

20 dan 22 MST serta peubah jumlah ruas 22 MST. Pertumbuhan akar terbaik dihasilkan oleh media campuran media pasir, pupuk kandang sapi dan lapisan tanah atas dengan perbandingan 1 : 1 : 2 (M₃). Sedangkan pertumbuhan tajuk terbaik pada perbandingan 1 : 1 : 0 (M₁).

DAFTAR PUSTAKA

Suparman, U. dan A. Sopandi. 1988. Pertumbuhan bibit lada perdu dari cabang buah

primer dan sekunder. Pembr. Littri. 14 (1-2) : 65 - 68.

Winters, H. F. and T. J. Muzik. 1963. Rooting and growth of fruit branches of black pepper. Trop. Agric. Trinidad 40 (3) : 247 - 252.

Zaubin, R. 1989. Pengaruh media, zat kapur dan kinetin terhadap pertumbuhan akar setek cabang buah tanaman lada. Prosiding Seminar 04 : 7 - 14.

TOLERANSI TANAMAN KEDELAI TERHADAP CEKAMAN AIR : AKUMULASI PROLIN DAN ASAM ABSISIK DAN HUBUNGANNYA DENGAN POTENSIAL OSMOTIK DAUN DAN PENYESUAIAN OSMOTIK

(Drought Tolerance of Soybean: Accumulation of Proline and Absisic Acid in Relation to Leaf Osmotic Potential and Osmotic Adjustment)

Didy Sopandie¹⁾, Hamim²⁾, Muhammad Jusuf²⁾ dan Nani Heryani³⁾

ABSTRACT

In this experiment, the changes on leaf osmotic potential and accumulation of proline and abscisic acid were identified from drought-tolerant and drought-sensitive soybean genotypes. Three drought-tolerant (Mlg 2805, Mlg 2984 and Mlg 2999) and two sensitive soybean genotypes (Mlg 2510 and Mlg 3541) were subjected to drought condition created by regulating water supply in greenhouse.

The results revealed that exposing plants to drought stress brought about a decrease of leaf osmotic potential. The decrease of which was greater in drought-tolerant genotypes (6.91 to 10.11 bars) than in sensitive genotypes (0.55 to 0.69 bars). The decreasing of leaf osmotic potential was followed with increasing proline accumulation, especially for Mlg 2805. Only Mlg 2805 showed the significant ABA accumulation when the plants were subjected to drought stress. It is suggested that the drought tolerance was associated with the reduction of leaf osmotic potential (osmotic adjustment) in which proline might play an important role. The role of ABA could not be clarified since there had been a great variability in ABA content of all tolerant genotypes.

RINGKASAN

Pada penelitian ini, potensial osmotik daun, kandungan prolin dan ABA telah diidentifikasi dari genotipe-genotipe kedelai yang toleran dan peka. Tiga genotipe toleran kekeringan (Mlg 2805, Mlg 2984 dan Mlg 2999) dan 2 genotipe peka (Mlg 2510 dan Mlg 3541) tersebut mendapat perlakuan cekaman kekeringan berdasarkan frekuensi penyiraman di rumah kaca.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan cekaman air menyebabkan penurunan potensial osmotik daun. Pada genotipe toleran penurunannya lebih besar (6.91 sampai 10.11 bar) dibandingkan dengan yang peka (0.55 sampai 0.69 bar). Penurunan potensial osmotik daun diikuti dengan kenaikan akumulasi prolin, terutama pada Mlg 2805. Hanya galur Mlg 2805 yang menunjukkan akumulasi ABA yang nyata setelah perlakuan cekaman air. Diduga bahwa daya toleransi pada kedelai berkaitan dengan penurunan potensial osmotik daun sebagai mekanisme regulasi osmotik, dimana prolin diduga memegang peranan yang penting. Sangat sulit menentukan peranan ABA karena terdapatnya keragaman pola akumulasi ABA.

1) Staf Jurusan Budidaya Pertanian, Faperta IPB

2) Staf Jurusan Biologi, FMIPA IPB

3) Staf KELTI Agroklimat dan Hidrologi, Pusat Penelitian Tanah dan Agroklimat

PENDAHULUAN

Salah satu upaya yang penting untuk meningkatkan produksi kedelai di Indonesia adalah melalui perluasan areal tanam pada lahan kering yang potensial untuk segera dimanfaatkan, yang meliputi 5.1 juta ha untuk lahan kering beriklim basah dan 3.4 juta ha untuk lahan yang beriklim kering (Kahar, 1995). Kendala yang terpenting pada lahan kering ialah menyangkut ketersediaan air pada musim kemarau, yang sering menyebabkan terjadinya cekaman kekeringan. Pada kondisi demikian, perhatian ke arah pengembangan varietas kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan sangatlah diperlukan (Sloane, Patterson dan Carter, 1990). Untuk mendukung program pemuliaan tersebut diperlukan pengetahuan dasar mengenai mekanisme fisiologi dan biokimia ketahanan tanaman, sehingga proses seleksi bisa berjalan secara efisien dan efektif.

Salah satu mekanisme fisiologi terpenting dari adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan ialah dengan mempertahankan turgor (Jones *et al.*, 1981; Townley-Smith and Hurd, 1979; Sloane *et al.*, 1990). Mekanisme ini dapat terjadi diantaranya melalui (a) penurunan potensial osmotik (Meyer dan Boyer, 1981; Itoh *et al.*, 1987; Jones dan Turner, 1978) dan (b) akumulasi zat-zat terlarut seperti gula, asam amino, asam organik, prolin dan glisinbetain (Hanson dan Hitz, 1982; Jones dan Turner, 1978). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa akumulasi prolin berkorelasi positif dengan daya adaptasi terhadap cekaman kekeringan seperti pada barley (Singh *et al.*, 1973) dan padi (Aspinal dan Paleg, 1981). Asam absisik (ABA) endogen dilaporkan berperan dalam daya adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan (Zeevart dan Greelman, 1988; Skriver dan Mundy, 1990), seperti pada barley (Bartela, Singh dan Salamini, 1988) gandum (Walker-Simmon, 1987) dan padi (Moons *et al.*, 1995). Untuk tanaman kedelai baik prolin maupun ABA belum diketahui peranannya. Dalam penelitian ini akan dilihat pola akumulasi prolin dan ABA serta perubahan potensial osmotik dari 3 genotipe kedelai yang konsisten toleran, yang diperoleh melalui seleksi di rumah kaca (Sopandie *et al.*, 1996) dan di lapangan

(Jusuf *et al.*, 1993; Sopandie *et al.*, 1996). Sebagai pembanding akan dipakai 2 galur peka dari hasil evaluasi yang sama.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di rumah kaca PAU-Bioteknologi IPB selama 6 bulan, yaitu dari bulan Maret sampai dengan Agustus 1995. Analisis laboratorium dilakukan di laboratorium Biologi Molekuler PAU-Bioteknologi IPB dan Laboratorium Biologi Terpadu FMIPA, IPB.

Galur kedelai yang dipakai pada penelitian ini adalah 5 galur yang terdiri dari 3 galur toleran (MLG 2805, MLG 2984 dan MLG 2999) dan 2 galur peka (MLG 2510 dan MLG 3541). Tiga galur konsisten toleran tersebut adalah genotipe terpilih dari 750 nomor seleksi di lapangan, yaitu di Muneng, Probolinggo (Jusuf *et al.*, 1993) dan terpilih lagi dari 15 galur toleran yang dievaluasi di rumah kaca dan hasil verifikasi lanjut di lapangan yaitu di Inlitkabi, Probolinggo (Sopandie *et al.*, 1996).

Tanaman kedelai ditanam pada ember plastik 10 l yang diisi media tanah dan pasir dengan perbandingan 2:1. Perlakuan cekaman kekeringan berdasarkan perbedaan frekuensi penyiraman yaitu : (a) kontrol, tanaman disiram tiap hari sampai tercapai kapasitas lapang, dan (b) stres air ; penyiraman setiap 10 hari. Penentuan frekuensi penyiraman didasarkan pada percobaan pendahuluan. Tanaman dipupuk dengan 0.5 g Urea, 1.0 g TSP dan 1.0 g KCl per pot dan diberi sumber inokulan bakteri *Rhizobium*. Penelitian dilakukan dalam 6 ulangan.

Potensial osmotik, kandungan prolin bebas dari ABA ditentukan pada umur 50 hari setelah tanam (HST), saat tanaman mengalami perubahan dari fase vegetatif ke fase reproduktif. Potensial osmotik ditentukan berdasarkan metode pembekuan (Salisbury dan Ross, 1992) dengan menggunakan Osmometer model 3 W2.

Analisis prolin bebas dilakukan berdasarkan metode Bates (1973) dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Analisis ABA dilakukan dengan menggunakan HPLC (Shimadzu) dengan kolom C18 spherisorb berdasarkan metode Li dan Walton (1987) yang dimodifikasi.

Prosedur rinci untuk analisis potensial osmotik, kadar prolin dan ABA dijelaskan dalam Hamim (1996) dan Sopandie *et al.* (1996).

HASIL

Pada tanaman yang disiram tiap hari (kontrol), nilai potensial osmotik daun seluruh galur yang dicoba hampir tidak berbeda, yaitu dalam kisaran -12.49 sampai -13.65 bar (Tabel 1). Perlakuan cekaman air menyebabkan penurunan nilai potensial osmotik daun. Galur-galur toleran mengalami penurunan yang lebih besar, yaitu sebesar 6.91 sampai 10.11 bar. Pada galur-galur peka, penurunan potensial osmotik daun yang terjadi tidak nyata.

Tabel 1. Nilai Potensial Osmotik dan Kandungan Prolin Bebas Daun dari Galur-galur Kedelai Toleran dan Peka pada Kondisi Kontrol dan Cekaman Air

Genotipe	Potensial Osmotik			Prolin Bebas		
	Kontrol	Stress	Penurunan	Kontrol	Stress	% Kenaikan
(bar).....		(Mmol/g)....	(%)....
Toleran						
Mlg 2805	-13.55	-22.25	- 8.70	2.75	20.21	734.9
Mlg 2984	-13.34	-23.45	-10.11	1.27	3.63	285.8
Mlg 2999	-12.61	-19.52	- 6.91	1.88	3.77	200.5
Peka						
Mlg 2510	-13.65	-14.20	- 0.55	2.22	2.17	97.7
Mlg 3541	-12.44	-13.18	- 0.69	3.26	4.77	146.3

Kandungan Prolin Bebas

Perubahan dalam nilai potensial osmotik daun tidak semua diikuti oleh kenaikan yang nyata dari kandungan prolin bebas pada kondisi cekaman air (Tabel 1). Hanya galur Mlg 2805 yang mengalami kenaikan kadar prolin bebas mencapai 7.3 kali. Galur-galur toleran secara relatif mengalami kenaikan prolin yang lebih besar dibandingkan dengan galur peka setelah diberi perlakuan cekaman air.

Kandungan ABA Daun

Hanya galur Mlg 2805 yang mengalami kenaikan kadar ABA daun yang tingginya (3.7

kali) akibat cekaman air, walaupun nilai absolutnya sama dengan galur-galur lainnya. Dua galur toleran lainnya (Mlg 2984 dan Mlg 2999) memiliki nilai yang relatif sama dengan galur galur peka (Tabel 2).

PEMBAHASAN

Penelitian ini mencoba mengidentifikasi karakter fisiologi yang berkaitan dengan sifat toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan. Genotipe kedelai yang dipakai adalah genotipe yang ekstrim toleran dan peka hasil evaluasi beberapa tahap selama 5 tahun. Genotipe toleran tersebut termasuk dalam 20 genotipe toleran yang dievaluasi di Muneng, Probolinggo yang bertipe

iklim D (Jusuf *et al.*, 1993). Hasil evaluasi lanjut selama 3 tahun di rumah kaca dan di lapangan (Muneng, Probolinggo) menghasilkan tiga galur yang konsisten yaitu Mlg 2805, Mlg 2984 dan Mlg 2999 (Sopandie *et al.*, 1996).

Dari penelitian selanjutnya ditunjukkan bahwa galur-galur tersebut mempunyai pola perakaran yang lebih baik, yaitu dari panjang akar dan bobot kering akar (Hamim, 1995; Hamim *et al.*, 1996) demikian juga dengan produksi biji di lapang pada saat musim kemarau tanpa turun hujan selama 2 bulan (Sopandie *et al.*, 1996).

Selain dari segi morfologi yang menunjang ketahanan terhadap cekaman air, ketiga galur toleran mempunyai kemampuan menurunkan

potensial osmotik (Tabel 1) yang lebih besar dibanding galur peka. Diduga ketiga galur tersebut memiliki mekanisme penyesuaian osmotik untuk beradaptasi terhadap kondisi dengan potensial air yang rendah selama cekaman kekeringan. Morgan (1984) menyebutkan bahwa regulasi osmotik merupakan suatu mekanisme peningkatan akumulasi zat-zat terlarut yang menyebabkan penurunan potensial osmotik. Mekanisme ini ditemui juga pada gandum (Ritchie, Nguyen dan Holaday, 1990), kedelai (Meyer dan Boyer, 1981), jagung, kapas dan gandum (Morgan, 1984).

disimpan untuk pertumbuhan setelah tanaman mengalami cekaman (Aspinal dan Paleg, 1981). Selain prolin, diketahui juga bahwa gula, asam amino, asam organik, glisinbetain banyak diakumulasi selama proses pengaturan osmotik (Hanson dan Hits, 1982). Pada kedelai, kemungkinan terdapat senyawa lain yang berperan dalam mekanisme regulasi osmotik masih perlu dipelajari lebih lanjut.

Tabel 2 menunjukkan bahwa cukup sulit untuk menentukan peranan ABA dalam kaitannya dengan adaptasi tanaman terhadap cekaman air. Dari ketiga galur toleran, hanya galur Mlg 2805

Tabel 2. Kandungan ABA daun dari galur-galur toleran dan peka terhadap cekaman kekeringan pada kondisi kontrol dan cekaman air

Genotipe	Kontrol	Cekaman Air	%Kenaikan
(mg/g daun segar).....	(%).....
Toleran			
Mlg 2805	4.04	15.05	372.5
Mlg 2984	13.39	13.80	103.0
Mlg 2999	14.77	18.51	125.3
Peka			
Mlg 2510	16.16	16.61	102.7
Mlg 3541	15.36	11.99	78.0

Hasil pada potensial osmotik menimbulkan pertanyaan lebih lanjut, apakah prolin yang berperan dalam regulasi osmotik pada ketiga galur tersebut. Tabel 1 menunjukkan bahwa hal itu mungkin terjadi pada galur Mlg 2805 yang memiliki kenaikan kadar prolin yang tinggi (7.3 kali). Namun agak meragukan untuk galur Mlg 2984 dan Mlg 2999 yang hanya mengalami kenaikan kadar prolin 2 - 3 kali. Dilaporkan oleh beberapa peneliti bahwa prolin diketahui mempunyai peranan yang penting untuk regulasi osmotik bagi genotipe tanaman yang toleran terhadap kekeringan, seperti pada *Brassica napus* (Good dan Zablachinski, 1994), tomat (Rhodes, Handa dan Bressan, 1986), padi (Aspinal dan Paleg, 1981) dan barley (Singh *et al.*, 1973). Akumulasi prolin diduga berkaitan erat dengan kemampuannya sebagai osmoregulator, agen pelindung bagi enzim-enzim sitoplasma dan enzim-enzim membran atau sebagai bahan yang

yang mengalami kenaikan ABA 3.7 kali pada saat mengalami cekaman air. Nilai inipun secara absolut tidak berbeda, selain itu nilai ABA pada kondisi kontrol sangat rendah. Bila benar ABA berperan pada galur Mlg 2805, belum diketahui dengan jelas peranan ABA dalam kaitannya dengan peningkatan prolin. Telah diketahui bahwa aplikasi ABA secara eksogen dapat menginduksi akumulasi prolin pada daun (Rajagopal dan Andersen, 1978), walaupun secara sendiri (ABA endogen) tidak mengontrol akumulasi prolin (Stewart dan Voetberg, 1987). Dingkuhn *et al.* (1991) berhasil menunjukkan peranan ABA dalam daya adaptasi tanaman padi terhadap cekaman kekeringan, yaitu dalam penutupan stomata, regulasi osmotik dan peningkatan konduktivitas terhadap akar. Akan tetapi Moons *et al.* (1995) mendapatkan keragaman yang besar dari kadar ABA pada dua varietas dengan perbedaan toleransi. Tampaknya, diskusi tentang peranan prolin dan ABA dalam kaitannya dengan

perubahan potensial air daun dan mekanisme penyesuaian osmotik masih merupakan topik yang menarik untuk dikaji lebih lanjut. Topik penelitian lain yang sekarang dinilai penting ialah identifikasi dan karakterisasi *osmotin*, suatu kationik protein yang secara spesifik disintesis sebagai respon terhadap cekaman osmotik pada genotipe toleran (Singh *et al.*, 1987). Informasi dasar fisiologi tersebut sangat penting bagi penelitian lanjutan pada tahap molekuler.

KESIMPULAN

Galur-galur toleran mengalami penurunan potensial osmotik yang jauh lebih besar (6.91 sampai 10.11 bar) dibandingkan dengan galur-galur peka sebagai respon terhadap cekaman air. Penurunan potensial osmotik daun diikuti oleh akumulasi prolin dengan kenaikan 7.3 kali pada galur Mlg 2805, sedangkan pada galur Mlg 2984 dan Mlg 2999 kenaikan prolin hanya 2-3 kali. Hanya galur Mlg 2805 yang mengalami peningkatan kandungan ABA yang besar (3.7 kali). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya adaptasi ketiga galur tersebut tampaknya dicapai melalui penurunan potensial osmotik, dimana peranan prolin dan ABA masih perlu dikaji lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan sebagian dari hasil penelitian yang didanai oleh Riset Unggulan Terpadu I (RUT I), penulis pertama adalah sebagai peneliti utama.

DAFTAR PUSTAKA

- Aspinal, D. and L.G. Paleg. 1981. Proline accumulation : Physiological aspects. p. 201-241. *In* L.G. Paleg and D. Aspinal (eds.). *The physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Academic Press. New York.
- Bartels, D., M. Singh and F. Salamini. 1988. Onset of desiccation tolerance during development of the barley embryo. *Planta* 175: 485-492.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. 39: 205-207.
- Dingkuhn, M., R.T. Cruz, J.C.O. Toole, N.C. Turner and K. Doerffling. 1991. Responses of seven diverse rice cultivars to water deficits. III. Accumulation of abscisic acid and proline in relation to leaf water potential and osmotic adjustment. *Field Crops Research*. 27: 103-117.
- Good, A.G. and S.T. Zaplachinski. 1994. The effect of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiol. Plant*. 90: 9-14.
- Hanson, and W.D. Hitz. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annu. Rev. Plant Physiol*. 33: 163-203.
- Hamim. 1995. Toleransi kedelai terhadap cekaman kekeringan : pendekatan morfologi dan fisiologi. Tesis Master. Program Pascasarjana, IPB Bogor.
- Hamim, D. Sopandie dan M. Jusuf. 1996. Beberapa karakteristik morfologi dan fisiologi kedelai toleran dan peka terhadap cekaman kekeringan. *Hayati* (3): 30-34.
- Itoh, K., K. Nakahara, H. Ishikawa, E. Ohta, and M. Sakata. 1987. Osmotic adjustment and osmotic constituents in roots of mung bean seedlings. *Plant Cell Physiol*. 28: 397-403.
- Jones, M.M. and N.C. Turner. 1978. Osmotic adjustment and leaves of shorgum in response to water deficits. *Plant Physiol*. 61: 122-126.
- Jones, M.M., N.C. Turner and C.B. Osmond. 1981. Mechanisms of drought resistance. p. 15-53. *In* Paleg, L.G. and D. Aspinal (eds.). *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Academic Press. New York.