

SELEKSI MUTAN PADI RENDAH ASAM FITAT (RAF) DARI IRADIASI PADI (*Oryza sativa*) VARIETAS ATOMITA 1

Arwin, Ina Idayani Rahma, Azri Kusuma Dewi dan Yulidar
Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi - Batan

ABSTRAK

SELEKSI MUTAN PADI RENDAH ASAM FITAT (RAF) DARI IRADIASI PADI (*Oryza sativa*) VARIETAS ATOMITA 1. Telah dilakukan penelitian tentang seleksi mutan padi rendah asam fitat (RAF) dari iradiasi varietas padi Atomita 1. Varietas Atomita 1 diradiasi dengan dosis 200 Gy menggunakan ^{60}Co . Seleksi rendah asam fitat dilakukan pada tanaman M.2 (biji M.3), dengan menganalisa kandungan fosfor anorganik menggunakan metoda reagen Chen's 8 biji/malai dilaboratorium. Hasil analisa dikelompokkan dalam 5 katagori. Katagori 1 untuk kandungan fosfor anorganik paling rendah dan katagori 5 untuk yang paling tinggi. Kandungan fosfor anorganik berbanding terbalik dengan kandungan asam fitat. Dari 1087 tanaman M2 (biji M3) yang diseleksi diperoleh sebanyak 90 malai dengan biji rendah asam fitat untuk katagori 3, 17 malai untuk katagori 4 dan 2 malai untuk katagori 5. Malai yang terseleksi untuk standar 3, 4 dan 5 ditanam sebagai tanaman M.3 untuk mendapatkan galur rendah asam fitat yang homogen.

ABSTRACT

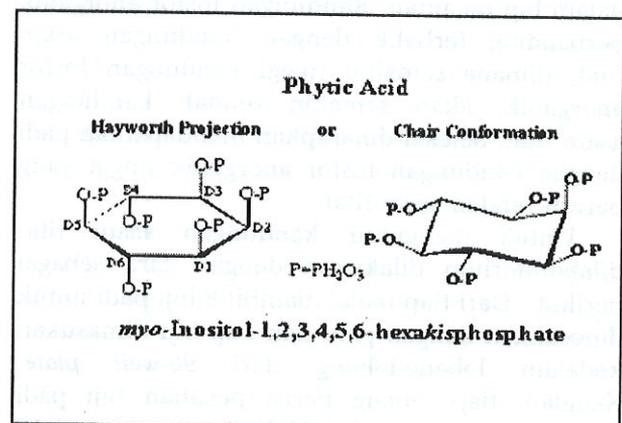
SELECTION FOR LOW PHYTIC ACID (LPA) RICE MUTANT FROM IRRADIATED ATOMITA 1 RICE (*Oryza sativa*) variety. An experiment has been carried out to select on Low Phytic Acid rice mutants from irradiated Atomita 1 rice variety. Variety of Atomita 1 was irradiated with the dose 200 Gy use ^{60}Co . Selection has been done by analyzing in the laboratory, eight rice seed per panicle. The inorganic phosphor content was classification into five catagories. Catagory 1 for lowest and 5 for highest. From 1087 of M3 seeds , 90 panicle for standard 3, 17 panicle for standard 4 and 2 panicle for standard 5 were found. Control variety of Atomita 1 has been founded standard 1 low phytic acid. These selected panicles will be replanting in the field (M.3 plant), to find homogenous low phytic acid mutant lines.

PENDAHULUAN

Dalam peningkatan produksi beras, selain segi kuantitas, juga perlu diperhatikan segi kualitas. Kualitas antara lain dalam hal bentuk beras yang disukai masyarakat, rasa nasi enak, aroma yang memikat serta cukup kandungan unsur mineral yang dibutuhkan tubuh. Salah satu faktor unsur mineral yang perlu mendapat perhatian yaitu rendahnya kandungan *asam fitat* dalam beras, karena asam fitat merupakan senyawa anti nutrisi bagi tubuh, yang kalau jumlahnya tinggi akan menyebabkan susah penyerapan unsur-unsur essensial oleh tubuh, baik makro maupun mikro. Jadi meskipun unsur-unsur essensial cukup tersedia dalam makanan yang dimakan, bila kandungan asam fitat tinggi, akan susah diserap sehingga akhirnya dibuang keluar tubuh melalui *fezes* dan *urine*.

Dari berbagai penelitian yang dilakukan, telah ditemukan teknik untuk menurunkan kandungan asam fitat dalam produk pertanian yaitu melalui pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi. Menurut Raboy dkk {1}, dengan teknik ini kandungan asam fitat pada sereal dapat diturunkan antara 45% - 70%. Dari hasil pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi tersebut, telah ditemukan varietas padi, kedele, barley yang rendah kandungan asam fitat {2 dan 3}.

Asam fitat adalah *myo*-Inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate, dengan rumus kimia seperti Gambar 1. Didalam biji padi, kandungan asam fitat berbanding terbalik dengan kandungan fosfor anorganik. Semakin tinggi kandungan asam fitat, semakin rendah kandungan fosfor anorganik, demikian pula sebaliknya semakin rendah asam fitat akan semakin tinggi kandungan P anorganik. Secara Total P jumlahnya tidak berubah {3}.



Gambar 1. Rumus kimia asam fitat [sumber: Raboy, et al, (3)]

Di Amerika Serikat, *United State Department of Agriculture* (USDA) telah menemukan dua macam gen yang mengontrol kandungan asam fitat dalam tanaman. Gen tersebut adalah *lpa 1-1* dan *lpa 2-1*, yang telah ditemukan dalam tanaman padi, *barley* dan jagung {1}.

Sasaran yang hendak dicapai dalam penelitian ini adalah bagaimana untuk mendapatkan galur mutan padi rendah kandungan asam fitat yang homogen, dan bisa dilepas sebagai padi varietas baru.

BAHAN DAN METODE

Bahan :

Reagen Chen's yang dibuat dengan mencampurkan H_2SO_4 6 N + Amonium Molibdat 2,5 % + Ascorbit Acid 10 % + ddH₂O dengan perbandingan 1:1:1:2. Biji padi Atomita 1 yang sudah diradiasi dengan dosis 200 gray.

Metoda :

Sebanyak 500 butir padi varietas Atomita 1 diradiasi dengan dosis 200 Gy, lalu ditanam dilapangan. Tanaman M.1 dipanen dan ditanam kembali seluruhnya menjadi tanaman M.2. Tanaman M.2 dipanen, tiap rumpun tiga malai, dan dimasukan kedalam kantong tanaman, untuk dikeringkan dengan panas matahari sampai kadar air mencapai ± 14 %. Kemudian, kandungan asam fitat didalam bijinya dianalisa dilaboratorium.

Seleksi rendah asam fitat pertama kali dilakukan pada tanaman M.2 (biji M.3) dilaboratorium. Metoda analisa asam fitat dilakukan dengan menggunakan metoda yang dikembangkan oleh Chen's dan Toribara {3}. Pada prinsipnya metoda ini dilakukan dengan cara mengukur kandungan fosfor anorganik dalam biji tanaman. Kandungan fosfor anorganik berbanding terbalik dengan kandungan asam fitat, dimana semakin tinggi kandungan fosfor anorganik, akan semakin rendah kandungan asam fitat. Seleksi diharapkan mendapatkan padi dengan kandungan fosfor anorganik tinggi yang berarti rendah asam fitat.

Untuk mengukur kandungan asam fitat dilaboratorium dilakukan dengan cara sebagai berikut : Dari tiap malai diambil 8 biji padi untuk dipecahkan dengan palu dan tiap biji dimasukan kedalam lobang-lobang dari *96-well plate*. Kedalam tiap lobang berisi pecahan biji padi ditambahkan 300 µl 0,4 M HCl (yang berarti 10 µl untuk tiap mg berat gabah). Setelah dibiarkan semalam, dari tiap lobang diambil 10 µl larutan untuk dipindahkan kedalam lobang-lobang *96-well plate* yang lain, lalu kedalamnya ditambahkan 90 µl ddH₂O dan 100 µl Chens

Reagent. Amati Setelah dua jam perubahan warna yang terjadi, dan bandingkan dengan warna pada larutan standar. Semakin biru larutan sampel berarti semakin rendah kandungan asam fitat atau semakin tinggi kandungan fosfor inorganik.

Tabel 1. Komposisi larutan standar.

No Standar	Kandungan P anorganik (ppm)	1 mM KH ₂ PO ₄ (µl)	0,4 M HCl (µl)	Double distilled H ₂ O
1	0	0	10	90
2	0.775	5	10	85
3	2.325	15	10	75
4	4.650	30	10	60
5	6.975	45	10	45

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan pendahuluan dan merupakan langkah awal dari seleksi mutan rendah asam fitat pada padi. Analisa asam fitat dilakukan pada biji M.3, hasilnya disajikan pada Tabel 2.

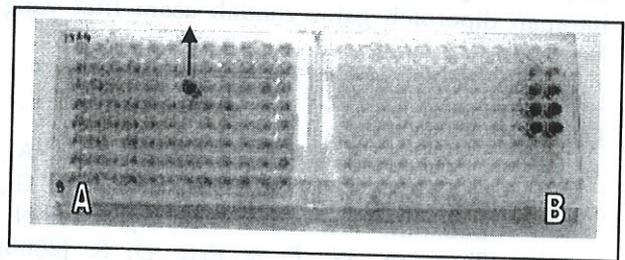
Tabel 2. Galur-galur yang terseleksi dengan kandungan rendah asam fitat pada biji M3

Nomor Galur	K A T A G O R I			Keterangan
	3 ')	4 ')	5 ')	
35	-	1	-	Segregasi
36	1	-	-	Segregasi
63	4	-	-	Segregasi
65	-	1	-	Segregasi
69	-	-	1	Segregasi
70	1	-	-	Segregasi
74	5	-	-	Segregasi
89	-	1	-	Segregasi
97	2	-	-	Segregasi
100	1	-	-	Segregasi
104	-	1	-	Segregasi
105	2	1	-	Segregasi
110	1	-	-	Segregasi
111	1	-	-	Segregasi
114	2	-	-	Segregasi
116	1	-	-	Segregasi
153	1	-	-	Segregasi
170	7	-	-	Segregasi
180	2	-	-	Segregasi
196	1	-	-	Segregasi
212	1	-	-	Segregasi
213	1	-	-	Segregasi
220	1	-	-	Segregasi
292	1	-	-	Segregasi
295	3	-	-	Segregasi
320	-	-	1	Segregasi
411	-	1	-	Segregasi
438	1	-	-	Segregasi
573	1	-	-	Segregasi
621	1	-	-	Segregasi

793	1	-	-	Segregasi
796	1	-	-	Segregasi
962	8	-	-	Segregasi
973	2	-	-	Segregasi
992	8	-	-	Segregasi
993	2	-	-	Segregasi
994	2	4	-	Segregasi
995	3	1	-	Segregasi
996	3	1	-	Segregasi
997	3	-	-	Segregasi
998	3	1	-	Segregasi
999	5	-	-	Segregasi
1000	3	-	-	Segregasi
1001	7	-	-	Segregasi
1002	3	-	-	Segregasi
1003	6	2	-	Segregasi
1004	2	-	-	Segregasi
1005	3	-	-	Segregasi
1006	6	-	-	Segregasi
1007	7	-	-	Segregasi
1008	4	-	-	Segregasi
1009	6	-	-	Segregasi
1010	7	-	-	Segregasi
1011	4	1	-	Segregasi
1012	7	-	-	Segregasi
1013	7	-	-	Segregasi
1014	7	-	-	Segregasi
1015	3	5	-	Segregasi
1016	7	1	-	Segregasi
1017	6	-	-	Segregasi
1018	2	-	-	Segregasi
1019	2	-	-	Segregasi
1020	3	-	-	Segregasi
1021	4	-	-	Segregasi
1022	2	-	-	Segregasi
1023	1	-	-	Segregasi
1024	1	-	-	Segregasi
1026	2	2	-	Segregasi
1027	5	-	-	Segregasi
1028	7	-	-	Segregasi
1029	1	-	-	Segregasi
1031	1	-	-	Segregasi
1032	3	-	-	Segregasi
1033	1	-	-	Segregasi
1034	3	-	-	Segregasi
1035	3	-	-	Segregasi
1036	6	-	-	Segregasi
1037	6	-	-	Segregasi
1038	2	-	-	Segregasi
1039	7	-	-	Segregasi
1040	7	-	-	Segregasi
1041	5	-	-	Segregasi
1042	4	-	-	Segregasi
1043	3	-	-	Segregasi
1044	2	-	-	Segregasi
1045	3	-	-	Segregasi
1046	7	-	-	Segregasi
1047	4	-	-	Segregasi
1048	3	1	-	Segregasi
1050	4	-	-	Segregasi
1064	1	-	-	Segregasi

1074	1	1	-	Segregasi
1077	3	-	-	Segregasi
1079	1	-	-	Segregasi
1081	1	-	-	Segregasi
1082	1	-	-	Segregasi
1087	2	-	-	Segregasi
Total	90 malai	17 malai	2 malai	

Kandungan asam fitat dibedakan atas 5 katagori, dari kandungan paling tinggi sampai paling rendah. Katagori 1 diberikan pada biji dengan kandungan asam fitat paling tinggi sedangkan katagori 5 pada biji dengan kandungan paling rendah. Kandungan ini dapat dilihat dari warna yang timbul setelah biji diperlakukan dengan reagen Chen's, seperti ditunjukkan dalam Gambar 2. Makin pekat warna menunjukkan makin rendahnya kandungan asam fitat.



Gambar 2 : Contoh hasil perlakuan dengan reagen Chen's pada galur nomor 49 generasi M3. A = Galur nomor 49, B = larutan standar

Untuk tanaman kontrol (Atomita 1) sama sekali tidak menunjukkan adanya pewarnaan, berarti varietas Atomita 1 bukan varietas rendah asam fitat.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa dari 1087 malai yang dianalisa, ditemukan dua malai yang terindikasi rendah asam fitat untuk katagori 5, atau sebesar 0,02 %. Mutasi kearah asam fitat rendah ini merupakan mutasi kearah resesif, sehingga peluang untuk mendapatkannya juga kecil. Untuk katagori 5 yang didapatkan, dari analisa pewarnaan yang muncul lewat reagent Chen's, sama dengan warna yang muncul pada gen *lpa 1-1* yang dilaporkan oleh Raboy *et al*, (1 dan 3). Hal ini lumrah terjadi karena pada tanaman M.2 (biji M.3), masih mengalami segregasi sehingga banyak jenis yang muncul (4). Jika seluruh biji pada malai dengan katagori 5 tersebut ditanam, maka diharapkan nantinya akan ditemukan pada generasi berikutnya yang tanaman pada salah satu malainya bersifat rendah asam fitat. Untuk dapat mencapai homogen diperlukan seleksi sampai dengan generasi M.4 - M.6.

Dari jumlah 1087 malai yang dianalisa tersebut, didapatkan 17 malai atau sebesar 0,3%, yang memiliki biji rendah asam fitat dengan

katagori 4, dan 90 malai atau 2,2 % dengan katagori 3. Mutasi kearah katagori 4 dan katagori 3, mendekati gen *lpa 2-1* seperti yang dilaporkan oleh Raboy, *et al*, (1)

KESIMPULAN:

Dari padi mutan generasi ke 3 (M3) asal varietas Atomita 1 yang diradiasi dengan sinar gamma dosis 200 Gy telah diperoleh galur-galur rendah asam fitat. Dengan menganalisis kandungan asam fitat metoda Chen's reagen, ditemukan malai dengan kandungan biji sangat rendah asam fitat (katagori 5) sebanyak 0,02%, dengan biji rendah asam fitat (katagori 4) sebanyak 0,3 % dan biji agak rendah asam fitat (katagori 3) sebanyak 2,2 %. Biji biji tersebut masih bersegregasi dan akan diseleksi lebih lanjut sampai generasi M5 atau M6 dengan harapan diperoleh galur rendah asam fitat yang homogen.

DAFTAR PUSTAKA

1. Raboy, V., Gerbasi, P. F., Young, K. A., Stoneberg, S. D., Pickett, S. G., Bauman, A. T., Murthy, P.P.N., Sheridan, W. F. & Ertl, D. S. (2000) Origin and seed phenotype of maize low phytic acid 1-1 and low phytic acid 2-1. *Plant Physiol* 124: 355-368.
2. Larson, S. R., Young, K. A., Cook, A., Blake, T. K. & Raboy, V. (1998) Linkage mapping two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theor. Appl. Genet.* 97:141-146.
3. Raboy, V. (1997) Accumulation and storage of phosphate and minerals. Larkins, B. A. Vasil, I. K. eds. *Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development*. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands. 1997:441-477.
4. IAEA. "Manual on mutation breeding, second edition (Technical Report Series No 119), IAEA. Vienna. 1977. 288 p.
5. Larson, S. R., Rutger, J. N., Young, K. A. & Raboy, V. (2000) Isolation and genetic mapping of a non-lethal rice low phytic acid mutation. *Crop Sci* 40:1397-1405.
6. Rasmussen, S. K. & Hatzack, F. (1998) Identification of two low-phytate barley (*Hordeum vulgare* L.) grain mutants by TLC and genetic analysis. *Hereditas* 129:107-112.
7. Raboy, V., Young, K. A., Dorsch, J. A. & Cook, A. (2001) Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid. *J. Plant Physiol.* 158:489-497.

DISKUSI

RIJANTI

Mengapa untuk penelitian anda memakai varietas Atomita I bukan varietas yang baru.

ARWIN

Varietas Atomita 1 meskipun varietas lama, tapi dari uji kandungan nutrisi memiliki kadar Fe yang lebih tinggi dari varietas lain, sehingga dengan upaya bisa diturunkannya kandungan asam bitat, kecukupan nutrisi mutan Atomita 1 akan bisa lebih baik.

TARMIZI

Apa alasan Anda untuk melakukan penelitian ini menggunakan varietas padi Atomita I saja. Padahal PATIR-BATAN telah banyak melepas padi varietas-varietas baru yang kualitasnya lebih baik.

ARWIN

Varietas Atomita I memiliki kadar Fe yang lebih tinggi dari varietas lain dan kami juga sudah menganalisa kandungan asam bitat dari iradiasi varietas Atomita 4 dan Diah suci.

SIHONO

- Jika sudah mendapatkan RAF (varietas tersebut) bagaimana di lihat dari sisi ekonomi dalam arti harga beli masyarakat Indonesia
- Bagaimana system sosialisasi kepada masyarakat Indonesia bahwa varietas RAF sangat baik untuk kesehatan.

ARWIN

- Beras rendah asam fetat yang sudah dilepas sebagai varietas di USA (Var kaybonet) memiliki harga jual yang sedikit lebih tinggi dari beras yang lain, karena ditujukan untuk menunjang kebutuhan nutrisi untuk orang sakit, ibu hamil, orang tua. Jadi harga jual tidak masalah karena ditujukan untuk konsumen khusus.
- Sosialisasi dengan melibatkan Departemen kesehatan, yang memang dari awal penelitian ini kami sudah bekerjasama dengan Badan Litbang Departemen Kesehatan.

SOFNI M. CHAERUL

Dalam penelitian Anda mengapa tidak langsung ditentukan kandungan asam bitatnya ? mengapa kandungan Pnya yang ditentukan mohon penjelasan ?

ARWIN

Kandungan asam fetat dideteksi melalui kandungan P anorganik karena lebih mudah dilakukan dalam waktu yang pendek dan jumlah yang diseleksi cukup banyak. Seleksi menggunakan metode Chen's dan Torribara cukup mudah dilakukan untuk analisa P anorganik.

HARYANTO

Bagaimana cara metode analisis asam bitat ? mohon dijelaskan.

ARWIN

Analisis asam bitat menggunakan metoda chen's dan Tarribara, yang selengkapnya kami tulis dalam makalah.

IDAWATI

P anorganik tinggi dalam beras yang diharapkan. P anorganik lebih mudah larut dalam air dibandingkan P organic. Apakah ada kemungkinan pada saat memasak nasi P organic hilang atau berkurang ?

ARWIN

Apabila memasak nasinya dengan normal seperti biasa atau air yang mendidih waktu masak nasi tidak dibuang, kandungan P anorganik tidak akan hilang.

LILIK HARSANTI

Dari hasil penelitian telah diseleksi 96 malai untuk katagori 3,17 mulai untuk katagori 4 dan 2 malai untuk katagori 5. untuk varietas kntrol anda menggunakan Atomita I, bisa tidak diganti dengan varietas lain.

ARWIN

Kami juga sudah menganalisa iradiasi dari varietas Atomita 4 dan Diah suci yang saat ini juga masih berlangsung jadi untuk kontrol dan materi penelitian bisa digunakan varietas lain.