

# PERKEMBANGAN TEKNIK AKLIMATISASI TANAMAN KEDELAI HASIL REGENERASI KULTUR *IN VITRO*

Slamet

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar No. 3A Bogor 16111  
Telp. (0251) 8337975, 8337973, Faks. (0251) 8338820, E-mail:bb\_biogen@litbang.deptan.go.id

Diajukan: 15 Juni 2010; Diterima: 13 Januari 2011

## ABSTRAK

Pembentukan varietas unggul melalui bioteknologi melibatkan kultur *in vitro*. Penyesuaian bibit kultur terhadap lingkungan luar (aklimatisasi) adalah salah satu tahapan yang harus dilalui dalam penelitian yang melibatkan kultur jaringan (kultur *in vitro*). Aklimatisasi dilakukan setelah teknik regenerasi tanaman dikuasai. Namun, selain teknik aklimatisasi yang sulit, protokol teknik aklimatisasi tanaman tidak berlaku umum. Setiap jenis tanaman hasil regenerasi kultur *in vitro* biasa (nontransgenik) menghendaki teknik aklimatisasi yang berbeda. Keberhasilan aklimatisasi merupakan salah satu tindakan penyelamatan plasma nutfah yang tidak ternilai. Tulisan ini membahas kultur jaringan dalam bioteknologi, arti penting aklimatisasi, perkembangan aklimatisasi kedelai, faktor-faktor yang memengaruhi keberhasilan aklimatisasi, serta kendala dan prospek pengembangannya. Informasi yang disajikan diharapkan memberikan sumbangsih bagi kemajuan penelitian kedelai di Indonesia khususnya, dan pihak-pihak yang terlibat dalam kultur jaringan, baik peneliti, praktisi, mahasiswa maupun khalayak umum.

**Kata kunci:** *Glycine max*, aklimatisasi, regenerasi, *in vitro*

## ABSTRACT

*The development of acclimatization technique for soybeans resulted from in vitro culture regeneration*

Development of prime varieties through biotechnology involves *in vitro* or tissue culture. Acclimatization is a stage that must be done in studies involving *in vitro* culture. Acclimatization is one of important stages after plant regeneration technique is mastered. In addition to difficulties in acclimatization techniques, plant acclimatization technique protocol is not generally applicable. Each type of plant (planlet) from normal *in vitro* regeneration (non-transgenic plant) requires different acclimatization techniques. The success of acclimatization is a valuable rescue action for germplasm. This review discusses the tissue culture in biotechnology, the importance of acclimatization, development of soybean acclimatization technique, factors affecting the success of plant acclimatization, as well as problems and its prospects. The information discussed is expected to give a little contribution to the advancement of soybean research in Indonesia in particular, and others who are involved in tissue culture, both researchers, practitioners, students, and public.

**Keywords:** *Glycine max*, acclimatization, regeneration, *in vitro*

Perakitan varietas unggul kedelai dengan bioteknologi tidak terlepas dari penggunaan teknik kultur jaringan atau kultur *in vitro*. Beberapa keuntungan penggunaan teknik kultur *in vitro* adalah dapat menyediakan bibit kultur yang sehat/bebas penyakit dengan waktu yang relatif singkat, dalam jumlah yang banyak, dan kondisi bibit yang seragam (Gunawan 1988).

Pada tanaman kedelai, teknik kultur jaringan dapat membantu pemulia dalam

merakit varietas unggul kedelai, misalnya kedelai transgenik toleran hama penggerek polong (Pardal *et al.* 2005). Permasalahan yang dihadapi pemulia dalam merakit varietas unggul kedelai dengan pendekatan rekayasa genetik adalah penguasaan teknik regenerasi yang kurang efektif dan efisien karena sulit diulang dan keberhasilan transformasi sangat rendah, antara 3–5% (Pardal 2002), selain kegagalan aklimatisasi (Slamet *et al.* 2005). Masalah tersebut merupakan salah satu

pangkal dari kegagalan dalam merakit tanaman kedelai transgenik.

Aklimatisasi merupakan salah satu tahapan penting dalam penelitian yang melibatkan kultur *in vitro* (Husni *et al.* 2004a). Pada tanaman tertentu, seperti padi dan tanaman obat (daun dewa dan tangguh), aklimatisasi relatif mudah dan berhasil memperoleh persentase tanaman hidup yang tinggi, yaitu lebih dari 90% (Lestari *et al.* 1999; Lestari dan Purnamaningsih 2005). Namun, tata cara akli-

matisasi tanaman yang ada tidak berlaku umum; masing-masing tanaman hasil regenerasi kultur *in vitro* biasa (non-transgenik) menghendaki teknik aklimatisasi yang berbeda.

Beberapa sifat yang kurang menguntungkan yang dimiliki tanaman hasil regenerasi melalui kultur jaringan adalah lapisan kutikula kurang berkembang, jaringan pembuluh akar dan batang kurang sempurna, stomata tidak berfungsi, berkurangnya sel-sel palisade daun, dan lignifikasi batang (Gunawan 1988). Keadaan tersebut menyebabkan bibit kultur rentan terhadap hama, penyakit, dan udara luar sehingga menyulitkan aklimatisasinya.

Hambatan utama pemulia kedelai dalam merakit tanaman setelah menguasai teknik regenerasi adalah aklimatisasi tanaman (Slamet *et al.* 2005). Aklimatisasi tanaman kedelai sulit dilakukan sehingga penguasaan teknik aklimatisasi sangat penting karena akan menentukan tahapan pengujian selanjutnya (Husni *et al.* 2004a). Keberhasilan aklimatisasi memiliki arti penting karena proses perakitan varietas melalui beberapa tahapan dengan biaya yang mahal. Hingga saat ini masih sulit mendapat teknik aklimatisasi yang berlaku umum (Slamet *et al.* 2005).

Tujuan dari penulisan ini adalah untuk menggali dan menelaah informasi tentang aklimatisasi tanaman, khususnya kedelai. Informasi yang disajikan meliputi kultur jaringan dalam bioteknologi, arti penting aklimatisasi, perkembangan teknik aklimatisasi tanaman kedelai, faktor-faktor yang memengaruhi keberhasilan aklimatisasi, serta kendala dan prospeknya.

## **KULTUR JARINGAN DALAM BIOTEKNOLOGI**

Kehadiran bioteknologi khususnya teknik kultur jaringan didasarkan pada teori totipotensi sel (*total genetic potential*) dan didukung oleh pengetahuan yang akurat tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang ditanam secara *in vitro*. Hara yang dibutuhkan sel dan jaringan terdiri atas beberapa komponen utama, yaitu garam mineral, sumber karbon, vitamin, dan zat pengatur tumbuh (Wetter dan Constabel 1991). Kemampuan menumbuhkan bagian kecil tanaman (sel dan atau jaringan) menjadi tanaman lengkap yang memiliki akar, batang, dan daun melalui

pembentukan struktur menyerupai embrio zigotik dikenal dengan regenerasi melalui embriogenesis somatik (Pardal 2002).

Kemajuan bioteknologi dalam bidang sel dan jaringan menjadi satu wahana baru menuju pemenuhan kebutuhan pangan, misalnya perakitan varietas unggul kedelai transgenik tahan hama penggerek polong (Pardal *et al.* 2005), dan seleksi *in vitro* untuk memperbaiki toleransi terhadap cekaman aluminium dan pH rendah (Hutami *et al.* 2003). Pada tanaman padi, teknik kultur antera berperan dalam pembentukan galur homozigot haploid ganda (Chung 1992; Dewi *et al.* 1994; Suwarno *et al.* 2001) dan pada tanaman sereal (Zhou 1996) berguna dalam pembentukan varietas unggul hibrida. Penggunaan varietas unggul hibrida dapat meningkatkan hasil tanaman jagung hingga 45% (Subandi 1985), dan pada tanaman padi hibrida Intani-2 di Bantaeng, Sulawesi Selatan sampai 100%, dari hasil panen yang biasa 4–5 t/ha menjadi 10,35 t/ha GKP (gabah kering panen) atau 8,96 t/ha GKG (gabah kering giling) (Kemkominfo 2010). Hasil penelitian dan pengembangan pembentukan varietas unggul kedelai hibrida di Indonesia hingga kini masih sulit diperoleh informasinya.

Teknik kultur jaringan juga dapat digunakan untuk menggandakan bibit bermutu yang bebas penyakit dalam jumlah besar dengan waktu singkat (Cassels dan Long 1982; Gunawan 1988). Di Indonesia, penggunaan teknik ini dilaporkan oleh Karjadi dan Buchori (2008) pada kultur meristem tanaman kentang, sedangkan pada jeruk dilaporkan oleh Mariska (1985). Keberhasilan teknik kultur jaringan untuk perbanyak *in vitro* tanaman jahe dilaporkan oleh Mariska dan Shahid (1992), dan pada krisan oleh Mariska dan Sukmadjaya (1987). Teknik kultur jaringan juga digunakan untuk menyelamatkan embrio hasil persilangan dengan kerabat jauh antara spesies budi daya dan kerabat liarnya, yang dikenal dengan teknik *embryo rescue*, seperti pada tanaman kedelai (Pardal *et al.* 1994), padi (Somantri dan Ambarwati 1992; Abdullah dan Hanarida 1995), dan vanili (Mariska *et al.* 1997). Selain itu, untuk menyimpan plasma nutfah dalam jangka panjang dapat digunakan teknik kriopreservasi (Roostika *et al.* 2004; Leunufna 2007), dan untuk kesehatan dikenal dengan manipulasi produk metabolit sekunder (Roostika *et al.* 2007).

Teknik kultur jaringan juga dapat diterapkan secara langsung untuk memperbaiki sifat tanaman, misalnya melalui teknik regenerasi embriogenesis somatik yang dikenal dengan keragaman somaklonal dan seleksi *in vitro* (Mariska 2002). Teknik ini dapat digunakan untuk meningkatkan toleransi tanaman terhadap cekaman lingkungan pada lahan marginal, seperti keracunan Al dan pH masam pada tanaman kedelai (Hutami *et al.* 2003), padi (Purnamaningsih dan Mariska 2008), dan seleksi toleransi tanaman terhadap penyakit (Husni dan Kosmiatin 2005).

Teknik kultur jaringan juga digunakan sebagai bagian dari teknik lain, seperti pada perakitan tanaman transgenik, baik secara langsung dengan metode penembakan partikel maupun secara tidak langsung dengan perantara *Agrobacterium*, misalnya perakitan tanaman transgenik tahan hama pada tanaman kedelai (Pardal *et al.* 2005), padi (Somantri *et al.* 2001), jagung (Sutrisno *et al.* 2001), dan ubi jalar (Ambarwati *et al.* 2001). Bahkan ke depan, tidak menutup kemungkinan pemanfaatan kultur jaringan untuk berbagai tujuan dalam pemuliaan tanaman.

Fakta tersebut menunjukkan bahwa kultur jaringan dapat dimanfaatkan untuk mendukung teknologi aplikasi secara luas. Namun, keberhasilan teknik kultur jaringan tidak terbatas pada skala laboratorium (*in vitro*), tetapi juga harus diaplikasikan di lapangan atau lingkungan tumbuh asalnya yang memerlukan adaptasi lingkungan yang dikenal dengan aklimatisasi.

## **ARTI PENTING AKLIMATISASI**

Kegiatan penelitian yang melibatkan kultur *in vitro*, misalnya dalam perakitan tanaman transgenik, selain memerlukan sistem regenerasi yang konsisten dan teknik transformasi yang efektif dan efisien, juga perlu menguasai teknik aklimatisasi tanaman (Slamet *et al.* 2005). Aklimatisasi merupakan tahapan paling kritis dan sulit pada proses regenerasi tanaman secara *in vitro*. Kegagalan aklimatisasi tanaman merupakan kendala yang banyak dijumpai di Indonesia. Oleh karena itu, tahapan ini memerlukan pengalaman dan penanganan yang sarat kehati-hatian karena

aklimatisasi adalah mengadaptasikan planlet dari media kultur *in vitro* ke media tanah pada ruangan terbuka (Pardal *et al.* 2005).

Penyesuaian bibit kultur terhadap lingkungan luar merupakan salah satu tahapan yang harus dilalui dalam kegiatan yang melibatkan kultur *in vitro*. Menurut Ziv (1986 dalam Pierik 1987), aklimatisasi adalah masa adaptasi planlet dari kultur heterotrofik menjadi autotrofik, yang merupakan tahap akhir dari kegiatan kultur *in vitro*. Aklimatisasi merupakan adaptasi planlet dari lingkungan yang terkendali (*in vitro*) ke lingkungan *in vivo* sebelum ditanam di lapangan (Husni *et al.* 2004a).

Diperolehnya tanaman hidup dan berkembang setelah aklimatisasi akan menentukan kelangsungan pengamatan dan pengujian tahap berikutnya dalam program perbaikan tanaman melalui kultur *in vitro* (Gambar 1). Setiap planlet atau benih somatik yang dihasilkan merupakan individu baru (Husni *et al.* 2004a). Dengan demikian, keberhasilan aklimatisasi merupakan salah satu tindakan penyelamatan plasma nutfah yang tak ternilai.

## PERKEMBANGAN AKLIMATISASI TANAMAN KEDELAI

Beberapa jenis tanaman yang diperbanyak melalui teknik *in vitro* berhasil diaklimatisasi dengan mudah, seperti padi, daun dewa, dan tanaman tangguh. Namun pada beberapa jenis tanaman lain seperti kedelai, aklimatisasi menghadapi kendala yang serius.

Aklimatisasi kedelai di Indonesia pertama kali dilaporkan Pardal *et al.* (1997). Dalam percobaannya, planlet direndam dalam air selama 5 hari kemudian dipindahkan ke media tanah dan pasir (1:1). Percobaan tersebut berhasil memperoleh beberapa tanaman hidup dari planlet hasil regenerasi biasa (non-transgenik). Pada tahun 1999, percobaan aklimatisasi dilakukan secara langsung dengan menggunakan media tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1, diletakkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung dan diberi sungkup plastik. Teknik tersebut berhasil memperoleh tanaman hidup 25% (Pardal *et al.* 1999).

Pada tahun 2005, percobaan aklimatisasi kedelai diulang dengan bibit hasil regenerasi *in vitro* biasa dan hasil transformasi dari dua kultivar kedelai Wilis dan Tidar melalui sistem hidroponik. Namun, tingkat keberhasilan percobaan tersebut sangat rendah, yaitu untuk planlet non-transformasi 10% dan planlet hasil transformasi 0,1% (Pardal *et al.* 2005). Hal ini menunjukkan bahwa aklimatisasi tanaman kedelai, baik dari regenerasi *in vitro* biasa maupun transgenik sangat sulit dilakukan, terlebih untuk kedelai hasil transformasi. Hal serupa dilaporkan Husni *et al.* (2004b) dengan keberhasilan aklimatisasi yang makin lama makin menurun; dari empat bibit somatik kedelai yang diaklimatisasi hanya diperoleh satu tanaman hidup. Hasil aklimatisasi kedelai ini sesuai dengan tahun sebelumnya.

Slamet *et al.* (2005) melakukan aklimatisasi tanaman kedelai secara langsung pada media tanah miskin bahan organik dari pupuk kandang (5:1) dikombinasi dengan pengairan sistem im-

bibisi dan perlakuan penyinaran matahari langsung. Aklimatisasi menggunakan planlet hasil regenerasi *in vitro* biasa, dan kemudian diulang dengan tanaman putatif transgenik. Percobaan tersebut berhasil memperoleh tanaman hidup lebih dari 90%. Protokol aklimisasinya dapat dilihat pada Gambar 2.

## FAKTOR-FAKTOR YANG MEMENGARUHI AKLIMATISASI

Keberhasilan aklimatisasi kedelai ditentukan oleh berbagai faktor. Secara umum, faktor-faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi tanaman kedelai adalah kondisi planlet (ukuran bibit, perakaran), kondisi lingkungan (ketepatan media tumbuh yang digunakan dan kelembapan udara), ketepatan perlakuan pradan pascatransplantasi dari media *in vitro* ke media tanah, dan sanitasi lingkungan dari infeksi penyakit (Gambar 3).

### Ukuran Bibit

Ukuran bibit kultur memengaruhi keberhasilan aklimatisasi tanaman kedelai. Penggunaan bibit kultur yang kurang vigor menyebabkan tanaman banyak yang mati (Pardal *et al.* 2005). Hal serupa dilaporkan Damayanti *et al.* (2007) pada aklimatisasi tanaman pepaya. Bibit yang besar berpeluang tumbuh dengan baik dan sehat.

Vigor kuantitatif bibit kultur kedelai yang berhasil diaklimatisasi adalah tinggi bibit 5–6 cm, jumlah tunas 2–3 buah, dan jumlah akar 2–4 buah (Slamet *et al.* 2005). Namun, pada tanaman lain, vigor kuantitatif yang meliputi tinggi tanaman, jumlah akar, dan jumlah daun dalam kaitannya dengan persentase tanaman hidup hingga kini masih sulit didapatkan sumber informasinya.

### Akar

Salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan aklimatisasi adalah perakaran. Akar yang makin banyak dan panjang akan meningkatkan bidang serapan hara (Lestari *et al.* 1999). Jangkauan akar yang luas dapat memenuhi kebutuhan air secara cepat yang



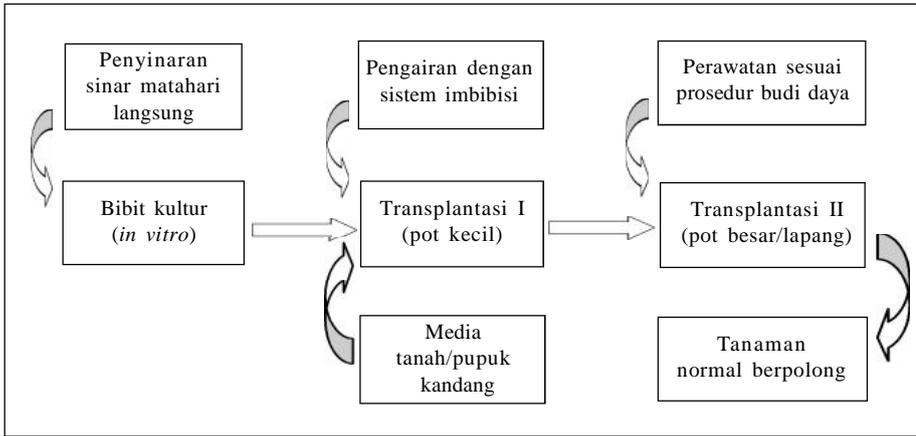
Bibit kultur hasil regenerasi *in vitro*.

Tanaman umur 2 minggu setelah aklimatisasi.

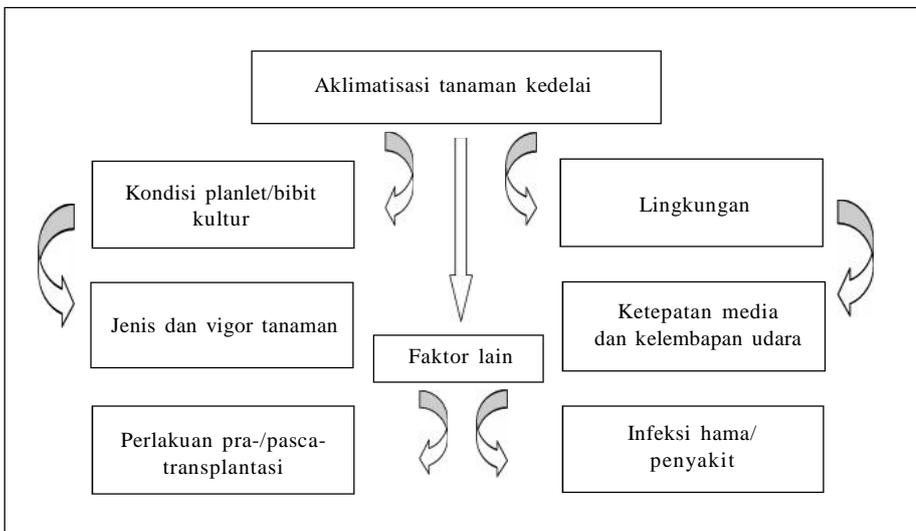
Tanaman putatif transgenik TO tahan penggerek polong.

Tanaman nontransgenik hasil kultur *in vitro*.

Gambar 1. Tanaman kedelai hasil regenerasi *in vitro* sebelum dan setelah diaklimatisasi (Slamet *et al.* 2005).



Gambar 2. Bagan protokol aklimatisasi kedelai (Slamet et al. 2005).



Gambar 3. Bagan faktor-faktor yang memengaruhi aklimatisasi tanaman kedelai.

hilang akibat laju respirasi yang tinggi. Laju respirasi bibit kultur umumnya sangat tinggi akibat kurang sempurnanya jaringan dan sistem pembuluh tanaman. Hal ini juga dipengaruhi oleh perubahan suhu dan kelembapan dari lingkungan *in vitro* ke lingkungan *in vivo* yang berbeda.

Pada tanaman kedelai, akar berperan penting dalam menentukan keberhasilan aklimatisasi. Pardal *et al.* (1999) melaporkan tanaman yang hidup setelah aklimatisasi memiliki jaringan perakaran yang kuat. Slamet *et al.* (2005) juga melaporkan, bibit kultur kedelai yang memiliki akar 2–4 buah berhasil diaklimatisasi dengan jumlah tanaman hidup yang tinggi. Demikian pula pada tanaman lainnya. Roostika *et al.* (2005) yang melakukan aklimatisasi tanaman manggis melaporkan bahwa bibit kultur berakar yang ditumbuhkan pada media perakaran mampu hidup semua.

Pada kasus tertentu, peran akar dapat diabaikan pada aklimatisasi tanaman keras. Hasil percobaan Supriati *et al.* (2005) pada tanaman belimbing dan Roostika *et al.* (2005) pada tanaman manggis dapat menumbuhkan tunas hasil multiplikasi kultur *in vitro* tanpa akar dengan mencelupkan akar secara singkat dalam larutan IBA pada berbagai konsentrasi dan lama pencelupan. Tunas berhasil tumbuh dengan perakaran yang normal, dengan keberhasilan tanaman hidup 40–75%. Hasil percobaan serupa pada kedelai dan tanaman semusim lainnya belum diperoleh informasinya.

### Media

Pardal *et al.* (1997) melakukan aklimatisasi kedelai dengan merendam planlet dalam botol berisi air selama 5 hari, dan selanjutnya dipindahkan ke media tanah dan pasir (1:1). Teknik tersebut berhasil memperoleh beberapa tanaman hidup dari planlet hasil regenerasi biasa (non-transgenik). Selanjutnya, percobaan diulang dengan mengaklimatisasi bibit kultur secara langsung menggunakan media tanah kaya bahan organik (tanah dan kompos 1:1) yang dikombinasi penyungkupan dengan plastik dan memperoleh tanaman hidup 25% (Pardal *et al.* 1999). Husni *et al.* (2004b) yang mengaklimatisasi beberapa bibit kultur kedelai pada media tanah kaya bahan organik (tanah dan kompos 1:1) memperoleh satu tanaman hidup. Sebaliknya, Slamet *et al.* (2005) melaporkan, aklimatisasi kedelai pada tanah miskin bahan organik (tanah dan pupuk kandang 5:1) memperoleh persentase tanaman hidup yang tinggi.

Secara umum, pengaruh komposisi media terhadap keberhasilan aklimatisasi tampaknya belum ada kesepakatan (Tabel 1). Penambahan kompos pada media aklimatisasi tanaman lada tidak memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah tanaman hidup. Keberhasilan aklimatisasi lebih ditentukan oleh jumlah akar dan umur planlet yang akan diaklimatisasi. Komposisi media aklimatisasi tanah-pasir dan tanah-pasir-pupuk kandang pada tanaman lada memberikan hasil rata-rata tanaman hidup masing-masing 38,6% dan 34,6% (Lestari *et al.* 2001). Roostika *et al.* (2005) melaporkan bahwa media tanah-kompos (1:1) memberikan hasil terbaik pada aklimatisasi tanaman manggis. Sutrisno *et al.* (2001) yang melakukan aklimatisasi tanaman jagung pada media tanah memperoleh keberhasilan yang rendah karena belum menemukan media yang sesuai. Hal ini menunjukkan bahwa setiap jenis tanaman menghendaki komposisi media dan perlakuan yang berbeda untuk memperoleh hasil aklimatisasi yang baik.

### Kelembapan Udara

Tanaman hasil kultur jaringan memerlukan kelembapan udara yang tinggi karena lapisan kutikula pada daun masih tipis, stomata belum berfungsi secara normal, dan hubungan jaringan pembuluh batang dan akar belum sempurna (Gunawan 1988). Keadaan ini mengharuskan aklimatisasi untuk menciptakan kondisi kelembapan yang tinggi bagi planlet yang baru ditanam.

**Tabel 1. Pengaruh komposisi media aklimatisasi dalam berbagai perbandingan terhadap persentase tanaman hidup beberapa jenis tanaman.**

Komposisi media	Tanaman hidup (%)									
	Padi	Tanggung	Jagung	Pepaya	Bawang merah	Lada	Belimbing	Rambutan	Sukun	Kopi
Air (hidroponik)	> 90									
Tanah							0			
Tanah/kompos			11–29				60–80	18	70	
Tanah/pupuk kandang		> 90					20			
Kompos/arang sekam				65	75					
Tanah/arang sekam/kompos				29						
Tanah/pasir				15		14–50				
Tanah/pasir/pupuk kandang										60
Tanah/pasir/kompos				10		10–67				

Komposisi media dalam berbagai perbandingan, data dikompilasi dari berbagai sumber.

Pardal *et al.* (1999) melakukan aklimatisasi kedelai dengan memberi sungkup plastik berlubang selama 7 hari dan memperoleh tanaman hidup 25%. Kelembapan udara berpengaruh terhadap ketegaran bibit kultur. Kelembapan udara yang rendah atau cuaca yang terang/panas mengakibatkan bibit kultur kedelai layu setelah dikeluarkan dari botol (*in vitro*). Pengaruh yang lebih buruk adalah daun menjadi kering dan tanaman mati. Kerontokan daun kedelai setelah transplantasi menyebabkan proses penyembuhan tanaman sulit dan akhirnya mati.

Untuk menghindari efek fatal tersebut, setelah dicuci, bibit kultur kedelai direndam sementara dalam air atau langsung ditanam dalam media tanah dan diberi sungkup. Pemberian sungkup bertujuan untuk menjaga kelembapan media tumbuh dan mengendalikan respirasi yang berlebihan sebelum bibit kultur tumbuh dan berkembang secara normal (Damayanti *et al.* 2007). Namun, kondisi media tumbuh yang terlalu lembap dapat memicu serangan penyakit. Hal ini terlihat pada hasil aklimatisasi yang rendah pada berbagai jenis tanaman hasil kultur *in vitro* (Tabel 1).

Aklimatisasi kedelai dengan pemberian sungkup sesuai kebutuhan atau berdasarkan kondisi tanaman bersama perlakuan lainnya pada fase pratransplantasi memperoleh tanaman hidup yang tinggi (Slamet *et al.* 2005). Pemberian sungkup hendaknya mempertimbangkan tingkat sterilitas lingkungan media tum-

buh agar aseptik dari hama-penyakit dan sumber kontaminan lainnya.

Perlakuan tertentu pada fase pratransplantasi dapat menambah ketegaran bibit kultur kedelai sehingga tidak mudah layu dan meningkatkan derajat tanaman hidup. Perlakuan pratransplantasi merupakan upaya adaptasi (aklimatisasi) bibit kultur secara dini terhadap lingkungan luar. Slamet *et al.* (2005) melaporkan bahwa perlakuan penyinaran bibit kultur fase pratransplantasi dengan kombinasi perlakuan lainnya pada fase pascatransplantasi meningkatkan persentase tanaman kedelai yang hidup.

### Infeksi Penyakit

Kematian bibit kultur sering disebabkan oleh serangan hama atau penyakit. Kondisi lingkungan tumbuh yang kurang steril dapat menyebabkan akar atau batang bibit terserang hama. Luka akibat serangan hama dapat menjadi tempat infeksi penyakit. Serangan penyakit yang umum dijumpai adalah karena jamur dan bakteri (Gunawan 1988). Menurut Lestari *et al.* (2001), serangan jamur dapat dipicu oleh pencucian bibit kultur yang kurang bersih dari media *in vitro* sebelum ditanam pada media berikutnya. Bakteri yang sering merusak tanaman penting adalah *Pseudomonas* sp. (Machmud 1986). Patogen layu bakteri ini dikenal memiliki kisaran inang dan daerah sebaran yang luas (Suryadi dan Machmud 2002).

Aklimatisasi tanaman kedelai juga tidak luput dari serangan penyakit layu bakteri. Husni *et al.* (2004a) melaporkan bahwa tanaman mulai mati pada hari ketiga, yang dimulai dengan bagian pangkal batang membusuk kemudian daun layu. Juga dinyatakan bahwa keberhasilan aklimatisasi tanaman kedelai semakin lama semakin sedikit. Hal serupa dilaporkan Dinarti *et al.* (2007) pada aklimatisasi tanaman bawang merah.

Fakta tersebut menunjukkan aklimatisasi tanaman kedelai cukup sulit agar terhindar dari serangan penyakit. Infeksi penyakit makin lama akan meluas sehingga menurunkan persentase tanaman hidup, tidak saja pada kedelai, tetapi juga pada tanaman penting lainnya (Tabel 1). Oleh karena itu, aklimatisasi tanaman hasil kultur *in vitro* dianjurkan menggunakan media yang steril untuk mencegah infeksi penyakit secara dini sebelum bibit kultur tumbuh kuat.

### KENDALA DAN PROSPEK

Kedelai adalah tanaman pangan penting yang secara nasional memiliki arti strategis untuk memenuhi kebutuhan pangan penduduk, terutama sebagai sumber protein nabati yang murah. Produksi kedelai nasional masih rendah sehingga pemenuhan kebutuhan domestik dilakukan melalui impor. Salah satu penyebab rendahnya produksi kedelai adalah serangan hama penyakit.

Pengendalian hama penyakit melalui pembentukan varietas tahan merupakan metode yang murah dan ramah lingkungan. Perakitan kedelai unggul dengan sifat tertentu secara konvensional sangat sulit dilakukan, namun melalui bioteknologi hal tersebut niscaya dapat dilakukan.

Perbaikan sifat tanaman unggul melalui pendekatan bioteknologi melibatkan kultur *in vitro*, baik secara langsung melalui seleksi variasi somaklonal maupun secara tidak langsung yang terintegrasi dengan sistem lain, seperti pada transformasi genetik. Aklimatisasi merupakan salah satu tahapan penting setelah

transfer genetik dan regenerasi secara *in vitro* dikuasai. Dengan dikuasainya sistem transformasi genetik, teknik regenerasi *in vitro*, dan aklimisasinya, upaya merakit kedelai unggul dengan sifat-sifat tertentu semakin terbuka lebar.

Kedelai adalah tanaman rekalsitran dan sensitif terhadap lingkungan. Salah satu kendala dalam perakitan kedelai unggul transgenik adalah kegagalan aklimatisasi. Oleh karena itu, untuk menghindari kehilangan kandidat putatif transgenik yang memiliki sifat tertentu, sebelum diaklimatisasi perlu dilakukan perbanyakannya secara *in vitro*.

## KESIMPULAN

Aklimatisasi tanaman kedelai hasil kultur *in vitro* dipengaruhi antara lain oleh ukuran bibit, perakaran, media, kelembapan udara, dan serangan hama-penyakit. Aklimatisasi tanaman kedelai hendaknya memerhatikan beberapa hal, antara lain vigor tanaman bibit kultur, yaitu tinggi tanaman dan jumlah akar, serta sterilisasi lingkungan, termasuk media tanam dan komposisinya. Perlakuan yang tepat pada fase pra-/pasca transplantasi berpengaruh positif terhadap keberhasilan aklimatisasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, B. and I. Hanarida. 1995. Production of hybrids through embryo rescue between tropical japonica rice and wild species of *Oryza*. *Rice Gen. Newsl.* 12: 165–166.
- Ambarwati, A.D., D.W. Utami, D. Damayanti, A. Sisharmini, T.J. Santoso, M. Herman, dan Minantyorini. 2001. Transformasi, studi molekuler, dan bioasai tanaman ubi jalar untuk ketahanan terhadap hama penyakit. hlm. 19–27. *Dalam* I. Mariska, I.H. Somantri, Sutrisno, M. Machmud, R.D.M. Simanungkalit, Suyono, dan I. Orbani. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Bogor, 30–31 Januari 2001. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Cassels, A.C. and R.D. Long. 1982. The elimination of potato viruses X, Y, S, and M in meristem and explants cultures of potato in the presence of virazole. *Potato Res.* 25: 165–173.
- Chung, G.S. 1992. Anther culture for rice improvement in Korea. p. 8–37. *In* K. Zheng and Murazighe (Eds.). *Anther Culture for Rice Breeders*. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.
- Damayanti, D., Sudarsono, I. Mariska, dan M. Herman. 2007. Regenerasi pepaya melalui kultur *in vitro*. *J. AgroBiogen* 3(2): 49–54.
- Dewi, I.S., A.D. Ambarwati, M.F. Masyhudi, T. Soewito, dan Suwarno. 1994. Induksi kalus dan regenerasi kultur antera padi (*Oryza sativa* L.) *Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan* 2: 136–143.
- Dinarti, D., A. Purwito, dan A.D. Susila. 2007. Optimasi daya regenerasi dan multiplikasi tunas *in vitro* bawang merah untuk mendukung penyediaan bibit berkualitas. *Jurnal Agronomi dan Hortikultura Faperta IPB*. [http://lppm.ipb.ac.id/lppmipb/penelitian/hasilcari.php?status=buka&id\\_haslit=HB/009.07/DIN/0](http://lppm.ipb.ac.id/lppmipb/penelitian/hasilcari.php?status=buka&id_haslit=HB/009.07/DIN/0) [8 Juni 2010].
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antaruniversitas Bioteknologi, IPB, Bogor. 298 hlm.
- Husni, A., S. Hutami, M. Kosmiatin, dan I. Mariska. 2004a. Pembentukan benih somatik dewasa kedelai dan aklimatisasi serta uji terhadap indikator sifat toleransi kekeringan. hlm. 159–169. *Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Husni, A., S. Hutami, M. Kosmiatin, dan I. Mariska. 2004b. Seleksi *in vitro* tanaman kedelai untuk meningkatkan sifat ketahanan terhadap cekaman kekeringan. *Laporan Tahunan Penelitian TA 2003*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. 16 hlm.
- Husni, A. dan M. Kosmiatin. 2005. Seleksi *in vitro* tanaman lada untuk ketahanan penyakit busuk pangkal batang. *J. AgroBiogen* 1(1): 13–19.
- Hutami, S., I. Mariska, M. Kosmiatin, A.V. Novianti, dan D. Soepandie. 2003. Seleksi *in vitro* dan pengujian somatik kedelai toleran Al dan pH rendah. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 22(3): 167–175.
- Karjadi, A.K. dan A. Buchori. 2008. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan jaringan meristem kentang kultivar Granola. *Jurnal Hortikultura* 18(4): 380–384.
- Kemkominfo (Kementerian Komunikasi dan Informatika). 2010. Hasil Panen Padi. Kemkominfo, Jakarta. <http://www.depkominfo.go.id/berita/bipnewsroom/hasil-panen-padi-hibrida-Intani-2-mencapai-896-ton>. [4 Juni 2010].
- Lestari, E.G., R. Purnamaningsih, dan S. Hutami. 1999. Perbanyakannya tanaman tangguh melalui kultur *in vitro*. hlm. 287–294. *Dalam* 25 Tahun Badan Litbang Pertanian. Prosiding Ekspose Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian. 31 Agustus–1 September 1999. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.
- Lestari, E.G., D. Sukmadjaya, I. Mariska, M. Kosmiatin, Y. Rusyadi, dan S. Rahayu. 2001. Perbanyakannya *in vitro* dan pengujian lanjutan pada nomor-nomor harapan panili dan lada yang tahan penyakit. hlm. 109–119. *Dalam* I. Mariska, I.H. Somantri, Sutrisno, M. Machmud, R.D.M. Simanungkalit, Suyono, dan I. Orbani. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Bogor, 30–31 Januari 2001. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Lestari, E.G. dan R. Purnamaningsih. 2005. Penyimpanan *in vitro* tanaman obat daun dewa melalui pertumbuhan minimal. *J. AgroBiogen* 1(2): 68–72.
- Leunufna, S. 2007. Kriopreservasi untuk konservasi plasma nutfah tanaman: Peluang pemanfaatannya di Indonesia. *J. AgroBiogen* 3(2): 80–88.
- Machmud, M. 1986. Bacterial wilt in Indonesia. *In* G.J. Persley (Ed.). *Bacterial Wilt in Asia and Southern Pacific*. ACIAR Proc. 13: 30–34.
- Mariska, I. 1985. Meristem. Mikrografting untuk memperoleh tanaman jeruk bebas virus. *Risalah Seminar Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*, Jakarta, 29–31 Oktober 1985.
- Mariska, I. 2002. Perkembangan penelitian kultur *in vitro*. *Buletin AgroBio* 5(2): 45–50.
- Mariska, I. dan D. Sukmadjaja. 1987. Perbanyakannya tanaman panili melalui kultur *in vitro*. *Edisi Khusus Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 111(2): 84–88.
- Mariska, I. dan S.F. Shahid. 1992. Perbanyakannya vegetatif melalui kultur jaringan pada tanaman jahe. *Buletin Penelitian Tanaman Industri* 4: 1–5.

- Mariska, I., Hobir, A., Husni, M., Kosmiatin, dan Y. Rosyadi. 1997. Kultur *in vitro* biji hasil persilangan panili budi daya dengan panili liar. Prosiding Simposium dan Kongres III PERIPI, Bandung, 24–25 September 1997.
- Pardal, S.J. 2002. Perkembangan penelitian regenerasi dan transformasi pada tanaman kedelai. Buletin AgroBio 5(2): 37–44.
- Pardal, S.J., G.A. Wattimena, M.F. Masyhudi, dan S. Harran. 1994. Pengaruh umur embrio dan genotipe tanaman terhadap pertumbuhan kultur embrio muda kedelai. Zuriat 5(2): 51–56.
- Pardal, S.J., D. R. Untari, A. Sisharmini, D. Rijadi, dan M. Herman. 1997. Regenerasi kedelai secara *in vitro*. hlm. 27–38. Prosiding Seminar Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia, Surabaya, 12–14 Maret 1997.
- Pardal, S.J., A. Sisharmini, E. Listanto, dan M. Herman. 1999. Regenerasi tanaman kedelai hasil transformasi dengan gen *gus* dan *proteinase inhibitor*. hlm. 175–189. Dalam 25 Tahun Badan Litbang Pertanian. Prosiding Ekspose Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian, 31 Agustus–1 September 1999. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.
- Pardal, S.J., G.A. Wattimena, H. Aswidinor, dan M. Herman. 2005. Transformasi genetik kedelai dengan gen *proteinase inhibitor* II menggunakan teknik penembakan partikel. J. AgroBiogen 1(2): 53–61.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus N.J. Hoff Publ., London. 344 pp.
- Purnamaningsih, R. dan I. Mariska. 2008. Pengujian nomor-nomor harapan padi tahan Al dan pH rendah hasil seleksi *in vitro* dengan kultur hara. J. AgroBiogen 4(1): 18–23.
- Roostika, I.T., I. Mariska, dan N. Sunarlim. 2004. Penyimpanan ubi kayu (*Manihot utilisima*) secara kriopreservasi dengan teknik vitri-fikasi. J. Bioteknologi Pertanian 9(1): 8–13.
- Roostika, I., N. Sunarlim, dan I. Mariska. 2005. Mikropropagasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana*). J. AgroBiogen 1(1): 20–25.
- Roostika, I., R. Purnamaningsih, I. Darmawati, dan I. Mariska. 2007. *In vitro* culture manipulation on pruatjan for secondary metabolite production. J. AgroBiogen 3(2): 55–59.
- Slamet, S.J. Pardal, dan M. Herman. 2005. Regenerasi kedelai (*Glycine max* L. Merr.) melalui kultur epikotil. Dalam M.S. Djati. Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia: Tantangan dan peluang pengembangan bioteknologi pertanian menghadapi era globalisasi. Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia, Malang.
- Somantri, I.H. dan A.D. Ambarwati. 1992. Penyelamatan embrio padi (*Oryza sativa* L.) untuk mendapatkan hibrida toleran keke- ringan. hlm. 596–600. Dalam H. Suprpto, M. Mahmud, Suwito, D. Pasaribu, Sutrisno, A. Kurnia, dan N. Mulyono (Ed.). Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Prosiding Seminar Balittan Bogor 3.
- Somantri, I.H., A. Apriana, I.S. Dewi, E. Listanto, A.D. Ambarwati, dan T.J. Santoso. 2001. Menuju perakitan tanaman padi transgenik tahan hama penggerek batang. hlm. 1–9. Dalam I. Mariska, I.H. Somantri, Sutrisno, M. Machmud, R.D.M. Simanungkalit, Suyono, dan I. Orban. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Bogor, 30–31 Januari 2001. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Subandi. 1985. Perkembangan jagung hibrida di Indonesia. Buletin Penelitian 2: 1–2.
- Supriati, Y., I. Mariska, A. Husni, dan S. Hutami. 2005. Inisiasi dan perkembangan perakaran serta aklimatisasi belimbing Dewi (*Averrhoa carambola* L.). hlm. 230–233. Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia: Tantangan dan peluang pengembangan bioteknologi pertanian menghadapi era globalisasi. Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia, Malang.
- Suryadi, Y. dan M. Machmud. 2002. Keragaman genetik strain *Ralstonia solanacearum* berdasarkan karakterisasi menggunakan teknik berbasir asam nukleat. Bulletin AgroBio 5(2): 59–66.
- Sutrisno, I.H. Somantri, B. Soegiarto, E. Listanto, D. Damayanti, S.G. Budiarti, A. Sisharmini, T.J. Santosa, dan Altosaar. 2001. Regenerasi embrio muda jagung yang diintroduksi plasmid pUBC dan pBarGus. hlm. 37–45. Dalam I. Mariska, I.H. Somantri, Sutrisno, M. Machmud, R.D.M. Simanungkalit, Suyono, dan I. Orban. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, 30–31 Januari 2001. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Suwarno, E. Lubis, Alidawati, I.H. Somantri, Minantyorini, dan M. Bustamam. 2001. Perbaikan sifat varietas padi melalui seleksi dengan markah molekuler dan kultur anter. hlm. 53–62. Dalam I. Mariska, I.H. Somantri, Sutrisno, M. Machmud, R.D.M. Simanungkalit, Suyono, dan I. Orban. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Bogor, 30–31 Januari 2001. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Wetter, L.R. and F. Constabel. 1991. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Edisi 2. Terjemahan M.B. Widiyanto. ITB, Bandung.
- Zhou, H. 1996. Genetics of green plantlet regeneration from anther culture of cereals. p. 169–187. *In vitro* Haploid Production in Higher Plants. Vol. 2. Applications. Kluwer Acad. Publ., the Netherlands.