

PENGARUH PEMBERIAN POLI ETILEN GLIKOL (PEG) KONSENTRASI SUBLETAL PADA PERKEMBANGAN KALUS KEDELAI (*Glycine max* L. Merrill) SECARA *IN VITRO*

Maria Ulfa¹⁾, Zulkarnain²⁾ dan Rainiyati²⁾
Fakultas Pertanian Universitas Jambi
ulfamaria692@yahoo.com

¹⁾Alumni Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi

²⁾Dosen Fakultas Pertanian Universitas Jambi

ABSTRAK

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dengan menggunakan Poli Etilen Glikol (PEG), yang penelitian sebelumnya juga menggunakan PEG untuk menyeleksi kalus kedelai secara *In Vitro*. Adapun tujuan melakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui bahwa konsentrasi Poli Etilen Glikol (PEG) 20% merupakan konsentrasi yang subletal pada kalus kedelai, dengan mempersempit konsentrasi PEG yang digunakan yaitu 17,5%; 20%; 22,5%. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri satu faktor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PEG 22,5% merupakan konsentrasi yang dapat mempertahankan kalus dengan persentase bertahan hidup mendekati 50% atau penurunan persentase hidup sebesar 54,17%. Bukan termasuk konsentrasi yang subletal, karena konsentrasi yang subletal penurunan persentase hidupnya lebih dari >80%. Dari segi perubahan warna kalus PEG 22,5% merupakan konsentrasi yang mendekati angka kematian dan terjadi penurunan berat kalus lebih besar yaitu -0,03.

Kata kunci : Poli Etilen Glikol (PEG), Subletal, Kalus Kedelai

PENDAHULUAN

Produksi kedelai tahun 2015 mengalami penurunan produksi sebesar 68 ton biji kering dibanding tahun 2014. Penurunan ini disebabkan karena menurunnya luas panen seluas 382 ha sedangkan produktivitas mengalami kenaikan sebesar 0,86 kw ha⁻¹. Kontribusi Pulau Sumatera terhadap produksi kedelai nasional pada tahun 2015 sebesar 9,94% (BPS, 2016). Indonesia belum mampu memproduksi kedelai sesuai dengan kebutuhan yang terus meningkat, produksi kedelai hanya

dapat memenuhi sekitar 30% konsumsi domestik dan selebihnya diperoleh dari import 2,08 juta ton per tahun (Giono *et al.*, 2014).

Kendala yang dihadapi dalam budidaya kedelai di Indonesia diantaranya adalah pengalih fungsian lahan misalnya dari lahan pangan menjadi lahan perkebunan, perubahan iklim, pergeseran musim dan peningkatan intensitas kejadian iklim ekstrim, kekeringan dan banjir (Zuyasna *et al.*, 2016). Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor penghambat utama dalam meningkatkan produksi tanaman kedelai, terutama pada daerah yang mempunyai masalah ketersediaan air baik secara alami maupun teknis.

Cekaman ditimbulkan karena kekeringan yang akan mengakibatkan tanaman merespon secara meluas yang dimulai dari ekspresi gen, metabolisme dan dalam pertumbuhannya (Darmawan dan Baharsjah, 1998). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Badami dan Amzeri (2010), cekaman kekeringan pada fase reproduktif menyebabkan penurunan jumlah biji, bobot kering biji, bobot kering akar dan bobot kering batang. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menyelesaikan permasalahan ini adalah penyediaan varietas kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Hal ini dapat diatasi dengan melakukan seleksi *in vitro* terhadap varietas kedelai dengan menggunakan Poli Etilen Glikol (PEG) sebagai media seleksi, sehingga dapat dihasilkan varietas kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Seleksi *in vitro* dengan menggunakan media selektif yang menggunakan PEG diharapkan dapat membantu mengidentifikasi varian somaklonal yang toleran terhadap cekaman kekeringan dan mengembangkan kultivar tanaman yang toleran pada kondisi cekaman lingkungan (Badami dan Amzeri, 2010). Metode seleksi *in vitro* telah dimanfaatkan pada berbagai tanaman untuk menghasilkan kultivar atau varietas baru dengan sifat yang baru dan diwariskan pada turunannya.

Penelitian yang dilakukan oleh Rahayu *et al.*, (2005) penambahan PEG pada media *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan sebagaimana respon tanaman terhadap cekaman kekeringan. Penambahan larutan PEG dalam media *in vitro* diharapkan dapat mensimulasi kondisi cekaman kekeringan. Ukuran molekul dan

konsentrasi PEG dalam larutan menentukan besarnya potensial osmotik larutan yang terjadi.

Penelitian Zuyasna *et al.*, (2016), konsentrasi PEG sebesar 20% menyebabkan kematian benih sebesar 90,25%. Semakin tinggi konsentrasi PEG dalam media uji, maka akan semakin terhambat proses osmosis dalam sel sehingga menghambat masuknya air kedalam sel.

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan Poli Etilen Glikol 6000, yang berjudul “Pengaruh Pemberian Poli Etilen Glikol (PEG) Konsentrasi Subletal pada Perkembangan Kalus Kedelai (*Glycine max* L. Merrill) Secara *In Vitro*”.

BAHAN DAN METODE

Untuk mengetahui bahwa konsentrasi Poli Etilen Glikol (PEG) 20% merupakan konsentrasi yang subletal pada kalus kedelai, maka diuji dengan menggunakan konsentrasi PEG yaitu 17,5%; 20%; 22,5%.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Jambi, yang berlangsung dari bulan April 2017 sampai bulan Juli 2017. Yang disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari satu faktor yaitu Tanpa PEG (p0), PEG 17,5% (p1), PEG 20% (p3) dan PEG 22,5% (p4). Setiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali, dihasilkan 24 satuan percobaan. Pada masing-masing percobaan terdiri dari 4 botol kultur sehingga terdapat 96 botol kultur.

Variabel pengamatan yang diamati pada penelitian adalah sebagai berikut persentase kalus yang hidup (%), warna kalus, berat kalus (gr). Untuk melihat pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati, data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari persentase kalus yang mampu bertahan hidup tertinggi adalah pada media tanpa perlakuan PEG yaitu 95,83%, persentase kalus yang mampu

bertahan hidup selanjutnya yaitu pada perlakuan PEG 17,5% yaitu 79,17%, selanjutnya perlakuan PEG 20% yaitu 58,33% dan persentase kalus yang mampu bertahan hidup terendah adalah pada media dengan perlakuan 22,5% yaitu 45,83% (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase kalus dari eksplan kotiledon kedelai (*Glycine max* L. Merrill) yang hidup pada beberapa konsentrasi PEG.

Konsentrasi PEG (%)	Persentase Kalus yang Hidup (%)
00,00	95,83 ± 4,17
17,50	79,17 ± 7,68
20,00	58,33 ± 10,54
22,50	45,83 ± 4,17

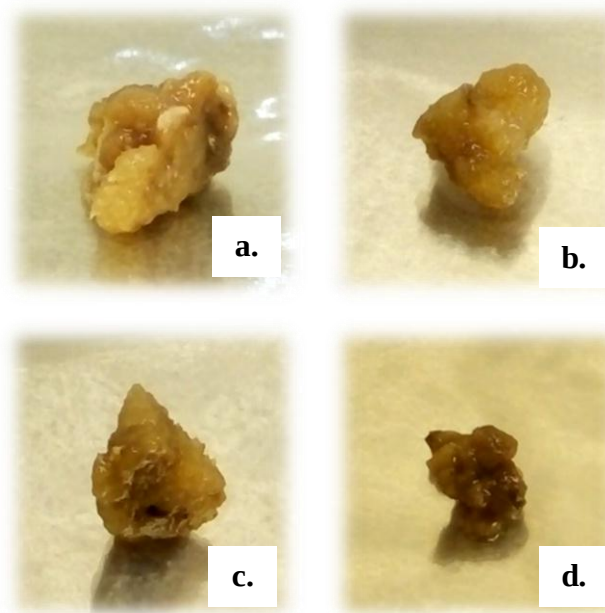
Keterangan : ± standar eror

Kalus yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil dari seleksi berulang yang telah terjadi penyesuaian, sehingga pada perlakuan PEG 22,5% masih banyak kalus yang bertahan hidup. Tidak seperti penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa konsentrasi subletal terletak pada perlakuan 20% dan hanya beberapa kalus yang hidup. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Tumanggor (2016), konsentrasi 2,0 g mL⁻¹ merupakan konsentrasi subletal karena pada konsentrasi ini batas kalus embriogenik kedelai (*Glycine max* L. Merrill) masih mampu bertahan hidup dengan tingkat penurunan sebesar 87,5%.

Khaerana *et al.*, (2008) menyatakan bahwa tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan berusaha melakukan perubahan-perubahan fisiologis sebagai bentuk adaptasinya agar bisa bertahan hidup. Salah satu bentuk adaptasi tersebut adalah kemampuan tanaman untuk mempertahankan tekanan turgor atau penyesuaian osmotik. Sel yang mampu melakukan penyesuaian osmotik dalam kondisi tercekam diyakini sebagai varian yang membawa sifat toleransi terhadap cekaman kekeringan (Sutjahjo *et al.*, 2007).

Penelitian yang dilakukan oleh Widoretno (2003), konsentrasi 20% merupakan konsentrasi subletal pada kedelai. Konsentrasi 20% PEG dapat dijadikan sebagai konsentrasi subletal untuk melakukan seleksi kekeringan (Sutjahjo *et al.*, 2007).

Terjadi perubahan warna pada kalus setiap 4 MSK, perubahan selisih warna kalus dari umur 4 MSK sampai 8 MSK dan dari umur 8 MSK sampai 12 MSK terjadi selisih penurunan lebih kurang 1 skor. Terlihat pada Tabel 2 bahwa perlakuan PEG 22,5% merupakan konsentrasi yang terjadi penurunan warna kalus dari 3,58 menjadi 1,46 yang mendekati angka kematian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Warna kalus yang berumur 12 Minggu Setelah Kultur (MSK). a) kalus warna kuning kecoklatan (Tanpa PEG), b) kalus warna putih kecoklatan (17,5% PEG), c) kalus warna coklat (20% PEG), d) kalus warna hitam (22,5% PEG). (Skala gambar adalah 1cm x 1 cm)

Tabel 2. Warna kalus dari eksplan kotiledon kedelai (*Glycine max* L. Merrill) pada beberapa konsentrasi PEG pada 4, 8 dan 12 minggu setelah inisiasi kultur.

Konsentrasi PEG (%)	Warna kalus (Skor)		
	4 MSK	8 MSK	12 MSK
00,00	3,83	2,96	2,79
17,50	4,04	3,25	2,67
20,00	3,50	2,63	1,75
22,50	3,58	2,29	1,46

Keterangan : warna kalus ditunjukkan dengan nilai skor yaitu skor 4 putih kekuningan, skor 3 kuning kecoklatan, skor 2 coklat, dan skor 1 hitam.

Pada konsentrasi PEG 17,5% pada minggu ke empat warna yang terlihat putih kekuningan kemudian pada minggu ke delapan mengalami perubahan warna menjadi kuning kecoklatan pada konsentrasi ini sampai minggu ke duabelas masih kuning kecoklatan. Sedangkan pada konsentrasi PEG 22,5% pada minggu ke empat warna yang terlihat putih kekuningan kemudian pada minggu ke delapan mengalami perubahan warna menjadi coklat dan pada minggu ke duabelas warna berubah menjadi hitam (Tabel 2).

Hal tersebut disebabkan akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik. Toksisitas fenol kemungkinan disebabkan oleh ikatan reversibel antara hidrogen dan protein. Penghambatan pertumbuhan yang tidak dapat diperbaiki terjadi ketika fenol teroksidasi menjadi senyawa aktif quinon yang tinggi yang kemudian memutar, mempolimerase atau mengoksidasi protein menjadi senyawa melanat yang makin meningkat (Hutami, 2008).

Perlakuan PEG 22,5% dapat digunakan untuk menyeleksi kalus hanya batas waktunya sampai 8 MSK. Jika lewat waktu dari 8 MSK maka pertumbuhan kalus akan semakin berkurang yang dapat dilihat dari warna kalus, warna kalus yang semakin gelap dinilai bahwa pertumbuhannya pun semakin berkurang. Tidak bisa dilakukan seleksi selama 12 MSK karena pada saat itu kalus sudah mendekati angka kematian.

Kalus yang mati dalam media yang diberikan perlakuan PEG dapat diamati dari perubahan warna kalus. Warna kalus yang semakin gelap mengindikasikan pertumbuhan kalus yang semakin menurun. Warna coklat yang terjadi pada kalus menunjukkan terjadinya sintesis senyawa fenolik. Tabiyeh *et al.*, (2006) mengemukakan bahwa pencoklatan dalam kultur jaringan disebabkan karena meningkatnya produksi senyawa fenolat yang diikuti oksidasi oleh aktivitas enzim oksidase dan polimerasinya.

Tabel 3. Pengurangan berat kalus dari eksplan kotiledon kedelai (*Glycine max* L. Merrill) setelah diberi beberapa konsentrasi PEG pada 12 minggu setelah inisiasi kultur.

Konsentrasi PEG (%)	Berat awal kalus (g)	Berat akhir kalus (g)	Selisih berat kalus (g)
00,00	0,23	0,25	0,02
17,50	0,22	0,20	-0,02
20,00	0,19	0,18	-0,01
22,50	0,16	0,13	-0,03

Keterangan : Jumlah eksplan per perlakuan adalah 24 tanaman

Kurangnya suplai air dalam proses pertumbuhan kalus menyebabkan kalus tidak dapat melakukan pembelahan sel dengan baik sehingga tidak terjadi penambahan berat kalus, penggunaan PEG dalam media kultur jaringan menyebabkan kalus tidak bertambah besar melainkan terjadi penurunan berat kalus.

Rata-rata berat kalus pada perlakuan tanpa konsentrasi PEG, terlihat bahwa tidak terjadi pengurangan berat kalus dan pada perlakuan tanpa PEG ini rata-rata berat kalusnya bertambah yaitu 0,02%, hampir semua kalus yang tidak diberikan PEG mengalami penambahan berat kalus. Kalus yang diberikan perlakuan konsentrasi PEG rata-rata berat kalusnya terjadi pengurangan berat seperti pada perlakuan 17,5% PEG rata-rata berat kalus yaitu -0,02%. Pada perlakuan 20% PEG yang dianggap sebagai konsentrasi subletal pada penelitian sebelumnya rata-rata pengurangan berat kalus berubah dari perlakuan sebelumnya yaitu menjadi -0,01%. Perlakuan 22,5% PEG rata-rata berat kalusnya yaitu -0,03% (Tabel 3).

Semakin tinggi PEG yang diberikan maka penurunan berat pada kalus pun semakin besar. Kalus mengalami stress akibat pemberian PEG, akan tetapi kalus masih tetap bertahan hidup di waktu penelitian berlangsung. Cekaman kekeringan merupakan kondisi lingkungan tanaman tidak menerima asupan air yang cukup, sehingga tanaman tidak dapat melakukan proses pertumbuhan dan perkembangan secara optimal serta produksi menurun (Setiawan *et al.*, 2015).

Pertumbuhan kalus yang menurun dapat dilihat dari perubahan warna kalus yang berubah menjadi gelap. Apabila pertumbuhan kalus menurun maka

pertambahan berat pada kalus tidak terjadi. Sehingga kalus berangsur mati dan persentase kalus yang tidak dapat bertahan hidup semakin besar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa PEG 22,5% merupakan konsentrasi yang dapat mempertahankan kalus dengan persentase bertahan hidup mendekati 50% atau penurunan persentase hidup sebesar 54,17%. Bukan termasuk konsentrasi yang subletal, karena konsentrasi yang subletal penurunan persentase hidupnya lebih dari >80%. Dari segi perubahan warna kalus PEG 22,5% merupakan konsentrasi yang mendekati angka kematian dan terjadi penurunan berat kalus lebih besar yaitu -0,03.

DAFTAR PUSTAKA

- Badami K dan A Amzeri 2010. Seleksi *in vitro* untuk toleransi terhadap kekeringan pada jagung (*Zea mays. L*) dengan Poli Etilen Glikol (PEG). *Agrovigor* 3(1): 77-86
- Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi Padi, Jagung dan Kedelai Provinsi Jambi. Diakses dari Sumber : <http://jambi.bps.go.id> (diakses pada 25 Oktober 2016)
- Darmawan J dan S J Baharsjah. 1998. Dasar-dasar Fisiologi Tanaman. SITC. Jakarta.
- Giono BRW, M Farid, A Nur, MS Solle, I Idrus. 2014. Ketahanan Genotipe Kedelai Terhadap Kekeringan dan Kemasaman. Hasil Induksi Mutasi dengan Sinar Gamma. *J Agroteknos* 4(1): 44-52.
- Hutami S. 2008. Ulasan masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *J AgroBiogen* 4(2):83-88.
- Khaerana M, Ghulamahdi, E D Purwakusumah. 2008. Pengaruh Cekaman Kekeringan dan Umur Panen terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Xanthorrhizal Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza roxb.*) *Bul Agron.* Vol 36, pp: 241-247.
- Rahayu E S, E Guhardja, S Ilyas, Sudarsono. 2005. Polietilena Glikol (Peg) dalam Media In Vitro Menyebabkan Kondisi Cekaman Yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea L.*). *Berk. Penel. Hayati.* 11 (39-48)

- Setiawan R, R Soedradjad, T A Siswoyo. 2015. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Karakter Protein pada Hasil Produksi Tanaman Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1).
- Sutjahjo S H, K Abdul, M Ika. 2007. Efektifitas Polietilena Glikol Sebagai Bahan Penyeleksi Kalus Nilam yang diradiasi Sinar Gamma untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan. *Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia* 9(1): 48-57
- Tabiyeh D T, F Bernard, H Shacker. 2006. Investigation of glutathione, salicylic acid and GA3 effects on browning in *Pistacia vera* shoot tips culture. *ISHS Acta Hort.* 726.
- Tumanggor J. 2016. Pengaruh Konsentrasi Poli Etilen Glikol (PEG) Terhadap Pertumbuhan Kalus Embriogenik Kedelai (*Glycine max* L. Merrill) Secara kultur Jaringan. Skripsi. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.
- Widoretno W, Rita M, Sudarsono. 2003. Reaksi Embrio Somatik Kedelai terhadap Polietilena Glikol dan Penggunaannya untuk Seleksi *In Vitro* terhadap Cekaman Kekeringan. Seleksi *In Vitro* dengan PEG. *Hayati* 10(4):134-139.
- Zuyasna, Effendi, Chairunnas, Arwin. 2016. Efektivitas Polietilen Glikol sebagai Bahan Penyeleksi Kedelai Kipas Merah Bireun yang Diradiasi Sinar Gamma untuk Toleransi terhadap Cekaman Kekeringan. *J Floratek* 11(1):66-74.