

Seleksi *In Vitro* dan Identifikasi Tanaman Padi Varietas Gajahmungkur, Towuti, dan IR64 yang Tahan Kekeringan

Endang G. Lestari, Ika Mariska, Deden Sukmadjaja, dan Didi Suardi

ABSTRAK

Kebutuhan beras akhir-akhir ini terus meningkat, sementara itu produksi terus menurun yang disebabkan oleh kemarau panjang yang melanda beberapa daerah seperti di NTB, Jawa Tengah, Jawa Barat, dan lain-lain. Selain itu, beralihnya lahan subur menjadi pemukiman dan industri menyebabkan lahan potensial menjadi berkurang. Salah satu masalah yang dihadapi petani saat ini adalah masih terbatasnya bibit padi yang tahan kekeringan dan berproduksi tinggi sedangkan varietas padi gogo yang dikembangkan saat ini produksinya masih rendah selain itu tidak tahan terhadap serangan penyakit blas. Untuk mengatasi hal ini perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan varietas padi yang berproduksi tinggi dan tahan cekaman kekeringan seperti pada varietas IR64. Untuk mengatasi kebutuhan bibit unggul tersebut, telah dilakukan penelitian induksi mutasi menggunakan sinar gamma dikombinasikan dengan kultur *in vitro* dan seleksi *in vitro* pada padi varietas Gajahmungkur, Towuti, dan IR64. Dari hasil penelitian berhasil diperoleh somaklon yang menunjukkan keragaman genetik yang tinggi dan tahan kekeringan. Untuk mengetahui mekanisme masing-masing genotipe terhadap cekaman kekeringan dan mendapatkan nomor yang tahan cekaman kekeringan telah dilakukan pengujian secara bertahap terhadap somaklon yang didapatkan, yaitu (1) penapisan dini menggunakan larutan PEG konsentrasi 20%, (2) uji daya tembus akar menggunakan lapisan lilin, (3) analisis kandungan prolin, (5) uji produksi pada kondisi cekaman kekeringan di rumah kaca. Hasil evaluasi tersebut telah diperoleh 23 somaklon Gajahmungkur, 9 somaklon Towuti, dan 13 somaklon dari varietas IR64 yang diduga tahan kekeringan berdasar uji PEG dan uji tembus akar serta kandungan prolinnya tinggi. Pemberian cekaman kekeringan pada somaklon yang diduga tahan kekeringan tersebut diperoleh 9 somaklon asal Towuti, 5 somaklon asal Gajahmungkur, dan 8 somaklon asal IR64 yang unggul. Pada varietas Towuti dihasilkan tanaman dengan anakan lebih banyak dan tanaman lebih tinggi demikian pula produksi gabah. Pada varietas IR64 diperoleh somaklon yang dapat berbulir dalam kondisi cekaman kekeringan, sedangkan tanaman yang berasal dari benih tidak berbulir. Tanaman hasil seleksi tersebut menghasilkan anakan dan gabah isi lebih tinggi dibandingkan tanaman induknya.

Kata kunci: Radiasi seleksi *in vitro*, PEG, tahan kekeringan, padi.

PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditi yang penting karena sebagian besar penduduk terutama di Benua Asia menggunakan padi sebagai bahan makanan pokok. Masalah yang dihadapi oleh petani saat ini dalam mengembangkan tanaman padi adalah semakin meluasnya lahan kering terutama di lumbung-lumbung padi seperti di Jawa tengah, Jawa Barat, di daerah pantura seputar Cirebon, Indramayu, dan daerah lainnya. Data dari Departemen Pertanian menunjukkan bahwa sampai akhir Juni tahun 2003, areal yang mengalami kekeringan mencapai 105.756 ha dan yang mengalami puso sekitar 7.422 ha, dan saat ini ada kecenderungan semakin meningkatnya luas areal yang mengalami kekeringan tersebut (Anonimous 2004).

Penggunaan padi gogo varietas unggul saat ini masih sangat rendah, disebabkan karena kurangnya ketersediaan benih dan kurangnya minat penangkar dalam memproduksi benih padi gogo yang unggul. Menurut Kaher (1993), kesulitan peningkatan produksi padi gogo disebabkan oleh kendala fisik, biologi, dan sosial ekonomi. Lahan pertanaman umumnya bereaksi masam dengan kejenuhan Al tinggi, selain itu sering terjadi kekeringan dan kahat hara. Sifat-sifat padi gogo yang diinginkan untuk kondisi biofisik semacam itu adalah berumur genjah hingga sedang, anakan sedang, batang agak tegak, tahan blas, dan toleran Al, kekeringan, dan naungan (Lubis 1993).

Mengingat hal tersebut dapat dijelaskan bahwa pengembangan padi gogo dihadapkan pada berbagai kendala yang sangat kompleks, sehingga diperlukan perbaikan varietas yang berdaya hasil tinggi dengan sifat multitoleran terhadap faktor biofisik di lahan kering (Lubis 1993).

Saat ini teknologi kultur jaringan untuk tujuan perbaikan genetika tanaman sudah berkembang dan sudah banyak hasil yang dilepas sebagai varietas baru. Teknik keragaman somaklonal dengan induksi mutasi merupakan salah satu metode dalam pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas baru dengan sifat yang lebih unggul dibandingkan dengan induknya seperti warna lebih menarik, produksi lebih tinggi atau rasa lebih enak (Ahloowalia 1997).

Iradiasi sinar gamma merupakan teknik yang efektif untuk menghasilkan mutan baru atau meningkatkan variasi genetik, dengan adanya keragaman genetik yang tinggi maka lebih besar peluang untuk mendapatkan genotipe baru yang diinginkan (Maluszynski *et al.* 1995). Bahan mutagen yang sering digunakan digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu mutagen kimia, pada umumnya dari senyawa alkil misalnya ethyl methane sulphonat (EMS) dan mutagen fisik bersifat sebagai radiasi pengion dan termasuk di dalamnya sinar-x, radiasi sinar gamma, radiasi beta, dan partikel dari akselerator (IAEA 1997 dan Van Harten 1998).

Mutan hasil mutasi yang disebabkan karena adanya perubahan karakter yang diwariskan dapat terbentuk pada fase sel maupun fase kalus pada tahap kultur *in vitro* atau pada eksplan karena adanya sel-sel bermutasi pada jaringan tertentu. Perubahan genetik dalam kultur *in vitro* dapat disebabkan karena adanya perubahan jumlah dan struktur kromosom, endomitosis atau endoreduplikasi (Karp 1995; Maluszynski *et al.* 1995).

Keuntungan adanya perubahan kromosom yang diperoleh melalui keragaman somaklonal antara lain (1) keragaman yang diperoleh kemungkinan tidak akan diperoleh pada gene pool yang ada dan (2) perubahan yang ditimbulkan antara lain dapat memperbaiki penampilan tetapi tidak merubah sifat unggul yang sudah ada.

Evaluasi dan karakterisasi serta seleksi tanaman yang tahan cekaman kekeringan merupakan tahap yang penting dalam pemuliaan tanaman. Untuk melakukan karakterisasi terhadap populasi tanaman hasil keragaman somaklonal atau hasil transformasi khususnya yang berhubungan dengan ketahanan terhadap kekeringan dapat dilakukan dengan melihat ciri fisiologi dan biokimia serta morfologi dengan melihat sistem perakaran dari masing-masing somaklon, selain itu juga dapat melihat produksi gabah dalam kondisi cekaman kekeringan dibandingkan produksi pada saat tanaman tidak mengalami cekaman.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah padi Indica varietas Towuti, IR64, dan Gajahmungkur. Percobaan terdiri beberapa tahap, yaitu (1) induksi dan iradiasi kalus dilanjutkan dengan seleksi kalus secara *in vitro* menggunakan PEG (BM 6000), (2) regenerasi kalus yang telah diradiasi dan diseleksi, (3) aklimatisasi planlet dan produksi benih G1, (4) identifikasi somaklon yang tahan kekeringan menggunakan PEG, (5) uji daya tembus akar terhadap somaklon yang lolos seleksi (6) analisis kandungan prolin pada beberapa somaklon hasil seleksi *in vitro*, dan (7) uji produksi dalam kondisi cekaman kekeringan.

Embrio zigotik ditanam dalam media dasar MS + 2,4D 2 mg/l + 3 g/l casein hidrolizat untuk induksi kalus, kalus yang dihasilkan kemudian diradiasi menggunakan sinar gamma cobalt 60, dosis radiasi yang digunakan untuk varietas Gajahmungkur dan Towuti ialah (0, 1000, 1500, dan 2000 rad), dan IR64 dengan (0, 300, 500, dan 700 rad) setelah kalus tersebut diradiasi kemudian diseleksi secara *in vitro* menggunakan PEG dosis (0, 10, 15, dan 20%). Masing-masing perlakuan terdiri atas 10 botol dan masing-masing botol ditanam 10 kalus. Waktu untuk seleksi selama 4 minggu.

Kalus yang masih berwarna kuning dan tampak segar setelah dilakukan seleksi selama 4 minggu, disubkultur pada media untuk regenerasi. Media untuk regenerasi adalah media dasar MS + zat pengatur tumbuh sitokinin BA (1-3 mg/l) + zeatin 0,2-1 mg/l dan auksin IAA 0,1 mg/l.

Untuk induksi akar, tunas yang dihasilkan disubkultur pada media untuk perakaran, yaitu media dasar MS (Murashige dan Skoog) dan MS ½ + IBA dan IAA 1 mg/l. Kalus yang dapat

beregenerasi dianggap sebagai individu baru (R1). Setiap somaklon tersebut (R1) ditumbuhkan di rumah kaca untuk menghasilkan benih (G1).

Identifikasi somaklon yang tahan terhadap kekeringan dilakukan evaluasi dan karakterisasi menggunakan karakter yang berhubungan dengan mekanisme ketahanan terhadap kekeringan, yaitu dengan uji daya tembus akar dan produksi prolin. Sebelum dilakukan uji daya tembus akar, benih diseleksi dini menggunakan PEG 20%. Somaklon yang benihnya berkecambah kemudian ditanam pada pot plastik yang telah diisi media tanam berupa campuran tanah, pasir, pupuk kandang dengan perbandingan 1 : 1 : 1. Di bagian dasar pot dilapisi dengan campuran parafin dan vaselin dengan perbandingan (60% : 40%), pada suhu 30°C dengan ketebalan 3 mm, memberikan tingkat kekerasan 12 bar. Dua hari setelah benih ditanam, pot plastik yang telah ditanami tersebut diletakkan di atas gelas plastik yang berisi larutan hara Yoshida. Nomor-nomor tanaman yang akarnya mampu menembus lapisan lilin kemudian dianalisis kandungan prolina. Untuk melihat produksi gabah pada kondisi cekaman kekeringan, maka nomor-nomor yang telah lolos seleksi tersebut diberi cekaman kekeringan.

Perlakuan cekaman kekeringan dilakukan mulai benih disemai sampai gabah berproduksi, namun ada perbedaan tingkat cekaman yang diberikan. Pada masa vegetatif, cekaman diberikan hanya sebatas kapasitas lapang sedangkan pada fase generatif, cekaman yang diberikan lebih ekstrim, yaitu dengan memberikan air hanya 60% dari kapasitas lapang.

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan tanaman padi dari varietas Gajahmungkur, IR64, dan Towuti yang tahan kekeringan dan lebih unggul dibanding induknya menggunakan teknik radiasi dan seleksi *in vitro*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kalus hasil radiasi kemudian diseleksi menggunakan PEG konsentrasi lebih 20% sebagian besar berubah warna menjadi coklat dan hitam pada minggu ke-4 setelah ditanam pada media seleksi. Dari ketiga varietas padi yang diuji diperoleh hasil adanya perbedaan respon terhadap media seleksi PEG. Kalus dari varietas Gajahmungkur paling tahan sedangkan kalus dari varietas IR64 paling peka. Ditunjukkan dengan lambatnya perubahan warna kalus Gajahmungkur dari kuning menjadi coklat dibandingkan dengan IR64 dan Towuti.

Peningkatan dosis radiasi cenderung menghambat pertumbuhan sel kalus, kondisi ini dimungkinkan karena adanya kerusakan pada sel meristem yang sangat radio sensitif. Iradiasi dapat menyebabkan pembelahan sel menjadi terhambat yang selanjutnya dapat menghambat pertumbuhan jumlah sel. Jaringan tanaman sebagian besar mengandung air, sehingga apabila diradiasi akan mengalami kerusakan karena radiasi menyebabkan air terurai menjadi H₂O dan e⁻ (Ismachin 1988).

Pada akhir periode seleksi, yaitu minggu ke-4, beberapa kalus dari varietas Towuti dan IR64 sudah berubah warna menjadi hitam tetapi masih ada yang berwarna kuning kecoklatan sehingga dapat diregenerasikan, kalus yang masih berwarna kuning diduga tahan terhadap cekaman kekeringan. Kalus varietas Gajahmungkur menunjukkan adanya toleransi yang tinggi terhadap media seleksi PEG, hal ini menunjukkan adanya korelasi positif antara ketahanan sel pada kondisi *in vitro* dengan kondisi di lapang. Varietas Gajahmungkur merupakan padi yang tahan terhadap cekaman kekeringan.

Seleksi *in vitro* menggunakan PEG (BM 6000) konsentrasi 10, 15, dan 20% telah diperoleh kalus yang masih berwarna kuning pada minggu keempat setelah periode seleksi berakhir. Kalus tersebut kemudian diregenerasikan untuk menghasilkan tunas. Media regenerasi yang digunakan adalah media dasar MS + BA (1-3 mg/l) + zeatin 0,2-1 mg/l dan IAA 0,1 mg/l. Pada media regenerasi tersebut, kalus dari varietas IR64 dan Towuti pada umumnya cepat berubah warna menjadi coklat, kecuali yang tidak diradiasi atau diseleksi. Sedangkan kalus varietas Gajahmungkur tetap berwarna kuning dan masih tampak segar.

Pengamatan terhadap kalus yang diregenerasikan menunjukkan bahwa kalus yang masih berwarna kuning tersebut ternyata belum tentu dapat bertunas. Beberapa kemungkinan yang menyebabkan kalus tidak dapat beregenerasi antara lain karena formulasi yang belum tepat atau karena keseimbangan zat pengatur tumbuh yang ada di dalam maupun di luar sel antara auksin terhadap sitokinin tidak sesuai (Thorpe 1994), dapat pula disebabkan karena kalus yang bersifat embriogenik sudah tereliminasi pada saat seleksi *in vitro* menggunakan PEG.

Kemampuan regenerasi tunas dari kalus tersebut sangat rendah. Tunas dari varietas IR64 hasil regenerasi kalus yang diseleksi menggunakan PEG 15 dan 20% hanya 13 tanaman dan tunas terbanyak berasal dari kalus yang diradiasi 500 rad tanpa seleksi, yaitu sebanyak 51 (Tabel 1). Tunas yang berasal dari eksplan yang telah diradiasi dan diseleksi tersebut diharapkan telah mengalami perubahan genetik sehingga meningkat toleransinya terhadap kekeringan. Tunas hasil seleksi yang telah berakar pada media perakaran MS $\frac{1}{2}$ + IAA 1 mg/l kemudian diaklimatisasi di rumah kaca menggunakan larutan Yoshida.

Tanaman hasil seleksi *in vitro* tampak tumbuh normal setelah melewati tahap aklimatisasi, pembentukan anakan baru sangat cepat dan daunnya berwarna hijau. Periode pengisian biji tidak menunjukkan adanya perbedaan antara somaklon hasil seleksi dengan tanaman induknya. Rata-rata pengisian bulir terjadi pada minggu ke-8 setelah tanam, dan biji mulai masak pada minggu ke-10.

Seleksi nomor-nomor tanaman yang tahan kekeringan dilakukan secara bertahap, yaitu (1) penapisan dini menggunakan larutan PEG pada benih, (2) uji daya tembus akar menggunakan lapisan lilin, (3) uji kandungan prolin, dan (4) uji produksi pada kondisi cekaman kekeringan.

Penapisan dini menggunakan larutan PEG konsentrasi 20% terhadap nomor-nomor tanaman hasil seleksi *in vitro* menunjukkan adanya nomor-nomor yang tidak berkecambah, nomor-nomor tersebut dianggap tidak tahan terhadap cekaman kekeringan. Gabah yang mampu berkecambah, tampak sangat terhambat pertumbuhannya. Pada hari ke-7 setelah perkecambahan, tunas yang dihasilkan hanya 1 mm. Bila dibandingkan dengan gabah yang dikecambahkan pada media air sangat nyata perbedaannya, pada media air tersebut gabah sudah berkecambah 100% pada hari ke-5 setelah perkecambahan. Pada media air tersebut panjang tunas sudah mencapai 7 cm pada hari ke-5.

Penapisan dini menggunakan PEG (BM 6000) 20% pada somaklon asal varietas Gajahmungkur diperoleh 18 nomor, dari varietas IR64 diperoleh 22 nomor, dan dari varietas Towuti diperoleh 13 nomor yang diduga tahan kekeringan (Tabel 2). Seperti hasil penelitian Suardi dan Silitonga (1988) dan Bouslama *et al.* (1984) bahwa PEG dapat digunakan untuk menyaring genotipe atau varietas yang toleran kekeringan untuk penyaringan terhadap sumber plasma nutfah yang ada atau pada sumber keragaman somaklonal.

Pengamatan terhadap daya tembus akar menggunakan lapisan lilin menunjukkan bahwa akar dari somaklon asal Gajahmungkur mampu menembus lapisan lilin di dasar pot paling cepat

Tabel 1. Jumlah tunas hasil regenerasi pada tiga varietas yang diuji.

Varietas	Perlakuan <i>in vitro</i>	Jumlah
IR64	0 rad (15% dan 20% PEG)	13
	300 rad (0% PEG)	7
	500rad (0% PEG)	51
	700 rad (0% PEG) ---- 5 perlakuan	7
Gajahmungkur	0 rad	10
	1000 rad (20% PEG)	5
	1500 rad (0% dan 20% PEG)	61
	2000 rad (15% dan 20% PEG)	3
Towuti	0 rad	6
	0 (20% PEG)	1
	1000 rad (0 dan 10% PEG)	7
	1500 rad (0% dan 20% PEG)	10
	2000 rad (15 dan 20% PEG)	2

Tabel 2. Hasil penapisan dini menggunakan PEG 20% pada somaklon Gajahmungkur, Towuti, dan IR64.

Varietas	Jumlah somaklon yang diuji	Jumlah somaklon yang diduga tahan kekeringan
IR64	36	17
Towuti	21	15
GM	26	18

Tabel 3. Uji tembus akar pada somaklon yang telah lolos pada penapisan dini menggunakan PEG.

Varietas	Jumlah somaklon yang diuji	Jumlah somaklon yang akarnya menembus lapisan lilin
IR64	17	12
Towuti	15	9
GM	18	18

dibandingkan dengan Towuti dan IR64. Pada somaklon asal Towuti dan IR64 akar menembus lapisan lilin pada umumnya hari ke-20 setelah tanam sedangkan pada somaklon asal Gajahmungkur pada hari ke-7 setelah tanam. Somaklon yang dianggap tahan kekeringan ialah yang akarnya mampu menembus lapisan lilin dan panjangnya melampaui panjang akar tanaman induk. Pada umumnya, akar yang dihasilkan lebih tebal dan bercabang-cabang.

Uji daya tembus akar pada somaklon asal Towuti didapatkan 10 nomor, dari varietas IR64 diperoleh 13 nomor, dan dari varietas Gajahmungkur diperoleh 18 nomor (Tabel 3). Nomor-nomor tersebut dianggap tahan cekaman kekeringan. Metode seleksi tanaman yang tahan kekeringan menggunakan lapisan lilin telah dilakukan oleh Busscker *et al.* (1986) dalam Yu *et al.* 1995 dan menunjukkan bahwa tanaman yang mampu menembus lapisan lilin dengan tingkat kekerasan 12 Mpa tersebut dianggap tahan kekeringan.

Akar yang mampu menembus lapisan lilin di dasar pot mempunyai lapisan epidermis yang tebal serta ruang udara yang lebih lebar. Pada irisan melintang akar varietas Gajahmungkur dan Towuti tampak adanya rongga udara (*air space*) lebih lebar dibandingkan IR64, rongga udara tersebut berperan penting dalam penetrasi akar dalam kondisi cekaman kekeringan.

Dari hasil uji tembus akar pada tiga varietas padi tersebut menunjukkan adanya perbedaan sistem perakaran pada ketiga varietas yang diuji. Pada varietas Gajahmungkur akarnya sangat cepat menembus lapisan lilin bila dibandingkan Towuti dan IR64, hal ini sesuai dengan kemampuan masing-masing varietas untuk mempertahankan diri pada saat tanaman mengalami cekaman kekeringan. Pada tanaman hasil seleksi *in vitro* menunjukkan kemampuan daya tembus akar lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman induknya. Hasil penelitian Suardi (1999) dan Sharma *et al.* (1994) menunjukkan adanya perbedaan sistem perakaran pada kultivar yang berbeda.

Analisis kandungan prolin pada somaklon hasil seleksi tersebut menunjukkan bahwa pada umumnya prolin yang dihasilkan mengalami peningkatan dengan adanya cekaman kekeringan. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga varietas padi tersebut meningkatkan prolin untuk penyesuaian osmotik (*osmotic adjustment*) sebagai respon terhadap cekaman kekeringan, demikian pula hasil penelitian Maestri *et al.* (1995) pada tanaman kopi (*Coffea arabica*) dan pada tanaman durum wheat (Dib *et al.* 1994), adanya cekaman kekeringan pada tanaman tersebut menyebabkan kenaikan kandungan prolin. Sehingga prolin dapat digunakan sebagai penciri atau karakter yang dapat digunakan untuk melakukan seleksi tanaman yang tahan kekeringan.

Prolin pada tanaman tertentu merupakan respon dini biokimia suatu tanaman pada kondisi kekurangan air. Hasil penelitian Bandurska (2000) pada tanaman gandum didapatkan kandungan prolin yang meningkat sampai 10 kali lipat dalam kondisi cekaman kekeringan selama 24 jam,

dengan jumlah yang berbeda-beda tergantung genotipe tanaman dan perlakuan atau lingkungan tumbuh tanaman.

Adanya variasi kuantitatif akumulasi prolin tersebut maka akumulasi prolin dapat dijadikan sebagai salah satu kriteria seleksi pada program pemuliaan (Richard *et al.* 1987) terutama untuk tanaman sereal. Pada tanaman yang toleran dan bertahan terhadap kondisi defisit air eksternal (meskipun potensial air rendah), terjadi mekanisme mempertahankan turgor agar tetap di atas nol, untuk menjaga agar potensial air jaringan tetap rendah dibandingkan potensial air eksternalnya sehingga tidak terjadi plasmolisis (Jones dan Turner 1980).

Kandungan prolin pada somaklon turunan varietas IR64 menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan varietas Gajahmungkur. Kandungan prolin pada somaklon IR64 yang tidak diberi cekaman kekeringan menunjukkan angka yang sangat tinggi bila dibandingkan tanaman induknya. Dari 17 somaklon yang diuji didapatkan 16 somaklon yang menghasilkan prolin lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Produksi prolin pada somaklon asal Towuti rata-rata lebih tinggi bila dibandingkan pada varietas IR64. Analisis kandungan prolin pada 11 somaklon menunjukkan hasil lebih tinggi dibanding tanaman induk. Prolin tertinggi sebesar 543,92 nm/l dihasilkan dari perlakuan radiasi 1500 rad dan seleksi menggunakan PEG 20%. Melihat produksi prolin pada masing-masing somaklon tidak menunjukkan adanya korelasi antara peningkatan konsentrasi PEG atau peningkatan dosis radiasi terhadap peningkatan produksi prolin.

Identifikasi menggunakan penciri fisiologi dan morfologi tersebut didapatkan beberapa nomor yang memberikan respon pada salah satu karakter atau pada semua karakter yang diuji (Tabel 4). Somaklon yang memberikan respon pada ketiga penciri yang digunakan dianggap mempunyai mekanisme ketahanan paling kompleks.

Somaklon hasil identifikasi dan dianggap tahan kekeringan berdasarkan Tabel 4 berasal dari berbagai perlakuan radiasi dan seleksi (Tabel 5), namun tidak semua perlakuan yang dicoba menghasilkan somaklon tahan cekaman kekeringan.

Untuk mengetahui produksi gabah pada somaklon yang dianggap tahan maka dilakukan penanaman dalam kondisi cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan yang diberikan menyebabkan pertumbuhan berbagai somaklon asal seleksi menjadi terhambat, baik untuk tinggi tanaman, jumlah anakan, dan produksi gabah. Lubis (1993) menyatakan bahwa cekaman kekeringan yang terjadi pada padi gogo dapat memperlambat fase pembungaan, jika kekurangan air terjadi pada periode 0-2 minggu menjelang pembungaan akan menyebabkan kehampaan malai yang tinggi.

Pengamatan terhadap pertumbuhan berbagai somaklon asal Gajahmungkur yang diberi cekaman kekeringan juga menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan, walaupun Gajahmungkur tergolong padi gogo yang dinyatakan tahan cekaman kekeringan namun pada percobaan ini hasil yang didapat tidak seperti yang diharapkan. Hal ini membuktikan bahwa penghambatan pertumbuhan pada kondisi cekaman kekeringan tidak hanya terjadi pada padi sawah tetapi juga padi gogo.

Tabel 6, 7, dan 8 menunjukkan bahwa untuk menduga bahwa somaklon tersebut tahan kekeringan sebaiknya digunakan sebanyak mungkin indikator, mengingat ketahanan terhadap kekeringan dikendalikan oleh beberapa gen. Sehingga semakin banyak indikator yang menunjukkan bahwa tanaman tersebut tahan lebih baik dibandingkan dengan hanya satu atau dua indi-

Tabel 4. Identifikasi menggunakan PEG, uji daya tembus akar, dan kandungan prolin pada somaklon hasil seleksi *in vitro*.

Varietas	Jumlah somaklon yang diseleksi	Somaklon yang lolos seleksi menggunakan PEG 20%	Jumlah somaklon yang menembus lapisan lilin	Somaklon yang kandungan prolinnya > tanaman induksi
Gajahmungkur	37	24	24	13
Towuti	34	13	9	9
IR64	47	17	12	17

Tabel 5. Perlakuan *in vitro* pada masing-masing varietas yang menghasilkan somaklon tahan kekeringan.

Varietas dan perlakuan <i>in vitro</i>	Jumlah somaklon yang tahan
Gajahmungkur 0 rad (0% PEG)	3
Gajahmungkur 1000 rad (20% PEG)	1
Gajahmungkur 1500 rad (0% PEG)	1
Gajahmungkur 1500 rad (20% PEG)	10
Gajahmungkur 2000 rad	2
Jumlah	17
Towuti 0 rad (0% PEG)	2
Towuti 1000 rad (0% PEG)	4
Towuti 1000 rad (10% PEG)	1
Towuti 1500 rad	3
Towuti 1500 rad (15% PEG)	1
Jumlah	11
IR64 300 rad (0% PEG)	1
IR64 0 rad (20% PEG)	2
IR64 1500 rad (0% PEG)	8
IR64 0 rad (15% PEG)	3
IR64 700 rad	4
IR64 700 rad (15% PEG)	1
Jumlah	19

Tabel 6. Somaklon yang tahan kekeringan berdasar uji PEG, uji daya tembus akar, uji kandungan prolin dan cekaman kekeringan pada somaklon IR64.

Genotipe	Uji PEG 20%	Uji tembus akar	Prolin nmol/g	Berat gabah bernas (g)	Persentase gabah isi/malai	Persentase penurunan gabah isi	Keterangan
IR64	TB	TD	17,07	TP	TP	100	TH
ISCR1	*	*	169,6	8,90	62	44	TH
SCIR2	*	*	140,1	5,51	51	52	TH
sclR®17	*	*	202,40	0	0	100	TH
sclR®3	*	*	176,78	23,53	49	17	Tahan
sclR®3.1	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®3.2	*	*	204,45	26,0	58	26	Tahan
sclR®3.3	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®4.1	*	*	150,0	18,97	55	31	Tahan
sclR®4.2	*	*	267,2	20,0	53	29	Tahan
sclR®5.1	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®5.2	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®5.3	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®5.4	TB	TT	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®7.1	*	*	180,18	18,08	52	25	Tahan
sclR®7.2	*	*	147,69	19,43	56	30	Tahan
sclR®8.2	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®8.3	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®11	*	*	160,35	12,9	49	36	Tahan
sclR®11.1	*	*	156	20,65	61	37	Tahan
sclR®18	TB	TT	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®19	*	TD	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®22	*	TD	TD	TD	TD	TD	TD
sclR®23	*	*	113,6	TP	TP	100	TH

* = indikasi tahan kekeringan, TB = tidak berkecambah, TD = tidak diuji, TT = tidak tembus, TH = tidak tahan, TP = tidak berproduksi.

kator. Untuk menentukan tingkat ketahanan masing-masing somaklon dilakukan dengan mengamati produksi gabah bernas dan penurunan gabah bernas masing-masing nomor dalam kondisi cekaman kekeringan dibandingkan kondisi normal. Tabel 6 menunjukkan produksi gabah dan penurunan pada masing-masing somaklon asal IR64 yang teridentifikasi tahan kekeringan.

Tabel 7. Evaluasi ketahanan kekeringan pada somaklon Towuti pada perlakuan cekaman kekeringan.

Genotipe	PEG (%)	Uji tembus Akar	Prolin nmol/g	Persentase gabah isi/malai	Berat gabah bernas/tanaman (g)	Persentase penurunan gabah isi/malai	Keterangan
Towuti	*	*	40,58	90	25,45	30	Tahan
scT1	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
scT1.1	*	*	185,9	74	21,65	30	Tahan
sc T23	*	*	160,6	89	30,18	26	Tahan
scT®19	*	*	Tdk	73	25,99	35	Tahan
scT®19.1	*	*	180,4	82,9	27,11	39	Tahan
scT®19.2	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
scT®21.1	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
scT®21.2	*	*	307,21	78	26,73	27	Tahan
scT®24	*	*	243,3	86	22,28	39	Tahan
scT®4.2.1	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
scT®4.2.1	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
scT®4.2.2	*	*	291,26	60	18,86	49	Tahan
scT®4.4	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
scT®7	TB	TD	TD	TD	TD	TD	TD
scT®7.1	*	*	238,5	88	29,1	28	Tahan
scT®7.2	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
scT®2	*	*	542,92	74	20,98	40	Tahan

* = indikasi tahan kekeringan, TB = tidak berkecambah, TD = tidak diuji, TT = tidak tembus, TH = tidak tahan.

Tabel 8. Evaluasi ketahanan kekeringan pada somaklon Gajahmungkur, pada perlakuan cekaman kekeringan.

Genotipe	PEG (20%)	Uji tembus akar	Uji kandungan prolisin	Persentase penurunan gabah isi/malai	Persentase gabah isi/malai	Berat bersih gabah/tanaman	Keterangan
GM	*	*	19,34	36	86	13,46	Tahan
scG1.2	*	TT	TD	TD	TD	TD	TD
scG2.1	*	*	241,3	TP	TP	TP	TH
scG®12.1.1	*	*	TD	42	52,78	5,98	Tahan
scG®23.1	*	*	164,40	88	56	8,58	TH
scG®24.3	*	*	TD	33	46	9,69	Tahan
scG®4.1	*	*	54,21	67	61,23	9,55	TH
scG®4.2	*	*	128,2	78	58,09	6,57	TH
scG®6.2	*	*	TD	5	63	15,19	Tahan
scG®7	*	*	TD	99	50	3,61	TH
scG®9.1	*	*	172,9	82	53,75	9,47	TH
scG®9.3	*	TT	114,8	TD	TD	TD	TH
scG®14.2	*	*	TD	44	52,67	9,32	Tahan
scG®14.3	*	*	TD	14	75	10,36	Tahan

* = indikasi tahan kekeringan, TB = tidak berkecambah, TD = tidak diuji, TT = tidak tembus, TH = tidak tahan, TP = tidak berproduksi.

Uji Produksi pada somaklon asal varietas IR64 menunjukkan bahwa, somaklon yang tahan kekeringan berdasarkan dua indikator tersebut ternyata lebih tahan bila dibandingkan dengan somaklon yang lolos pada salah satu parameter/indikator untuk seleksi. Somaklon yang dianggap tahan (Tabel 6) menghasilkan gabah isi sedangkan pada tanaman induknya tidak berbunga.

Dari seleksi dan evaluasi terhadap berbagai somaklon asal Towuti didapatkan 9 somaklon yang tahan terhadap kekeringan berasal dari (1) kalus tanpa radiasi dan tanpa seleksi, (2) kalus diradiasi 1000 rad (tanpa seleksi dan diseleksi dengan 10% PEG), dan (3) kalus diradiasi dengan dosis 1500 rad tanpa seleksi. Somaklon yang dianggap tahan kekeringan menghasilkan gabah bernas hampir sama atau lebih banyak dibandingkan dengan tanaman induk. Tabel 7 menunjukkan produksi gabah dan penurunan pada masing-masing somaklon asal Towuti yang teridentifikasi tahan kekeringan.

Pengamatan terhadap produksi bulir dari berbagai somaklon asal Gajah-mungkur yang diberi cekaman kekeringan memberikan hasil yang berbeda dibandingkan dengan somaklon asal IR64 dan Towuti. Pada somaklon asal Gajahmungkur yang lolos seleksi pada penapisan dini

menggunakan PEG dan uji daya tembus akar serta kandungan prolin yang tinggi belum tentu menghasilkan gabah dalam kondisi mengalami cekaman kekeringan. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena perlakuan radiasi yang diberikan menimbulkan perubahan ke arah yang negatif atau untuk pengujian terhadap somaklon asal Gajahmungkur tersebut sebaiknya dilakukan pada generasi ke-3 atau yang lebih lanjut, karena pada beberapa hasil penelitian keragaman somaklonal lainnya, sifat unggul yang diinginkan baru muncul pada generasi ke-3 atau ke-4. Dihasilkan tanaman yang mempunyai karakter lebih jelek juga dijumpai pada penelitian Yusnita (2005) dan Widoretno (2004) pada induksi somaklonal kacang tanah dan kedelai. Keragaman somaklonal yang dilakukan diperoleh beberapa somaklon yang tidak berbunga dan karakter agronomi lebih rendah dibandingkan tanaman induknya.

Seleksi dan evaluasi terhadap berbagai somaklon Gajahmungkur tersebut dihasilkan 5 somaklon yang lebih baik dibandingkan kontrol, berasal dari (1) kalus yang diradiasi 1000 rad dan diseleksi menggunakan PEG 20%, (2) kalus diradiasi dengan sinar gamma dosis 1500 rad (tanpa seleksi), (3) kalus diradiasi 1500 rad dan diseleksi menggunakan 20% PEG.

Pertumbuhan berbagai somaklon asal Gajahmungkur tersebut pada perlakuan cekaman kekeringan tampaknya tidak sebaik somaklon asal Towuti dan IR64, karena dari beberapa nomor yang diuji hanya 50% yang produksi bulirnya agak banyak. Namun pada 5 nomor yang dianggap tahan tersebut (Tabel 8) menunjukkan adanya penurunan gabah isi pada kondisi cekaman kekeringan yang lebih rendah dibandingkan dengan somaklon lainnya. Selain itu, tanaman yang dihasilkan mempunyai anakan lebih banyak dibandingkan dengan induknya dan tanaman lebih pendek, sehingga tanaman dapat berproduksi tinggi dan tidak mudah rebah.

KESIMPULAN

PEG (BM 6000) konsentrasi 20% dapat digunakan untuk seleksi kalus dari tiga varietas Gajahmungkur, Towuti, dan IR64. Induksi mutasi dan kultur *in vitro* dapat menghasilkan keragaman somaklonal sehingga didapatkan karakter unggul untuk ketahanan terhadap kekeringan, seperti tanaman lebih pendek, anakan lebih banyak serta vigor tanaman lebih baik.

Telah didapatkan metode untuk seleksi terhadap kekeringan menggunakan penciri morfologi dan fisiologi, yaitu menggunakan PEG dan uji daya tembus akar serta kandungan prolin.

Dari parameter produksi gabah isi per malai dan berat gabah bernas per tanaman pada somaklon yang diberi cekaman kekeringan didapatkan 5 somaklon asal varietas Gajahmungkur, 9 somaklon asal Towuti, dan 8 somaklon asal IR64 yang tahan terhadap kekeringan

Somaklon yang tahan kekeringan tersebut adalah, scG®12.1.1, scG®24.3, scG®6.2, scG®14.2, scG®14.3; scIR®3, scIR®3.2, scIR®4.1, scIR®4.2, scIR®7.1, scIR®7.2, scIR®11, scIR®11.1 dan scT1.1, scT23, scT®19, scT®19.1, scT®21.2, scT®24, scT®4.22., scT®7.1, scT®7.2.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 2004.** Mutation techniques for plant breeding. New Agriculturist on line. <http://www.google.com/search?q=cactc:EQZnelqtTmmJ:www.new-agri-o.uk/gg>.
- Bandurska, H. 2000.** Does proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free Proline Accumulation and Membran Injury Index in Drought and Osmotically Stressed Plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 22(4):409-415.
- Bousslama, M. and W.T. Schapaugh. 1984.** Stress tolerance in soybean. I. Evaluation on Three Screening Techniques for Heat and Drought Tolerance. *Crop Sci.* 24:993-937.
- Dib, T.A., E. Monneveux, Acevedo, and M.M. Nachit. 1994.** Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence sequencing measurements as drought tolerance Indicators in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Euphytica* 79:65-73.

- IAEA. 1997.** Manual on mutation, viability and population structure. Acta Agric. Cand. IV:601-632.
- Ismachin, M. 1988.** Pemuliaan tanaman dengan mutasi buatan. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Atom Nasional. Jakarta. 28 hlm.
- Jones, M.M. and N.C. Turner. 1980.** Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficit. Aust. J. Plant Physiol. 7:181-192.
- Karp, A. 1995.** Somaclonal variation as a tool for crop improvement. Euphytica 85:295-302.
- Kaher, A. 1993.** Perbaikan varietas padi gogo pada lahan kering marginal. *Dalam* Syam, M., Hermanto, A. Musaddad, dan Sunihardi (Eds.). Kinerja Penelitian Tanaman Pangan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Litbang Pertanian. hlm. 448-459.
- Lubis, E., Z. Harahap, M. Direja, dan B. Kusianto. 1993.** *Dalam* Syam, M., Hermanto, A. Musaddad, dan Sunihardi (Eds.). Kinerja Penelitian Tanaman Pangan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Litbang Pertanian. hlm. 437-447.
- Maestri, M., F.M. Da Matta, A.J. Regazzi, and R.S. Barros. 1995.** Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). J. Hort. Sci. 70(2):229-233.
- Maluszynski, M., B.S. Ahloowalia, and B. Sigurbjornsson. 1995.** Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. Euphytica 85:303-315.
- Sharma, P.K., G.I. Pantuwon, K. Ingram, and S.K. Datta. 1994.** Rainfed lowland rice roots: Soil and hydrological effects. *In* Kirk, G.J.D. (Ed.). Roots Nutrient and Water. IRRI. p. 55-66.
- Suardi, D. 1994.** Evaluasi penelitian ketahanan tanaman padi terhadap kekeringan. Buletin Littan. 9:8-16.
- Suardi, D. dan T.S. Silitonga. 1998.** Uji toleransi kekeringan plasma nutfah padi dengan menggunakan larutan poly ethylene glycol (PEG) 8000. *Dalam* Moeljopawiro, S., M. Machmud, L. Gunarto, I. Mariska, dan H. Kasim (Eds.). Prosiding Temu Ilmiah Bioteknologi Pertanian Balitbio Tanaman Pangan. Maret 1998.
- Van Harten, A.M. 1998.** Mutation breeding. Theory and Practical Applications. Cambridge University Press. 353 p.
- Widoretno, W. 2002.** Seleksi *in vitro* untuk toleransi terhadap cekaman kekeringan pada kedelai (*Glycine Max* (L). Merr.) dan karakterisasi varian somaklonal yang toleran. Disertasi Program Pascasarjana Institut Petanian Bogor.
- Yu, L.A., J.D. Ropy, J.C. O'Toole, and H.T. Nguyen. 1995.** Use of wax-petrolatum layers for screening rice root penetration. Crop Sci. p. 684-687.
- Yusnita. 2005.** Induksi variasi somaklonal dan teknik seleksi *in vitro* untuk mendapatkan galur kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) resisten penyakit busuk batang Sclerotium. Disertasi Program Pascasarjana Institut Petanian Bogor.