

PAIR/P.457/1990

PENGARUH KONSENTRASI ALUMINIUM DALAM
MEDIA SELEKSI KULTUR KALUS PADI
PADA PERTUMBUHAN KALUS

Sulistiyati, M. dan Dameria H

KP.108

PENGARUH KONSENTRASI ALUMINIUM DALAM MEDIA SELEKSI KULTUR KALUS PADI PADA PERTUMBUHAN KALUS

Sulistiyati, M.,* dan Dameria H*

ABSTRAK

PENGARUH KONSENTRASI ALUMINIUM DALAM MEDIA SELEKSI KULTUR KALUS PADI PADA PERTUMBUHAN KALUS. Penggunaan $ALCl_3 \cdot 6H_2O$ pada media diferensiasi cair dengan pH 4,1 mengakibatkan penurunan konsentrasi aluminium yang dapat larut dalam media. Sehari sesudah disterilkan dalam autoklaf terjadi penurunan yang tajam dari konsentrasi awal 22; 27,5; 33; dan 38,5 ppm masing-masing menjadi 11; 13; 14 dan 14 ppm. Sesudah empat minggu penyimpanan, konsentrasi AL mengalami kenaikan, masing-masing menjadi 17; 19; 20 dan 24 pp. Penurunan konsentrasi AL sehari sesudah disterilkan tidak berpengaruh pada pembentukan pucuk ataupun panjang akar pada R_1 , yang menentukan adalah konsentrasi AL sesudah penyimpanan empat minggu. Jumlah kalus yang tumbuh pada media diferensiasi dengan konsentrasi AL sebesar 17; 19; 20 dan 24 ppm setelah empat minggu masing-masing sebesar 87; 80,8; 77,7 dan 66,7%.

ABSTRACT

EFFECT OF ALUMINUM CONCENTRATION IN SELECTED MEDIUM OF RICE CALLUS CULTURE ON RICE TOLERANCE. The use of $ALCl_3 \cdot 6H_2O$ in liquid differentiated medium pH 4,1 reduce the concentration of soluble aluminum in the media. One day after being autoclaved, the concentration of AL dropped drastically, from the initial AL concentration of 22; 27.5 33 and 38.5 ppm to 11; 13; 14 and 14 ppm, respectively. After four weeks storage, the concentration of AL raise to 17; 19; 20 and 24 ppm, respectively. The decrease of AL concentration one day after being autoclaved did not affect the shoots formation of calli or the root length on R_1 seedlings. The amount of growing callus in liquid differentiated medium of 17; 19; 20 and 24 ppm aluminum concentration after four weeks were 87; 80,8; 77.7 and 66.7%, respectively.

* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN

PENDAHULUAN

Di beberapa daerah, lahan kering tidak dapat dimanfaatkan karena kandungan AL-nya tinggi. Di alam, AL terdapat dalam bentuk senyawa kimia sebagai $ALCl_3 \cdot 6H_2O$ atau $AL_2(SO_4)_3$ yang larut dalam air tanah pada pH rendah. AL yang dapat larut pada tanah masam ini sangat merugikan bagi pertumbuhan padi, karena AL bersifat racun terhadap tanaman.

Pada penelitian yang sudah dilakukan (1), toleransi tanaman padi terhadap AL dapat dinaikkan dengan bantuan sinar gamma melalui teknik kultur jaringan. Pada penelitian tersebut digunakan media diferensiasi cair sebagai media seleksi dengan penambahan AL sampai 14 ppm. CHAUNDHRY dkk. (2) dan ZAPATA dkk. (3), melakukan seleksi kecambah dengan menggunakan larutan hara yang ditambah AL 30 ppm. CAMARGO dkk. (4, 5) melakukan pengujian kecambah dengan larutan hara ditambah AL dengan konsentrasi antara 10 hingga 50 ppm, bahkan FAGERIA (6) menggunakan konsentrasi AL hingga 60 ppm. Dalam penelitian ini digunakan konsentrasi AL dari 22 hingga 38,5 ppm.

Larutan hara yang digunakan pada seleksi kecambah padi adalah Kimura B yang mengandung total garam 234 mg/l. Penambahan AL hingga 60 ppm pada larutan dengan pH 4 tidak menimbulkan endapan. Lain halnya pada media diferensiasi yang digunakan untuk media seleksi *in vitro* mengandung total bahan padat sebanyak 52,598 g/l. Walaupun pH media se-

belum disterilkan dalam autoklaf adalah 4,1 penambahan AL akan menimbulkan endapan setelah beberapa hari kemudian. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui berapa banyak AL yang dapat larut pada media diferensiasi hingga minggu keempat, karena seleksi ketahanan terhadap AL pada media diferensiasi dilakukan selama empat minggu. Di samping itu juga diamati pengaruh konsentrasi AL yang terlarut terhadap pertumbuhan kalus.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah mayang padi varietas Tetap dengan panjang antara 5 dan 25 mm. Bahan disterilkan dengan larutan natrium hipoklorit 0,525% ditambah beberapa tetes tween 80, dikocok selama 10 menit, kemudian dibilas dengan air steril (3x). Kemudian ditanam di media Murashige dan Skoog yang ditambah dengan 2,4-D 2 ppm, kasein hidrolisat, dan ekstrak ragi masing-masing 1,5 g/l. Kalus terbentuk dari mayang yang membengkak. Sesudah tujuh hari di media, kalus yang terbentuk diiradiasi dengan sinar gamma dengan dosis berulang 15Gy + 15Gy, dengan selang waktu penyinaran satu jam. Sesudah diiradiasi, kalus dipindahkan ke media diferensiasi cair Murashige dan Skoog steril yang diberi tambahan 0,37 ppm NAA; 10,8 ppm kinetin; kasein hidrolisat dan ekstrak ragi masing-masing 1,5 g/l. Sebelum disterilkan dalam autoklaf pH media ditentukan 4,1 dengan

penambahan HCL atau Na OH. Kemudian AL ditambahkan pada media sebagai $ALCL_3 \cdot 6H_2O$ dengan konsentrasi 22; 27.5; 33; dan 38,5 ppm. Media ini disterilkan selama 20 menit dengan suhu $121^{\circ}C$. Media cair sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam botol berukuran 500 ml, agar kalus yang ditaruh di dalamnya tidak tenggelam. Kalus berada di media diferensiasi yang mengandung AL selama empat minggu. Pucuk yang tumbuh dipindahkan ke media basal selama empat minggu, kemudian tanaman yang tumbuh dipindahkan ke tanah. Biji padi yang dihasilkan tanaman ini disemai selama empat hari kemudian diuji toleransi terhadap AL dengan menggunakan larutan Kimura B ditambah 30 ppm AL selama dua minggu.

Analisis Aluminium. Larutan media diferensiasi cair diambil bagian atasnya, lalu dianalisis dengan alat Spektrofluorofotometer buatan Shimadzu model RF-520 pada panjang gelombang eksitasi dan emisi masing-masing 420 nm dan 615 nm. pH larutan diukur sehari dan 4 minggu setelah disterilkan. Pengukuran dilakukan dengan dua ulangan, masing-masing triplo.

HASIL

Konsentrasi AL dalam Media. Sebelum disterilkan media dengan empat macam konsentrasi AL yang digunakan tidak memperlihatkan adanya endapan. Akan tetapi sehari sesudah disterilkan endapan mulai terlihat. Endapan ini tetap ada

hingga penyimpanan empat minggu.

Gambar 1 memperlihatkan perubahan konsentrasi AL yang terjadi dalam media diferensiasi cair sampai penyimpanan empat minggu. Konsentrasi AL pada bagian atas media, yaitu bagian yang jernih, terlihat menurun sehari sesudah diste-rilkan, yaitu masing-masing menjadi 11; 13; 14 dan 14 ppm dari konsentrasi awal sebelum disterilkan 22; 23,5; 33 dan 38,5 ppm. Sesudah empat minggu penyimpanan, terjadi kenaikan konsentrasi AL pada media, yaitu masing-masing menjadi 17; 19; 20 dan 24 ppm.

Pembentukan Pucuk pada Media Diferensiasi. Kalus mulai berdiferensiasi membentuk pucuk pada minggu kedua sesudah dipindahkan ke media diferensiasi. Tabel 1 memperlihatkan pembentukan pucuk dari kalus padi yang diiradiasi dengan sinar gamma dengan dosis berulang 15 + 15 Gy. Di sini terlihat bahwa makin tinggi konsentrasi AL awal yang diberikan, makin sedikit kalus yang dapat membentuk pucuk. Walaupun demikian, pada konsentrasi AL awal tertinggi yang diberikan, yaitu 38,5 ppm masih dihasilkan kalus berpucuk yang cukup banyak, yaitu 66,7%. Penyinaran kalus dengan sinar gamma dosis 15+ 15 Gy merupakan dosis letal untuk kalus yang berdiferensiasi pada media cair pH 4,1.

Pengamatan pada R_1 . Pengamatan pada kecambah R_1 ditujukan pada panjang akar. Tabel 2 memperlihatkan variasi panjang akar pada kecambah induk dan R_1 . Keempat dosis AL

yang diberikan pada media diferensiasi menyebabkan luas variasi panjang akar. Akan tetapi perluasan yang terjadi pada dosis AL awal 22 ppm mengarah pada akar yang lebih pendek. Pada dosis AL awal 27,5 ppm hingga 38,5 ppm terjadi perluasan variasi pada kedua arah, yaitu kearah makin pendek dan makin panjang. Perbedaan panjang akar pada tanaman induk, disebabkan oleh faktor lingkungan. Adanya perbedaan yang nyata antara tanaman induk dengan tanaman R₁ menunjukkan belum ada perubahan genetik yang terjadi sebagai akibat perlakuan keempat dosis AL.

PEMBAHASAN

Analisis AL dalam media cair diambil bagian atasnya saja, hal ini disebabkan jaringan tanaman hanya dapat menyerap unsur-unsur yang terlarut.

Beberapa peneliti terdahulu (7, 8) tidak mensterilkan AL dengan menggunakan pemanasan melainkan dengan filtrasi. MUNNS dan KEYSER (8) mengatakan bahwa pemanasan larutan AL menyebabkan terjadinya polimerisasi ion AL sehingga menurunkan toksisitas AL. Hal ini juga terjadi pada penelitian ini. Sehari sesudah disterilkan dalam autoklaf, konsentrasi AL menurun dengan tajam dari 22,5 ppm menjadi 11 ppm. Konsentrasi AL tertinggi sesudah disterilkan 33 ppm. Walaupun konsentrasi awal dinaikkan hingga 38,5 ppm, konsentrasi sesudah disterilkan tetap 14 ppm, sehingga konsentrasi 14 ppm

sehari sesudah disterilkan merupakan konsentrasi jenuh. Akan tetapi penyimpanan media selama empat minggu sesudah disterilkan tidak memberi pengaruh. Hal ini terlihat pada konsentrasi AL awal 33 dan 38,5 ppm menjadi 14 ppm sesudah disterilkan. Pucuk yang terbentuk adalah 77,7% dan 66,7%, jadi ada penurunan 10%. Sesudah empat minggu disimpan, konsentrasi AL tersebut menjadi 20 dan 24 ppm. Dengan demikian pembentukan pucuk mempunyai kaitan dengan konsentrasi AL pada media sesudah disimpan selama empat minggu. Makin tinggi konsentrasi AL sesudah penyimpanan media empat minggu, makin sedikit pucuk terbentuk.

Oleh karena toleransi AL berkaitan erat dengan panjang akar (2, 9 dan 10) maka pengamatan kecambah R_1 ditujukan pada panjang akar. Seperti halnya pada pembentukan pucuk, pada pengamatan kecambah R_1 juga terbukti bahwa konsentrasi AL pada media sesudah penyimpanan empat minggu yang memegang peranan. Variasi panjang akar terluas terdapat pada konsentrasi 24 ppm pada media sesudah disimpan empat minggu. Dengan demikian penurunan konsentrasi AL sehari sesudah disterilkan yang mencapai titik jenuh 14 ppm tidak mempunyai pengaruh pada pembentukan pucuk ataupun panjang akar pada R_1 , yang menentukan adalah konsentrasi AL sesudah penyimpanan empat minggu.

KESIMPULAN

1. Konsentrasi AL dalam media sehari sesudah disterilkan mengalami penurunan yang tajam, yaitu dari konsentrasi awal 22; 27,5; 33; dan 38,5 ppm masing-masing menjadi 11; 13; 14 dan 14 ppm.
2. Sesudah empat minggu penyimpanan, terjadi kenaikan konsentrasi AL pada media, yaitu masing-masing menjadi 17; 19; 20 dan 24 ppm.
3. Konsentrasi AL sehari sesudah disterilkan tidak berpengaruh pada pembentukan pucuk ataupun panjang akar pada R_1 , yang menentukan adalah konsentrasi AL sesudah penyimpanan empat minggu.
4. Dengan konsentrasi AL sebesar 17; 19; 20 dan 24 ppm setelah empat minggu penyimpanan diperoleh populasi kalus yang berkecambah masing-masing sebesar 87; 80,8; 77,7 dan 66,7%.

UCAPAN TERIMA KASIH

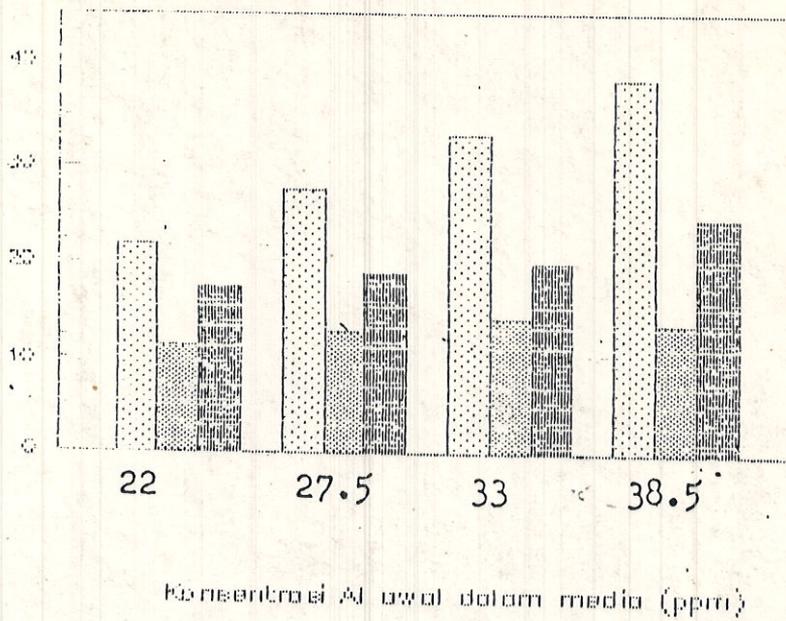
Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdri. Herlina Surhubel dan Sdr. Parno atas bantuannya hingga penelitian ini terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

1. DAMERIA, H., Menaikkan toleransi aluminium pada padi dengan sinar gamma melalui teknik kultur jaringan, (Laporan PAIR 1990), akan dipublikasikan.
2. CHAUDHRY, M.A., YUSHIDA, S., and VERGARA, B.B., Induced mutations for aluminium tolerance after N-methyl-N-nitroso urea treatment of fertilized egg cells in rice, *Env. Exp. Bot.*, 27 (1987) 37.
3. ZAPATA, F.J., EUCARNACTION, G.D., ALDEMITA, R., TORRIZO, L. ABRIGO, E., NOVERO, A., and CABUDLAY, G., Rice Abstract, 11 4 (1988) 1346
4. DE CAMARGO, C.E.O., DE CAMARGO, O.B.A., and SOUZA, D.M., Different concentration of Aluminium in nutritive solutions and tolerance of rice cultivars, *Rice Abstract Vol. 10* (1987) 2.
5. DE CAMARGO, C.E.O. DE CAMARGO, B.B.A., and DE SOUZA, D.M Effects of different concentrations of aluminium in the nutrient solution or the tolerance of rice cultivars, In *Rice Abstracts*, 9 3 (1986) 568.
6. FAGERIA, Influence of Al in nutrient solution on chemical composition in 2 rice cultivars at different growth stages, In *Rice Abstract* 9 6 (1986) 2732.
7. AYANABA, A., ASANUMA, S., and MUNNS, D.N., An agar plate method for rapid screening of Rhizobium for tolerance to acid-aluminum stress, *Soil Sc. Soc. Am. J.* 47 2 (1983) 256.
8. MUNNS, D.N., and KEYSER, H.H., Response of Rhizobium strains to acid aluminum strees, *Soil Biol. Biochem.* 13 (1981) 115.
9. WAGATSUMA, T., KANEKO, M., and HAYASAKA, Y., Destruction process of plant root cells by aluminum, *Soil Science and Plant Nutrition* 33 2 (1987) 161.
10. BENNET, R.H., BREEN, C.M., and FEY, M.V., The effects of aluminum on root cap function and development in *Zea Mays L.*, *Env. Bot.* 27 (1987) 91.

Tabel 1. Pengaruh Al dalam media diferensiasi terhadap pertumbuhan pucuk kalus padi yang diradiasi dengan sinar gamma dosis 15Gy + 15 Gy.

Konsentrasi Al (ppm)	Jumlah kalus yang ditanam	Jumlah kalus yang berpucuk	%
0	19	0	0
22,0	23	20	87,0
27,5	26	21	80,8
33,0	27	21	77,7
38,5	18	12	66,7



Gambar 1. Perubahan konsentrasi Al dalam media diferensiasi cair setelah penyimpanan 4 minggu

-  sebelum disterilkan
-  sesudah disterilkan
-  sesudah 4 minggu

Tabel 2. Variasi panjang akar pada populasi kecambah induk dan R₁.

Panjang akar (cm)	Induk	R ₁ A		R ₁ B		R ₁ C		R ₁ D	
		Jumlah tanaman	Frek. (%)						
4	5,1	323	20,26	196	13,70	248	11,68	132	8,62
5,2	6,3	422	26,47	288	20,14	565	26,61	329	21,46
6,4	7,5	351	22,03	197	13,78	452	21,29	386	25,20
7,6	8,7	266	16,69	466	32,59	427	20,14	297	19,39
8,8	9,9	108	35,17	217	13,61	252	17,62	364	22,81
10	11,1	19	6,19	12	0,75	27	1,89	60	4,05
11,2	12,3	3	1,95	3	0,19	3	0,21	4	0,26
12,4	13,5	-	-	-	-	1	0,07	2	0,13
13,6	14,7	-	-	-	-	-	-	-	-
14,8	16	-	-	-	-	-	-	1	0,07
Total		307	100%	1594	100%	1430	100%	2123	100%
Sata-rata Ragam		8,5866		7,12296		7,649		7,4946	
		1,6700		2,6601*		2,7726*		2,7450*	

Keterangan :

- R₁ A : Keturunan R₀ yang berdi-ferensiasi pada media dengan A₁ 22,0 ppm
 - R₁ B : Keturunan R₀ yang berdi-ferensiasi pada media dengan A₁ 27,5 ppm
 - R₁ C : Keturunan R₀ yang berdi-ferensiasi pada media dengan A₁ 33,0 ppm
 - R₁ D : Keturunan R₀ yang berdi-ferensiasi pada media dengan A₁ 38,5 ppm
- * Berbeda nyata terhadap ragam kontrol.