

PENEBALAN DINDING SEL XILEM TANAMAN KEDELAI [*Glycine max* (L.) Merr.] var. GROBOGAN AKIBAT CEKAMAN GANDA INTERFERENSI TEKI (*Cyperus rotundus* L.) DAN KEKERINGAN

Sri Darmanti

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang
Email : darmantisri@yahoo.co.id

ABSTRACT

Anatomical changes are good indicators used to know influence environmental stress on plant. The objective of this research is to study the multiple stress effect of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) interference and drought on the xylem cell wall thickening of stems, roots and leaves of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Var. Grobogan. This research was carried out using two experimental Completely Randomized Designs (CRD) (3X3), i.e. purple nutsedge interference (control, three and six purple nutsedge) and drought stress (control, mild and severe). The results showed that multiple stress purple nutsedge interference and drought led to the addition of xylem cell wall thickness of stem, root and leaves. The higher level of interference and drought, xylem cell walls thicker.

Keyword : multiple stress, ROS, phenolic compound, lignin, xylem.

ABSTRAK

Perubahan anatomi merupakan indikator yang baik digunakan untuk mengetahui pengaruh cekaman lingkungan terhadap tumbuhan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh cekaman ganda berupa interferensi teki (*Cyperus rotundus* L.) dan kekeringan terhadap penebalan dinding sel xilem batang, akar dan daun kedelai [*Glycine max* (L.) Merr.] var. Grobogan. Penelitian eksperimental dengan disain acak lengkap dua faktor (3x3). Faktor pertama adalah tingkat interferensi teki, yaitu kontrol, 3 teki dan 6 teki), sedangkan faktor kedua adalah tingkat cekaman kekeringan yaitu kontrol, kekeringan ringan dan kekeringan berat. Hasil penelitian menunjukkan cekaman ganda interferensi teki dan kekeringan menyebabkan penambahan tebal dinding sel xilem batang, sel xilem akar dan sel xilem daun. Semakin tinggi tingkat interferensi dan kekeringan, dinding sel xilem semakin tebal.

Kata kunci : cekaman ganda, ROS, senyawa fenolik, lignin, xilem.

Pendahuluan

Kedelai pada umumnya ditanam pada akhir musim penghujan (marengan), sehingga pengelolaan gulma yang tidak sempurna berpotensi menyebabkan tanaman kedelai mengalami cekaman ganda berupa interferensi gulma (biotik) dan kekeringan (abiotik) secara bersamaan. Teki merupakan salah satu gulma *perennial* penting dan dominan yang dapat menurunkan produksi tanaman kedelai dalam

jumlah besar (Kavitha *et al.*, 2012). Menurut Akinson & Urwin (2012) dan Rejeb *et al.* (2014), respon tanaman terhadap cekaman ganda berbeda dengan responnya terhadap masing masing cekaman tunggalnya, sehingga cekaman ganda harus dilihat sebagai satu bentuk cekaman baru yang berbeda dengan cekaman tunggalnya. Tumbuhan yang mengalami berbagai cekaman umumnya menunjukkan terjadinya kenaikan konsentrasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang

dapat menyebabkan terjadinya cekaman oksidatif, namun tumbuhan mempunyai mekanisme sistem pertahanan antioksidatif untuk melindungi dirinya dari kerusakan akibat cekaman oksidatif (Akinson & Urwin, 2012). Senyawa fenolik merupakan salah satu antioksidan non enzimatis yang terdapat berlimpah pada tanaman. Beberapa senyawa fenolik membentuk polimer berupa lignin sebagai penyusun utama dinding sekunder sel (Li & Chapple, 2010).

Perubahan anatomi merupakan indikator yang baik digunakan untuk mengetahui pengaruh cekaman lingkungan pada tumbuhan tingkat tinggi (Shao *et al.*, 2008). Dinding sel pada tumbuhan tingkat tinggi merupakan bagian sel yang pertama kali dipengaruhi oleh sinyal berbagai cekaman lingkungan, yang selanjutnya akan diteruskan ke bagian dalam sel (Bubna *et al.*, 2011).

Dari latar belakang tersebut diatas, permasalahan yang muncul adalah bagaimanakah penebalan dinding sekunder yang terjadi pada sel xilem batang, akar dan daun tanaman kedelai [*Glycine max* (L.) Merr.] var. Grobogan yang mendapat cekaman ganda berupa interferensi teki (*Cyperus rotundus* L.) dan kekeringan secara bersamaan.

Bahan Dan Cara Kerja

a. Bahan dan alat penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah benih kedelai [*Glycine max* (L.) var. Grobogan] diperoleh dari Balai Penelitian Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian (BALITKABI) Malang, Jawa Timur dan umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) diperoleh dari persawahan di Kecamatan Tinjomoyo, Semarang. Alat utama yang

digunakan adalah mikrotom dan mikroskop fluorescence.

b. Disain penelitian

Penelitian ekperimental dengan disain rancangan acak lengkap dua faktor (3x3). Faktor pertama adalah tingkat cekaman kekeringan yaitu : kontrol (*FTSW* 1), kekeringan ringan (*FTSW* 0,5) dan kekeringan berat (*FTSW* 0,25), faktor kedua adalah tingkat interferensi teki, yaitu : kontrol (tanpa teki), tiga teki dan enam teki. Tiap unit perlakuan dengan lima ulangan.

c. Cara kerja

Penanaman dan perlakuan. Benih kedelai diseleksi, dipilih yang mempunyai ukuran seragam. Umbi teki dipilih yang mempunyai berat seragam, disemaikan dan dipilih yang mempunyai satu dan dua mata tunas. Penanaman kedelai dan teki dilakukan pada waktu bersamaan di dalam pot plastik diameter 25 cm. Tiap pot berisi 3 kg tanah latosol, dengan pupuk dasar berupa 1gr TSP; 0,5gr KCL dan 0,3gr urea. Tiap pot ditanami satu kedelai dan teki dengan jumlah sesuai perlakuan. Perlakuan cekaman kekeringan dimulai 2 minggu setelah tanam dan diakhiri setelah 3 minggu perlakuan. Perlakuan cekaman kekeringan ditentukan berdasarkan nilai *The fraction of transpirable soil water (FTSW)* (Hainemann *et al.*, 2011). Penyiraman dilakukan setiap hari, volume air yang diberikan ditentukan dengan menimbang berat pot beserta isinya sampai berat sama dengan berat seperti perlakuan.

Pembuatan preparat permanen. Sampel daun, batang dan akar diambil pada bagian atau umur fisiologis yang sama untuk semua perlakuan. Preparat penampang lintang organ dibuat dengan

metode *embedding* menurut protokol Sass (1958) dengan modifikasi dan pewarnaan dengan safranin dan methylene blue.

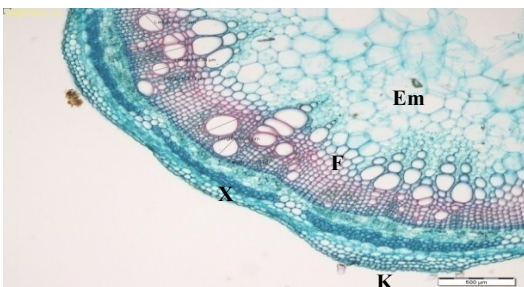
Pengamatan sel xilem. Penentuan tebal dinding sel xilem dan pengamatan struktur anatomi batang akar dan daun kedelai menggunakan mikroskop flourecences (Olympus BX51).

d. Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANAVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan dan kombinasi perlakuan terhadap parameter yang diukur, sedangkan untuk mengetahui beda nyata diantara perlakuan diuji lanjut dengan Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

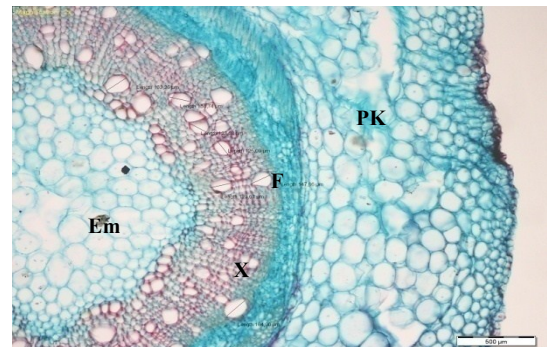
Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian terhadap struktur anatomi penampang melintang batang kedelai var. Grobogan adalah stele bertipe eustele memiliki berkas pengangkut kolateral, yaitu letak xilem dan fluem berdampingan, xilem dibagian dalam dan fluem dibagian luar. Pada berkas pengangkut tidak terdapat parenkim interfasikuler, hal ini mengindikasikan bahwa batang kedelai telah mengalami pertumbuhan sekunder. Diantara sel sel parenkim yang menyusun jaringan kortek terdapat kolenkim yang tersusun bersambungan dan terdapat trakea sebagai penyusun xilem (Gambar 1).



Gambar 1. Penampang melintang batang kedelai [*Glycine max* (L.) Merr.] var. Grobogan. Em = empulur, K = kolenkim, X= xilem, F = fluem.

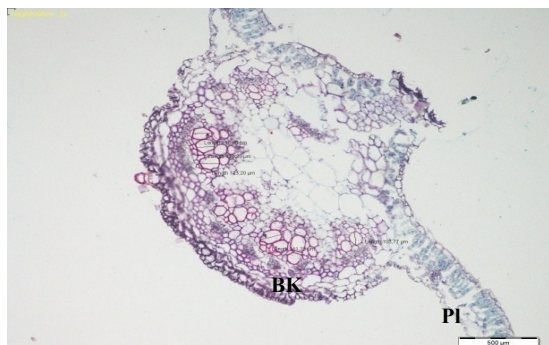
Penampang melintang akar kedelai var, Grobogan menunjukkan bagian kortek tersusun atas jaringan gabus dengan parenkim kortek di sebelah dalamnya. Di sebelah dalam kortek merupakan daerah berkas pengangkut yang telah tersusun melingkar, sehingga mengindikasikan akar kedelai telah mengalami pertumbuhan sekunder. Bagian berkas pengangkut dari luar ke dalam berturut-turut adalah endodermis, fluem, daerah kambium dan xilem yang telah membentuk trakea. Di bagian dalam berkas pengangkut terdapat empulur yang tersusun atas sel parenkim (Gambar 2).



Gambar 2. Penampang melintang akar kedelai [*Glycine max* (L.) Merr]. var. Grobogan), PK = parenkim kortek, X = xilem, Em = empulur, F = fluem

Penampang melintang daun kedelai menunjukkan struktur anatomi daun kedelai sebagai berikut : mesofil tersusun dorsiventral, yaitu jaringan palisade terdapat pada permukaan daun bagian atas (adaksial) dan jaringan bunga karang terdapat pada permukaan daun bagian bawah (abaksial). Berkas pengangkut bertipe kolateral yaitu letak xilem berdampingan dengan letak fluem, dengan posisi letak fluem di bagian bawah (abaksial) dan xilem di bagian atas

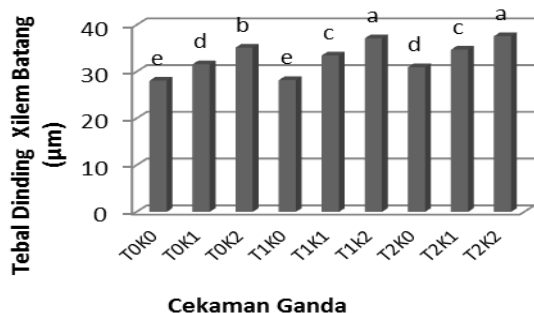
(adaksial). Dijumpai sel trakea sebagai penyusun jaringan xilem (Gambar 3).



Gambar 3. Penampang melintang daun dan stoma kedelai [*Glycine max (L.) Merr. var. Grobogan*]. BP = berkas pengangkut PI = jaringan palisade

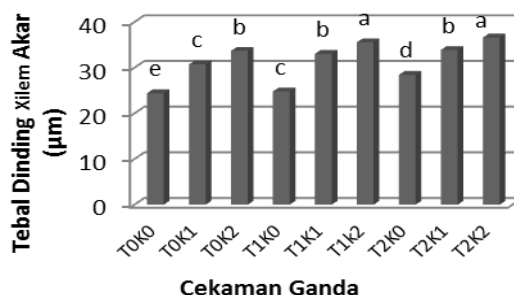
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan terjadi interaksi antara cekaman biotik berupa interferensi tiga atau enam teki dengan cekaman abiotik berupa kekeringan ringan atau kekeringan berat terhadap tebal dinding sel xilem batang, sel xilem akar dan sel xilem daun.

Pada tanaman kedelai yang tidak mengalami interferensi teki maupun yang mengalami interferensi tiga dan enam teki, adanya cekaman kekeringan ringan maupun kekeringan berat meningkatkan tebal dinding sel xilem batang, sel xilem akar dan sel xilem daun (Gambar 4-6).

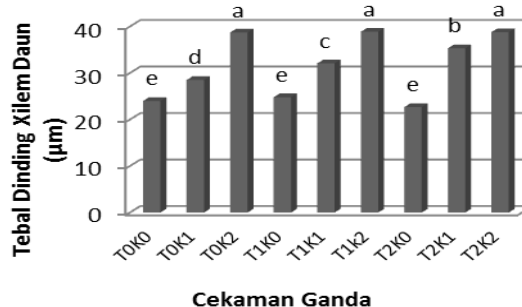


Gambar 4. Histogram tebal didnding sel xilem batang kedelai [*Glycine max (L.) Merr.*] var. Grobogan. T0: kontrol, T1 : tiga teki, T6 : enam teki, K0 : kontrol, k1 :

kekeringan ringan, k2 : kekeringan berat.



Gambar 5. Histogram tebal didnding sel xilem akar kedelai [*Glycine max (L.) Merr.*] var. Grobogan. T0: kontrol, T1 : tiga teki, T6 : enam teki, K0 : kontrol, k1 : kekeringan ringan, k2 : kekeringan berat.



Gambar 6. Histogram tebal didnding sel xilem daun kedelai [*Glycine max (L.) Merr.*] var. Grobogan. T0: kontrol, T1 : tiga teki, T6 : enam teki, K0 : kontrol, k1 : kekeringan ringan, k2 : kekeringan berat.

Semakin besar intensitas cekaman kekeringan, tebal dinding sel xilem batang, sel xilem akar dan sel xilem daun semakin tebal. Gambar histogram tersebut juga menunjukkan bahwa pada tanaman kedelai yang tidak mengalami cekaman kekeringan, maupun yang mengalami cekaman kekeringan ringan dan kekeringan berat, adanya interferensi teki menyebabkan penebalan dinding sel xilem batang, sel xilem akar dan sel xilem daun, namun pada tanaman yang tidak mengalami cekaman kekeringan, interferensi tiga teki tidak

menyebabkan penebalan tebal dinding sel xilem batang dan sel xilem akar, interferensi tiga dan enam teki tidak menyebabkan penebalan dinding xilem daun. Pada tanaman yang mengalami cekaman kekeringan berat peningkatan intensitas interferensi teki dari tiga teki menjadi enam teki tidak menyebabkan penebalan dinding sel xilem batang dan akar.

Cekaman lingkungan menginduksi aktivitas enzim phenilalanin amonia-lyase (PAL), yang merupakan enzim kunci pada sintesis metabolit sekunder termasuk diantaranya adalah senyawa fenolik (Khan *et al.*, 2011; Gholizadeh, 2011). Lignin adalah senyawa fenolik heterogen berbentuk polimer, yang merupakan komponen utama penyusun struktur penebalan sekunder pada dinding sel tumbuhan. Lignin sebagian besar tersusun oleh tiga tipe monomer utama (monolignol), yaitu *p*-kumaril, koniferil dan sinapil alkohol. Monolignol disintesis di sitoplasma kemudian ditranspor ke apoplas, selanjutnya membentuk polimer dan didepositkan pada dinding sel sebagai penebalan sekunder (Li & Chapple, 2010).

Lignin disintesis melalui jalur fenilpropanoid dengan PAL sebagai biokatalisator utama. Berbagai cekaman lingkungan antara lain berupa kekeringan meningkatkan ekspresi gen yang mengkode PAL dan meningkatkan aktivitas enzim PAL (Kelij *et al.*, 2013), sementara Lee *et al.*, (2007) melaporkan bahwa cekaman biotik maupun abiotik berpengaruh meningkatkan lignifikasi dinding sel. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa berbagai cekaman dapat meningkatkan lignifikasi. Cekaman salinitas

berupa perlakuan 400 mM NaCl selama 15 hari meningkatkan kandungan lignin pada internodus batang *Aeluropus littoralis* (Kelij *et al.*, 2013). Perlakuan cekaman kekeringan dengan penyiraman sebanyak 5 ml per hari per tanaman berpengaruh meningkatkan kandungan lignin daun *Trifolium repens* L pada hari ke 21 perlakuan (Lee *et al.*, 2007). Perlakuan alelokimia *p*-kumarat sebesar 0,25 mM dan 2,0 mM meningkatkan kandungan lignin akar *Glycine max* L. sebanyak 1,5 dan 3,5 kali dibanding kontrol (Zanardo *et al.*, 2009), sedangkan perlakuan alelokimia berupa asam kafeat sebesar 0,5 mM sampai 2,0 mM pada *Glycine max* L. mampu meningkatkan kandungan lignin akar mencapai 37% (Bubna *et al.*, 2011). Perlakuan 0,1 mM sampai 0,75 mM asam sinamat pada kecambah *Glycine max* L. menyebabkan kenaikan lignin pada akar sebesar 51% sampai 138% dibanding kontrol (Salvador *et al.*, 2013). Peningkatan lignifikasi akibat perlakuan alelokimia seperti asam *p*-kumarat dan asam kafeat pada *Glycine max* L. diduga dikarenakan masuknya asam *p*-kumarat dan asam kafeat tersebut ke jalur fenilpropanoid sehingga menyebabkan kenaikan sintesis monomer penyusun lignin yang diikuti dengan polimerisasi dan deposit lignin pada dinding sel membentuk penebalan sekunder pada dinding sel (Zanardo *et al.*, 2009; Bubna *et al.*, 2011).

Lignin berfungsi sebagai penguat sehingga tumbuhan dapat berdiri tegak, memungkinkan xilem mampu menahan tekanan negatif yang dihasilkan selama transport air (Li & Chapple, 2010). Lignin juga memungkinkan terjadinya konduksi yang efisien pada sistem berkas

pengangkut terhadap air dan zat terlarut dalam jarak yang lebih jauh (Zanardo *et al.*, 2009) serta berperan sebagai penghalang mekanik terhadap berbagai cekaman biotik dan abiotik (Kelij *et al.*, 2013). Akan tetapi deposit lignin pada dinding sel atau lignifikasi menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Hal tersebut disebabkan lignifikasi yang terjadi lebih awal sehingga membatasi pembelahan dan pembentangan sel (Bubna *et al.* (2011).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa interferensi teki pada kondisi cekaman kekeringan menyebabkan penambahan tebal dinding sel xilem batang, sel xilem akar, sel xilem daun. Semakin tinggi tingkat interferensi dan kekeringan, tebal dinding sel xilem semakin bertambah.

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kemediknas RI yang telah membiayai penelitian ini melalui program BPP-DN Beasiswa Dikti, kepada Prof. Dr. Santosa, Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho dan Dr. Kumala Dewi yang telah memberikan arahan dan masukan pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Akinson, N.J. and P. E. Urwin. 2012. The Interaction of Plant Biotic and Abiotic Stresses : From Genes to The Field. *Journal of Experimental Botany*. 63 : 3523-3543.
- Bubna, G.A., R.B. Lima, D.Y.L. Zanardo, W.D. Dos Santos, M.D.L.L. Ferrarese and O. Ferrarese-Filho. 2011. Exogenous Caffeic Acid Inhibits The Growth and Enhance The Lignifications of The Roots of Soybean (*Glycine max*). *J. Plant Physiology*. 168 : 1627-1633.
- Gholizadeh, A. 2011. Effect of Drought on the Activity of Phenylalanine Ammoniyase in the Leaves and Roots of Maize Inbreds. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5 : 952-956
- Hainemann, A.B., L.F. Stone and N.K. Fageria. 2011. Tranpiration Rate Response to Water Deficit During Vegetative and Reproductive of Upland Rice Cultivars. *Scientia Agricola*. 68 : 24-30.
- Kavitha, D., J. Prabhakaran, K. Arumugam. 2012. Phytotoxic Effect of Purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) on Germination and Growth of Finger millet (*Eleusine coracana* Gaertn.). *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science*. 3 : 615-619.
- Kelij, S., A. Majd, G. Nematzade, P. Jonoubi and L. Haghghi. 2013. Phenilalanine Ammonialyase Gene Expression and Activity in Relations to Lignin Deposition in Salt Stress *Aeluropus littoralis*. *Advance Studies in Biology*. 5 : 403 - 412.
- Khan, T.A., M. Mazid and F. Mohammad. 2011. Status of Secondary Plant Products under Stress. *Journal of Stress Physiology & Biochememistry*. 7 : 75-98.
- Lee, B. R., K. Y. Kim, W. J. Jung, J. C. Avice, A. Ourry and T. H. Kim. 2007. Peroxidases and Lignification in Relation to the Intensity of Water -deficit Stress in White Clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany*. 58 : 1271-1279.
- Li, X. And C. Chapple. 2010. Understanding Lignification : Challenges Beyond Monolignol Biosynthesis. *Plant Physiology*. 154 : 449-452.
- Rejeb, I.B., V. Pastor and B. Mauch-Mani. 2014. Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress : Molecular Mechanism. *Plants* 3 : 458 – 475.
- Sass. J. E.1958. *Botanical Microtechnique*. The Iowa State College Press. Iowa. Pp. 3-55.
- Zanardo D.L., R.B.Lima, M.L.L.Ferrarese, G.A.Bubna and O.F. Filho. 2009. Soybean Root Growth Inhibition and Lignification Induced by-coumaric acid. *Environmental and Experimental Botany*. 66 : 25-30.