

STRATEGI PENDEKATAN BIOTEKNOLOGI UNTUK PEMULIAAN TANAMAN TOLERAN KERACUNAN ALUMINIUM

STRATEGY OF BIOTECHNOLOGY APPROACH FOR PLANT BREEDING TOLERANT TO ALUMINUM TOXICITY

Joko Prasetyono dan Tasliah¹

ABSTRACT

Aluminum (Al) toxicity is one of major problem for plant grown on acids soils. Al^{3+} is toxic and inhibits growth of cells of animal, bacterial, fungal, and plant. Mechanism of Al tolerance is consist of one (single mechanism) or more (multiple mechanism) ways. Modern biotechnology started to be used to complementary of conventional breeding. Gene transfer of aluminum tolerance would provide a powerful method of improving crop yields on acid soils. Successful applicaton of this approach awaits the identification and isolation of genes that confer Al tolerance. Molecular markers approach is also high technology for screening in plant breeding.

Key words : aluminum toxicity, gene transfer, molecular marker

ABSTRAK

Keracunan aluminium merupakan salah satu problem utama pertumbuhan tanaman pada tanah masam. Ion Al^{3+} merupakan racun dan dapat menghambat pertumbuhan sel-sel hewan, bakteri, jamur, dan tanaman. Mekanisme toleransi terhadap aluminium dalam satu species bisa hanya satu mekanisme atau lebih dari satu mekanisme. Bioteknologi modern mulai digunakan untuk melengkapi pemuliaan konvensional yang sudah ada. Transfer gen-gen toleran aluminium akan dapat dipakai sebagai alat yang ampuh untuk mengatasi problem tanah masam. Keberhasilan metode ini sangat tergantung pada keberhasilan identifikasi dan isolasi gen-gen yang mengatur sifat toleransi terhadap keracunan aluminium. Marka molekuler juga merupakan teknologi yang bisa dipakai sebagai alat seleksi untuk sifat ini.

Kata kunci : keracunan aluminium, transfer gen, marka molekuler

PENDAHULUAN

Pengaruh Aluminium pada Tanaman

Aluminium (Al) merupakan salah satu unsur yang banyak terdapat dalam tanah masam. Pemasaman tanah dapat berkembang secara alami jika kation-kation basa tercuci dari tanah, namun juga dapat dipercepat oleh karena tindakan-tindakan budidaya. Pemasaman tersebut akan mengakibatkan keracunan aluminium yang dapat mengurangi pertumbuhan akar dan tajuk (Gauer & Horst, 1990). Selain itu ketersediaan hara N, P, K, Ca, Mg, dan Mo juga sangat terbatas (Kaher, 1993). Defisiensi P pada umumnya diinduksi oleh kandungan Al yang tinggi. Hal ini disebabkan terbentuknya kompleks Al-

¹ Balai Penelitian Bioteknologi dan Suberdaya Genetika Pertanian, Bogor

Posfat (baik di larutan tanah maupun di dalam sel) yang tidak bisa dipergunakan oleh tanaman. Kemampuan tanaman untuk dapat memanfaatkan kandungan P yang rendah secara efisien selalu dihubungkan dengan sifat toleransi tanaman terhadap Al. Kation trivalen Al^{3+} akan menghambat transpor Ca^{2+} secara efektif ke dalam akar, protoplas, dan membran vesicles. Hasil studi pada lipid bilayer menunjukkan bahwa Al dapat memblok Ca^{2+} dan saluran K^+ (Ryan *et al.*, 1997).

Tanaman tidak dapat menghindari kehadiran aluminium di larutan tanah karena proses pemasaman spontan dari tanah (Hai *et al.*, 1989). Kelebihan Al sangat dipengaruhi oleh pH tanah. Pada tanah dengan $pH < 5$ kelarutan Al sangat tinggi, di samping itu pada $pH < 5$ Al akan terdapat dalam bentuk monomer Al^{3+} yang sangat beracun bagi tanaman. Di samping Al^{3+} , dapat juga berbentuk $Al(OH)^{2+}$, dan $Al(OH)_2$ yang terbentuk sebagai akibat kenaikan pH. Pada pH mendekati netral aluminium menjadi gipsit atau $Al(OH)_3$ (Delhaize and Ryan, 1995). Oleh karena itu pada pH rendah terbatasnya pertumbuhan tanaman tidak hanya disebabkan oleh aktivitas ion H^+ , tetapi juga kelebihan ion aluminium yang meracuni perakaran tanaman.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan target utama keracunan Al adalah jaringan akar tanaman, terutama ujung akar (Khatiwada *et al.*, 1996). Bushamuka & Zabel (1998) menyatakan akar tanaman jagung dan kedelai dapat berkembang dengan baik pada larutan Al yang diberi kapur dibandingkan yang tanpa pengapuran. Gejala pertama yang tampak dari keracunan Al adalah sistem perakaran yang tidak berkembang (pendek dan tebal) sebagai akibat penghambatan perpanjangan sel. Selain itu pengaruh buruk yang lain yaitu terjadi gangguan penyerapan hara mineral, penggabungan Al dengan dinding sel dan penghambatan pembelahan sel.

Penelitian yang dilakukan Ryan *et al.* (1993) pada gandum ditemukan bahwa Al lebih banyak terakumulasi pada ujung akar dan pada daerah ini lebih banyak kerusakan fisik dibanding pada jaringan akar dewasa. Gangguan penyerapan hara mineral tanah masam disebabkan dua hal yang saling berkaitan yaitu efek langsung dari penghambatan perpanjangan akar dan adanya efek tidak langsung terhadap ketersediaan hara.

Pada tanaman yang sensitif, Al banyak ditemukan pada inti dan dinding sel. Pada dinding sel, penghambatan terjadi karena Al menggantikan kedudukan Ca^{2+} pada lamela tengah. Ikatan Al dengan grup karboksil akan menimbulkan ikatan yang kuat sehingga sel tidak dapat membesar (Ryan *et al.*, 1997). Pada inti sel, Al berasosiasi dengan DNA sehingga menghentikan proses pembelahan sel meristem apikal. Al dalam bentuk polimer memiliki muatan positif yang besar serta memiliki banyak situs pengikatan. Polimer Al ini dapat mengikat fosfat yang ada pada kedua utas DNA, mengakibatkan gagalnya utas ganda DNA terpisah.

Akumulasi Al yang tinggi pada inti sel tudung akar yang menghambat perpanjangan akar merupakan akibat dari kerusakan pada sel tudung akar yang berfungsi sebagai sensor terhadap cekaman lingkungan. Hal ini menyebabkan permukaan akar berwarna coklat kekuningan berbintik dan mudah patah.

Pada membran sel, pengaruh Al lebih banyak disebabkan oleh adanya perubahan atau kerusakan sifat permeabilitas. Pada membran sel akar barley, Al ditemukan berasosiasi dengan gugus fosfolipid membran yang menyebabkan kerusakan struktur membran atau perubahan dalam permeabilitas membran. Hal ini menyebabkan

penyerapan hara yang dikatalisis oleh pompa proton akan dipengaruhinya. Ion Al yang bermuatan positif dapat berasosiasi dengan gugus fosfat dari ATP atau fosfolipid pada membran yang akan mempengaruhi efektivitas transpor proton.

Mekanisme Toleransi Terhadap Aluminium

Tanaman yang toleran terhadap keracunan Al memiliki kemampuan untuk menekan pengaruh buruk keracunan Al tersebut. Kriteria tanaman yang toleran antara lain : (a) akar sanggup tumbuh terus dan ujung akar tidak rusak, (b) mengurangi absorpsi Al, (c) memiliki berbagai cara untuk menetralkan pengaruh toksik Al setelah diserap tanaman, (d) sanggup menciptakan keadaan yang kurang asam di daerah perakaran, (e) translokasi ion Al ke bagian atas tanaman sedikit, karena sebagian besar ditoleran di akar, (f) karena suatu mekanisme tertentu maka ion aluminium tidak sanggup menghambat serapan Ca, Mg, dan K.

Asam organik berperan dalam penolakan Al melalui pelepasannya dari akar dan detoksifikasi Al dalam simplas, dimana asam organik seperti asam sitrat dapat mengkelat Al dan mereduksi atau mencegah pengaruh racunnya pada tingkat seluler (Pellet *et al.*, 1995). Beberapa senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman dan dapat mengkelat Al antara lain adalah asam malat, asam sitrat, asam oksalat, asam fulfat, asam humat, dan fenolat.

Asam malat merupakan asam organik yang paling banyak dieksresikan oleh ujung akar tanaman gandum yang toleran Al, dimana banyaknya eksresi asam malat 5 sampai 10 kali lebih banyak daripada tanaman yang peka Al (Delhaize *et al.*, 1993). Gejala ini dibuktikan pula oleh Pellet *et al.* (1996) yang mengamati eksudasi malat pada gandum galur Atlas dan ET3.

Hasil penelitian pada tanaman *Cassia tora* L. memperlihatkan hubungan antara eksudasi asam sitrat dengan waktu pemberian Al. Eksudasi asam sitrat sangat lambat selama empat jam pertama pemberian Al, namun setelah itu meningkat dengan tajam. Jumlah asam sitrat yang dieksudasi meningkat dengan penambahan konsentrasi Al yang diberikan secara eksternal (Ma *et al.*, 1997).

Pada tanaman taro (*Calocasia esculenta* (L.) Schott) juga banyak ditemukan asam oksalat. Asam oksalat ini membuat tanaman taro menjadi toleran terhadap Al karena pembentukan kompleks Al-oksalat di rizosfir (Ma dan Miyasaka, 1998). Mekanisme toleransi seperti ini juga ditemukan pada tanaman buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, cv Jianxi), dimana tanaman ini mempunyai mekanisme internal dan eksternal dengan mensekresi senyawa asam oksalat (Zheng *et al.*, 1998).

Percobaan penambahan asam organik ke dalam larutan air menunjukkan bahwa pada tanaman kedelai tampaknya asam fulfat lebih mampu menetralkan pengaruh buruk Al dibandingkan asam malat atau oksalat (Suthipradit *et al.*, 1990).

Eksudasi P yang disertai dengan malat ditemukan pada kultivar gandum Atlas dan ET3, yang mana keduanya akan membentuk kompleks Al-malat dan Al-Posfat. Kompleks ini akan mempertinggi toleransi terhadap Al (Pellet *et al.* 1996).

Peningkatan pH dapat terjadi jika asam organik yang dikeluarkan mengalami protonasi pada larutan eksternal sehingga mengurangi toksisitas Al^{3+} melalui peningkatan pH yang pengaruhnya sama dengan kelatisasi Al. Degenhardt *et al.* (1998) juga

mengamati terjadinya peningkatan pH larutan hara yang terdapat *Arabidopsis thaliana* mutant alr-104 dan tipe liar yang diinduksi pada larutan Al.

Ortega dan Ownby (1993) melaporkan adanya sebuah protein yang mirip dengan PR (*pathogenesis-related*) yang dikeluarkan dalam sel *Triticum* sebagai mekanisme toleransi internal terhadap Al. Protein tersebut diberi nama TAI-18. Protein tersebut ternyata juga dikeluarkan sebagai reaksi terhadap keracunan Cu dan Cd.

Penetralkan racun (detoksifikasi) dilaporkan terjadi dengan adanya eksudasi asam sitrat dalam apoplasma atau rizosfir dilaporkan terdapat pada genotipe buncis yang toleran Al (Miyasaka *et al.*, 1991). Ma *et al.* (1998) juga melaporkan adanya mekanisme internal detoksifikasi dengan terjadinya kompleks Al pada daun dan akar pada tanaman buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench. cv. Jianxi), dengan perbandingan Al : asam oksalat sebesar 1 : 3.

Perubahan apoplas pada sel terjadi pada akar jagung yang toleran Al. Pada 4 jam setelah diinduksi dengan larutan, kompleks Al-P tertimbun pada dinding sel akar, tetapi setelah 24 jam tidak ditemukan lagi di tempat tersebut karena kompleks Al-P tadi berpindah ke vakuola. Mekanisme ini menyebabkan perubahan apoplastik yang sangat aktif (Vazquez *et al.*, 1999).

Beberapa enzim ternyata dikeluarkan sebagai reaksi terhadap keracunan Al, misalnya NAD kinase dilaporkan meningkat aktivitasnya ketika beberapa genotipe padi yang diinduksi dengan larutan stress Al (Jan *et al.*, 1994). Ternyata peningkatan kadar NAD kinase terdapat pada tanaman padi yang peka terhadap aluminium.

Strategi Pemuliaan Tanaman Toleran Aluminium

Pemuliaan tanaman untuk mencari sumber-sumber ketahanan baru terus dilakukan, misalnya pada padi (Khatiwada *et al.*, 1996), gandum (McKendry *et al.*, 1996), dan kedelai (Hall *et al.*, 1998). Hasil skrining di lapang untuk Varietas/galur padi asli Indonesia yang toleran aluminium telah dilakukan oleh Tim Plasma Nutfah Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor yang hasilnya dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Varietas/galur padi asli Indonesia yang toleran keracunan aluminium

No	No Asesi	Nama varietas	Kabupaten, propinsi asal
1	20968	Rumbay	Belum diketahui
2	4061	Kuning Samaso	Tanah datar, Sumatera Barat
3	4063	Ampek Rajo	Limapuluh Koto, Sumatera Barat
4	4064	Lubuk Kenari	Limapuluh Koto, Sumatera Barat
5	4077	Si Randah Darik	Agam, Sumatera Barat
6	4078	Bindang Jambi	Agam, Sumatera Barat
7	4108	H.S. 2	Bogor, Sumatera Barat
8	4218	Bali Ketumbar	Banyuwangi, Jawa Timur
9	4259	Jula-juli	Malang, Jawa Timur
10	4267	Kedok	Kediri, Jawa Timur
11	4268	Si Jera	Malang, Jawa Timur
12	4274	Merdeka	Malang, Jawa Timur

No	No Asesi	Nama varietas	Kabupaten, Propinsi Asal
13	4301	Rondo Makmur	Nganjuk, Jawa Timur
14	4303	PB5 Nganjuk	Nganjuk, Jawa Timur
15	4305	Baliman Putih	Kodya Banjarmasin, Kalimantan Selatan
16	5461	Srikandi	Majalengka, Jawa Barat
17	5462	Cempo Peteng	Majalengka, Jawa Barat
18	5467	Segon Benggala	Majalengka, Jawa Barat
19	5511	Gombal	Bandung, Jawa Barat
20	5581	Sukamandi	Rembang, Jawa Tengah
21	5585	Pikto	Rembang, Jawa Tengah
22	5645	Lambang Kuning	Kodya Surabaya, Jawa Timur
23	5646	Ganefo	Kodya Surabaya, Jawa Timur
24	5647	Rijal	Kodya Surabaya, Jawa Timur
25	5727b	Indramayu	Pati, Jawa Tengah
26	5737	Sampang	Kebumen, Jawa Tengah
27	5742	Mendalet	Kebumen, Jawa Tengah
28	5744	Manggar	Kebumen, Jawa Tengah
29	5762	Rijal	Magetan, Jawa Timur
30	5764	Sempati Telor	Pekanbaru, Riau
31	5812	Siro	Purwokerto, Jawa Tengah
32	5861	Jaliah Putih	Indramayu, Jawa Barat
33	6239	Bebon	Subang, Jawa Barat
34	6292	Julai	Pesisir Selatan, Sumatera Barat
35	6293	Si Hadap	Pasaman, Sumatera Barat
36	6332	Pae Gudo	Muna, Sulawesi Tenggara
37	6364	Cempo Kol	Nganjuk, Jawa Timur
38	6374	Si Opuk	Kampar Riau
39	6508	Raden Kuning	Tanah Laut, Kalimantan Selatan
40	6836	Jambi	Lahat, Sumatera Selatan
41	6874	Wilis	Banyumas, Jawa Tengah
42	6989	Tumpang Karyox Gros	Mojokerto, Jawa Timur
43	6990	Tumpang KaryoxGos	Mojokerto, Jawa Timur
44	6992	PB5 x Tumpang Karyo	Mojokerto, Jawa Timur
45	7010	Perak	Cirebon, Jawa Barat
46	7013	Malindo	Cirebon, Jawa Barat
47	7029	Jambuan	Cirebon, Jawa Barat
48	7041	Bebeg	Tangerang, Jawa Barat
49	7042	Deli	Tangerang, Jawa Barat
50	7185	Ketan Kutuk	Banyuwangi, Jawa Timur
51	7188	Koppor	Banyuwangi, Jawa Timur
52	7200	Cempo Sabrang Putih	Mojokerto, Jawa Timur
53	7214	Jawa Paris Abang	Mojokerto, Jawa Timur
54	7223	Solo	Subang, Jawa Barat
55	7224	Makmur	Subang, Jawa Barat

No	No Asesi	Nama variets	Kabupaten, Propinsi asal
56	7227	Sri Kuning	Subang, Jawa Barat
57	7238	Tiga Dara	Subang, Jawa Barat
58	7255	Bodi	Sulawesi Utara
59	7272	Bakka Kleno	Maros, Sulawesi Selatan
60	7274	Parada	Maros, Sulawesi Selatan
61	7541	Si Kamatan	Aceh Tenggara, Aceh
62	7543	Si Rangsang Besi	Aceh Tenggara, Aceh

Sumber : Buku Plasma Nutfah Balitbiogen

Saat ini para ahli mulai mengembangkan strategi dengan pendekatan biologi molekuler dengan mempelajari gen-gen yang mengatur toleransi Al berdasarkan mekanisme toleransi yang telah disebutkan di atas, kemudian melakukan kloning, dan mulai merakit tanaman transgenik yang toleran Al. Sebetulnya perakitan tanaman transgenik memiliki kelebihan tersendiri karena perubahan lahan masam sangat lambat dibandingkan dengan perubahan virulensi hama dan penyakit, sehingga sekali didapatkan satu tanaman transgenik toleran keracunan aluminium maka akan dapat digunakan dalam jangka panjang. Namun, perakitan tanaman transgenik untuk sifat ini tidak mudah karena sifat toleransi terhadap keracunan aluminium ini bersifat poligenik.

Perakitan tanaman transgenik toleran keracunan aluminium sampai saat ini belum banyak dipublikasikan. Ezaki *et al.* (2000) melakukan penelitian ekspresi 9 gen (*wali 5*, *AtBPI*, *AtBCB*, *AtPox*, *parA*, *parB*, *NtPox*, *NtGD11*, *HSP150*) yang diintroduksi ke dalam tanaman *Arabidopsis* dan hasil yang didapatkan gen-gen tersebut dapat bekerja dengan baik ketika diinduksi dengan keracunan aluminium. Penelitian ini dilanjutkan dengan melakukan karakterisasi mekanisme ketahanan ketika sudah dimasukkan ke dalam tanaman, yang disebutkan gen *AtBCB* menekan penyerapan Al, gen *NtGD11* memelopori pelepasan Al di dalam ujung akar, gen *parB* dan *NtPox* mengeluarkan enzim glutathione S-transferase dan peroksidase yang menjaga kestabilan sel pada kondisi keracunan aluminium (Ezaki *et al.*, 2001)

Penelitian identifikasi dan isolasi gen-gen yang mengendalikan sifat tersebut sudah banyak dilakukan para peneliti. Mekanisme toleransi yang sangat beragam menyebabkan keragaman gen-gen yang mengatur sifat tersebut. Snowden dan Gardner (1993) dan Snowden *et al.* (1995) telah berhasil melakukan kloning gen yang diinduksi Al menggunakan teknik cDNA dari akar gandum. Ortega *et al.* (1997) telah melakukan skreening terhadap klon-klon cDNA ujung akar gandum yang diindikasikan mengkode enzim 1,3- β -glukanase dan protein fimbrin-like-cytoskeletal. Ezaki *et al.* (1995) telah mengisolasi gen yang diinduksi Al dari sel tembakau yang ditumbuhkan pada kultur jaringan. Anwar (2000) dan Yuniati (2000) telah berhasil mengisolasi gen-gen cekaman Al pada kedelai, yang dilakukan di laboratorium Biologi Molekuler PAU-IPB. Gen-gen tersebut adalah *gmali 1* (H⁺-ATPase membran plasma), *gmali14*(histon H3), *gmali20* (Katalase), *gmali49* (NADH dehydrogenase), *gmali50* (Auksin-induced protein), dan *sapali* (aminoasil Peptidase). Satu klon cDNA (A36) telah berhasil diisolasi Yuniati (2000) dari galur kedelai toleran (Slamet), dan studi sekuen menyatakan gen ini mirip dengan *guard cell*. Rodriguez *et al.* (2002) telah melakukan skreening cDNA pada ujung

akar tanaman gandum hitam/rye dan didapatkan ada 13 gen-gen baru yang terlibat dalam detoksifikasi keracunan aluminium. Watt (2002) telah melakukan penelitian eksplorasi gen-gen pada tebu di bawah kondisi stress aluminium. Kawahima *et al* (1991) dan Ulmasov *et al.* (1995) meneliti pada kedelai, kubis (Kim *et al.*, 1995), kopi (Moisyadi and Stiles, 1995), *Arabidopsis* (Zhou dan Goldsbrough, 1993, Hindges dan Slusarenko, 1992). Barangkali puluhan gen-gen lainnya yang mengatur toleransi terhadap keracunan aluminium telah berhasil diisolasi dari berbagai species. Namun menurut Gardner (1998) peranan gen-gen dalam menekan stress aluminium dapat dikelompokkan menjadi 11 macam yang dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Gen-gen yang diinduksi oleh stress Al dalam tanaman

No	Gen	Spesies
1	Phenylalanine ammonia lyase	Gandum
2	Metallothionein-like protein	gandum, <i>Arabidopsis</i>
3	Bowman-Birk proteinase inhibitors	gandum, <i>Arabidopsis</i>
4	Pathogenesis related protein (PR2)	Gandum
5	β -glucanase	Gandum
6	Auxin-induced gene (par A)	Tembakau
7	Glutathione-s-transferase	tembakau, <i>Arabidopsis</i>
8	Peroxidase	tembakau, <i>Arabidopsis</i>
9	Superoxidase dismutase	<i>Arabidopsis</i>
10	Blue copper binding protein	<i>Arabidopsis</i> , gandum
11	Reticuline oxygen: oxidoreductase	<i>Arabidopsis</i>

Pendekatan lain yang digunakan untuk melakukan seleksi sifat ini adalah dengan bantuan marka molekuler. Hal ini didasari oleh beberapa penelitian yang menyebutkan bahwa pewarisan sifat toleransi aluminium dikendalikan oleh sekelompok gen (poligenik) dan diwariskan secara kuantitatif. Crowder (1988) menyebutkan bahwa pengaruh gen yang mempengaruhi sifat kuantitatif dapat berupa aditif, dominan tidak lengkap, dominan lengkap, dan lewat dominan. Pengaruh gen yang bersifat aditif akan memberikan kurva fenotipe mendekati distribusi normal, sedangkan yang dominan akan cenderung ke salah satu tetua (tidak normal). Seleksi untuk sifat kuantitatif ini sangat sulit dilakukan karena melibatkan banyak gen yang memiliki pengaruh tertentu, interaksi antar gen, atau bahkan interaksi dengan lingkungan.

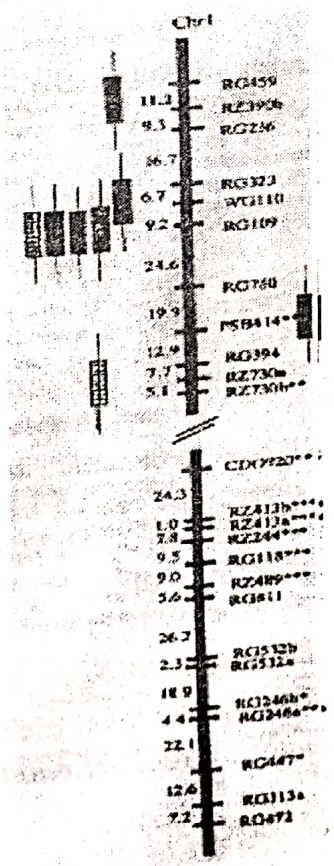
Beberapa penelitian menunjukkan toleransi padi terhadap aluminium dikendalikan lebih dari satu pasang gen yang terlihat dari pewarisan secara kuantitatif. Khatiwada *et al.* (1996) yang melakukan studi genetik pada padi sawah pada kondisi keracunan aluminium menunjukkan bahwa nilai relatif panjang akar (RPA) yang tinggi dikendalikan oleh pengaruh aditif dan dominan, tetapi lebih banyak karena pengaruh aditif. Wu *et al* (1997) melakukan penelitian studi genetik untuk sifat toleransi terhadap keracunan aluminium pada padi dengan membuat persilangan dialel tidak sempurna pada 8 tetua jantan dan 7 tetua betina. Didapatkan ragam GCA (*General Combine Ability*)

lebih besar dibanding SCA (*Specific Combine Ability*), sehingga disimpulkan pengaruh gen-gen aditif lebih besar.

Hall *et al.* (1998) menyebutkan toleransi terhadap keracunan aluminium pada kedelai toleran Al (PI 416937) dikontrol paling tidak dua sampai lima gen.

Trikoesoemaningtyas (2002) menyebutkan bahwa dari studi pewarisan sifat diketahui bahwa efisiensi unsur kalium dalam keadaan tercekam aluminium pada padi gogo yang diamati sebagai kemampuan menghasilkan bahan kering dan efisiensi penggunaan kalium, merupakan sifat kuantitatif yang dikendalikan oleh sekelompok gen-gen pada inti dan pewarisannya tidak dipengaruhi oleh tetua betina. Sifat ini dikendalikan tidak saja oleh aksi gen aditif-dominan tetapi juga oleh interaksi aditif x aditif dan dominan x dominan. Keragaman genetik dari sifat efisiensi K dalam keadaan tercekam Al cukup tinggi. Jagau (2000) menyebutkan efisiensi penyerapan nitrogen dalam keadaan cekaman aluminium yang dinilai berdasarkan bobot kering tanaman dan efisiensi penggunaan nitrogen merupakan karakter kuantitatif yang dikendalikan secara poligenik dengan aksi gen yang kompleks; ditentukan tidak hanya oleh pengaruh aditif dan dominan, tetapi juga oleh interaksi antar gen. Moon *et al.* (1997) yang meneliti keragaman variasi somaklonal jagung pada kondisi keracunan aluminium menyebutkan toleransi pada galur inbred jagung Cat-100-6 dikendalikan oleh inti tunggal, gen semidominan, yang diberi nama *Alm 1*. Pellet *et al.* (1996) menyebutkan bahwa sifat toleransi pada gandum Atlas dikendalikan paling sedikit dua gen pada dua lokus yang berbeda. Gen *Alt* mengendalikan eksudasi malat dai ujung akar sedangkan gen pada lokus yang lain mengendalikan eksudasi fosfat.

Berdasar kondisi tersebut apabila dilakukan seleksi secara konvensional menurut Bennet (1993) akan membutuhkan waktu yang panjang dan areal yang lebih luas untuk memproduksi satu galur baru. Seleksi berdasarkan pada fenotipe saja akan menemui kesulitan, karena lingkungan yang diciptakan kadang tidak seragam, sehingga tekanan seleksi menjadi tidak merata yang akan menyebabkan kesalahan pemilihan galur yang toleran. Atau, apabila gen-gen yang mengatur sifat tersebut bersifat aditif seleksi akan lebih sulit dilakukan karena masing-masing gen hanya menyumbang sebagian kecil dari fenotipe tersebut. Jika marka-marka molekuler yang terpaut dengan gen-gen (lokus-lokus sifat kuantitatif) tersebut sudah diidentifikasi, marka ini dapat membantu mengurangi ukuran populasi dan waktu generasi dalam sebuah program pemuliaan. Selain itu marka molekuler mempunyai kelebihan khusus yakni memiliki kemampuan menyeleksi pada tahap pembibitan untuk sifat-sifat yang baru



Gambar 1. Marka molekuler (WG110) yang terpaut dengan sifat toleransi terhadap keracunan aluminium pada padi.

bisa diamati setelah besar dan memiliki kemampuan menyeleksi sifat yang sangat sulit, malah bila menggunakan seleksi fenotipe perlu waktu yang panjang (misal: morfologi perakaran, resistensi terhadap organisme pengganggu atau ras atau biotipe penyakit atau serangga, toleransi terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan, garam, defisiensi atau keracunan mineral) (McCouch dan Tanksley, 1991).

Beberapa penelitian tentang marka molekuler untuk pemuliaan tanaman toleran keracunan aluminium di antaranya adalah pemetaan genetik menggunakan marka mikrosatelit dan RAPD yang telah berhasil memetakan gen *al-resistan* (*alr*) pada *Arabidopsis thaliana*, yakni satu lokus pada kromosom 1 (*alr-108*, *alr-128*, *alr-131*, dan *alr-139*), dan lainnya pada kromosom 4 (*alr-104*) (Larsen *et al.*, 1998). Riede dan Anderson (1996) melaporkan telah berhasil memetakan gen *Alt_{BH}* yang merupakan gen mayor yang terletak pada kromosom 4DL dan mewakili 85% variasi fenotipik toleransi Al pada tanaman gandum. Peneliti ini menggunakan klon bcd 1230 sebagai marka RFLP. Wu *et al.* (2000) telah berhasil memetakan marka RFLP yang mengatur efek epistasis pada tahap pembibitan pada tanaman padi. Nguyen *et al.* (2001) telah mendapatkan beberapa marka RFLP yang terpaut dengan sifat-sifat yang mengatur panjang akar. Peneliti ini melakukan pengujian pada 188 F₂ hasil persilangan Chiembau (padi toleran Al dari Vietnam) dengan Omon 269-65 (galur rakitan yang rentan). Fenotipik yang diukur adalah panjang akar dan tajuk pada populasi F₃ yang kemudian dipautkan dengan 164 lokus pada 12 kromosom padi. Didapatkan marka-marka RFLP WG 110 yang terkait dengan gen-gen yang mengatur sifat toleransi terhadap keracunan aluminium (Gambar 1). Marka-marka ini dapat dipakai sebagai alat seleksi untuk persilangan berikutnya yang menggunakan tetua toleran (Chiembau) tersebut. Dengan bantuan ini seleksi akan lebih cepat dan akurat.

Nguyen *et al.* (2002) melakukan penelitian pemetaan QTL pada 146 double haploid padi dari persilangan CT9993-5-10-1-M (toleran Al) dan IR62266-42-6-2 (peka Al) menggunakan 280 marka DNA (RFLP, AFLP, dan mikrosatelit). Posisi QTL untuk panjang akar pada kondisi stress Al didapatkan pada kromosom 1, 6, 7, 9, 10, dan 12; sedangkan pada kondisi normal posisi QTL didapatkan pada kromosom 2, 7, dan 8.

KESIMPULAN

Mekanisme toleransi terhadap keracunan aluminium yang sangat kompleks mengharuskan pendekatan bioteknologi harus dilakukan secara terintegrasi antar berbagai disiplin ilmu dan kerjasama antar lembaga penelitian baik domestik dan internasional sangat diperlukan untuk menghemat waktu, tenaga, dan biaya. Perakitan varietas tanaman sebaiknya dilakukan dengan menggabungkan beberapa gen ke dalam satu tanaman (pyramiding gene) untuk mempertahankan umur produktif tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, S., M. Jusuf, dan D. Sopandie. 2000. Pengklonan gen-gen yang diinduksi oleh aluminium pada kedelai (*Glycine max* (L.) Merryl). *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 5 (1): 1-6

- Bennet, J. 1993. Maps and markers. In *Genome analysis of plant, pests, and pathogens*. Workshop handbook. IRRI. Los Banos.
- Bushamuka, V.V.N., and R.W. Zobel. 1998. Maize and soybean tap, basal, and lateral root responses to a stratified acid, aluminum-toxic soil. *Crop. Sci.* 38: 416-421.
- Crowder, L.V. 1988. *Genetika tumbuhan (terj. Lilik Kusdiarti)*. Cetakan ke-2. Gadjah Mada University Press. 499 hal.
- Degenhardt, J., P.B. Larsen, s.H. Howell, and L.V. Kochian. 1998. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant alr-104 is caused by an aluminum-induced in rhizosphere pH. *Plant Physiol.* 117: 19-27
- Delhaize, E., P.R., Ryan, and P.J. Randal. 1993. Aluminum tolerance in wheat in wheat (*Triticum aestivum* L.)II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiol.* 103: 695-702
- Delhaize and Peter R. Ryan. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol* 107: 315-321
- Ezaki, B., Y. Yamamoto, and H. Matsumoto. 1995. Cloning and sequencing of cDNA induced by aluminum treatment and Pi starvation in cultured tobacco cells. *Physiol. Planta.* 93 : 11-18
- Ezaki, B., R.C. Gardner, Y. Ezaki, and H. Matsumoto. 2000. Expression of aluminum-induced genes in transgenic *Arabidopsis* plants can ameliorate aluminum stress and/or oxidative stress. *Plant Physiol* 122: 657-665
- Ezaki, B., M. Katsuhara, M. Kawamura, and H. Matsumoto. 2001. Different mechanisms of four aluminum (Al)-resistant transgene for Al toxicity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 127: 918-927
- Gardner, R.C. 1998. Manipulation of aluminum tolerance by gene transfer. *Hayati*: 29-33.
- Gauer, U.E. and W.J. Horst. 1990. Effect of pH and nitrogen source on aluminum tolerance of rye (*Secale cereale* L.) and yellow lupin (*Lupinus luteus* L.). *Plant and Soil* 127: 13-21
- Hai T.V., T.T. Nga and H. Laudelout. 1989. Effect of aluminum on the mineral nutrition of rice. *Plant and soil* 114: 173-175
- Hall, B., C.M., T.E. Carter, T.W. Rufty, C. Arellano, H.R. Boerma, D.A. Ashley, and J.W. Burton. 1998. Heritability and resource allocation of aluminum tolerance derived from soybean PI 416937. *Crop Sci.* 38: 513-522
- Hindges, R. and A. Slusarenko. 1992. cDNA and derived amino acid sequence of cytosolic Cu Zn superoxide dismutase from *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyhn. *Plant Molecular Biology* 18: 123-125
- Jan V.S., P. Balanant, E. Schonne, and J. Bouharmont. 1994. Effect of aluminum on NAD kinase activity in 5 rice genotypes with different Al tolerances. *Rice Genetics Newsletter* 11: 104-106

- Jagau, Y. 2000. Fisiologi dan pewarisan efisiensi nitrogen dalam keadaan cekaman aluminium pada padi gogo (*Oryza sativa* L.). *Disertasi. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor*. 139 hal.
- Kawashima, I., Y. Inokuchi, M. Chino, M. Kimura, and N. Shimizu. 1991. Isolation of a gene for a metallothionein-like-protein from soybean. *Plant Cell Physiol* 32(6):913-916
- Kaher, A. 1993. Status perbaikan varietas padi gogo untuk lahan kering marginal. Disajikan sebagai makalah penunjang dalam *Simposium Penelitian Tanaman Pangan II*. Puslitbangtan. Jakarta/Bogor, 23-25 Agustus 1993.
- Khatiwada, S.P., D. Senadhira, A.L. Carpena, R.S. Zeigler, and P.G. Fernandez. 1996. Variability and genetics of tolerance for aluminum toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 93: 738-744
- Kim, H.U., J.B. Kim, C.H. Yu, S. K. Kang, and T.Y. Chung. 1995. Nucleotide sequence of cDNA clone encoding a metallothionein-like protein from Chinese cabbage. *Plant Physiol* 108:863
- Larsen, P.B., J. Degenhardt, S.Y. Tai, L.M. Stenzler, S.H. Howell, and L.V. Kochian. 1998. Aluminum-resistant *Arabidopsis* mutants that exhibit altered pattern of aluminum accumulation and organic acid release from roots. *Plant Physiol*. 117: 9-18.
- Ma, J.F., S. J. Zheng, and H. Matsumoto. 1997. Specific secretion of citric acid induced by Al stress in *Cassia tora* L. *Plant Cell Physiol*. 38: 1019-1025
- Ma, J.F., S. Hiradate, and H. Matsumoto. 1998. High aluminum resistance in buckwheat-II. Oxalic acid detoxifies aluminum internally. *Plant Physiol*. 117: 753-759
- Ma, Z., and S.C. Miyasaka. 1998. Oxalate exudation by taro in response to Al. *Plant Physiol*. 118: 861-865
- McCouch, S.R., G. Kochert, Z.H. Yu, Z.Y. Wang, G.S. Khush, W.R. Coffman, and S.D. Tanksley. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet* 76: 815 - 829
- McKendry, A.L., D.N. Tague, and D.J. Somers. 1996. Aluminum tolerance of 1 BL.IRS and 1AL.IRS Near-Isolines in soft red winter wheat. *Crop Sci*. 36: 987-990
- Miyasaka, S.C., J.G. Buta, R.K. Howell, and C.D. Foy. 1991. Mechanism of aluminum tolerance in snapbeans: root exudation of citric acid. *Plant Physiol*. 96: 737-743
- Moisyadi, S. and J.I. Stiles. 1995. A cDNA encoding a metallothionein I-like protein from coffee leaves (*Coffea arabica*). *Plant Physiol* 107: 295-296
- Moon, D.H., L.M.M. Ottoboni, a.P. Souza, S.T. Sibov, M. Gaspar, and P. Arruda. 1997. Somaclonal-variation-induced aluminum-sensitive mutant from an aluminum-inbred maize tolerant line. *Plant GH Report* 16 : 686-691
- Nguyen, V.T., M.D. Burrow, H.T. Nguyen, B.T. Le, T.D. Le, and A.H. Paterson. 2001. Molecular mapping of genes conferring aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 102: 1002-1010

- Nguyen, V.T., B.D. Nguyen, S. Sarkarung, C. Martinez, A.H. Paterson, and H.T. Nguyen. 2002. Mapping of genes controlling aluminum tolerance in rice: comparison of different genetic backgrounds. *Mol Genet Genomics* 267: 772-780
- Ortega, R.C., and J.D. Ownby. 1993. A protein similar to PR (*pathogenesis-related*) proteins is elicited by metal toxicity in wheat roots. *Physiologia plantarum* 89: 211-219
- Ortega, R.C., J.C. Crushman and J.D. Ownby. 1997. cDNA clones encoding 1,3-[beta]-glucanase and a fimbrin-like-cytoskeletal protein are induced by Al toxicity in wheat roots. *Plant Physiol* 114(4): 1453-1460
- Pellet, D.M., D.L. Grunes, and L.V. Kochian. 1995. Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta* 196: 788-795
- Pellet, D.M., L.A. Papernik, and L.V. Kochian. 1996. Multiple aluminum resistance mechanisms in wheat (roles of root apical phosphate and malate exudation). *Plant Physiol* 112: 591-597.
- Riede, C.R. and J.A. Anderson. 1996. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Sci.* 36: 905-909
- Rodriguez, M.A., Ed. Butler, A. Rodriguez H., C. F. Wilson, O. Anderson, and J.P. Gustafson. 2002. Expressed sequence tag-based gene expression analysis under aluminum stress in Rye. *Plant Physiol* 130 : 1706-1716
- Ryan, P.R., J.M. Ditomaso, and L.V. Kochian. 1993. Aluminum toxicity in roots: An investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *Journal of Experimental Botany*, 44 (259): 437-446
- Ryan, P.R., R.J. Reid, and F.A. Smith. 1997. Direct evaluation of the Ca²⁺-displacement hypothesis for Al toxicity. *Plant Physiol.* 113: 1351-1357
- Snowden, K.C. and R.C. Gardner. 1993. Five genes induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L.) root. *Plant Physiol* 103: 855-861
- Snowden, K.C., K.D. Richards, and R.C. Gardner. 1995. Aluminum-induced genes. *Plant Physiol* 107: 1-8
- Suthipradit, S., D.G. Edwards and C.J. Asher. 1990. Effect of aluminum on top-root elongation of soybean (*Glycine max*), cowpea (*Vigna anguiculata*), and green gram (*Vigna radiata*) grown in the presence of organic acid. *Plant and Soil* 124: 169-174
- Trikoesoemaningtyas. 2002. Fisiologi dan pewarisan sifat efisiensi kalium dalam keadaan tercekam aluminium pada padi gogo (*Oryza sativa* L.). *Disertasi. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.* 124 hal.
- Ulmasov, T., A. Ohmiya, G. Hagen, and T. Guilfoyle. 1995. The soybean GH2/4 gene that encodes a glutathione-s-transferase has a promoter that is activated by a wide range of chemical agents. *Plant Physiol* 108: 919-927
- Vazquez, M.D., C. Poschenrieder, I. Corrales, and J. Barcelo. 1999. Change in apoplastic aluminum during the initial growth response to aluminum by roots of a tolerant maize variety. *Plant Physiol* 119: 435-444.

- Watt, D.A. 2003. Aluminum-responsive genes in sugarcane: identification and analysis of expression under oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* Vol 54 No. 54 : 1163-1174
- Wu, P., B. Zhao, J. Yan, A. Luo, Y. Wu and D. Senadhira. 1997. Genetic control of seedling tolerance to aluminum toxicity in rice. *Euphytica* 97: 289-293
- Wu, P., C.Y. Liao, B. Hu, K.K. Yi, W.Z. Jin, J.J. Ni, and C.He. 2000. QTLs and epistasis for aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages. *Theor Appl Genet* 100 : 1295-1303
- Yuniati, R. 2000. Pengklonan cDNA tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) varietas Slamet yang diinduksi cekaman aluminium. *Tesis Pascasarjana IPB*. Bogor.
- Zheng, S.J., J.F. Ma, and H. Matsumoto. 1998. High aluminum resistance in buckwheat-I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. *Plant Physiol.* 117: 745-751
- Zhou, J. and P.B. Goldsbrough. 1993. An Arabidopsis gene with homology to glutathione S-transferase is regulated by ethylene. *Plant Molecular Biology* 22:517-523