

PENGARUH ALUMINIUM MONOMER DAN POLIMER TERHADAP PANJANG AKAR DAN VIABILITAS AKAR KECAMBAH PADI DENGAN PEWARNAAN GANDA FDA -PI

Zuraida Dawair
Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas

ABSTRACT

Determined the effect of Aluminium monomer and Aluminium polimer to root of paddy seedling by measured root elongation and viability by staining simultaneous with Fluorescein Diacetat-Propidium Iodida were examined. The Aluminium concentration solution treatments were : absen:Al, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M Al monomer and 25 μ M 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M Al polymer. All of Al concentration treatments were inhibited root elongation except at Al concentration 25 μ M monomer. Rise Al concentration caused decrease viability and increase damage of root. Al polymer caused lower roots viability and more roots damage than Al monomer.

PENDAHULUAN

Dari seluruh macam ion Al yang terlarut dalam, yang sangat berpengaruh terhadap penyerapan dan keracunan pada tumbuhan adalah Al (Al monomer) dan Al (Al polimer). Al polimer didapatkan dalam larutan tanah, danau dan sumber air alam lainnya. Al polimer terbentuk dari polimerisasi Al monomer karena adanya peningkatan pH (4,5 - 7,0) disebabkan penambahan ion hidroksi (OH) secara perlahan-lahan. Komposisi kimia dan sifat-sifatnya belum dapat dijelaskan sepenuhnya. Ion Al polimer yang dapat dideteksi dalam mempunyai rumus molekul $AlO_2Al(OH)_2$ biasanya disebut juga dengan Al (Hunter dan Ross, 1991).

Pengaruh Al terhadap pertumbuhan tanaman terutama terlihat pada akar dan dapat ditentukan dengan mengukur perpanjangan akar dan dengan mengukur viabilitas sel-sel akar. Viabilitas sel-sel akar dapat ditentukan dengan pewarnaan ganda FDA (Fluorescein Diacetat) dan Propidium Iodida.

FDA adalah molekul ester non polar dan tidak berfluoresen dapat melewati selaput sel dan didalam sel dihidrolisa oleh enzim esterase membentuk Fluorescein. Fluorescein adalah ester polar dan bila dieksitasi akan bercahaya (berfluoresensi) kuning hijau terang (viabilitas baik) Bila sel rusak maka fluorescein akan keluar melewati selaput sel yang rusak sehingga fluorescein didalam sel berkurang dan pemendaran cahaya menjadi kurang (viabilitasnya menurun) sedangkan propidium iodida adalah pewarnaan untuk sel-sel yang rusak dan mati. Senyawa ini melewati selaput sel yang rusak dan berikatan dengan DNA dan RNA sel yang rusak itu membentuk senyawa kompleks dan bila dieksitasi dengan gelombang cahaya biru akan memancarkan cahaya merah terang (Jones dan Senft 1985).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pertumbuhan dan viabilitas akar kecambah padi dan membandingkan pengaruh Al polimer dengan Al monomer,

METODA PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan : tanpa Al, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M Al monomer dan 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M Al polimer. Disamping itu sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan dengan perlakuan pH, yaitu pH 5,0, 4,5, 4,0, 3,5. Al monomer yang dipakai adalah AlCl₃ dan untuk Al polimer dibuat dengan mencampurkan 400 ml 0,1 N NaOH setetes demi setetes dengan kecepatan 1 ml/menit kedalam larutan 40 ml 0,5 M AlCl₃ (monomer) sambil terus diaduk dengan magnet stirer (Wagatsuma, 1985).

Biji dikecambahkan diatas kertas saring basah dalam petridish selama 4 hari, dimana akar mencapai panjang 0,2 cm. Kecambah dipindahkan ke papan pengapung sebanyak 4 kecambah dan untuk masing-masing perlakuan digunakan 3 buah, kemudian diinkubasi pada bejana yang berisi larutan 100 mM CaCl₂ ditambah Al sesuai perlakuan dengan pH 4,5 selama 4 hari. Setelah inkubasi diukur panjang akar. Untuk mengukur viabilitas, kecambah direndam kedalam larutan PI dengan konsentrasi 3 mg/250 ml air suling selama 15 menit, kemudian dipindahkan kedalam larutan yang mengandung campuran 10 ml PI (3 mg/250 ml) dan 20 ml FDA (5mg/ml Aceton) selama 3 - 5 menit. Selanjutnya dicuci dengan air suling dan diletakkan diatas kaca objek kemudian ditutup dengan cover glass seterusnya dilihat dibawah mikroskop fluorescen (IMT-2-21-RFL; Olympus) dengan dichroic mirror unit (IMT-2-DMB; Olympus) dengan panjang gelombang eksitasi 450 - 490 nm dan panjang gelombang emisi 510 - 525 nm (Jones dan Senft, 1985).

HASIL DAN DISKUSI

Dari hasil pengamatan, kelihatan sel-sel akar padi pada pH 5,0 dan 4,5 mempunyai cahaya kuning hijau terang sedangkan pada pH 4,0 dan 3,5 juga bercahaya kuning hijau terang tapi pada pinggir dari ujung akar berwarna merah terang. Hal ini menunjukkan pada pH 4,0 dan 3,5 terjadinya kerusakan dan kematian sel-sel pada ujung akar tetapi belum menghambat perpanjangan akar (data tidak dicantumkan). Untuk perlakuan Al dipakai medium dengan pH 4,5 karena akar masih mempunyai viabilitas yang tinggi dan menurut Wagatsuma (1991) pengaruh Al tinggi pada pH 4,5.

Tabel 1. Rata-rata panjang akar kecambah padi setelah diinkubasi selama empat hari pada beberapa macam konsentrasi Al monomer dan Al polimer.

Konsentrasi Al	Panjang akar (cm)	pH
0 μ M	2,0 a	4,62
25 μ M monomer	1,33 ab	4,43
50 μ M monomer	0,36 b	4,44
100 μ M monomer	0,43 b	4,43
200 μ M monomer	0,36 b	4,42
25 μ M polimer	0,38 b	4,57
50 μ M polimer	0,40 b	4,54
100 μ M polimer	0,35 b	4,56
200 μ M polimer	0,35 b	4,59

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa penambahan panjang akar kecambah padi yang diinkubasi dalam bermacam-macam konsentrasi Al monomer dan polimer mempunyai pengaruh yang sama yaitu menghambat pertumbuhan akar kecuali pada perlakuan 25 mM monomer. Penghambatan ini disebabkan telah menumpuk endapan Al pada dinding sel sehingga menurunkan elastisitas dan fleksibilitas dinding sel sehingga menghambat perpanjangan sel sesuai dengan pendapat Wagatsuma (1991). Pada perlakuan 25 mM monomer Al yang menumpuk masih sedikit dan belum mengganggu pertumbuhan akar sel secara nyata.

Dari hasil pengamatan dapat dilihat fluoresen akar pada perlakuan 25 mM Al monomer sama dengan perlakuan tanpa pemberian Al dimana sel akarnya mempunyai cahaya kuning hijau terang (viabilitas baik), akar utuh, pertumbuhan masih lurus, tapi akar kelihatan agak tebal dan agak kaku dan tidak ditemukan warna merah.

Pada pengamatan perlakuan 50 mM monomer sel-sel akar bercahaya kuning hijau terang tetapi pada bagian ujung akar terlihat cahaya merah terang. Keadaan ini menunjukkan adanya sel yang rusak dan mati (bampir

lepas dari ujung akar). Hal ini disebabkan banyaknya propidium iodida yang masuk dan akan berikatan dengan asam inti sehingga menampilkan warna merah. Adanya kerusakan sel dan matinya sel menyebabkan terhambatnya pertumbuhan akar (Tabel 1). Pertumbuhan ujung akar masih lurus (normal), tapi ujung akar lebih tebal dan kaku.

Pada pengamatan perlakuan 100 mM monomer cahaya kuning hijau terang pada sel-sel akar tidak merata. Dibelakang ujung akar melingkar cahaya sel-sel kurang terang demikian juga pada bagian belakang, sedangkan bagian pinggir terlihat adanya celah-celah dan tidak ditemukan bagian sel-sel yang berwarna merah terang. Hal ini diduga adanya jaringan pada bagian luar dan celah-celah yang rusak kemudian lepas, sehingga pada pengamatan tidak terlihat warna merah dan keadaan ini menyebabkan viabilitasnya menurun sehingga perpanjangan akar terhambat (Tabel). Pertumbuhan ujung akar masih lurus, kelihatan diameter akar lebih lebar dan kaku.

Pada pengamatan perlakuan 200 mM monomer cahaya sel-sel akar makin kurang, pada beberapa tempat dan diujung akar terlihat bagian berwarna merah terang. Juga terlihat dibagian atas dari ujung akar ada celah melingkar (jaringan lepas). Kerusakan sel lebih jelas viabilitas menurun dibandingkan konsentrasi 100 mM. Pertumbuhan ujung akar melengkung, yang disebabkan banyak sel akar yang rusak dan ada bagian akar yang luruh sehingga membentuk celah yang mengakibatkan pertumbuhan akar melengkung atau tidak sama.

Dari pengamatan perlakuan 25 mM polimer terlihat akar ungu tetapi akar bercahaya merah dan pada beberapa tempat adanya warna cahaya kuning hijau terang sedangkan ujung akar berwarna hijau. Jelas disini viabilitas menurun dan diduga jaringan luar mengalami kerusakan (warna merah) sehingga menghambat perpanjangan akar (Tabel 1).

Pada pengamatan perlakuan 50 mM polimer sel-sel akar bercahaya kuning hijau kurang terang dan pinggir akar mempunyai celah-celah. Diduga jaringan luar dari celah-celah merupakan sel-sel rusak dan mati kemudian lepas dari akar sehingga tidak ditemukan warna merah terang pada akar ini. Hal ini menyebabkan pertumbuhan ujung akar tidak sama sehingga ujung akar agak melengkung, diameter lebih lebar, kaku dibandingkan tanpa perlakuan Al.

Pada pengamatan perlakuan 100 μ M polimer cahaya dari sel akar makin kurang terang (viabilitas makin menurun) dan lebih banyak terlihat celah-celah yang besar (jaringan mati dan lepas), mengakibatkan pertumbuhan ujung akar melengkung, kaku dan tebal.

Pada pengamatan perlakuan 200 mM polimer cahaya sel-sel akar kuning kemerah-merahan (viabilitas sangat menurun). Keadaan ini menunjukkan sel-sel akar sudah banyak yang rusak dan ujung akar mempunyai celah-celah yang lebih besar akibat jaringan mati dan lepas dan pertumbuhan akar terhambat juga terlihat ujung akar melengkung dan lebih kaku.

Kerusakan karena pengaruh Al seperti diatas sama dengan yang ditemukan oleh Wagatsuma (1987) pada tanaman jagung, dimana rusaknya akar jagung karena pengaruh Al terjadi pada jaringan epidermis sampai ke bagian dalam korteks dan meristem akar. Menurut Konishi (1992) mekanisme keracunan Al adalah ; 1. Al yang diserap akan berikatan dengan posphat dan membentuk endapan pada dinding sel yang menyebabkan elastisitas dan fleksibilitas menurun sehingga menghambat pemanjangan akar. 2. Al yang berada dalam jaringan sel akan berikatan dengan P pada DNA dan RNA sehingga menurunkan aktifitas template DNA yang mengakibatkan penghambatan pembentukan enzim metabolisme dan pembelahan sel.

Dari hasil fluoresen dapat disimpulkan makin tinggi konsentrasi Al yang dikandung larutan memberikan pengaruh makin menurunkan viabilitas dan makin banyak jaringan yang rusak dan mati. Pertumbuhan akar terhambat dan dalam pertumbuhannya ujung akar kaku dan melengkung. Al polimer lebih menurunkan viabilitas, lebih merusak jaringan akar dan menghambat pertumbuhan dibandingkan Al monomer sesuai dengan pendapat Moore sit Wagatsuma dan Khaneko,(1987), yang menyatakan bahwa Al polimer dengan konsentrasi sepersepuluh Al monomer telah menyebabkan keracunan pada akar tumbuhan yang sensitif terhadap Al.

DAFTAR PUSTAKA

- Hunter,D dan D.S.Ross. 1991. Evidence for a Phytotoxic Hydroxy-Aluminum Polymer in Organik Soil Horizons. *Science*.Vol 251, page 1056-1058.
- Jones H.K dan J.A.Senft .1987. An Improved Method to Determine Cell Viability by Simultaneous Staining with Fluorescein Diacetate-Propidium Iodide. *The Journal of histochemistry and Cytochemistry*. Vol.33. no 1; pp 77-79.
- Konishi,S. 1992. Promotive effect of Aluminium on Tea plant growth. In *Plant soil Interaction at low pH*. Faculty of Agriculture Hokkaido University, Sapporo 060 Japan; page 83-88.
- Wagatsuma,T dan Y.Ezoe. 1985. Effect of pH on ionic species of Aluminum in medium and on Aluminum toxicity under solution culture. *Soil Sci, Plant Nutr*, 31 (4), 547-561.
- Wagatsuma,T dan M,Kaneko. 1987. High Toxicity of Hydroxy-Aluminum Polymer ions to plant root. *Soil Sci,Plant Nutr*,33(1), 57-67.

- Wagatsuma, T., M. Kaneko and Y. Hayashi, 1987. Destruction process of plant root cell by Aluminum. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 33(2), 161-175.
- Wagatsuma, T. 1992. Recent hypothetical mechanism of Aluminum tolerance and the separation of supposed Al-tolerant root cell. In *Plant-soil interaction at low pH*. Faculty of Agriculture, Hokkaido University Sapporo, 060, Japan.