

Respon Pertumbuhan Embrio Somatik Kedelai (*Glycine max*) Varietas Argomulyo dan Wilis Terhadap Cekaman NaCl

Rafika Lailiyatul Kurnia Sari dan Dini Ermavitalini

Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

E-mail: dinierma@bio.its.ac.id

Abstrak—Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan embrio somatik kedelai varietas Argomulyo dan Wilis sebagai respon interaksi antara varietas dan konsentrasi cekaman NaCl. Parameternya adalah jumlah embrio somatik yang terbentuk pada akhir induksi pembentukan embrio somatik setelah satu bulan masa subkultur. Data dianalisis dengan uji Anova *Two-Way* kemudian dilanjutkan uji Tukey tingkat kepercayaan 95%. Varietas yang digunakan adalah varietas Argomulyo dan varietas Wilis. Konsentrasi NaCl yang digunakan adalah 0 mM, 50 mM, 100 mM, dan 200 mM dengan penambahan ZPT 2,4-D dan NAA 5 mg/L. Hasil penelitian ini adalah interaksi antara varietas dan konsentrasi NaCl tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan embrio somatik kedelai.

Kata Kunci—Argomulyo, Cekaman NaCl, Embrio somatik, Kedelai (*Glycine max*), Wilis

Dalam rangka ketahanan dan kemandirian pangan di Indonesia, maka diperlukan upaya peningkatan produktivitas pertanian, khususnya untuk tanaman pangan. Upaya intensifikasi selama ini dinilai berhasil, namun produktivitas sudah mendekati keadaan jenuh, sehingga upaya ekstensifikasi dengan memanfaatkan lahan marginal merupakan alternatif yang harus segera dilakukan. Indonesia sangat berpotensi mengembangkan pertanian di lahan marginal untuk peningkatan produktivitas tanaman pangan, mengingat luasan lahan yang dimiliki lebih dari 30 juta hektar dan memiliki kesiapan teknologi budidaya melalui aplikasi bioteknologi. Riset di bidang bioteknologi sudah banyak dilakukan di Indonesia dan hasil-hasilnya sangat berpotensi untuk peningkatan produksi tanaman pangan di lahan marginal[1].

Penanaman varietas kedelai yang toleran di lahan salin, merupakan salah satu alternatif dalam pengembangan serta peningkatan budidaya dan penanaman kedelai. Untuk keperluan tersebut perlu dilakukan penelitian tentang respon fisiologis yang dapat digunakan sebagai penanda untuk tanaman yang toleran terhadap salinitas dengan konsentrasi NaCl tinggi[2].

Penggunaan teknik kultur jaringan dapat menghasilkan variasi somaklonal sebagai keragaman genetik tanaman. Variasi tersebut dapat berasal dari keragaman genetik eksplan yang digunakan atau yang terjadi dalam kultur jaringan. Variasi somaklonal sangat memungkinkan untuk

mengubah satu atau beberapa sifat yang diinginkan dengan tetap mempertahankan karakter unggul lainnya yang sudah dimiliki oleh tanaman induk[3].

Respon fisiologis dapat dibedakan menjadi 3 yaitu tingkat sel, kalus dan embrio. Sel merupakan bagian organ dari tanaman yang sifatnya lebih stabil daripada kalus. Eksplan dari kalus membutuhkan waktu yang singkat, dan memiliki tingkat mutasi yang lebih besar. Embrio khususnya embrio somatik didapatkan dari hasil embriogenesis somatik, dimana embrio somatik berkembang menjadi individu baru dengan tahap-tahap yang spesifik. Embrio merupakan tahap dimana tanaman memiliki kemungkinan yang lebih besar untuk menjadi individu baru[4].

Embriogenesis somatik adalah menumbuhkan embrio (calon tanaman) dari sel somatik atau sel tanpa dibuahi. Dapat juga didefinisikan sebagai proses regenerasi eksplan melalui pembentukan struktur menyerupai embrio (embrioid) dari sel somatik yang telah memiliki calon akar dan tunas. Embrio somatik primer (embrio yang pertama muncul dari eksplan) tergantung pada jaringan eksplan dan kadar auksin pada media induksi[5].

II. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada dilaksanakan bulan Desember 2012 – Maret 2013 di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi FMIPA ITS.

Media yang digunakan dalam penelitian ini antara lain media induksi kalus embriogenik, media induksi embrio somatik dan media perlakuan terhadap NaCl.

Media induksi kalus embriogenik adalah media dasar MS dengan penambahan vitamin dari media B5, sukrosa 30%, agar, 10 mg L-1 2,4D dan 10 mg L-1 NAA. Media Induksi kalus embriogenik dibuat sebanyak 25 botol kultur pada setiap varietas.

Sedangkan untuk media induksi embrio somatik primer yaitu media dasar MS dengan penambahan vitamin B5, sukrosa 3%, agar, 5 mg L-1 2,4D dan 5 mg L-1. NAA (Khumaidah dan Handayani, 2010). Media induksi embrio somatik primer dibuat sebanyak 15 botol pada setiap varietas.

Media induksi embrio somatik sama dengan media induksi embrio somatik primer ditambah dengan faktor seleksi berupa NaCl dengan konsentrasi 0mM, 50 mM, 100mM dan 200mM.

A. Induksi Kalus Embriogenik

Eksplan kotiledon steril diletakkan dalam *petridish* dengan alas kertas tissue atau kertas serap steril untuk mengeringkan eksplan. Eksplan dipotong dengan menggunakan scalpel dengan panjang sekitar 2-3 mm dan ditanam dalam media induksi kalus embriogenik. Eksplan yang telah ditanam dalam botol kultur diatur pada rak-rak kultur.

B. Induksi Embrio Somatik

Setiap botol kultur terdiri atas 2 gram kalus embriogenik yang ditanam pada media induksi embrio somatik. Setelah itu kultur diinkubasi dalam ruangan dengan suhu antara 23°C sampai 25°C selama satu bulan.

C. Perlakuan Terhadap NaCl

Induksi embrio somatik dipelihara selama satu bulan. Dalam percobaan ini setiap botol berisi 2 gram eksplan embrio somatik yang dihasilkan pada induksi embrio somatik dan untuk setiap kombinasi perlakuan diulang tiga kali. Kultur diinkubasi dalam ruangan dengan suhu antara 23°C sampai 25°C.

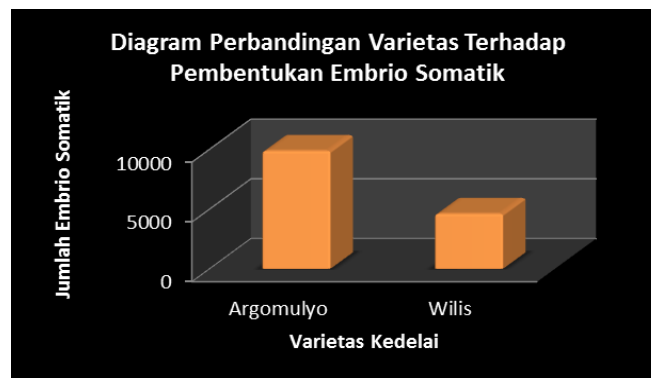
III. HASIL DAN DISKUSI

A. Pengaruh faktor varietas terhadap jumlah embrio somatik

Pengaruh varietas menunjukkan adanya beda nyata antar kedua varietas, dimana varietas Argomulyo merupakan varietas yang memiliki jumlah embrio lebih banyak jika dibandingkan dengan varietas Wilis. Beda nyata yang ditunjukkan hasil uji statistika ini didukung beberapa faktor diantaranya ukuran biji kedelai varietas Argomulyo lebih besar dibandingkan dengan kedelai varietas Wilis [6].

Tingkat hasil suatu tanaman ditentukan oleh interaksi faktor genetik varietas unggul dengan lingkungan tumbuhnya seperti kesuburan tanah, ketersediaan air, dan pengelolaan tanaman. Tingkat hasil varietas unggul yang tercantum dalam deskripsi umumnya berupa angka rata-rata dari hasil yang terendah dan tertinggi pada beberapa lokasi dan musim. Potensi hasil varietas unggul dapat saja lebih tinggi atau lebih rendah pada lokasi tertentu dengan penggunaan masukan dan pengelolaan tertentu pula. Biasanya untuk mendapatkan hasil yang lebih tinggi dari penggunaan varietas unggul diperlukan pengelolaan yang lebih intensif dan perhatian serius serta kondisi lahan yang optimal. kedelai varietas Wilis memiliki tingkat toleran lebih kecil yaitu dengan status "Agak tahan terhadap penyakit karat dan virus" dibandingkan dengan kedelai varietas Argomulyo yang memiliki status ketahanan "Toleran terhadap penyakit karat daun" [7].

Induksi embrio somatik dari kultur kotiledon kedelai menggunakan media MS modifikasi vitamin B5 (Gamborg) dengan penambahan hormon auksin NAA dan 2,4D masing-masing 10mg/L merupakan media yang tepat induksi embrio somatik kedelai 2,4-D merupakan auksin sintesis yang sangat aktif dan kuat, cukup resisten terhadap degradasi



Gambar 1. Diagram perbandingan varietas terhadap pembentukan embrio somatik

Tabel 1. Tabel pengaruh konsentrasi terhadap jumlah embrio somatik

Konsentrasi NaCl	Rata-rata	Pengelompokan
0 mM	13477	A
50 mM	9382	A B
100 mM	5306	B C
200 mM	791	C

enzimatik dan proses konjugasi dengan senyawa lain [8]. induksi embrio somatik hormon 2,4-D cenderung menginduksi embrio somatik secara tidak langsung melalui fase kalus sehingga jumlah embrio yang dihasilkan cukup banyak. Namun embrio yang dihasilkan banyak yang abnormal dan sulit dikedambahkan menjadi planlet. NAA cenderung menginduksi embrio secara langsung tanpa pembentukan kalus. Embrio yang dihasilkan relatif normal dan mudah dikedambahkan, tetapi jumlahnya sedikit. Namun konsentrasi yang tepat untuk penambahan kedua hormon auksin tersebut dapat menghasilkan kalus embriogenik kedelai. Sel kalus yang merespon ZPT 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) mengalami dediferensiasi kemudian menyebar ke seluruh bagian eksplan. Kalus tersebut terbentuk karena dipacu oleh ZPT 2,4-D. Pembentukan pada ujung ekplan diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menjadi dua. Ketika tanaman dilukai, kalus akan terbentuk akibat selnya mengalami kerusakan dan autolisis dimana dari sel yang rusak tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang merangsang pembelahan sel di lapisan berikutnya sehingga terbentuk gumpalan sel-sel yang terdiferensiasi [9].

B. Pengaruh faktor konsentrasi NaCl terhadap jumlah embrio somatik

Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap jumlah embrio somatik yang terbentuk disajikan dalam tabel 1.

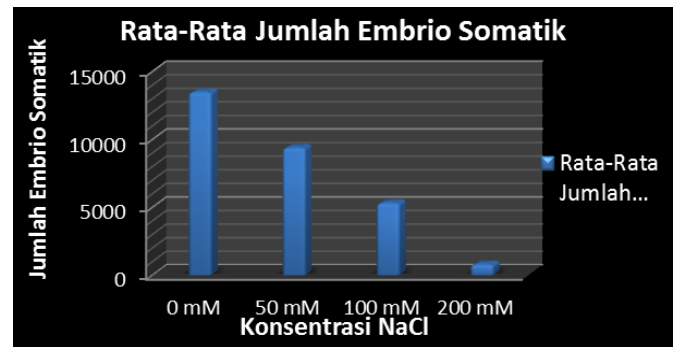
Berdasarkan hasil uji statistik, dapat diketahui bahwa terdapat beda nyata antara konsentrasi NaCl yang mempengaruhi jumlah embrio somatik pada kedua varietas kedelai. Beda nyata ini terlihat pada konsentrasi 1 yaitu 0 mM atau kontrol, jumlahnya sangat berbeda dengan konsentrasi 4 yaitu konsentrasi 200 mM. konsentrasi 1

menempati kelas terbaik yaitu kelompok A, sedangkan konsentrasi terburuk pada konsentrasi 4 yaitu pada kelas C. Visualisasi rata-rata pada tabel diatas dalam bentuk diagram dapat dilihat pada Gambar 2.

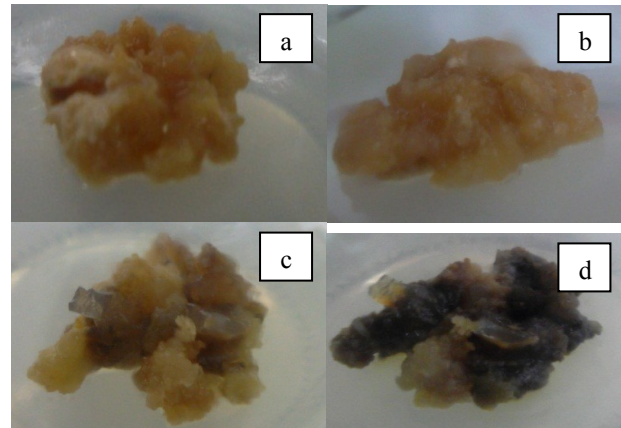
Berdasarkan hasil uji statistik, dapat diketahui bahwa terdapat beda nyata antara konsentrasi NaCl yang mempengaruhi jumlah embrio somatik pada kedua varietas kedelai. Beda nyata ini terlihat pada konsentrasi 1 yaitu 0 mM atau kontrol, jumlahnya sangat berbeda dengan konsentrasi 4 yaitu konsentrasi 200 mM. konsentrasi 1 menempati kelas terbaik yaitu kelompok A, sedangkan konsentrasi terburuk pada konsentrasi 4 yaitu pada kelas C. konsentrasi 50 mM memiliki perbedaan dengan konsentrasi 0 mM namun tidak signifikan. Konsentrasi 50 mM dengan konsentrasi 100 mM juga tidak memiliki perbedaan yang signifikan, begitu pula konsentrasi 100 mM dengan konsentrasi 200 mM. konsentrasi 50 mM berbeda secara signifikan terhadap konsentrasi 200 mM. dengan adanya beda nyata pada konsentrasi NaCl, dapat diketahui bahwa cekaman garam mempengaruhi pembentukan embrio somatik. NaCl dapat mempengaruhi tekanan osmotik serta mempengaruhi pembentukan jumlah embrio somatik karena NaCl menghambat proses pergerakan air yang melalui membran semipermeable karena perbedaan konsentrasi larutan. Hal ini membuat sel dalam keadaan hipertonik dimana air menentukan keseimbangan antara konsentrasi dalam dan luar sel dengan berpindah ke lingkungan. Semakin pekat larutan NaCl yang terkandung dalam media maka akan semakin banyak air dalam sel yang keluar sehingga membuat sel tumbuhan mengalami kematian. Arah osmosis ditentukan oleh perbedaan konsentrasi zat terlarut total. Air berpindah dari larutan hipotonik ke hipertonik sekalipun larutan hipotoniknya memiliki variasi zat terlarut lebih banyak dibandingkan dengan larutan hipertonik.

NaCl dapat mempengaruhi tekanan osmotik serta mempengaruhi pembentukan jumlah embrio somatik karena NaCl menghambat proses pergerakan air yang melalui membran semipermeable karena perbedaan konsentrasi larutan. Hal ini membuat sel dalam keadaan hipertonik dimana air menentukan keseimbangan antara konsentrasi dalam dan luar sel dengan berpindah ke lingkungan. Semakin pekat larutan NaCl yang terkandung dalam media maka akan semakin banyak air dalam sel yang keluar sehingga membuat sel tumbuhan mengalami kematian. Arah osmosis ditentukan oleh perbedaan konsentrasi zat terlarut total. Air berpindah dari larutan hipotonik ke hipertonik sekalipun larutan hipotoniknya memiliki variasi zat terlarut lebih banyak dibandingkan dengan larutan hipertonik.

Pembentukan embrio somatik merupakan langkah induksi yang dimana sel somatik berdiferensiasi dan berkemampuan menjadi embriogenik secara langsung (tanpa melalui fase kalus) atau secara tidak langsung (dengan berdiferensiasi dan melalui fase kalus). Setelah dirangsang dengan tepat, kematian jaringan dan hilangnya turgor. mungkin



Gambar 2. Diagram perbandingan konsentrasi NaCl pada varietas Argomulyo dan varietas Wilis pada pembentukan embrio somatik.



Gambar 3. (a) Kalus kedelai varietas Argomulyo konsentrasi garam 200 mM sebelum dilakukan cekaman. (b) Kalus kedelai varietas Argomulyo konsentrasi garam 200 mM setelah dilakukan cekaman. (c) Kalus kedelai varietas Wilis konsentrasi garam 200 mM sebelum dilakukan cekaman (d) Kalus kedelai varietas Wilis konsentrasi garam 200 mM setelah dilakukan cekaman.

fase ini diikuti dengan ekspresi atau inisiasi dari embrio somatik yang memiliki kemampuan sel atau proembrio mulai berkembang, akhirnya selama maturasi, embrio somatik mengantisipasi perkecambahan dengan mengakumulasi cadangan [10]

Berdasarkan Uji Anova dan Uji lanjutan Tukey, varietas berpengaruh terhadap pembentukan embrio somatik, konsentrasi juga berpengaruh terhadap pembentukan embrio somatik, sedangkan pengaruh interaksi antara varietas dan konsentrasi NaCl terhadap pembentukn embrio somatik kedelai tidak berbeda nyata dengan *p-value* yang lebih besar daripada 0,05.

Warna kalus yang semakin gelap (coklat) pada konsentrasi 200 mM menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus semakin menurun. Molekul NaCl yang mengalami ionisasi menjadi Na^+ dan Cl^- sehingga terjadi peningkatan salinitas media yang menginduksi terjadinya cekaman ion dan mengakibatkan kematian sel-sel kalus. Selain itu, peningkatan konsentrasi NaCl juga menyebabkan terjadinya penurunan potensial air larutan pada media dan menginduksi terjadinya cekaman kekeringan. Tanggapan tanaman terhadap lingkungan NaCl umumnya diakibatkan oleh adanya perubahan metabolisme. Apabila perubahan tersebut cukup berat akan menyebabkan kerusakan jaringan, bahkan kematian tanaman. Batas ketahanan dari tiap-tiap spesies tanaman disebabkan oleh terhentinya pertumbuhan, menghasilkan efek cekaman, seperti membuat perlukaan sel

atau jaringan menjadi zat pengatur tumbuh. Respon dalam memakai efek cekaman ini pada tahap cekaman dan kematian sel apabila mereka mereka tidak dapat mentolelir tingkat cekaman yang diberikan. Efek lain dari cekaman ini dihubungkan dengan mekanisme adaptasi seperti

B. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah kedua varietas berpengaruh nyata terhadap pembentukan embrio somatik kedelai dimana varietas Argomulyo didapatkan embrio somatik yang lebih banyak. Konsentrasi NaCl 0mM dan 200 mM berpengaruh nyata terhadap pembentukan embrio somatik kedelai. Interaksi antara varietas dan konsentrasi NaCl tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan embrio somatik kedelai.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis R.L.K.S mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dan membimbing dalam terselesainya Laporan Tugas Akhir, antara lain: Allah SWT atas berkah dan Rahmat-Nya; Ibu Dini Ermavitalini S.Si, M.Si selaku Dosen Pembimbing Tugas Akhir; Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri selaku Ketua Jurusan Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember dan Dosen Wali, Ibu Wirdhatul Muslihatin S.Si., M.Si selaku Koordinator Tugas Akhir; Ibu N.D Kuswytasari S.Si., M.Si, Ibu Tutik Nurhidayati S.Si., M.Si, Ibu Ir. Sri Nurhatika selaku Dosen Penguji pada sidang laporan Tugas Akhir; Ayah (Hasan Ahwan), ibu (Kholifah), adik (Unais Al Abdu); Nike Ika Nuzula S.Si; Hery Fadillah; Maslakhatul Ummah; Nikmatu Ayu Harlianti; Nuning Armawati; Indah Ayu Purwaningrum ; Novi Tri Ratnasari; Rizkiy Ristianty; Mar'atus Sholihah S.T ; Teman-teman Biologi ITS 2009 khususnya Ida Wilujeng Abidah Ubudiah, Rizal Koen Asharo, Yullis Remita, Fintha Fenia Fatwa Rosullah, Riesya Dwi Amanatin, Fitri Wulandari Efendi, Mirza Merindasya,

pemograman ulang sel dan modifikasi fisiologi serta jalur metabolik. Cekaman tidak hanya menaikkan tingkat dediferensiasi namun juga dapat menginduksi pembentukan embrio somatik.

Nadya Aisyatussoffi; serta semua pihak yang telah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pawiroharsono, S. 2012. *Peran Bioteknologi untuk Peningkatan Produksi Pangan di Lahan Marginal*. Majalah Pangan <http://majalahpangan.com> diakses tanggal 12 September 2012
- [2] Yuniati, R. 2004. *Penapisan Galur Kedelai Glycine max (L.) Merrill Toleran Terhadap NaCl Untuk Penanaman Di Lahan Salin*. Universitas Indonesia, Depok.
- [3] Yunita, R. 2009. *Pemanfaatan Variasi Somaklonal dan Seleksi In Vitro dalam Perakitan Tanaman Toleran Cekaman Abiotik*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- [4] Lingga, Lanny. 2007. *Anthurium*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- [5] Hartweck *et al.* 1988. *Auxin Orientation effect on somatic embryogenesis from immature soybean cotyledons*. In Vitro cel. Dev. Biol
- [6] Kasim, H. dan Djuninah, 1993. *Deskripsi Varietas Unggul Palawija*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan Dewi, IS. 2003. *Peranan Fisiologis Poliamin dalam Tanaman pada Kultur Antera Padi (Oryza sativa L.)*. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- [7] Gani, J.U. 2000. *Kedelai Varietas Unggul Baru*. Lembar informasi pertanian (Liptan) IP2TP Mataram No. 07/Liptan/2000. Instalasi Penelitian dan Pengkajian teknologi Pertanian Mataram George. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, 2nd Edition*. Exegetic Limited : England.
- [8] Moore T.C., 1979 Auxins. pp. 32-89. In: *Biochemistry and physiology of plant hormones*. Springer-Verlag.
- [9] Pardal, S.J., I. Mariska, E.G. Lestari, dan Slamet. 2004. *Regenerasi tanaman dan transformasi genetik salak pondoh untuk rekayasa buah partenokarpi*. Jurnal Bioteknologi Pertanian. Vol. 9(2):49-55.
- [10] Jimenez VM. 2001. *Regulation of in Vitro Somatic Embryogenesis With Emphasis on The Role Of Endogenous Hormones*. R.Bras. Fisiol.Veg 13 (2) : 196 – 223