

Seleksi Genotipe Padi Mutan Inseri Toleran Cekaman Salinitas Berdasarkan Karakter Pertumbuhan dan Biokimia

Salt-tolerance Screening of Insertional Mutant Rice Genotypes Based on Growth and Biochemical Characters

Apriadi Situmorang^{1*}, Anky Zannati¹, Dwi Widyajyantie¹, dan Satya Nugroho¹

¹Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
Jl. Raya Bogor Km 46 Cibinong 16911, Indonesia

Diterima 20 November 2009/ Disetujui 26 Februari 2010

ABSTRACT

Eleven genotypes of insertional mutant Nipponbare rice carrying randomly inserted activation tag were tested to investigate the growth and biochemical responses to salt stress. Pokkali, IR 29, and non-transgenic Nipponbare were used as tolerant, susceptible, and isogenic control, respectively. Plants were grown in plastic trays filled with 0 g L⁻¹ NaCl Yoshida nutrient solution as control and grown in 6 g L⁻¹ NaCl as treatment. Salt injury was scored on 10, 16, and 21 days after salinization. Observation at 21 days after salinization showed that there was significant difference among genotypes in growth and biochemical characters. Classification using hierarchical cluster analysis based on growth and biochemical responses showed that there were three clusters. Cluster I consisted of wild-type Nipponbare, T2.pMO.V.3.13.c.22, T2.pMO.V.1.7.a.15, T2.pMO.III.98.b.7, T2.pMO.II.231.c.15, T2.pMO.III.98.b.8, T2.pMO.III.98.b.17, T2.pMO.III.98.b.3, and T2.pMO.VI.81.3.a.4. Cluster II consisted of IR 29, T2.pMO.V.3.13.c.14, T2.pMO.VI.30.1a.125, and T2.pMO.VI.30.1.a.65. However no mutant genotype was clustered with Pokkali in cluster III, which may indicate that there was no salt tolerant mutant genotype found in this research.

Keywords: salt tolerance mutant rice, growth characters, biochemical characters

PENDAHULUAN

Lebih dari 800 juta hektar lahan di seluruh dunia terpengaruh oleh garam (FAO, 2008). Peningkatan ketinggian permukaan laut akibat pemanasan global menyebabkan banjir, peningkatan kadar garam pada sungai, dan meningkatkan ketinggian air tanah permukaan (*ground water table*) (US-EPA, 2009). Hal ini dapat menyebabkan peningkatan kadar garam di lahan pertanian akibat endapan garam yang terbawa oleh angin. Selain itu, air hujan yang mengandung 6-50 mg NaCl/kg air (Munns dan Tester, 2008) dan pelapukan batuan yang melepaskan garam terlarut terutama natrium klorida (Szabolcs, 1989) juga dapat menyebabkan peningkatan kadar garam di lahan pertanian. Pembabatan hutan mengakibatkan peningkatan level air tanah permukaan sehingga melarutkan batuan garam dan mencemari tanah di atasnya (Satarugsa *et al.*, 2006).

Tanah salin adalah tanah yang memiliki konsentrasi garam terlarut yang tinggi dengan nilai *electrical conductivity* (EC) 4 dS m⁻¹ atau lebih (USDA-ARS, 2008) yang sebanding dengan 40 mM NaCl dan menghasilkan tekanan osmotik sebesar 0.2 MPa. Cekaman salinitas mempengaruhi

pertumbuhan tanaman dalam dua cara yaitu melalui peningkatan konsentrasi ion di sekitar akar dan akumulasi Na⁺ dalam sel dan jaringan. Peningkatan konsentrasi ion di sekitar akar akan meningkatkan tekanan osmotik sehingga menghambat penyerapan air oleh akar, sedangkan akumulasi Na⁺ dalam sel mengakibatkan kematian sel dan jaringan. Pengaruh peningkatan tekanan osmotik akan terlihat pada pertumbuhan dan perkembangan daun karena terganggunya pemanjangan dan pembelahan sel, sedangkan pengaruh toksisitas Na⁺ terlihat jelas pada peningkatan jumlah daun yang layu (Munns dan Tester, 2008).

Lahan dengan cekaman salinitas sangat berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai areal pertanian padi. Namun hal ini perlu didukung oleh ketersediaan varietas padi toleran cekaman salinitas tinggi. Beberapa pendekatan telah dilakukan, antara lain dengan metode pemuliaan konvensional (Suriya-arunroj *et al.*, 2005), penggunaan marka molekuler (Lin *et al.*, 2004) dan transformasi gen penyandi ketahanan terhadap cekaman salinitas (Wang *et al.*, 2000). Pemuliaan secara konvensional dan metode transformasi genetik mengalami kesulitan karena keterbatasan ketersediaan gen (Sahi *et al.*, 2006).

Dengan telah dipublikasikannya urutan basa genom padi, maka upaya pencarian gen-gen potensial lebih difasilitasi dan dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan performa padi (Barry, 2001). Salah satu pendekatan

* Penulis untuk korespondensi. e-mail : apriadi_situmorang@yahoo.co.id

genomik yang digunakan adalah pengembangan populasi padi mutan pembawa *activation-tag* yang berfungsi untuk meningkatkan ekspresi gen-gen (*overekspresi*) di sekitar daerah insersi dan menimbulkan sifat-sifat baru terkait dengan toleransi terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Nugroho *et al.*, 2006).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui respon genotipe padi mutan pembawa *activation-tag* terhadap stres salinitas dan mengklasifikasikannya berdasarkan karakter pertumbuhan dan biokimia. Seleksi dengan menggunakan karakter biokimia dan fisiologi telah dikembangkan sebagai penanda yang efektif dalam proses seleksi terhadap cekaman salinitas (Ashraf dan Harris, 2004). Genotipe yang menunjukkan sifat toleran terhadap cekaman salinitas akan dipelajari lebih lanjut untuk mengetahui gen yang *overekspresi*.

BAHAN DAN METODE

Bahan genetik yang digunakan adalah sebelas genotipe padi mutan yaitu: T2.pMO.V.3.13.c.22, T2.pMO.V.1.7.a.15, T2.pMO.III.98.b.7, T2.pMO.V.3.13.c.14, T2.pMO.II.23.1.c.15, T2.pMO.III.98.b.8, T2.pMO.III.98.b.17, T2.pMO.VI.30.1.a.125, T2.pMO.III.98.b.3, T2.pMO.VI.81.3.a.4, T2.pMO.VI.30.1.a.65. Varietas Pokkali, IR 29 dan Nipponbare non transgenik digunakan masing-masing sebagai kontrol tahan, rentan dan kontrol isogenik.

Genotipe mutan diperoleh dengan menggunakan metode transformasi gen *transposon Ac/Ds* ke dalam genom padi dengan bantuan *Agrobacterium tumefaciens* (Nugroho *et al.*, 2006). Insersi *transposon Ac/Ds* akan menciptakan genotipe mutan dengan posisi insersi acak pada generasi berikutnya (Kolesnik *et al.*, 2004). Untuk mengetahui kestabilan insersi gen dilakukan bioasai menggunakan antibiotik *hygromicin* dan herbisida basta. Genotipe mutan yang stabil hanya memiliki insersi gen *Ds* yang ditandai dengan luka nekrotik bila ditetesi *hygromicin* tapi tidak terpengaruh herbisida basta (Nugroho *et al.*, 2006).

Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI Cibinong pada bulan Juni-September 2009 dalam rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan dimana 0 g L⁻¹ NaCl sebagai kontrol dan 6 g L⁻¹ NaCl sebagai perlakuan (Gregorio *et al.*, 1997). Terdapat 5 tanaman sampel pada masing-masing satuan percobaan. Benih dikecambahkan selama 7 hari kemudian dipindahtanamkan ke *styrofoam*

yang telah dilubangi dan pada bagian bawahnya ditempelkan jaring halus untuk menahan kecambah. *Styrofoam* diletakkan pada wadah plastik yang berisi larutan nutrisi Yoshida (Yoshida *et al.*, 1976) yang diganti setiap minggu. Tanaman ditumbuhkan selama 14 hari dalam larutan Yoshida normal (tanpa garam). Salinisasi dilakukan pada saat kecambah berumur 21 hari dengan menambahkan 3 g L⁻¹ NaCl. Tujuh hari kemudian konsentrasi NaCl ditingkatkan menjadi 6 g L⁻¹ dan tanaman ditumbuhkan selama 2 minggu.

1. Salt Injury

Pengamatan *salt injury* dilakukan pada umur 10, 16, dan 21 hari setelah salinisasi (HSS). *Salt injury* adalah gejala nekrotik yang diawali pada bagian ujung daun tua yang kemudian akan mengakibatkan kematian daun dan tanaman. Skor *salt injury* berdasarkan skor standar evaluasi visual (Tabel 1) oleh Gregorio *et al.* (1997).

2. Karakter pertumbuhan

Karakter pertumbuhan yang diamati adalah tinggi tanaman, panjang akar, jumlah daun, bobot basah tajuk, bobot basah akar, bobot kering tajuk, bobot kering akar, dan luas daun. Pengukuran dilakukan pada 21 HSS. Sampel dikeringkan dalam oven selama 7 hari pada suhu 70 °C untuk mengetahui bobot keringnya. Pengukuran luas daun dilakukan dengan menggunakan *leaf area meter DT-scan*. Persentase reduksi karakter pertumbuhan dihitung menggunakan persamaan :

% reduksi pertumbuhan =

$$\left(1 - \frac{\text{pertumbuhan pada } 6 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}}{\text{pertumbuhan pada } 0 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}} \right) \times 100 \%$$

3. Karakter Biokimia (kandungan pigmen dan prolin)

Kandungan klorofil a (Chl_a), klorofil b (Chl_b), total klorofil (TC) diukur dengan metode Shabala *et al.* (1998) dan total karotenoid (C_{x+c}) diukur dengan metode Lichtenthaler (1987). Daun tanaman digerus dengan nitrogen cair, 15 mg sampel diekstraksi dengan 1.5 mL aseton 99.5% dan diinkubasi selama 48 jam. Absorban hasil ekstraksi diukur dengan spektrofotometer *UV-visible* pada panjang gelombang 470, 645, dan 662 nm. Aseton 99.5% digunakan

Tabel 1. Skor standar evaluasi visual *salt injury* pada fase bibit padi (Gregorio *et al.*, 1997)

Skor	Pengamatan	Ketahanan
1	pertumbuhan normal tidak ada gejala pada daun	Sangat toleran
3	pertumbuhan hampir normal tapi ujung daun atau beberapa daun memutih dan menggulung	Toleran
5	pertumbuhan sangat terhambat, kebanyakan daun menggulung, hanya beberapa yang memanjang	Moderat toleran
7	pertumbuhan benar-benar terhenti, kebanyakan daun mengering, beberapa tanaman mati	Rentan
9	hampir semua tanaman mati atau hampir mati	Sangat rentan

sebagai standar (*blank*). Konsentrasi Chl_a , Chl_b , TC, dan C_{x+c} ($\mu g\ g^{-1}$ bobot segar) dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\begin{aligned}
 [Chl_a] &= 9.784 D_{662} - 0.99 D_{645} \\
 [Chl_b] &= 21.42 D_{645} - 4.65 D_{662} \\
 [TC] &= [Chl_a] + [Chl_b] \\
 [T_{x+c}] &= \frac{1000D_{470} - 1.90[Chl_a] - 63.14[Chl_b]}{214}
 \end{aligned}$$

Persentase degradasi karakter biokimia dengan persamaan :

$$\% \text{ reduksi pertumbuhan} = \left(1 - \frac{\text{konsentrasi pada } 6\ g\ L^{-1}\ NaCl}{\text{konsentrasi pada } 0\ g\ L^{-1}\ NaCl} \right) \times 100\ \%$$

Kandungan prolin dihitung dengan menggunakan metode Bates *et al.* (1973). Daun digerus dengan menggunakan nitrogen cair, 100 mg sampel diekstraksi dengan *sulfosalicylic acid* (3% w/v). Kemudian 200 μl ekstrak direaksikan dengan 200 μl *acid ninhydrin* dan 200 μl *glacial acetic acid*. Ekstrak diinkubasi pada suhu 95 °C selama 1 jam, setelah itu didinginkan untuk menghentikan reaksi. Setelah mencapai suhu ruang, 100 μl hasil reaksi diencerkan dengan 900 μl toluena dan absorbannya dihitung dengan spektrofotometer *UV-visible* pada panjang gelombang 520 nm. Konsentrasi prolin ($\mu g\ g^{-1}$ bobot segar) dihitung berdasarkan kurva standar. Akumulasi prolin dihitung dengan persamaan :

$$\text{akumulasi prolin} = \frac{\text{konsentrasi pada } 6\ g\ L^{-1}\ NaCl}{\text{konsentrasi pada } 0\ g\ L^{-1}\ NaCl}$$

Data dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan perbedaan antar genotipe dievaluasi dengan uji selang berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%, kemudian dilakukan klasifikasi dengan menggunakan *hierarchical cluster analysis* dengan menggunakan *SPSS 15 for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Pertumbuhan

Terdapat perbedaan signifikan pada reduksi tinggi tanaman, bobot basah tajuk, bobot basah akar, bobot kering akar, dan luas daun di antara genotipe dan varietas pembanding, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada reduksi panjang akar dan jumlah daun (Tabel 2). Cekaman salinitas mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui dua fase. Fase pertama, peningkatan tekanan osmotik di sekitar perakaran. Hal ini mengakibatkan terjadinya hambatan absorpsi air oleh akar dan efeknya terlihat pada terhambatnya perkembangan luas daun tanaman yang mengalami stres.

Tanaman Pokkali sebagai kontrol tahan, memperlihatkan persentase reduksi luas daun hanya

mencapai 6.4%, sedangkan pada tanaman IR 29 sebagai kontrol rentan mengalami reduksi luas daun mencapai 62.2%. Genotipe T2. PMO. II. 23 1.c.15 dan T2. PMO. III. 98.b.8 memiliki reduksi luas daun paling kecil yaitu 54.1%, sedangkan T2. PMO.V.1.7. a.15 mengalami reduksi yang paling besar yang mencapai 77.7% di antara genotipe mutan (Tabel 2). Hal ini diduga terjadi karena sel-sel pada daun kehilangan tekanan turgor yang menyebabkan menurunnya kemampuan pemanjangan dan pembelahan sel yang pada akhirnya akan menghasilkan daun yang berukuran lebih kecil (Munns dan Tester, 2008). Tekanan osmotik di akar juga akan berpengaruh pada konduktansi stomata. Penutupan stomata juga terjadi pada tanaman yang mengalami cekaman salinitas akibat tekanan osmotik di daerah perakaran (Termaat *et al.*, 1985).

Fase kedua adalah toksifikasi ion Na^+ pada sel-sel tanaman. Akumulasi natrium pada sel akan mengakibatkan kematian pada sel dan jaringan tanaman (Sumer *et al.*, 2004). Efek toksisitas natrium pada sel akan menghambat kinerja enzim yang terlibat dalam metabolisme atau merusak fungsi kloroplas sehingga memberikan efek kerusakan langsung pada proses fotosintesis (Munns dan Tester, 2008). Kedua fase ini pada akhirnya akan merusak tanaman karena efek dari cekaman salinitas langsung berpengaruh pada proses fotosintesis.

Hasil pengamatan gejala visual pada 10 HSS sudah terlihat perbedaan yang signifikan antara kontrol tahan (Pokkali) dan kontrol rentan (IR 29) dan semakin jelas pada pengamatan 16 HSS (Tabel 3). Pengamatan pada 21 HSS menunjukkan sebelas genotipe mutan yang diuji tergolong tanaman yang rentan berdasarkan skor standar evaluasi (Tabel 1), dengan kisaran skor *salt injury* antara 6.20 sampai 7.27. Kesebelas genotipe ini memiliki kemiripan dengan kontrol isogenik (Nipponbare non-transgenik) yang memiliki skor *salt injury* 7.40.

Karakter Biokimia

Terdapat perbedaan signifikan pada karakter biokimia di antara genotipe-genotipe yang diuji yaitu degradasi klorofil a, total klorofil, dan total karotenoid (Tabel 3). Degradasi pigmen merupakan indikator tepat dalam mengamati respon tanaman terhadap kondisi cekaman osmotik tinggi seperti cekaman kekeringan dan salinitas (Cha-um dan Kirdmanee, 2009). Perbandingan nilai degradasi total klorofil dan total karotenoid dapat dijadikan salah satu indikator dalam proses seleksi untuk mencari genotipe yang toleran terhadap cekaman salinitas. Pokkali memiliki nilai degradasi total klorofil dan total karotenoid masing-masing hanya mencapai 22.79% dan 16.27%, sedangkan IR 29 memiliki nilai degradasi total klorofil dan total karotenoid masing-masing sebesar 75.75% dan 66.63% (Tabel 3). Nipponbare non-transgenik mengalami degradasi kandungan total klorofil dan karotenoid masing-masing sebesar 56.29% dan 52.11%. Genotipe T2. PMO.III.98.b.7 memiliki nilai degradasi total klorofil dan karotenoid terendah di antara genotipe mutan yaitu 30.50% dan 19.04% (Tabel 3). Konsentrasi total klorofil pada kondisi kontrol mencapai 23.26 $\mu g\ g^{-1}$ bobot segar, sedangkan pada kondisi perlakuan mencapai

Tabel 2. Nilai tengah reduksi karakter pertumbuhan genotipe-genotipe padi mutan pada kondisi cekaman salinitas

Genotipe	TT	PA	JD	BBT	BBA	BKT	BKA	LD
	(%)							
T2. PMO.V.3. 13. c. 22	6.8ab	4.4a	4.9a	57.7abcd	28.3abcd	33.1abc	29.7ab	63.9bcd
IR-29 (kontrol rentan)	15.6bcde	4.9a	11.7a	82.2e	49.4def	48.2bcde	60.5de	62.2bcd
T2. PMO.V.1.7. a.15	25.2efg	3.9a	16.7a	67.7cde	38.5cdef	53.8cde	41.9abcd	77.7e
T2. PMO.III.98.b.7	13.8abcd	4.4a	13.6a	49.8abc	34.8bcdef	31.1ab	45.5bcde	60.7bc
Nipponbare non-transgenik (kontrol isogenik)	15.8bcde	6.1a	14.3a	46.6ab	14.2ab	21.3a	38.4abc	69.8cde
T2. PMO. V. 3.13.c.14	18.4cdef	11.1a	10.7a	69.1d3	43.2cdef	55.0cde	54.0cde	69.3cde
T2. PMO. II. 23 1.c.15	8.8abc	3.1a	6.7a	44.7a	28.4abcd	33.4abc	39.5abcd	54.1b
T2. PMO. III. 98.b.8	9.8abc	5.7a	6.7a	50.3abc	11.8a	28.2ab	21.1a	54.1b
T2. PMO. III. 98 b.17	4.5a	13.8a	2.4a	63.2bcd	23.8abc	49.0bcde	36.2abc	72.8de
T2. PMO. VI. 30.1a.125	26.8fg	10.6a	4.8a	73.7de	51.5ef	64.9e	64.6e	73.6de
T2. PMO. III. 98.b.3	13.1abcd	11.3a	6.4a	50.7abc	24.8abc	37.2abc	32.3abc	64.6bcd
T2. PMO. VI.81. 3.a.4	20.5defg	5.1a	4.9a	62.9bcd	33.8bcde	49.9bcde	44.9bcde	65.6cd
Pokkali (kontrol tahan)	8.9abc	6.4a	14.6a	42.8a	27.0abc	41.5abcd	36.7abc	6.43a
T2. PMO. VI. 30.1.a.65	28.9g	8.3a	8.4a	75.4de	56.6f	62.9de	64.8e	72.2de

Keterangan : TT = tinggi tanaman, PA = panjang akar, JD = jumlah daun, BBT = bobot basah tajuk, BBA = bobot basah akar, BKT = bobot kering tajuk, BKA = bobot kering akar, LD = luas daun.
 Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%

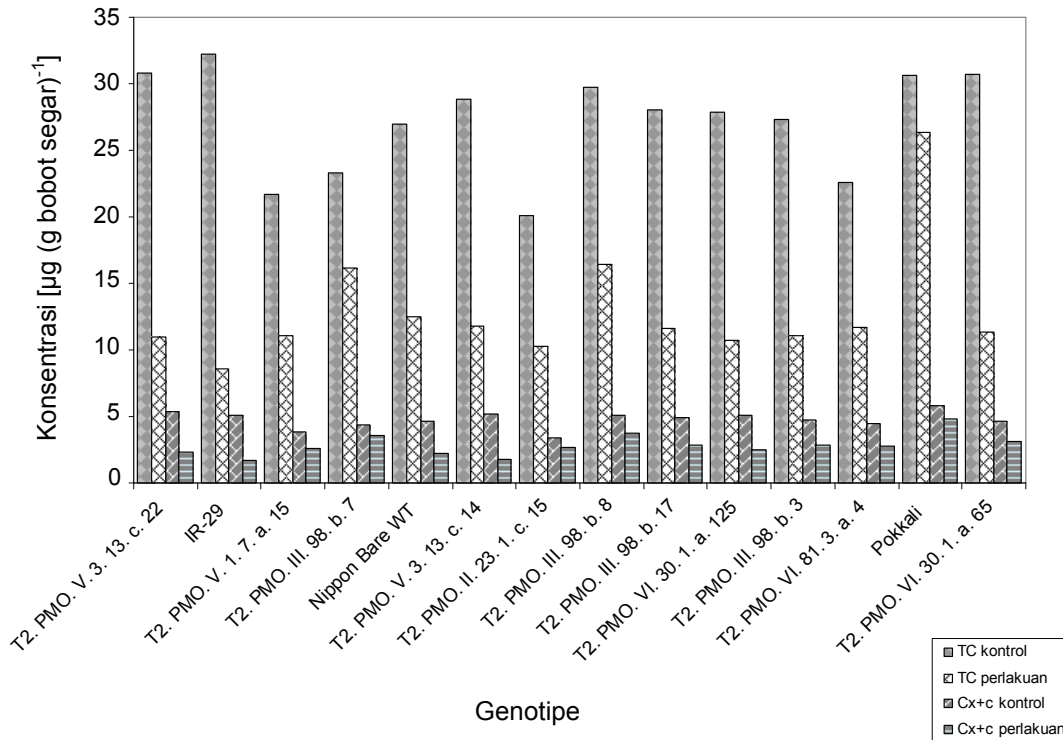
Tabel 3. Perbedaan nilai tengah skor *salt injury*, degradasi klorofil a (Chl_a), klorofil b (Chl_b), total klorofil (TC), total karotenoid (C_{x+c}), dan akumulasi prolin di antara genotipe padi mutan pada cekaman salinitas

Genotipe	Skor <i>salt injury</i> pada n HSS			Chl _a	Chl _b	TC	C _{x+c}	Akumulasi prolin
	10	16	21	(%)				(kali lipat)
T2. PMO.V.3. 13. c. 22	3.00b	5.40bcd	7.27bc	64.68b	52.41a	53.64bc	56.21ab	16.68a
IR-29 (kontrol rentan)	5.40e	7.27e	9.00c	71.76b	65.03a	75.75c	66.63b	8.69a
T2. PMO.V.1.7. a.15	3.00b	5.27bc	6.60b	49.99ab	45.85a	57.08bc	32.95ab	9.80a
T2. PMO.III.98.b.7	3.00b	5.27bc	7.13bc	30.66ab	30.38a	30.50ab	19.04ab	3.37a
Nipponbare non-transgenik (kontrol isogenik)	3.00b	5.53bcd	7.40bc	56.50ab	54.94a	56.29bc	52.11ab	11.69ab
T2. PMO. V. 3.13.c.14	4.60de	6.33d	7.13bc	59.59ab	54.04a	49.18bc	65.15b	11.66a
T2. PMO. II. 23 1.c.15	3.00b	5.00b	5.80b	32.86ab	56.16a	35.7abc	22.15ab	12.18a
T2. PMO. III. 98.b.8	3.00b	5.27bc	7.00bc	42.43ab	49.44a	62.37bc	25.58ab	16.54a
T2. PMO. III. 98 b.17	3.93bc	6.07cd	7.53bc	58.00ab	62.00a	58.59bc	42.55ab	5.71a
T2. PMO. VI. 30.1a.125	3.67bc	5.40bcd	7.00bc	57.57ab	60.01a	62.93c	50.27ab	15.40a
T2. PMO. III. 98.b.3	3.00b	5.13bc	6.20b	61.33b	62.81a	62.16bc	39.66ab	13.58a
T2. PMO. VI.81. 3.a.4	3.00b	5.40bcd	6.33b	51.83ab	46.66a	42.66abc	38.30ab	13.19a
Pokkali (kontrol tahan)	1.00a	3.00a	3.80a	12.09a	25.95a	22.79a	16.27a	1.53a
T2. PMO. VI. 30.1.a.65	3.00b	5.80bcd	7.27bc	59.70ab	64.28a	67.79c	31.66ab	8.10a

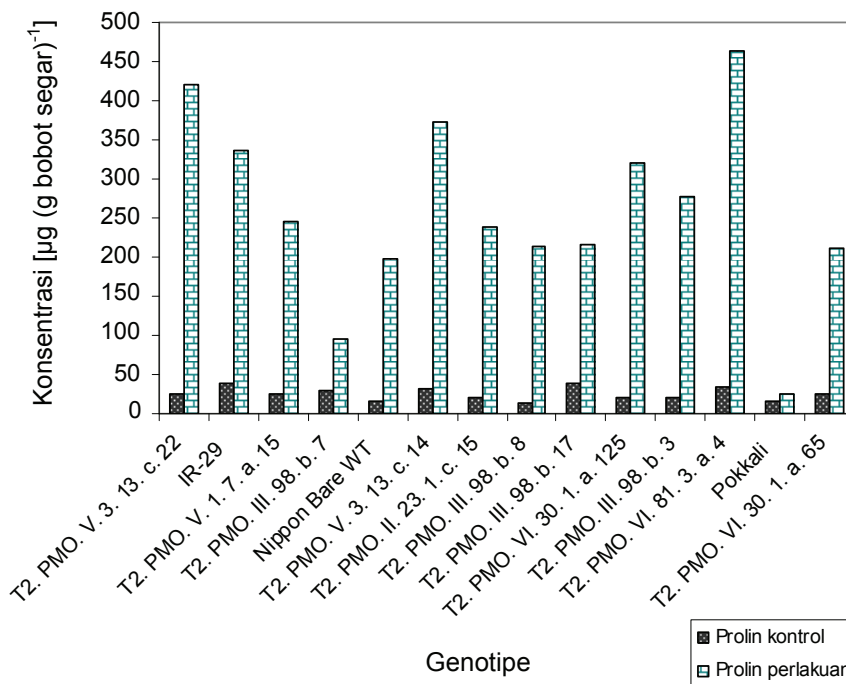
Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%

16.17 µg g⁻¹ bobot segar. Konsentrasi total karotenoid pada kondisi kontrol mencapai 4.41 µg g⁻¹ bobot segar sedangkan pada kondisi perlakuan mencapai 3.57 µg g⁻¹ bobot segar (Gambar 1).

Karotenoid memiliki peran penting dalam proses fotosintesis yaitu dalam proses pemanenan energi. Karotenoid menyerap dengan kuat cahaya hijau yang banyak terdapat pada cahaya matahari dimana hal ini



Gambar 1. Perbandingan total klorofil (TC) dan total karotenoid (C_{x+c}) tanaman kontrol ($0 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$) dan tanaman perlakuan ($6 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$)



Gambar 2. Perbandingan kandungan prolin pada jaringan tanaman kontrol ($0 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$) dan tanaman perlakuan ($6 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$)

tidak dapat dilakukan oleh klorofil. Kemudian karotenoid mentransfer energi tereksitasi ke klorofil sehingga proses fotosintesis menjadi lebih efisien. Selain itu, karotenoid juga berperan melindungi formasi klorofil (Havaux *et al.*, 1998). Oleh karena itu, tanaman akan mampu bertahan bila

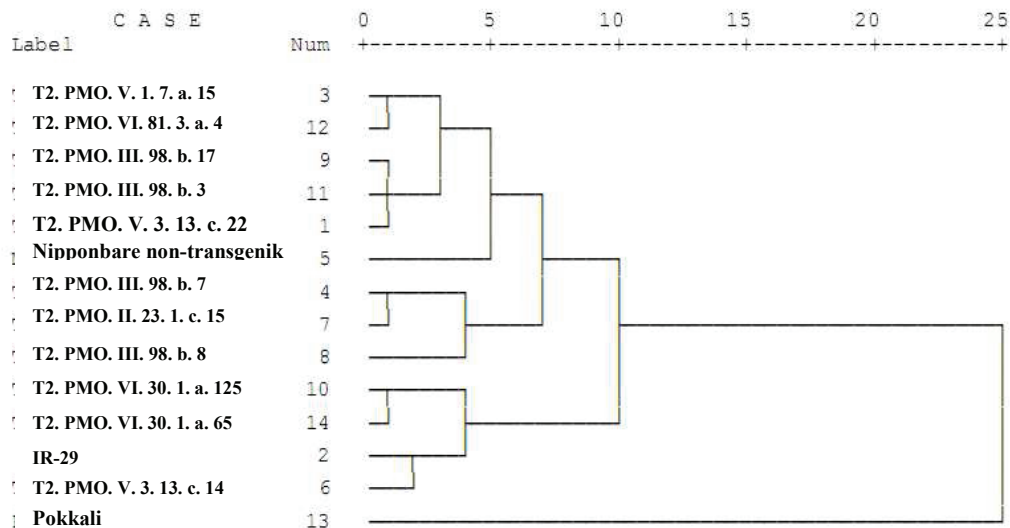
mampu mempertahankan kandungan total klorofil dan total karotenoid dalam kondisi cekaman salinitas.

Akumulasi prolin merupakan respon pertama tanaman jika mengalami cekaman salinitas untuk mengurangi kerusakan sel (Ashraf dan Foolad, 2007). Prolin umumnya

terakumulasi dalam jaringan tanaman yang tercekam salinitas dan berperan penting dalam regulasi tekanan osmotik dan antioksidan dalam sel (Cha-um dan Kirdmanee, 2009). Pengamatan pada 21 HSS menunjukkan bahwa Pokkali dan IR 29 memiliki akumulasi prolin masing-masing 1.53 dan 8.69 kali lipat, sedangkan Nipponbare memiliki akumulasi prolin sebesar 11.69 kali lipat. Genotipe T2.pMO.III.98.b.7 memiliki akumulasi prolin di jaringan tanaman perlakuan paling rendah di antara genotipe-genotipe mutan yang lain yaitu 3.37 kali lipat. Konsentrasi prolin pada kondisi kontrol sebesar 28.47 $\mu\text{g g}^{-1}$ bobot segar, sedangkan pada kondisi perlakuan konsentrasi prolin sebesar 96.18 $\mu\text{g g}^{-1}$ bobot segar. Akumulasi prolin terbesar dimiliki oleh genotipe mutan T2. PMO.V.3.13.c.22 yang mencapai 16.68 kali lipat (Tabel 3) dengan konsentrasi prolin sebesar 25.14 $\mu\text{g g}^{-1}$ bobot segar pada kondisi kontrol, sedangkan pada kondisi

perlakuan konsentrasi prolin pada jaringan tanaman sebesar 419.44 $\mu\text{g g}^{-1}$ bobot segar (Gambar 2).

Pengelompokan didasarkan pada kombinasi respon pertumbuhan dan biokimia dari masing-masing genotipe terhadap cekaman salinitas dengan metode *hierarchical cluster analysis*. Dendrogram (Gambar 3) menunjukkan dari sebelas genotipe yang diamati terdapat tiga *cluster* yaitu: *Cluster I* terdiri dari T2.pMO.V.3.13.c.22, T2.pMO.V.1.7.a.15, T2.pMO.III.98.b.7, T2.pMO.II.231.c15, T2.pMO.III.98.b.8, T2.pMO.III.98.b.17, T2.pMO.III.98.b.3, dan, T2.pMO.VI.81.3.a.4 memiliki karakter yang mirip dengan kontrol isogenik (Nipponbare non transgenik). *Cluster II* terdiri dari T2.pMO.V.3.13.c.14, T2.pMO.VI.30.1a.125, and T2.pMO.VI.30.1.a.65 memiliki karakter yang mirip dengan kontrol rentan (IR 29). *Cluster III* tidak memiliki genotipe mutan yang memiliki karakter yang mirip dengan kontrol tahan (Pokkali).



Gambar 3. Dendrogram hasil *hierarchical cluster analysis* berdasarkan karakter pertumbuhan dan biokimia sebelas genotipe padi mutan yang ditumbuhkan pada larutan nutrisi yang mengandung 0 g L⁻¹ NaCl (kontrol) dan 6 g L⁻¹ NaCl (perlakuan)

KESIMPULAN

Perbedaan signifikan di antara genotipe mutan adalah terjadinya reduksi pada tinggi tanaman, bobot basah tajuk, bobot basah akar, bobot kering tajuk, bobot kering akar, dan luas daun. Perbedaan signifikan juga diamati pada karakter biokimia yaitu degradasi klorofil a, total klorofil, dan total karotenoid.

Belum ditemukan genotipe mutan yang toleran terhadap cekaman salinitas dalam penelitian ini. Meskipun demikian, metode seleksi dengan menggabungkan karakter pertumbuhan dan biokimia dapat dijadikan metode yang baik dalam seleksi genotipe toleran cekaman salinitas. Berdasarkan respon pertumbuhan dan biokimia terhadap cekaman salinitas, genotipe mutan dikelompokkan dalam tiga *cluster* yaitu: *Cluster I* terdiri dari T2.pMO.V.3.13.c.22, T2.pMO.V.1.7.a.15, T2.pMO.III.98.b.7, T2.pMO.II.231.c15, T2.pMO.III.98.b.8, T2.pMO.III.98.b.17, T2.pMO.

III.98.b.3, dan, T2.pMO.VI.81.3.a.4 memiliki karakter yang mirip dengan kontrol isogenik (Nipponbare non transgenik). *Cluster II* terdiri dari T2.pMO.V.3.13.c.14, T2.pMO.VI.30.1a.125, dan T2.pMO.VI.30.1.a.65 memiliki karakter yang mirip dengan kontrol rentan (IR 29). Tidak terdapat genotipe mutan yang memiliki karakter yang mirip dengan kontrol tahan (Pokkali) pada *Cluster III*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashraf, M., P. J.C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci.* 166:3-16.
- Ashraf, M., M.R. Foolad. 2007. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59:206-216.

- Barry, G.F. 2001. The use of the Monsanto draft rice genome sequence in research. *Plant Physiol.* 125:1164-1165.
- Bates, L.S., R.P. Warden, I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39:205-207.
- Cha-um, S., C. Kirdmanee. 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. *Agric. Sci. China* 8:51-58.
- FAO. 2008. FAO Land and Plant Nutrition Management Service. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>
- Gregorio, G.B., D. Senadhira, R.D. Mendoza. 1997. IRRRI Discussion Paper Series No. 22.
- Havaux, M., F. Tardy, Y. Lemoine. 1998. Photosynthetic light-harvesting function of carotenoids in higher-plant leaves exposed to high light irradiances. *Planta* 205: 242-250.
- Kolesnik, T., I. Szeverenyi, D. Bachmann, C.S. Kumar, S. Jiang, R. Ramamoorthy, M. Cai, Z.G. Ma, V. Sundaresan, S. Ramachandran. 2004. Establishing an efficient Ac/Ds tagging system in rice: large-scale analysis of Ds flanking sequences. *Plant J.* 37:301-314.
- Lin, H.X., M.Z. Zhu, M. Yano, J.P. Gao, Z.W. Liang, W. A. Su, X.H. Hu, Z.H. Ren, D.Y. Chao. 2004. QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theor. Appl. Genet.* 108:253-260.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350-380.
- Munns, R., M. Tester. 2008. Mechanism and salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:651-681.
- Nugroho, S., K.R. Trijatmiko, S. Rachmawati, A. Zannati, S. Purwantomo. 2006. Upaya pengembangan populasi mutagenic lines padi pembawa activation tag dengan transposon Ac/Ds melalui transformasi dengan *Agrobacterium*. p. 236-242. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi.* 15-16 November 2006.
- Sahi, C., A. Singh, K. Kumar, E. Blumwald, A. Grover. 2006. Salt stress response in rice: genetics, molecular biology, and comparative genomics. *Funct. Integr. Genomics* 6:263-284.
- Satarugsa, P., W. Youngmee, S. Meesawat. 2006. The three-year mapping and monitoring of underground cavity expansion with 2D resistivity survey: what has revealed? p. 265-269. *In* J. Wang, Y. Xu, J. Xia, C. Chen (eds). *Proceeding of the 2nd International Conference on Environmental and Engineering Geophysics (ICEEG 2006)*, 4-9 June 2006: Wuhan, China.
- Shabala, S.N., S.I. Shabala, A.I. Martynenko, O. Babourina, I.A. Newman. 1998. Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na⁺ accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: a comparative survey and prospects for screening. *Aust. J. Plant Physiol.* 25:609-616.
- Sumer A., C. Zorb, F. Yan, S. Schubert. 2004. Evidence of sodium toxicity for the vegetative growth of Maize (*Zea mays* L.) during the first phase of salt stress. *J. Appl. Bot.* 78:135-39.
- Suriya-arunroj, D., N. Supapoj, A. Vanavichit, T. Toojinda. 2005. Screening and selection for physiological characters contributing to salinity tolerance in rice. *Kasetsart J.* 39:174-185.
- Szabolcs, I. 1989. *Salt-Affected Soils.* CRC Press, Boca Raton, FL.
- Termaat, A., J.B. Passioura, R. Munns. 1985. Shoot turgor does not limit shoot growth of NaCl-affected wheat and barley. *Plant Physiol.* 77:869-72.
- USDA-ARS. 2008. Research Databases. Bibliography on Salt Tolerance. George E. Brown, Jr. Salinity Lab. US Dep. Agric., Agric. Res. Serv. Riverside, CA. <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8908>
- US-EPA. 2009. Coastal Zone and Sea Level Rise. <http://www.epa.gov/climatechange/effects/coastal/index.html>
- Wang, H., D. Huang, R. Lu, J. Liu, Q. Qian, X. Peng. 2000. Salt tolerance of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) with mtID gene and gutD gene. *Chinese Science Bulletin* 45(18):1685-1690.
- Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock, K.A. Gomez. 1976. *Laboratory manual for physiological studies of rice.* International Rice Research Institute, Manila.