used in this research were for maize genotypes i.e. two pure lines ($G_1=ArC_1-94-3-3-3-1-2-1-3-x$ and $G_2=ArC_1-178-1-3-1-1-4-2-2-x$), a single cross hybrid ($G_1 \times G_2$), and an open pollinated cultivar (Arjuna), take from BPTP Bogor. In vitro selection was conducted in MS media supplemented with 0, 100, 200, 400 or 800 $\mu M AlCl_3$. The regenerations of in vitro selection were then planted on acidic soil (Red yellowist podsolic soil) in greenhouse. The results showed that the original (donor, R_0) genotypes were all tolerant to A_1 level of 200 – 400 $\mu M AlCl_3$. However the R_1 generation tolerance to Al level of up to 800 μM . Greenhouse evaluation resulted that there were R_1 desplants of G_1 and hybrid tolerance to acidic μM red yellowist podsolic soil. The research also revealed that MS media supplemented with 400 $\mu M AlCl_3$ was an effective in vitro selection media for Al tolerance.

Keywords : in vitro selection, aluminium tolerance, maize

PENDAHULUAN

Jagung merupakan salah satu komoditas strategis yang ekonomis dan berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku produksi lain. Selain sebagai sumber utama karbohidrat dan protein, jagung juga merupakan salah satu bahan baku industri pakan ternak yang paling banyak dibutuhkan. Pada tahun-tahun mendatang kebutuhan akan jagung terus meningkat sejalan dengan meningkatnya laju pertumbuhan penduduk dan meningkatnya kebutuhan pakan ternak.

Perkembangan produksi jagung di Indonesia selama lima tahun terakhir mengalami peningkatan cukup berarti. Produksi jagung tahun 2004 sebesar 11,23 juta ton pipilan kering atau naik sebesar 3,11% dibandingkan dengan produksi jagung tahun 2003. Produksi jagung tahun 2005 sebesar 11,74 juta ton pipilan kering atau naik sebesar 4,56% dibandingkan produksi tahun 2004. Kenaikan produksi jagung terutama

disebabkan oleh kenaikan produktivitas dengan adanya perubahan varietas yang ditanam petani dari varietas lokal ke varietas komposit atau hibrida. Namun demikian, peningkatan produksi jagung yang telah dicapai masih belum dapat memenuhi kebutuhan dalam negeri sehingga hingga saat ini Indonesia masih mengimpor jagung dalam jumlah yang cukup besar.

Di samping kenaikan produktivitas, peningkatan produksi juga dapat dilakukan dengan perluasan areal tanam. Pada tahun 2005 luas areal yang ditanami jagung seluas sekitar 3,2 juta ha. Dalam rangka mencapai swasembada jagung pada masa mendatang, maka upaya-upaya peningkatan produktivitas dan pemanfaatan lahan-lahan kering perlu terus digalakkan. Lahan kering di Indonesia diperkirakan seluas 48.3 juta ha yang tersebar 43% di Sumatra, 33% di Kalimantan, 20% di Irian Jaya dan 4% di Sulawesi (Sudjadi, 1984). Umumnya lahan kering di Indonesia tersebut didominasi oleh tanah masam Podsolok Merah Kuning (PMK) yang tergolong

dalam Ultisol. Tanah ini memiliki sifat-sifat buruk bagi tanaman yaitu tingkat kemasaman yang tinggi, kandungan aluminium dan atau mangan yang tinggi serta kandungan unsur hara makro dan mikro seperti N, P, K, Ca, Mg dan Mo yang rendah (Sudjadi, 1984; Tan, 1993; Marschner, 1995).

Dengan luas lahan kering yang cukup besar, maka sebenarnya Indonesia berpotensi sebagai negara produsen jagung dunia. Jika diperoleh kultivar yang adaptif pada lahan kering, maka Indonesia akan keluar dari ketergantungan impor jagung, dan berbalik menjadi negara pengekspor jagung dunia.

Upaya untuk mengatasi masalah lahan kering dapat dilakukan dengan memperbaiki sifat fisik kimia tanah melalui pengapuran dan pemupukan P dosis tinggi serta penggunaan kultivar tenggang masam. Manipulasi sifat fisik kimia tanah melalui pengapuran dan pemupukan dosis tinggi adalah upaya yang sangat mahal dan bersifat sementara sehingga usaha tani menjadi tidak ekonomis. Sedangkan upaya penggunaan kultivar toleran masam hingga saat ini masih terkendala oleh terbatasnya ketersediaan kultivar jagung unggul berdaya hasil tinggi dan toleran masam. Oleh karena itu perakitan kultivar unggul toleran tanah masam sangat diperlukan karena merupakan alternatif yang paling efisien dilakukan. Kultivar jagung unggul dan toleran masam adalah kultivar jagung yang secara genetik mampu memproduksi tinggi pada lahan masam.

Simulasi kondisi masam secara buatan dikombinasikan dengan penerapan teknik *in vitro* diharapkan dapat membantu usaha memperoleh genotipe jagung yang tenggang terhadap tanah masam dan berdaya hasil tinggi. Teknik *in vitro* diketahui sangat berguna untuk menghasilkan populasi varian somaklon yang memiliki karakteristik unggul tertentu sehingga dapat membantu pengembangan galur tanaman yang toleran terhadap kondisi cekaman lingkungan tertentu, seperti toleran terhadap cekaman kekeringan, Al tinggi, hama dan penyakit. Dengan teknik kultur jaringan, populasi sel varian akan dapat dihasilkan dan diseleksi secara *in vitro* dalam media selektif yang sesuai. Intensitas seleksi dapat diperkuat dan dapat dibuat lebih

homogen sehingga meningkatkan frekuensi didapatkannya tanaman varian dengan sifat yang diinginkan.

Pengujian kultur kalus pada media dengan Al (200 dan 400 M Al-EDTA) pertama kali dilakukan oleh Meredith (1978). Pada konsentrasi Al tersebut diketahui pertumbuhan kalus terhambat. Berbagai penelitian kemudian dilakukan untuk mendapatkan tanaman tenggang Al melalui seleksi *in vitro*. Dall'Agnel *et al.* (1996) melakukan skrining plasma nutfah alfalfa untuk ketenggangan terhadap Al secara *in vitro*. Foy *et al.* (1993) mendapatkan varian somaklon tenggang Al pada sorghum melalui teknik seleksi *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari penggunaan teknik *in vitro* dengan penambahan $AlCl_3$ pada media untuk menapis respon tanaman jagung terhadap cekaman aluminium, menginduksi varian yang tenggang Al dalam media serta mengevaluasi varian tenggang Al hasil seleksi *in vitro* pada tanah PMK.

μ

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler Tanaman serta Rumah Kaca PAU-IPB. Dalam penelitian ini digunakan empat genotipe jagung yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Pangan (BPTP) Bogor, terdiri atas 2 galur murni generasi kedelapan (S_8) yaitu $G_1=ArC_1-94-3-3-3-1-2-1-3-x$ dan $G_2=ArC_1-178-1-3-1-1-4-2-2-x$, 1 hibrida silang tunggal ($G_1 \times G_2$) serta satu varietas bersari bebas Arjuna.

Pengaruh Pemberian $AlCl_3$ terhadap Pembentukan Embrio Somatik Jagung

Untuk inisiasi kalus digunakan media MS + sukrosa 3% + 2,4-D (2 mg L^{-1}). Masa inkubasi dalam media inisiasi kalus selama empat minggu. Media untuk induksi kalus embriogenik adalah media MS + 3% manitol + 15% air kelapa, sedangkan media regenerasi untuk induksi tunas dan akar adalah media MS + 3% manitol + 100 mg casein hidrolisat + 0,5 ppm BAP + 0,1 ppm

NAA. Pemberian Al dilakukan sejak awal hingga akhir kultur sesuai dengan perlakuan.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAK yang disusun secara faktorial dengan jumlah ulangan 10 kali. Setiap ulangan terdiri atas tiga botol kultur yang masing-masing berisi empat buah embrio. Sebagai faktor pertama adalah genotipe yang terdiri atas G₁, G₂, Hibrida dan Arjuna; sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi Al, yaitu 0, 100, 200, 400, dan 800

M Al dalam bentuk AlCl₃ yang diberikan pada awal hingga akhir kultur.

Peubah yang diamati meliputi jumlah planlet/eksplan, bobot basah kalus, persentase kalus embriogenik, jumlah tunas per eksplan, persentase kalus mati dan persentase tanaman yang dapat diaklimatisasi.

Evaluasi Tanaman Hasil Regenerasi *in vitro* pada Tanah PMK

Genotipe yang digunakan pada tahap ini adalah G₁ dan H yang telah terseleksi pada seleksi *in vitro* dan mampu hidup sampai diaklimatisasi. Genotipe G₂ dan Arjuna tidak dilanjutkan karena tidak diperoleh tanaman dalam jumlah yang cukup. Media yang digunakan adalah tanah PMK Jasinga dengan tingkat Al_{dd} = 30,37 me/100 g atau setara dengan tingkat kejenuhan Al = 81,2%. Media ditambah kapur sampai tingkat kejenuhan 0,25 Al_{dd}.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAK tak lengkap, dua faktor, dengan

jumlah ulangan tidak sama, sesuai dengan jumlah tanaman yang tersedia. Faktor pertama adalah genotipe terdiri atas dua taraf (G₁ dan H). Faktor kedua perlakuan seleksi *in vitro* terdiri atas 5 taraf, yaitu: Al₀ (0 M), Al₁ (100 M), Al₂ (200 M), Al₃ (400 M) dan Al₄ (800 M). Sebagai pembanding ditanam juga empat genotipe tanaman donor (langsung dari biji) masing-masing sebanyak lima tanaman untuk tiap perlakuan kapur.

Peubah kriteria ketenggangan tanaman terhadap Al yang diamati adalah panjang akar, bobot kering akar, ukuran tongkol, bobot tongkol dan kadar Al total dalam tanaman. Kadar Al total dihitung dari akar, batang dan daun. Jumlah sampel untuk analisis Al sebanyak tiga tanaman untuk setiap perlakuan. Metode analisis Al yang digunakan adalah metode *aluminon* (Chenery, 1948).

HASIL DAN PEMBAHASAN

μ Pengaruh Pemberian AlCl₃ terhadap Pembentukan Embrio Somatik Jagung

Pada percobaan tahap pertama ini tidak terdapat interaksi antara genotipe dengan konsentrasi Al. Berdasarkan pengamatan jumlah kalus yang mati atau tidak berkembang, genotipe G1 dan hibrida mempunyai persentase kematian yang rendah yaitu masing-masing 2,7% dan 6,9% (Tabel 1). Keadaan kalus yang tenggang dan peka terhadap Al dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Rataan persentase jumlah eksplan umur 8 MSK yang mati akibat keracunan Al pada empat genotipe jagung

Genotipe	Persen Kalus					Mati Rataan (%)
	Al ₀	Al ₁₀₀	Al ₂₀₀	Al ₄₀₀	Al ₈₀₀	
G1	0,0	3,4	3,7	4,4	2,1	2,7
G2	0,0	58,3	78,4	80,7	89,5	61,4
Hibrida	0,0	10,1	9,3	7,9	7,0	6,9
Arjuna	0,0	69,9	75,9	75,8	75,8	59,5
Rataan	0,0	35,4	41,8	42,2	43,6	

Keterangan : MSK= minggu setelah kultur; Konsentrasi Al = (0, 100, 200, 400, 800) M AlCl₃

efektif dalam menekan pertumbuhan sel dari jaringan kalus.

Gejala nyata yang tampak pada kalus yang tertekan akibat keracunan Al adalah perubahan warna kalus dari putih atau kuning segar menjadi coklat yang pada akhirnya mati. Disamping itu laju pertumbuhan ukuran kalus sangat lambat, bahkan pada konsentrasi Al yang tinggi (800 M) kalus-kalus yang tidak terganggu mengalami kematian sejak dini. Beberapa kalus berusaha bertahan dari pengaruh racun Al dengan cara menghindari bersentuhan langsung dengan media yang mengandung racun Al melalui mekanisme pembentukan akat baru secara ekstensif. Beberapa kalus lainnya dapat bertahan hidup terus sampai membentuk planlet.

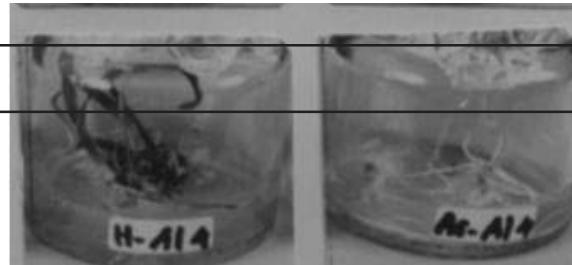
Persentase keberhasilan tumbuh setelah aklimatisasi pada genotipe G1 dan H relatif tinggi jika dibandingkan dengan genotipe G2 dan Arjuna (Tabel 3). Pada genotipe G1 rata-rata total mencapai 85,9% dan genotipe H mencapai 80,1%. Pada kedua genotipe tersebut kondisi planlet

Gambar 1. Pertumbuhan kalus jagung pada media selektif dengan penambahan $AlCl_3$. Kiri: tenggang, kanan: peka

Pertumbuhan kalus sangat terhambat pada media yang ditambah dengan $AlCl_3$ dibandingkan pada media tanpa $AlCl_3$ (Tabel 2). Persentase kalus embriogenik yang terbentuk serta bobot kalus yang diperoleh berbeda sangat nyata antar masing-masing konsentrasi $AlCl_3$, akan tetapi jumlah tunas dan planlet yang terbentuk tidak berbeda nyata, kecuali pada kultur media yang tidak diberi $AlCl_3$. Hal ini menunjukkan bahwa $AlCl_3$ yang diberikan ke dalam media kultur cukup

Tabel 2. Rataan persen kalus embriogenik, bobot basa media selektif dengan penambahan $AlCl_3$

Genotipe	Konsentrasi $AlCl_3$ pada kultur <i>in vitro</i> (μM)									
	Al_0		Al_{100}		Al_{200}		Al_{400}		Al_8	
	N_0	N_1	N_0	N_1	N_0	N_1	N_0	N_1	N_0	
G1	213	181	207	172	206	162	204	187	209	
G2	48	21	20	11	20	9	10	4	19	
H	228	110	205	180	206	173	177	170	213	
Arjuna	23	17	7	3	7	5	5	3	6	
Jumlah	512	312	439	366	439	349	396	364	447	



Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%

Tabel 3. Jumlah planlet terbentuk hasil *in vitro* dan jumlah planlet hidup setelah diaklimatisasi

Genotipe	N_0	N_1
G1		
G2		
H		
Arjuna		
Jumlah		

Keterangan: N_0 = jumlah planlet yang diaklimatisasi, N_1 = jumlah planlet tumbuh setelah diaklimatisasi

Gambar 2. Keadaan perakaran jagung genotipe G1(kiri) dan H (kanan) hasil seleksi *in vitro* yang ditanam pada tanah PMK

Tabel 4. Nilai rata-rata panjang akar, bobot kering akar dan bobot tongkol tanaman jagung hasil seleksi *in vitro* yang ditanam pada tanah PMK

Geno tipe	Konsentrasi AlCl ₃ kultur <i>in vitro</i> (μM)	Panjang akar (cm)	Bobot kering akar (g)	Bobot kering tongkol (g)
G1	0	18,0 ± 0,6	2,3 ± 0,1	33,0 ± 2,1
	100	40,0 ± 1,1	2,5 ± 0,1	21,5 ± 1,1
	200	40,0 ± 1,1	2,2 ± 0,1	14,6 ± 0,6
	400	43,3 ± 4,6	6,4 ± 1,1	35,7 ± 4,9
H	0	45,0 ± 3,3	5,5 ± 0,2	22,5 ± 2,6
	100	49,5 ± 1,0	9,8 ± 0,6	21,1 ± 2,3
	200	44,5 ± 1,0	9,8 ± 0,4	18,8 ± 1,9
	400	37,0 ± 0,9	3,2 ± 0,3	22,3 ± 1,1
G2	0	61,0 ± 2,5	7,5 ± 0,8	35,7 ± 1,3
	100	80,0 ± 1,2	4,7 ± 0,2	18,0 ± 2,3
	200	80,0 ± 1,2	4,7 ± 0,2	18,0 ± 2,3
	400	80,0 ± 1,2	4,7 ± 0,2	18,0 ± 2,3

Evaluasi Tanaman Hasil Seleksi *In Vitro* pada Tanah PMK

Tanaman jagung asal biji menunjukkan perakaran yang tertekan dan tidak berkembang baik pada tanah PMK. Pada tanaman hasil seleksi *in vitro* yang tidak diseleksi untuk cekaman aluminium (Al 0) juga mempunyai perakaran yang kurang baik. Sedangkan tanaman hasil regenerasi seleksi *in vitro* dengan media selektif AlCl₃ 100, 200, dan 400 M (Al 1, Al 2, dan Al 4) mempunyai perakaran yang sangat baik (Gambar 2). Akar terpanjang ditunjukkan oleh genotipe H yang diseleksi pada media dengan AlCl₃ 400 M. Dengan demikian terlihat bahwa seleksi *in vitro* mampu meningkatkan ketenggangan tanaman

jagung terhadap cekaman aluminium. Mekanisme ketenggangan Al pada tanaman adalah terjadi akumulasi Al dalam bentuk kompleks organik seperti catechin, asam fenolat dan asam organik. Kompleks tersebut kemudian dilokalisasi pada sel epidermis (Jensen *et al.*, 2002). Sel-sel zona transisi (DTZ distal portion of the transition zone) pada ujung akar jagung yang sudah membelah tetapi belum memanjang adalah yang paling sensitif terhadap keracunan aluminium (Sivaguru dan Horst, 1998). Dinding sel pada zona ini mengakumulasi aluminium jauh lebih cepat dibandingkan sel-sel yang lebih tua karena proporsi pektin yang lebih tinggi di dalam dinding sel. Aluminium yang terikat pada dinding sel akar

menggantikan kalsium, berikatan dengan pektin sehingga menghambat pembesaran sel akar (Ciamporova, 2002).

Seleksi *in vitro* dapat menghasilkan varian jagung yang lebih tenggang terhadap kemasaman. Hal ini terlihat pada panjang akar genotipe G₁. Tanpa seleksi *in vitro*, panjang akar hanya mencapai 18 cm. Namun dengan seleksi *in vitro*, panjang akar dapat mencapai 40 sampai 45 cm (Tabel 4). Bobot kering akar tertinggi ditunjukkan oleh genotipa G₁ yang diseleksi pada media dengan penambahan AlCl₃ 400 M.

Bobot kering tongkol merupakan peubah utama untuk menentukan tanaman tenggang terhadap kemasaman. Pada genotipe G₁, bobot kering tongkol tanaman donor (dari biji) dan tanaman yang diseleksi dengan AlCl₃ 400 M lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Tetapi pada genotipe H, bobot kering tongkol tertinggi ditunjukkan oleh genotipe H yang diseleksi pada media dengan penambahan AlCl₃ 400 M. Kadar Al total dalam tanaman yang tertinggi terdapat pada genotipe H yang mendapat seleksi dengan penambahan AlCl₃ 800 M. Dengan demikian, konsentrasi AlCl₃ 800 M pada media selektif kurang baik untuk mendapatkan varian somaklon yang tenggang terhadap kemasaman.

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan terhadap panjang akar dan bobot kering akar, dapat disimpulkan bahwa media selektif dengan penambahan AlCl₃ 400 M paling baik untuk seleksi menuju ketenggangan terhadap aluminium. Seleksi *in vitro* dapat meningkatkan ketenggangan terhadap Al. Varian somaklon tenggang Al dapat diperoleh dari genotipe G₁ dan H dengan seleksi *in vitro* pada media selektif

dengan penambahan AlCl₃ 400 M.

DAFTAR PUSTAKA

- Chenery, E. M. 1948. Thioglycolic Acid as an inhibitor for iron in the colorimetric determination of aluminium by means of "aluminon". *Analyst*. 73: 501 -502
- Ciamporova, M. 2002. Morphological and structural responses of plant roots to aluminium at organ, tissue and cellular levels. *Biol. Plant*. 45:161-171.
- Dall'Agno, M., J.H. Boutten, and W.A. Parrott. 1996. Screening methods to develop alfalfa germplasm tolerant of acid, aluminium toxic soils. *Crop Sci*. 36:64-70.
- Foy, C.D., R.R. Duncan, R.M. Waskon, and D.R. Miller. 1993. Tolerance of sorghum genotypes to an acid, aluminium toxic tatum subsoil. *J. Plant Nutr*. 161: 97-127
- Jensen, S., M.R. Broadley, W. Robbrecht, and E. Smets. 2002. Aluminium hyper-accumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. *Bot. Rev*. 68:235-269
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants (2^{Ed}). Acad Press, San Diego.
- Meredith, C.P. 1978. response of cultured tomato cells to aluminium. *Plant Sci. Lett*. 12 : 17-24.
- Sudjadi, M. 1984. Problem soils in Indonesia and their management. P 58-73. In *Ecology and Management of Problem Soils in Asia*. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pasific Region, Taipeh.
- Tan, K. 1993. Analysis of aluminium sensitivity in sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) genotypes. PhD Thesis, Wageningen Agric. Univ. The Netherlands.