

Pengujian Nomor-nomor Harapan Padi Tahan Al dan pH Rendah Hasil Seleksi *In Vitro* dengan Kultur Hara

Ragapadmi Purnamaningsih dan Ika Mariska

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

ABSTRACT

Testing of New Rice Clones Derived from *In Vitro* Selection for Tolerance to Al and Low pH by using Solution Culture. Ragapadmi Purnamaningsih and Ika Mariska. Rice productivity in acid soil is very low because of low pH, low availability of N, P, K, Ca, Mg, Mo, toxicity of Al and Mn. Development of Al tolerant varieties could increase rice productivity in acid soil. Somaclonal variation and *in vitro* selection method can be used to develop new Al tolerance varieties. A rapid screening method is needed to select a large number of new genotypes or new inbred lines in plant breeding, such as solution culture methods to evaluate Al-tolerant rice. This methods was used to know the response to Al in the seedling stage, root development, and pH changing. In this experiment solution culture method was used to evaluate the new genotypes derived from somaclonal variation and *in vitro* selection methods. These new genotypes have been tested the tolerance characteristic by using $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ at 6 concentrations (0, 100, 200, 300, 400, and 500 ppm). Yoshida solution with two Al concentration were used to tested these genotypes. Measurement of Al tolerance was based on root development by using Relative Root Length (RRL), the relativity of root length at 45 ppm and 0 ppm. Almost all of the genotypes have RRLs higher than 0.7, which means that there was a positive correlation between the *in vitro* method and solution culture method. In this experiment pH changes were not applicable to measure the tolerance of the rice genotypes to Al and low pH.

Key words: Rice, aluminum, *in vitro* selection, somaclonal variation, solution culture testing.

PENDAHULUAN

Peningkatan produktivitas padi merupakan masalah penting di Indonesia. Keracunan aluminium (Al) merupakan salah satu kendala dalam produksi padi. Aluminium merusak tudung akar dan menghambat pertumbuhan rambut-rambut akar sehingga menyebabkan tanaman kekurangan hara dan kerusakan daun (Delhaize dan Ryan 1995, David *et al.* 1997, Chang *et al.* 1998, Goldbold dan Jentschke 1998).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi bahan pangan ini adalah dengan memanfaatkan lahan kering yang tersedia cukup luas di luar Pulau Jawa. Di Indonesia terdapat sekitar 47,6

juta hektar (32,4%) merupakan lahan kering yang umumnya didominasi oleh tanah masam Podsolik Merah Kuning (Karama dan Abdurrachman 1993).

Penelitian terdahulu pada lahan Podsolik Merah Kuning menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman pada umumnya terhambat dan produktivitasnya sangat rendah. Hal ini disebabkan karena adanya hambatan cekaman lingkungan berupa tingkat kemasaman yang tinggi (pH rendah), ketersediaan hara N, P, K, Ca, Mg, dan Mo yang rendah serta konsentrasi Al dan Mn yang mencapai tingkat beracun (Notohadiprawiro 1983, Baligar *et al.* 1989). Menurut Marschner (1995) hal ini disebabkan oleh adanya pH rendah dan keracunan Al sehingga akar menebal dan pendek karena proses pemanjangan sel terhambat sehingga penyerapan air dan hara berkurang.

Aluminium dapat menimbulkan efek yang merugikan pertumbuhan tanaman baik secara langsung maupun tidak langsung. Pengaruh cekaman Al tidak sama pada semua tanaman, bahkan dalam spesies yang sama. Akar merupakan bagian tanaman yang paling sensitif terhadap keracunan Al. Gejala awal yang tampak pada tanaman yang keracunan Al, yaitu tidak berkembangnya sistem perakaran sebagai akibat penghambatan perpanjangan sel. Hal ini disebabkan terjadinya penggabungan Al dengan dinding sel dan penghambatan pembelahan sel, sehingga menghambat penyerapan air dan hara.

Penggunaan kultivar padi toleran terhadap Al merupakan cara yang efektif dan ramah lingkungan. Berbagai metode dapat digunakan untuk memperoleh genotipe padi yang mempunyai sifat toleran terhadap Al, antara lain persilangan konvensional, induksi mutasi, keragaman somaklonal, dan seleksi *in vitro*.

Seleksi *in vitro* untuk mendapatkan varietas baru yang toleran lahan masam telah dilakukan pada tanaman tomat dan kentang (Starvarek dan Rains, 1984), tembakau (Yamamoto 1994), dan kedelai (Mariska *et al.* 2001), sedangkan Sutjahyo (2006) telah menggunakan metode seleksi *in vitro* untuk menghasilkan varietas jagung toleran Al. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan induksi mutasi dan seleksi *in vitro* dan telah diperoleh tanaman-tanaman regenerasi (somaklon) padi yang toleran terhadap Al setelah di-

seleksi menggunakan $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ pada konsentrasi 100-500 ppm dan pH rendah (Purnamaningsih dan Mariska 2005).

Tanaman hasil seleksi *in vitro*, selanjutnya harus diuji sifat toleransinya baik di rumah kaca atau di lapang. Pada umumnya, metode seleksi terhadap Al dikelompokkan atas seleksi di laboratorium dan lapang. Seleksi di laboratorium dapat dilakukan dengan cara menyeleksi menggunakan agen seleksi tertentu, menggunakan kultur hara, dan menggunakan tanah dalam dengan kadar Al yang tinggi, sedangkan seleksi di lapang atau lahan masam merupakan metode lain untuk menyaring genotipe-genotipe yang mempunyai sifat toleransi terhadap Al. Metode pengujian di lahan masam merupakan cara yang paling efektif untuk menyeleksi tanaman toleran terhadap Al, tetapi metode tersebut membutuhkan biaya yang mahal dan kadangkala sulit diaplikasikan karena konsentrasi Al yang tidak seragam, serta adanya pengaruh lingkungan (Anas dan Yoshida 2000).

Pengujian menggunakan larutan hara merupakan salah satu metode alternatif yang dapat digunakan untuk menguji kembali nomor-nomor baru sebelum dilakukan pengujian di lapang. Pengujian di rumah kaca berguna untuk menyeleksi tanaman-tanaman dengan sifat toleransi yang tidak stabil serta untuk mengetahui korelasi antara sifat toleransi di laboratorium dan di rumah kaca. Dalam penelitian ini digunakan metode kultur hara untuk menyeleksi nomor-nomor tanaman padi yang diperoleh melalui metode seleksi keragaman somaklonal dan *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumah Kaca, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah nomor-nomor padi yang diperoleh dari penelitian sebelumnya (Purnamaningsih dan Mariska 2002).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan induksi keragaman somaklonal dan seleksi *in vitro* pada dua varietas padi, yaitu Rojolele (javanica) dan Taipei 309/T 309 (japonica). Rojolele dan Taipei 309 (T 309) merupakan varietas yang peka terhadap Al dan pH rendah.

Dari hasil penelitian diperoleh regeneran (nomor-nomor baru) yang toleran terhadap Al hasil seleksi *in vitro* dengan agen seleksi $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (pada taraf Al 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm) dan pH_4 . Pada penelitian ini nomor-nomor tersebut dipindahkan ke rumah kaca untuk selanjutnya diuji kembali sifat toleransinya de-

ngan menggunakan larutan Yoshida di rumah kaca. Media tanam yang digunakan adalah campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1 : 1. Selama proses adaptasi, tanaman disungkup dengan plastik. Setelah tanaman terlihat mulai beradaptasi dengan lingkungannya, tanaman dipindahkan ke dalam botol-botol yang dilapisi dengan aluminium foil dan diisi dengan larutan hara Yoshida.

Pada masing-masing botol ditambahkan aerator untuk mengontrol sirkulasi udara dalam botol. Setiap nomor tanaman diberikan dua perlakuan, yaitu kondisi stres dan normal. Kondisi stres dilakukan dengan menambahkan $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ pada konsentrasi aluminium 45 ppm, sedangkan pH larutan dibuat hingga 4,0 dengan menambahkan KOH atau HCl, sedangkan untuk membuat kondisi normal maka larutan hara tidak diberi Al, sedangkan pH larutan dipertahankan 5,8. Untuk mengetahui toleransi tanaman terhadap stres Al dilakukan pengelompokan berdasarkan Panjang Akar Relatif (PAR), yaitu perbandingan panjang akar tanaman pada Al 45 ppm dengan 0 ppm. Pengelompokan PAR dilakukan menurut kriteria Nasution dan Suhartini (1992) sebagai berikut >0,70 (toleran), 0,69-0,62 (medium), dan <0,62 (peka).

Untuk mempertahankan kondisi stres, maka setiap dua hari sekali pH larutan dibuat menjadi 4,0 dengan menambahkan KOH atau HCl. Derajat kemasaman larutan diukur sebelum penambahan KOH atau HCl. Sebagai tanaman kontrol digunakan varietas toleran terhadap Al, yaitu Dupa dan varietas peka, yaitu ITA. Peubah yang diamati adalah panjang akar tanaman, perubahan pH larutan serta morfologi tanaman di rumah kaca. Peubah panjang akar dan perubahan pH diamati setiap dua hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian seleksi *in vitro* diperoleh nomor-nomor tanaman yang toleran terhadap Al. Ketiga metode seleksi yang digunakan (kalus, tahap regenerasi, dan embrio) memberikan persentase regenerasi yang cenderung sama (Tabel 1).

Secara umum terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi Al yang digunakan maka persentase regenerasi tanaman juga semakin rendah. Hal ini disebabkan karena peningkatan toksisitas Al pada taraf yang lebih tinggi sehingga menyebabkan kematian pada sel/jaringan. Semua regeneran dipelihara dan dipindahkan ke media baru sampai dapat berkembang biak dan membentuk akar (planlet). Satu regeneran dianggap merupakan individu yang berbeda dengan individu lainnya. Melalui ketiga metode seleksi tersebut diperoleh 86 tanaman regeneran, akan tetapi tidak semua

tanaman tersebut dapat tumbuh dengan baik dan membentuk akar dengan sempurna. Berdasarkan morfologi tanaman dan sistem perakarannya, maka dipilih 38 tanaman yang akan diuji selanjutnya. Planlet-planlet tersebut dipindahkan ke rumah kaca, untuk selanjutnya diuji kembali sifat toleransinya terhadap Al dengan menggunakan larutan Yoshida. Jumlah regeneran yang diuji disajikan pada Tabel 2.

Panjang Akar Tanaman

Nilai Panjang Akar Relatif (PAR) dari masing-masing nomor dan tanaman kontrol disajikan pada Tabel 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada umumnya nomor-nomor baru yang diperoleh melalui metode seleksi *in vitro* mempunyai sifat toleransi yang sama setelah diuji pada kultur hara. Hal tersebut terlihat dari nilai PAR di mana semua nomor-nomor baru asal varietas T 309 mempunyai nilai PAR >0,7 yang menunjukkan bahwa tanaman tersebut merupakan tanaman yang toleran terhadap Al dan pH rendah (Khatiwada *et al.* 1996). Nilai PAR dari tanaman kontrol menunjukkan bahwa varietas T 309 merupakan tanaman yang peka terhadap Al dengan nilai PAR 0,6. Dupa adalah tanaman toleran sedangkan ITA adalah tanaman peka yang ditunjukkan dengan nilai PAR masing-masing 0,9 dan 0,3 (Tabel 3). Nilai PAR tertinggi diperoleh dari nomor Al 3-17 (sebesar 3,1) sedangkan nilai PAR terendah berasal dari nomor Al 1-19 dan Al 3-25 (sebesar 0,9).

Tabel 1. Rataan persentase regenerasi tanaman pada tiga metode seleksi *in vitro*.

Konsentrasi Al (ppm)	Metode seleksi		
	Tahap kalus (%)	Tahap regenerasi (%)	Tahap embrio (%)
Al 100	50,00	44,40	40,00
200	28,60	36,40	24,00
300	31,60	19,20	45,00
400	13,30	18,80	11,50
500	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	22,70	23,76	24,10

Tabel 2. Jumlah regeneran tanaman padi toleran terhadap cekaman aluminium yang diuji dengan metode kultur hara.

Perlakuan cekaman aluminium yang diberikan pada periode kultur <i>in vitro</i>	Jumlah regeneran toleran yang diuji
Kontrol pH 4,0	8
Al 100 + pH 4,0	10
Al 200 + pH 4,0	5
Al 300 + pH 4,0	9
Al 400 + pH 4,0	6
Jumlah	38

Tanaman yang toleran terlihat mempunyai akar yang panjang, berwarna putih serta banyak mempunyai anakan baru, sebaliknya tanaman yang peka mempunyai akar yang pendek, sedikit, dan berwarna coklat (Gambar 1). Menurut Anas dan Yoshida (2000) salah satu gejala keracunan Al adalah akar tidak dapat berkembang, tidak dapat bercabang dengan normal, dan akar mudah patah.

Nomor-nomor baru asal Rojolele menunjukkan hasil yang sama di mana pada umumnya nilai PAR dari nomor-nomor tersebut >0,7 kecuali nomor pH 4-4, Al 3-1, dan Al 4-14 (Tabel 3).

Nilai PAR tertinggi diperoleh dari nomor Al 4-18 (mencapai 5,2). Nilai PAR tanaman kontrol menunjukkan bahwa Rojolele adalah tanaman yang peka terhadap Al. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa telah terjadi mutasi sehingga tanaman yang semula sensitif terhadap Al dan pH rendah (Rojolele) menjadi tanaman yang toleran (nomor-nomor baru). Tanaman toleran dapat tumbuh dengan baik pada kondisi normal (pH 5,8) dan kondisi stres (pH 4,0).

Mutasi dapat terjadi karena adanya keragaman somaklonal yang disebabkan oleh (1) adanya keragaman pada eksplan (polisomatik), (2) jenis eksplan, (3) cara merenerasi tanaman atau pola kultur, dan (4) penggunaan zat pengatur tumbuh. Keragaman somaklonal tersebut dapat disebabkan oleh (1) perubahan jumlah kromosom, (2) perubahan struktur kromosom, (3) pindah silang somatik atau perubahan sister kromatid, (4) amplifikasi dan delesi gen, dan (5) partikel loncat (Ahlowalia 1986).

Penampilan visual dari akar menunjukkan bahwa pada kondisi pH 4,0 dan Al 45 ppm nomor-nomor tanaman yang toleran mempunyai akar yang panjang dan lebat dibandingkan pada kondisi pH 5,8 (tanpa penambahan Al). Hal ini menunjukkan bahwa gen pengontrol sifat ketahanan terhadap Al terinduksi dan menjadi aktif. Pada tanaman toleran (Dupa) pertumbuhan akar tampaknya tidak terpengaruh dengan adanya Al. Hal yang sebaliknya terjadi pada pertumbuhan akar tanaman peka (ITA) di mana pertumbuhan akar pada pH 4,0 dan Al 45 ppm sangat terhambat sehingga akar sangat pendek dan kurus (Gambar 1).

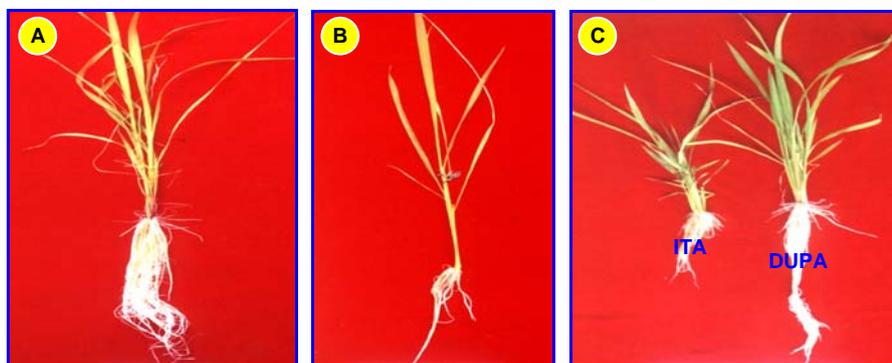
Marschner (1995) menyatakan bahwa akumulasi Al yang tinggi pada inti sel tudung akar yang menghambat pertumbuhan akar merupakan akibat dari kerusakan sel tudung akar yang berfungsi sebagai sensor terhadap cekaman lingkungan. Hal ini menyebabkan permukaan akar berwarna coklat kekuningan, berbintik dan mudah patah.

Menurut Matsumoto (1991) Al berikatan dengan DNA pada daerah ujung akar sehingga dapat meng-

Tabel 3. Nilai PAR dan perubahan pH dari nomor-nomor harapan padi toleran Al asal T 309 dan Rojolele pada pengujian dengan kultur hara, umur 14 hari.

Nomor-nomor baru/regeneran	PAR	Perubahan pH		Nomor-nomor baru/regeneran	PAR	Perubahan pH	
		PH awal				PH awal	
		pH 5,8	pH 4,0			pH 5,8	pH 4,0
Kontrol				Kontrol			
T 309 (peka)	0,6	4,1 (-1,7)	3,9 (-0,1)	Rojolele	0,6	5,9 (+0,1)	3,8 (-0,2)
Dupa (toleran)	0,9	6,4 (0,6)	4,4 (+0,4)	Dupa (toleran)	0,9	6,4 (+0,6)	4,4 (+0,4)
ITA (peka)	0,3	5,3 (-0,5)	4,2 (+0,2)	ITA (peka)	0,3	5,3 (-0,5)	4,2 (+0,2)
Hasil seleksi*				Hasil seleksi*			
pH 4-4	1,5	4,7 (-1,1)	3,9 (-0,1)	pH 4-4	0,6	5,7 (-0,1)	4,0 (0)
pH 4-1	1,3	4,6 (-1,2)	4,2 (+0,2)	pH 4-5	1,5	4,5 (-1,3)	4,4 (+0,4)
pH 4-7	1,4	4,0 (-1,8)	3,7 (-0,3)	pH 4-1	1,1	3,8 (-2,0)	4,4 (+0,4)
pH 4-2	1,6	4,0 (-1,8)	3,9 (-0,1)	pH 4-2	2,7	4,0 (-1,8)	3,9 (-0,1)
AI 1-1	1,2	3,9 (-1,9)	4,0 (0)	AI 1-14	2,1	5,8 (0)	4,3 (+0,3)
AI 1-13	2,1	5,1 (-0,7)	4,2 (+0,2)	AI 1-59	2,6	4,1 (-1,7)	3,8 (-0,2)
AI 1-10	1,1	4,1 (-1,7)	4,2 (+0,2)	AI 1-48	0,9	4,8 (-1,0)	3,7 (-0,3)
AI 1-9	1,5	4,0 (-1,8)	3,8 (-0,2)	AI 1-60	1,4	5,7 (-0,1)	3,8 (-0,2)
AI 1-19	0,9	4,7 (-1,1)	3,9 (-0,1)	AI 1-45	1,0	3,9 (-1,9)	3,9 (-0,1)
AI 2-9	1,2	4,1 (-1,7)	3,7 (-0,3)	AI 2-20	2,0	4,3 (-1,5)	4,3 (+0,3)
AI 2-15	2,0	4,0 (-1,8)	4,1 (+0,1)	AI 2-8	1,1	3,9 (-1,9)	3,8 (-0,2)
AI 2-16	2,1	4,0 (-1,8)	4,4 (+0,4)	AI 3-2	2,3	3,8 (-2,0)	3,8 (-0,2)
AI 3-16	2,0	3,9 (-1,9)	3,9 (-0,1)	AI 3-4	1,5	3,8 (-2,0)	4,4 (+0,4)
AI 3-17	3,1	3,8 (-2,0)	3,9 (-0,1)	AI 3-5	1,4	3,9 (-1,9)	4,3 (+0,3)
AI 3-21	2,3	3,8 (-2,0)	3,7 (-0,3)	AI 3-1	0,4	5,7 (-0,1)	3,8 (-0,2)
AI 3-20	1,0	5,2 (-0,6)	3,8 (-0,2)	AI 4-13	0,7	5,8 (0)	4,0 (0)
AI 3-25	0,9	4,7 (-1,1)	4,2 (+0,2)	AI 4-14	0,5	4,0 (-1,8)	3,8 (-0,2)
AI 4-19	1,5	4,9 (-0,9)	3,8 (-0,2)	AI 4-18	5,2	4,3 (-1,5)	4,2 (+0,2)
AI 4-4	1,5	4,0 (-1,8)	4,0 (0)				
AI 4-3	1,1	3,8 (-2,0)	3,7 (-0,3)				

*AI 1 = Al 100 ppm, AI 2 = Al 200 ppm, AI 3 = Al 300 ppm, AI 4 = Al 400 ppm, PAR = panjang akar relatif. Angka dalam kurung menunjukkan perubahan pH.



A = somaklon toleran Al, B = somaklon peka Al, C = varietas Dupa (toleran Al) dan ITA (peka Al)
Gambar 1. Perakaran somaklon padi dan varietas kontrol pada pH 4,0 yang ditumbuhkan dalam larutan Yosida dengan penambahan $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

hambat pembelahan sel. Hasil penelitian Delhaize dan Ryan (1995) menunjukkan bahwa pada tanaman yang peka, pertumbuhan akar dihambat oleh Al dalam waktu 24 jam walaupun Al hanya terdeteksi pada lapisan rhizodermis dan korteks.

Tanaman yang toleran terhadap keracunan Al memiliki kemampuan untuk menekan pengaruh buruk keracunan Al tersebut. Beberapa kriteria tanaman yang toleran adalah (1) akar sanggup tumbuh terus

dan ujung akar tidak rusak, (2) dapat mengubah pH di daerah perakaran, dan (3) mempunyai mekanisme tertentu di mana Al tidak sanggup menghambat serapan Ca, Mg, dan K sehingga tanaman dapat tetap memenuhi kebutuhan unsur haranya.

Perubahan pH Larutan

Pada umumnya tanaman memperoleh sifat toleransi terhadap Al dengan menghalangi masuknya Al

pada daerah-daerah sensitif seperti sitoplasma, plasma membran, dan ujung akar. Peningkatan pH di daerah perakaran (rhizosfer) merupakan salah satu mekanisme akar untuk menghindari dari toksisitas Al. Kultivar toleran terhadap Al cenderung meningkatkan pH rhizosfer daripada kultivar yang peka (Taylor 1991). Nomor-nomor yang diuji mempunyai respon yang berbeda-beda dalam kemampuannya mengubah pH rhizosfer (Tabel 3).

Pada kondisi normal (pH 5,8) umumnya terjadi penurunan pH larutan dengan cepat bahkan ada yang mencapai pH 3,8 (turun 2,0), sedangkan pada pH 4,0 dengan penambahan Al, pH larutan dapat turun atau naik tergantung kepada tingkat toleransi dari nomor-nomor yang diuji terhadap Al. Tanaman yang toleran umumnya dapat mempertahankan pH sekitar 4,0-4,4, walaupun pada beberapa nomor, pH larutan menurun sekitar 0,1-0,3. Pada tanaman kontrol terlihat bahwa pada kondisi pH 4,0 pH larutan dari varietas T 309 dan Rojolele menurun 0,1-0,2, sedangkan pada varietas Dupa meningkat, akan tetapi pada varietas ITA juga terjadi peningkatan pH larutan sebesar 0,2 walaupun ITA merupakan varietas padi yang peka. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini pH larutan tidak dapat dijadikan sebagai tolok ukur sifat toleransi terhadap Al.

Menurut Foy dan Fleming (1982) dalam Harjadi dan Yahya (1988) penambahan Al^{3+} pada tanaman sensitif dapat menyebabkan penurunan pH yang sangat tajam dibandingkan pada tanaman yang toleran. Menurut Taylor *et al.* (1985) dalam Harjadi dan Yahya (1988) peningkatan pH sebesar 0,2 dapat menekan konsentrasi Al pada larutan tanah. Dengan penambahan pH toksisitas H^+ dapat dihilangkan dan pengikatan Ca^{2+} dan Mg^{2+} pada akar dapat meningkat. Namun demikian hasil penelitian Grauer dan Horst 1992 dalam Marschner (1995) menunjukkan bahwa tanaman *yellow lupin* lebih toleran terhadap Al pada pH 4,1 daripada pH 4,5. Hasil yang sama diperoleh dari hasil penelitian Antunes dan Nunes (1997) pada tanaman gandum bahwa perubahan pH tidak berhubungan dengan sifat toleransi terhadap Al.

Peningkatan pH larutan tanah bukanlah satu-satunya tanda yang menunjukkan adanya sifat toleransi terhadap Al. Asam organik juga dapat berperan dalam penolakan Al melalui pelepasannya dari akar dan detoksifikasi Al dalam simplas. Selain itu asam organik dapat mengkelat Al serta mereduksi atau mencegah pengaruh racunnya pada tingkat seluler (Pellet *et al.* 1995). Asam malat merupakan asam organik yang paling banyak diekskresikan oleh ujung akar tanaman gandum yang toleran Al, di mana banyaknya ekskresi

asam malat mencapai 5-10 kali lebih banyak daripada tanaman yang peka (Delhaize *et al.* 1993). Selanjutnya Harjadi dan Yahya (1988) menyatakan bahwa toleransi Al pada varietas padi dihubungkan dengan taraf Si yang tinggi pada sel epidermis. Pada sel daun barley, Si dapat menekan keracunan Mn dan mungkin berperan pula dalam menawarkan keracunan Al. Selain itu Si juga dapat mengkompleks Al dalam tanah dan mengurangi toksisitasnya.

Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara sifat toleransi tanaman yang diuji melalui metode seleksi *in vitro* dan metode uji kultur hara. Tanaman yang tetap hidup pada media seleksi *in vitro* dengan penambahan Al, ternyata setelah diuji dengan kultur hara dengan penambahan Al 45 ppm dan pH rendah dapat membentuk perakaran yang baik dan tanaman dapat tumbuh dan berkembang membentuk anakan-anakan baru.

KESIMPULAN

1. Varietas toleran Al (Dupa) mempunyai nilai PAR 0,9 ($>0,7$) dengan sistem perakaran yang baik pada pH larutan 5,8 dan 4,0, sedangkan varietas peka (ITA) mempunyai nilai PAR 0,3 ($<0,62$), dengan akar yang pendek dan sangat rapuh (mudah patah).
2. Sebagian besar tanaman regenerasi yang diuji mempunyai nilai PAR $>0,7$ (toleran). Hal ini ditunjukkan oleh sistem perakaran tanaman yang sangat baik (panjang dan lebat) pada pH 5,8 (kondisi normal) dan 4,0 (kondisi stres Al). Sebaliknya tanaman peka (ITA) mempunyai perakaran pendek dan mudah patah.
3. Pada penelitian ini perubahan pH larutan pada pengujian dengan kultur hara tidak dapat dijadikan sebagai tolok ukur sifat toleransi terhadap keracunan Al dan pH rendah.
4. Sebagian besar tanaman baru yang dihasilkan melalui metode seleksi *in vitro* juga mempunyai sifat toleransi terhadap aluminium dan pH rendah setelah diuji menggunakan larutan Yoshida pada konsentrasi Al 0 dan 45 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif antara metoda seleksi *in vitro* dengan metode pengujian dengan larutan hara.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahlowalia, B.S. 1986.** Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement. *In* J. Semal (Ed.). Somaclonal Variation and Crop Improvement. Martinus Nijhoff Publisher, USA. p. 14-27.
- Anas and T. Yoshida. 2000.** Screening of Al-tolerant sorghum by hematoxylin staining and growth response. *Plant Prod. Sci.* 3:246-253.
- Antunes, A.M.G. and M.A. Nunes. 1997.** Effects of aluminum on nutrient solution pH and nitrate/ammonium uptake by triticale. *J. Plant. Nutr.* 20:1391-1401.
- Baligar, V.C., H.L. Dos Santos, G.V.E. Pitta, E.C. Filho, C.A. Vasconcellos, and A.F.D.C.B. Filho. 1989.** Aluminum effects on growth, grain yield and nutrient use efficiency ratios in sorghum genotypes. *Plant Soil* 16:257-264.
- Chang, Y.C., J.F. Ma, and H. Matsumoto. 1998.** Mechanisms of Al-induced iron chlorosis in wheat (*Triticum aestivum* L.). Al-inhibited biosynthesis and secretion of phytosiderophore. *Physiol. Plant.* 102:9-15.
- David, J., G. Simon, L. Paul, H. Stephen, and K. Leon. 1997.** Effect of aluminum oxidative, anaerobic and mechanical stress on cytoplasmic CA2+ homeostasis in roots hairs of *Arabidopsis thaliana*. Tetran-Agricultural Research Service Home Page-US.
- Delhaize, E., P.R. Ryan, and P.J. Randal. 1993.** Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Aluminum stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiol.* 103:695-702.
- Delhaize, E. and P.R. Ryan. 1995.** Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.* 107:315-321.
- Goldbold, D.L. and G. Jentschke. 1998.** Aluminum accumulation in root cell walls coincides with inhibition of root growth but not with inhibition of magnesium uptake in Norway spruce. *Physiol. Plant.* 102:553-560.
- Harjadi, S.S. dan S. Yahya. 1988.** Fisiologi Stres Lingkungan. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. 236 hlm.
- Karama, A.S. dan A. Abdurachman. 1993.** Optimasi pemanfaatan sumberdaya lahan berwawasan lingkungan. Prosiding Simposium Penelitian Tanaman Pangan. III. Puslitbangtan. Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian. Bogor 23-25 Agustus. hlm. 98-112.
- Khawidada, S.P., D. Senadhira, A.L. Carpena, R.S. Zeigler, and P.G. Fernandez. 1996.** Variability and genetics of tolerance for aluminum toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 93:738-744.
- Mariska, I., D. Soepandi, S. Hutami, E. Sjamsudin, M. Kosmiatin, dan S. Utami. 2001.** Peningkatan ketahanan terhadap aluminium pada tanaman kedelai melalui kultur *in vitro*. Laporan Kemajuan RUT. Kantor Menristek.
- Marschner, H. 1995.** Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd. Academic Press Harcourt Brace & Company, London. 889 p.
- Matsumoto, H. 1991.** Biochemical mechanism of toxicity of aluminium and the sequestration of aluminium in plant cell. Wrights, R.J. (Ed.). *Plant soil interaction at low pH.* Kluwer Academic Publisher, Netherlands. p. 825-838.
- Nasution, I. dan T. Suhartini. 1992.** Evaluasi metode uji ketahanan kultivar padi gogo terhadap tanah masam. Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus 1991. AARP. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Deptan bekerjasama dengan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. hlm. 65-80.
- Notohadiprawiro, T. 1983.** Persoalan tanah masam dalam pembangunan pertanian Indonesia. *Bull. Faperta UGM* 18:44-47.
- Pellet, D.M., D.L. Grunes, and L.V. Kochian. 1995.** Organic acid exudation as an aluminium-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta* 196:788-795.
- Purnamaningsih, R. dan I. Mariska. 2005.** Seleksi *in vitro* tanaman padi untuk sifat ketahanan terhadap aluminium. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 10(2):61-69.
- Starvarek, S.Y. dan D.W. Rains. 1984.** The development of tolerance cell to mineral stress. *Hort. Sci.* 19:377-382.
- Sutjahjo, S.H. 2006.** Seleksi *in vitro* untuk ketenggangan terhadap Al pada empat genotipe jagung. *Jurnal Akta Agraria* 9(2):61-66.
- Taylor, G.J. 1991.** Current views of the Al stress response: The physiological basis of tolerance. *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.* 10:57-93.
- Yamamoto, Y. 1994.** Quantitative estimation of aluminum toxicity in cultured tobacco cells. Correlation between aluminum uptake and growth inhibitor. *Plant Cell Physiol.* 35(4):575-583.