

PAIR / P.521 / 1992

PENAMPILAN ISOENZIM BEBERAPA  
VARIETAS PADI DAN MUTANNYA

Ermin Winarno, Ambyah Suliwarno,  
dan M. Ismachin

## PENAMPILAN ISOENZIM BEBERAPA VARIETAS PADI DAN MUTANNYA

Ermin Winarno\*, Ambyah Suliwarno\*, dan M. Ismachin\*

### ABSTRAK

**PENAMPILAN ISOENZIM BEBERAPA VARIETAS PADI DAN MUTANNYA.** Telah dilakukan studi genetik terhadap isoenzim alkohol dehidrogenase, enzim malat, peroksidase, 'acid phosphatase', dan aminopeptidase dari beberapa kelompok tanaman padi. Kelompok pertama terdiri dari Atomita 1, Pelita I/1, A227/5, Mudgo, TN-1, dan IR-26. Kelompok kedua meliputi varietas Cisadane beserta lima mutannya, yaitu OBS 18, OBS 208, OBS 297, OBS 306, dan OBS 330. Pada kelompok ketiga diteliti galur mutan 627-10-3 dan mutan-mutannya, yaitu 1063, 1066, 1067, 1076, dan 1090. Ekstrak daun padi yang mengandung isoenzim difraksinasi secara elektroforesis disk gel poliakrilamid. Salah satu zimogram yang dihasilkan yaitu isoenzim 'acid phosphatase' menunjukkan ciri yang khas dari padi yang peka terhadap wereng coklat biotip 1. Gen pengontrol enzim malat pada galur mutan yang berasal dari varietas Cisadane diduga lebih tahan terhadap iradiasi gamma dari pada gen pengontrol enzim lainnya. Secara umum, zimogram isoenzim menunjukkan bahwa gen pengontrol enzim dari mutan-mutan yang diteliti telah mengalami mutasi. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan harga R<sub>m</sub>, jumlah pita, dan tebal pita pada zimogram mutan.

### ABSTRACT

**ISOENZYMES PERFORMANCE OF SOME RICE VARIETIES AND THEIR MUTANTS.** Genetics studies on alcohol dehydrogenase, malic enzyme, peroxidase, acid phosphatase, and aminopeptidase isoenzymes were carried out on several groups of rice varieties and their mutant lines. The first groups consisted of Atomita 1, Pelita I/1, A227/5, Mudgo, TN-1, and IR-26. The second group was Cisadane variety and its five mutants, namely OBS 18, OBS 208, OBS 297, OBS 306, and OBS 330. The third group was mutant line 627-10-3 and its mutants, namely 1063, 1066, 1067, 1076, and 1090. Isoenzymes extracts of the rice leaves were fractionated

---

\* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN

using polyacrylamide gel disc electrophoresis. The zymogram of acid phosphatase isoenzyme shows the specific character of rice mutants susceptible to brown plant hopper biotype 1. The gene(s) controlling malic enzyme in Cisdane's mutants is (are) estimated more resistant toward gamma irradiation than gene(s) responsible to control the other enzymes. Generally, the isoenzymes zymograms show that gene(s) controlling the mutants enzymes have undergone mutation. This case is shown by the changes of Rm value, as well as the amount and intensity of mutants bands.

## PENDAHULUAN

Penelitian di bidang pertanian khususnya bidang pemuliaan tanaman telah dilakukan secara intensif melalui mutasi buatan dengan iradiasi gamma. Keunggulan mutasi iradiasi ialah dalam waktu singkat dapat diperoleh bahan pilihan (seleksi) yang cukup banyak (1). Keragaman genetik dari mutasi iradiasi ini merupakan dasar untuk pengembangan pemuliaan tanaman selanjutnya.

Hasil percobaan melalui mutasi iradiasi dievaluasi untuk mendapatkan ciri-ciri khas setiap mutan dibandingkan dengan varietas asalnya. Salah satu cara untuk mengidentifikasi perubahan gen pada peristiwa mutasi tanaman ialah dengan mempelajari isoenzim sebagai ciri genetik. Ciri ini mempunyai ketepatan tinggi karena enzim merupakan produk langsung gen yang bebas dari pengaruh lingkungan (2). Zimogram suatu isoenzim diperoleh melalui fraksinasi isoenzim secara elektroforesis. Teknik elektroforesis ini telah banyak digunakan untuk penyidikan genetik pada protein

atau isoenzim tanaman, seperti esterase (3), peroksidase (4) dan beberapa isoenzim padi yang lain (5).

Tanaman padi mengandung berbagai isoenzim diantaranya yang telah diteliti di PAIR-BATAN, ialah esterase dan peroksidase (6). Berdasarkan penampilan zimogram isoenzim tersebut telah diperoleh informasi genetik, yaitu adanya perbedaan genetik antara beberapa mutan yang secara morfologis tidak berbeda dengan varietas asalnya. Namun hasil penelitian ini belum dapat menunjukkan adanya suatu perbedaan yang merupakan ciri khusus tanaman tersebut. Oleh karena itu penelitian selanjutnya ditujukan pada isoenzim lain dari tanaman padi, yaitu alkohol dehidrogenase, enzim malat, 'acid phosphatase', dan aminopeptidase.

Bahan yang dipilih untuk diteliti ialah beberapa mutan padi yang merupakan galur harapan. Beberapa mutan yang berasal dari varietas Pelita I/1, yaitu Atomita 1 dan A227/5, serta padi varietas Mudgo, TN-1, dan IR -26 ingin diketahui apakah sifatnya yang tidak atau tahan terhadap wereng coklat dapat dideteksi melalui pola zimogram isoenzimnya. Beberapa mutan lain yaitu 1063, 1066 (Atomita 3), 1067, 1076, dan 1090 yang merupakan hasil iradiasi gamma terhadap galur mutan 627-10-3, serta varietas Cisdane dan beberapa mutannya yaitu OBS 18, OBS 208 (Atomita 4), OBS 297, OBS 306, dan OBS 330 diteliti untuk mengetahui apakah telah terjadi mutasi gen akibat iradiasi gamma.

## BAHAN DAN METODE

*Bahan Percobaan.* Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun padi varietas Pelita I/1, galur mutan 627-10-3, dan varietas Cisadane yang telah berumur 3 minggu. Mutan-mutan dari varietas Pelita I/1 ialah Atomita 1 dan A227/5. Mutan OBS 18, OBS 208 (Atomita 4), OBS 297, OBS 306, dan OBS 330 berasal dari varietas Cisadane. Mutan-mutan 1063, 1066 (Atomita 3), 1067, 1076, dan 1090 berasal dari galur mutan 627-10-3. Mutan-mutan tersebut merupakan hasil Kelompok Pemuliaan Tanaman PAIR-BATAN melalui perlakuan iradiasi gamma terhadap varietas asalnya.

*Bahan Kimia.* Bahan kimia yang digunakan antara lain akrilamid; N,N'-metilenbisakrilamid; N,N,N',N'-tetrametilen diamin (TEMED); dan brom fenol biru yang berkualitas 'elektran' (untuk elektroforesis); garam 'Fast Garnet GBC'; garam 'Fast black K'; serta 'Nitro blue tetrazolium' (NBT); -nikotinamid adenin dinukleotida (NAD); dan DL-asam malat diperoleh dari BDH Chemical, Ltd. Dari Sigma Chemical digunakan antara lain -nikotinamid adenin dinukleotida fosfat (NADP), phenazin methosulfat (PMS), 3-amino-9-etilkarbazol, asam -naftil fosfat, L-leusin-naftilamid hidroklorida, L-arginin-naftilamid hidroklorida, dan DL-alanin-naftilamid hidroklorida.

*Pembuatan Ekstrak Enzim.* Daun padi yang berumur 3 minggu dipilih untuk elektroforesis. Pembuatan homogenat dilakukan dengan menggerus daun padi yang dicampur larutan

bufer fosfat dingin 0,1 M pH 7,0 dengan perbandingan 1:1 (b/v) dalam wadah yang dingin. Setelah disaring, homogenat disentrifus pada kecepatan 3000 putaran per menit selama 1 jam. Supernatan yang diperoleh diambil untuk elektroforesis sebanyak 100 ul/gel.

*Elektroforesis.* Elektroforesis disk gel poliakrilamid dilakukan menurut metode DAVIS (7), dengan konsentrasi gel 7,5 % dan larutan bufer tris-glisin pH 8,3 sebagai bufer elektroda. Elektroforesis berlangsung pada suhu 5-10°C selama kurang lebih 60 menit dengan kuat arus sebesar 4 mA/gel. Setelah elektroforesis selesai, gel siap untuk diwarnai dengan larutan pewarna sesuai dengan isoenzim yang akan ditampilkan. Prosedur pewarnaan isoenzim dikerjakan sesuai dengan prosedur yang digunakan oleh GLASZMANN (5).

*Pewarnaan Alkohol Dehidrogenase (ADH).* Larutan pewarna terdiri dari 0,25 ml etanol absolut, 5 ml bufer tris-HCl 0,5 M pH 8,5 dan 10 mg NAD, kemudian diencerkan dengan air suling dalam labu ukur 50 ml. Jika pewarna akan digunakan, maka ke dalam campuran tersebut ditambahkan 10 mg NBT dan 1 mg PMS. Pewarnaan gel dilakukan dalam wadah yang tertutup rapat dengan aluminium foil (kedap cahaya) selama 20 menit pada suhu 40°C.

*Pewarnaan enzim Malat (MAL).* Larutan pewarna terdiri dari 250 mg asam DL-malat, 20 ml bufer tris-HCl 0,5 M pH 8,5, 1 ml larutan MgCl<sub>2</sub> 0,1 M dan 12,5 mg NADP, kemudian diencerkan dengan air suling dalam labu ukur 50 ml. Jika

pewarna akan digunakan, ke dalam campuran tersebut ditambahkan 10 mg NBT dan 1 mg PMS. Pewarnaan gel dilakukan dalam wadah yang ditutup rapat dengan aluminium foil (kedap cahaya) selama 2 jam pada suhu 40°C.

*Pewarnaan Peroksida (PER)*. Larutan pewarna peroksida-se dibuat dengan cara melarutkan 20 mg 3-amino-9-etilkarbazol dalam 2,5 ml N,N-dimetil formamid, lalu ditambahkan 5 ml bufer asetat 1 M pH 4,65 dan 1 ml larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 M. Campuran ini diencerkan dengan air suling sampai volume 50 ml. Pada saat akan dipakai, ke dalamnya ditambahkan 1 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,7 %. Pewarnaan dilakukan pada suhu ruang dan suasana gelap selama 40 menit. Pereaksi warna yang digunakan harus segar.

*Pewarnaan 'Acid Phosphatase' (ACP)*. Larutan pewarna terdiri dari 50 mg asam -naftil fosfat, 10 ml bufer asetat 1 M pH 4,65, 1 ml larutan MgCl<sub>2</sub> 0,1 M, dan 25 mg garam 'Fast garnet GBC', kemudian diencerkan dengan air suling dalam labu ukur 50 ml. Pewarnaan gel dilakukan pada suhu 40°C selama 1 jam.

*Pewarnaan Aminopeptidase (AMP)*. Larutan terdiri dari 25 mg L-arginin- -nikotinamid sebagai substrat (substrat dilarutkan terlebih dahulu dalam 5 ml N,N-dimetil formamid), 15 mg garam 'Fast black K', 25 ml bufer tris-maleat 0,2 M pH 3,3, dan 20 ml larutan NaOH 0,1 M. Pewarnaan gel dilakukan selama 30 menit pada suhu 40°C. Pewarnaan AMP ini dapat pula menggunakan substrat L-leusin- -naftilamid

sebanyak 25 mg dan lamanya pewarnaan sekitar 45 menit. Jika menggunakan substrat DL-alanin- -naftilamid sebanyak 50 mg, pewarnaan dilakukan selama 60 menit.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola pita hasil fraksinasi beberapa isoenzim dari daun mutan dan varietas padi secara elektroforesis dalam tabung-tabung gel ditampilkan sebagai zimogram. Setiap pita mempunyai harga Rm tertentu. Rm merupakan hasil perbandingan antara jarak migrasi pita isoenzim terhadap jarak migrasi pita perunut.

Pola pita isoenzim yang diteliti adalah isoenzim alkohol dehidrogenase (ADH), enzim malat (MAL), peroksidase (PER), 'acid phosphatase' (ACP), serta aminopeptidase (AMP) dengan memvariasikan substratnya (leusin, arginin, dan alanin). Zimogram ditampilkan secara terpisah untuk setiap isoenzim, dan dilakukan terhadap tiga kelompok tanaman padi. Kelompok pertama terdiri dari padi varietas Pelita I/1 dengan dua mutannya, yaitu Atomita 1 dan A227/5 yang tahan terhadap wereng coklat biotip 1, varietas Mudgo, TN-1, dan IR-26. Kelompok kedua ialah padi varietas Cisadane beserta lima mutannya, yaitu OBS 18, OBS 208, OBS 297, OBS 306, dan OBS 330. Galur mutan OBS 18 dan OBS 208 umurnya lebih genjah dari pada Cisadane, sedang galur mutan yang lain umur dan morfologinya sama dengan Cisadane. Kelompok ketiga terdiri dari padi galur mutan 627-10-3



beserta lima mutannya, yaitu 1063, 1066, 1067, 1076, dan 1090 yang diperoleh melalui iradiasi gamma. Kelima mutan ini mempunyai morfologi seperti galur mutan 627-10-3, umurnya lebih genjah, dan lebih tahan terhadap wereng coklat biotip 2 dibandingkan dengan galur mutan asalnya.

Dari hasil penelitian terdahulu diperoleh informasi bahwa telah terjadi mutasi pada gen pengontrol isoenzim esterase dan peroksidase dari daun padi kelompok kedua dan ketiga (6). Penelitian tersebut dilanjutkan dengan sasaran pengamatan terhadap beberapa isoenzim lain. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah terjadi mutasi pada gen pengontrol enzim tersebut.

*Alkohol Dehidrogenase (ADH)*. Pita-pita isoenzim ADH berwarna ungu buram (kurang jelas). Zimogram isoenzim ADH daun padi kelompok pertama, kedua, dan ketiga ditunjukkan pada Gambar 1. Pita dengan harga Rm antara 0 dan 0,06 secara umum muncul pada semua kelompok padi yang diteliti. Perubahan mulai terlihat pada pita-pita dengan Rm antara 0,2 dan 0,8. Perubahan ini dapat dilihat dari perbedaan harga Rm masing-masing pita, tebal pita, dan jumlah pita.

Pada kelompok pertama terdapat pita dengan Rm antara 0,2 dan 0,27, namun pada kelompok kedua dan ketiga pita tersebut tidak muncul. Pada kelompok pertama, setiap varietas (Pelita I/1, Mudgo, TN-1, dan IR-26) menunjukkan pola pita yang berbeda satu dengan yang lain. Demikian pula pola pita kedua mutan asal Pelita I/1, yaitu Atomita

1 dan A227/5 menunjukkan adanya perubahan. Diduga hal ini disebabkan oleh adanya mutasi gen pengontrol ADH pada kedua mutan.

Pada kelompok kedua, lima mutan asal varietas Cisdane (OBS 18, OBS 208, OBS 297, OBS 306, dan OBS 330) juga telah mengalami mutasi yang terlihat pada perubahan pola pita-pitanya. Perubahan ini terlihat pada pita-pita dengan Rm antara 0,3 dan 0,74.

Pola pita pada mutan 1063 dan 1066 dari kelompok ketiga menunjukkan perubahan pada pergeseran letak beberapa pita, namun pola dan jumlah pita tidak berubah. Harga Rm pita ke-3 dan 5 dari mutan 1063, serta pita ke-3, 4, 5, dan 6 dari mutan 1066 berbeda nyata bila dibandingkan dengan galur mutan asalnya (627-10-3). Pada mutan 1067 dan 1090 terdapat 5 pita, sedangkan mutan 1076 hanya memiliki 4 pita. Antara pola pita mutan 1067, 1076, dan 1090 terdapat perbedaan yang nyata, demikian juga terhadap galur mutan asalnya. Pada kelompok ketiga ini, perbedaan pola pita menunjukkan bahwa lima mutan asal 627-10-3 diduga telah mengalami mutasi pada gen pengontrol enzim alkohol dehidrogenase.

*Enzim Malat (MAL)*. Pola isoenzim malat berwarna merah dan ungu tua. Zimogram isoenzim MAL daun padi kelompok pertama, kedua, dan ketiga ditunjukkan pada Gambar 2. Pola pita dari varietas Pelita I/1, Mudgo, TN-1, dan IR-26 pada kelompok pertama menunjukkan adanya perbedaan satu dengan

yang lain. Pada varietas Pelita I/1 terdapat 10 pita, Mudgo 9 pita, TN-1 11 pita, dan pada IR-26 11 pita. Varietas Pelita I/1 dan kedua mutannya mempunyai pita yang identik, namun terdapat perbedaan pada pita-pita dengan harga Rm antara 0,18 dan 0,55. Pita ke-10 pada zimogram varietas Pelita I/1 lebih tebal dari pada kedua mutannya. Pada mutan A227/5 muncul pita dengan Rm = 0,7 yang tidak dimiliki oleh Pelita I/1 dan Atomita 1. Tiga varietas lain, yaitu Mudgo, TN-1, dan IR-26 mempunyai pola pita yang identik satu dengan yang lain, namun berbeda sangat nyata dengan pola pita varietas Pelita I/1. Perbedaan tersebut meliputi jumlah pita, letak pita, dan eksistensi pita pada harga Rm sekitar 0,18-0,58. Berdasarkan perubahan pola pita ini, maka dapat diasumsikan bahwa kedua mutan telah mengalami mutasi pada gen pengontrol enzim malat.

Pada kelompok III, kelima mutan telah mengalami mutasi gen yang sama, sedangkan mutan-mutan dalam kelompok II tidak mengalami perubahan.

*Peroksidase (PER)*. Pita-pita isoenzim peroksidase berwarna coklat kemerahan dan terpisah dengan jelas. Pengamatan pola pita isoenzim ini hanya dilakukan terhadap padi kelompok pertama, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Pengamatan pada padi kelompok kedua dan ketiga telah dilakukan pada penelitian terdahulu (6). Pada kelompok pertama ini, pita dengan Rm antara 0,04 dan 0,10 menunjukkan pola yang identik. Perbedaan mulai terlihat pada Rm

antara 0,10 dan 0,50, baik letak pita, tebal pita, maupun jumlah pita. Selanjutnya kelompok pita dengan Rm antara 0,50 dan 0,86 mempunyai pola pita dan jumlah pita yang sama, namun letak pita dan tebal pita mengalami perubahan. Padi varietas Mudgo mempunyai pita ke-7 yang tipis, sedang padi lainnya tidak memiliki pita tersebut. Mutasi gen pengontrol enzim peroksidase telah terjadi pada kedua mutan padi varietas Pelita I/1. Pola pita isoenzim peroksidase dari 4 varietas padi lainnya juga menunjukkan perbedaan.

'Acid Phosphatase' (ACP). Pita isoenzim 'acid phosphatase' berwarna coklat dan jelas. Zimogram isoenzim ACP daun padi kelompok pertama, kedua, dan ketiga dapat dilihat pada Gambar 4. Pola pita berbagai varietas padi pada kelompok pertama menunjukkan adanya perbedaan satu dengan yang lain, demikian juga kedua mutan Atomita 1 dan A227/5 terhadap varietas asalnya Pelita I/1. Perbedaan tersebut ditunjukkan oleh perubahan jarak pita, tebal pita, dan jumlah pita. Ada satu pita yang menonjol tebalnya, yaitu pita ke-4 dengan Rm = 0,21 pada padi varietas Pelita I/1 dan TN-1. Pita ini jauh lebih tebal dibandingkan dengan pada varietas lain maupun kedua mutan asal Pelita I/1. Ciri ini diperkirakan dapat digunakan untuk membedakan padi yang tahan atau peka terhadap wereng coklat. Pita ke-4 ini ternyata dimiliki oleh padi yang peka terhadap wereng coklat, yaitu varietas Pelita I/1 dan TN-1.

Kelompok kedua menunjukkan perubahan pola pita pada lima mutan padi varietas Cisadane, yaitu pita dengan Rm antara 0,10 dan 0,50. Selain perubahan tebal dan jarak migrasi pita, juga terdapat pita baru yang disertai dengan hilangnya pita yang lain. Gejala ini memperkuat dugaan bahwa kelima mutan Cisadane telah mengalami mutasi pada gen pengontrol enzim ACP. Demikian pula kelima mutan dari galur mutan 627-10-3 pada kelompok III telah terjadi mutasi pada gen yang sama.

*Amino peptidase (AMP)*. Pita isoenzim amino peptidase berwarna ungu dan jelas. Isoenzim AMP merupakan suatu kompleks, dengan bentuk yang bervariasi dan dapat bereaksi dengan berbagai substrat (5). Dalam penelitian ini digunakan tiga macam substrat, masing-masing substrat menghasilkan pola pita yang berbeda. Penggunaan substrat L-leusin-naftilamid hidroklorida menghasilkan zimogram pada Gambar 5.

Kelompok pertama menunjukkan adanya satu pita baru pada kedua mutan padi varietas Pelita I/1 dengan Rm antara 0,15 dan 0,20. Dua pita yang lain terletak pada Rm antara 0,40 dan 0,60. Varietas padi lainnya, seperti Mudgo dan Ir-26 hanya mempunyai 2 pita, sedangkan TN-1 mempunyai 3 pita. Antara Pelita I/1 mempunyai pita-pita yang sama persis dengan Mudgo. Keempat varietas menunjukkan pola pita yang identik, kecuali TN-1 yang mempunyai tambahan satu pita dengan Rm = 0,24.

Pada kelompok kedua, kelima mutan asal Cisadane mempunyai pola pita yang identik dan hanya terdiri dari 2 pita pada masing-masing mutan. Perubahan dapat dilihat dari pergeseran harga Rm dan tebal masing-masing pita, dengan harga Rm antara 0,40 dan 0,60.

Pola pita empat mutan asal Cisadane pada kelompok ketiga menunjukkan perubahan jumlah pita, tebal pita, dan letak pita, kecuali mutan 1063 yang mempunyai pola yang sama dengan varietas asalnya. Mutan 1066, 1067, dan 1090 mempunyai 3 pita, dan mutan 1076 mempunyai 2 pita.

Hasil pewarnaan isoenzim AMP menggunakan substrat L-arginin-naftilamid hidroklorida ditunjukkan oleh zimogram pada Gambar 6. Pada kelompok pertama, varietas Pelita I/1 mempunyai 3 pita, sedangkan kedua mutannya, yaitu Atomita 1 dan A227/5 hanya memiliki 2 pita, dan salah satu pitanya mengalami perubahan harga Rm. Ketiga varietas yang lain (Mudgo, TN-1, dan IR-26) hanya memiliki 2 pita dengan harga Rm antara 0,40 dan 0,54.

Pola pita keempat mutan asal Cisadane pada kelompok kedua telah mengalami perubahan, kecuali mutan OBS 208, yang mempunyai pola yang sama dengan varietas asalnya. Mutan OBS 18 mempunyai 4 pita, OBS 297 dan OBS 330 masing-masing mempunyai 2 pita, dan OBS 306 memiliki 3 pita.

Pada pola pita kelompok ketiga, kelima mutan asal galur mutan 627-10-3 menunjukkan perbedaan yang nyata dengan galur asalnya. Perbedaan tersebut terlihat dari pergeseran

pita dengan harga Rm antara 0,40 dan 0,55, serta munculnya pita-pita baru pada mutan dengan harga Rm antara 0,09 dan 0,33.

Hasil pewarnaan isoenzim AMP menggunakan substrat DL-alanin-naftilamid hidroklorida ditunjukkan oleh zimogram pada Gambar 7. Pewarnaan tidak dilakukan terhadap padi kelompok kedua, disebabkan zat pewarna habis. Pola pita kelompok pewarna menunjukkan bahwa keempat varietas padi (Pelita I/1, Mudgo, TN-1, dan IR-26) mempunyai pola yang identik, masing-masing mempunyai 2 pita, namun harga Rm berbeda. Kedua mutan asal Pelita I/1, yaitu Atomita 1 dan A227/5 juga mengalami perubahan. Atomita 1 memiliki 3 pita, sedangkan A227/5 hanya 2 pita.

Kelompok ketiga yang terdiri dari 5 mutan asal galur mutan 627-10-3 menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap galur asalnya. Mutan 1063 mempunyai pola pita yang identik dengan galur mutan asalnya, namun harga Rm pita-pitanya berbeda. Mutan 1066, 1076, dan 1090 terdiri dari 3 pita, sedangkan mutan 1067 mempunyai 4 pita.

Dari ketiga zimogram AMP yang diperoleh, dapat dilihat bahwa antara berbagai varietas tanaman padi terdapat perbedaan pola pita. Demikian juga pola pita mutan-mutan secara umum menunjukkan perbedaan yang nyata dengan pola pita asalnya. Berdasarkan fakta ini maka diduga bahwa gen pengontrol enzim AMP telah mengalami mutasi.

Dari seluruh zimogram isoenzim yang telah dijelaskan terlihat bahwa secara umum dua mutan asal Pelita I/1, lima mutan asal Cisadane, dan lima mutan asal galur mutan 627-10-3 telah mengalami mutasi dari masing-masing induknya. Hal ini didasarkan atas pengamatan terhadap perubahan harga Rm pita, jumlah pita, dan tebal pita. Adanya pita dengan harga Rm yang sama menunjukkan bahwa enzim tersebut mempunyai struktur molekul, muatan listrik, ukuran molekul, serta berat molekul yang sama (2). Mutan-mutan dari induk sama yang mempunyai harga Rm dan warna yang sama, namun berbeda dengan induknya, diduga mengalami mutasi gen yang sama. Perbedaan jumlah pita kemungkinan disebabkan karena gen yang menyandinya berbeda.

Hasil penelitian ini belum dapat digunakan untuk menentukan pita-pita yang merupakan satu lokus atau berbeda lokus. Demikian pula pita-pita yang berdekatan belum diketahui apakah disandikan oleh satu gen atau oleh kombinasi beberapa gen. Hal ini hanya dapat diketahui melalui pengujian terhadap hasil hibridasi antara dua tanaman dengan zimogram yang berbeda (2). Demikian juga apakah sifat genjah dan ketahanan mutan asal Cisadane dan 627-10-3 terhadap wereng coklat biotip 2 berkaitan dengan pola pita pada zimogram, belum diperoleh ciri yang khusus.

#### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :



1. Secara umum zimogram isoenzim alkohol dehidrogenase, enzim malat, peroksidase, 'acid phosphatase', dan aminopeptidase pada beberapa mutan padi menunjukkan terjadinya mutasi pada gen pengontrol enzim tersebut akibat iradiasi gamma.
2. Zimogram isoenzim antar-mutan yang berasal dari varietas yang sama tidak jauh berbeda, namun antar-varietas dan antar-mutan yang berbeda varietas asalnya menunjukkan perbedaan yang nyata.
3. Gen pengontrol enzim malat pada galur mutan asal varietas Cisadane diduga lebih tahan terhadap iradiasi gamma dari pada gen pengontrol enzim lainnya.
4. Isoenzim 'acid phosphatase' diperkirakan dapat menunjukkan ciri yang khas antara padi yang peka dan tahan terhadap wereng coklat biotip 1.

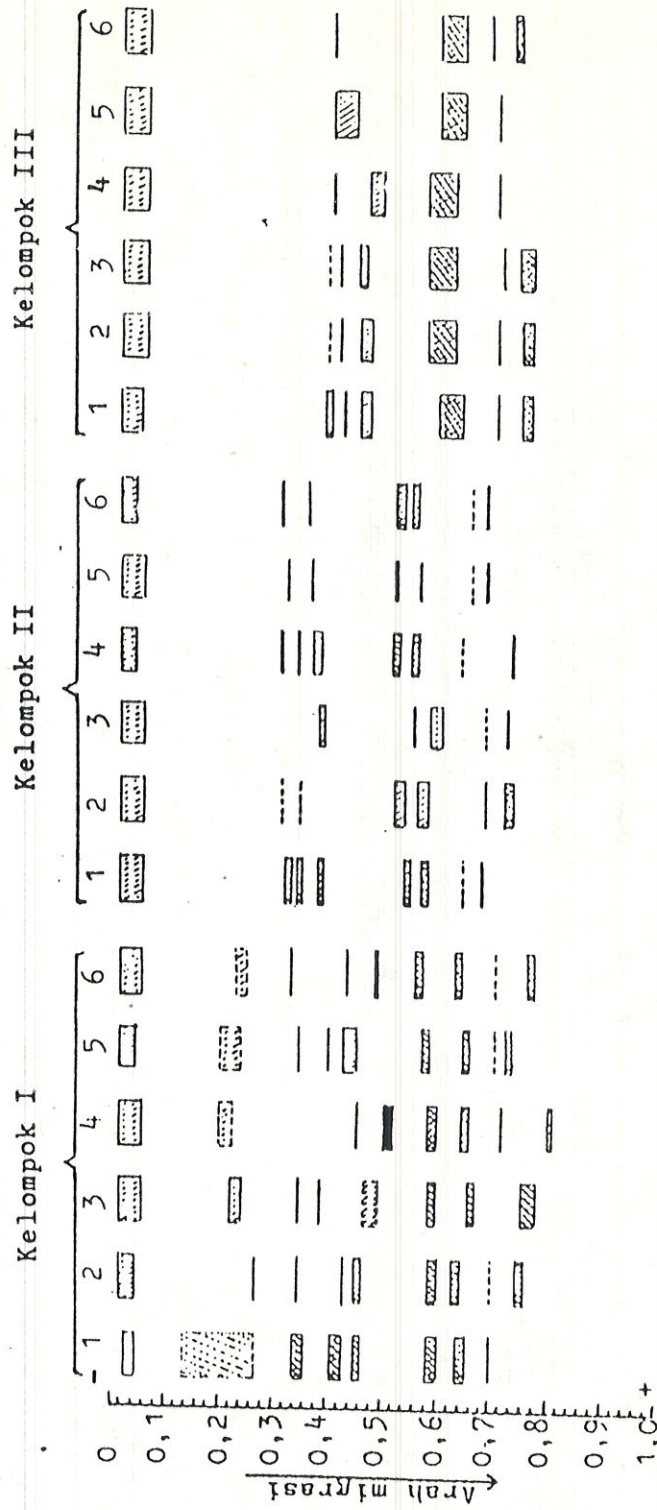
#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Saudari Yulidar, Saudara Firdaus dan Danny yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

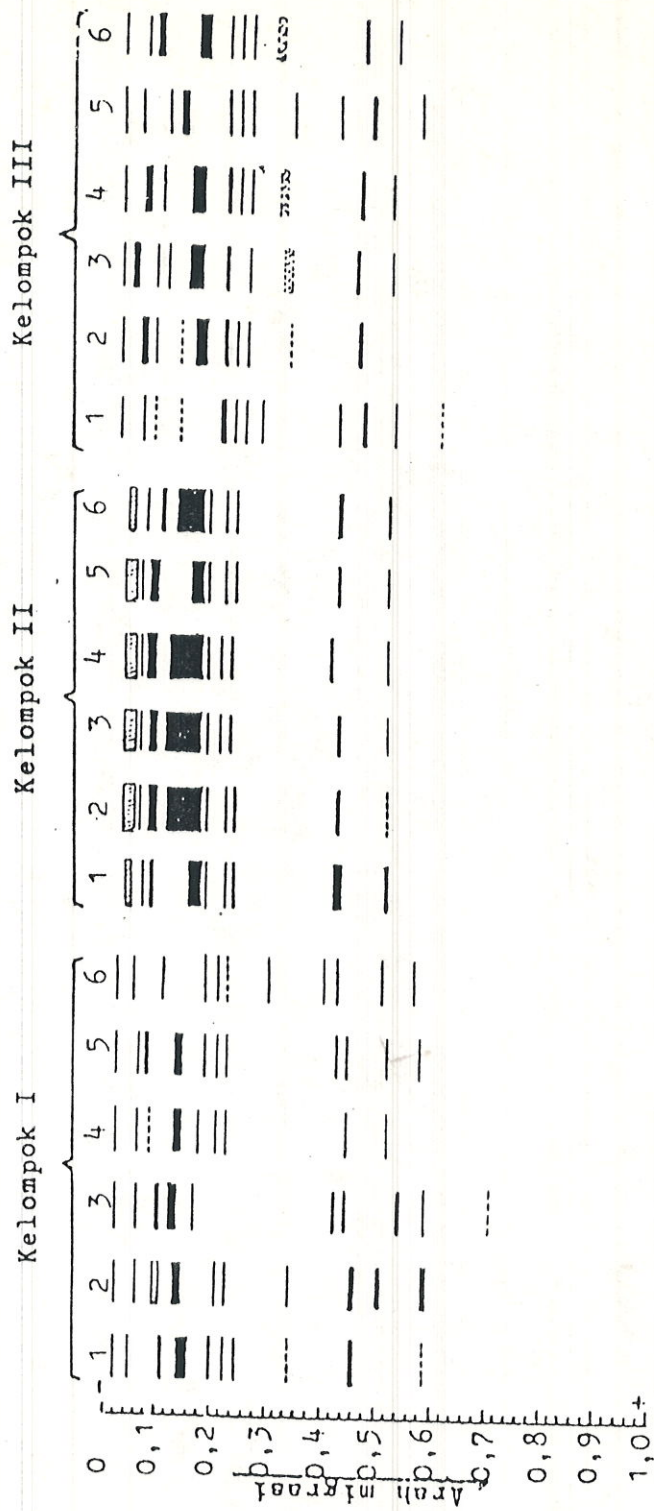
#### DAFTAR PUSTAKA

1. SOEMINTO, B., Manfaat Tenaga Atom untuk Kesejahteraan Manusia, CV. Karya Indah, Jakarta (1985) 111.
2. WYDIASTUTI, U., Analisis Isoenzim Esterase untuk Mengidentifikasi 10 Mutan Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merr.), Karya Ilmiah Sarjana Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB, Bogor (1987) 1

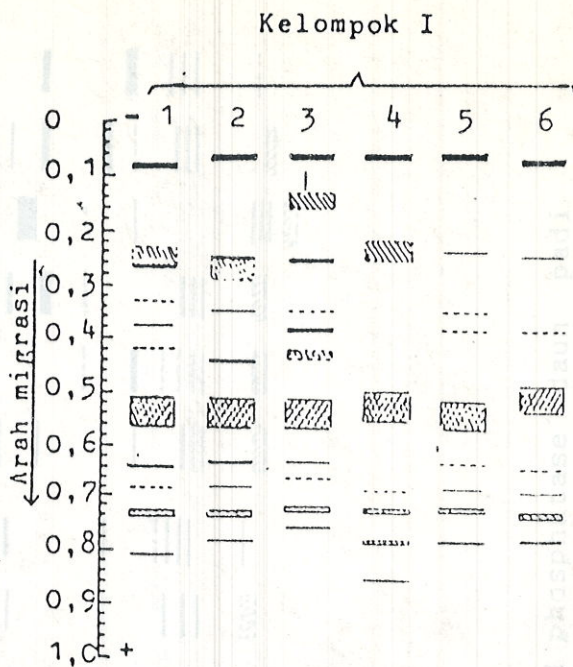
3. UPADHYA, A., GOVARDHAN, L.K., and VEERABHADRAPPA, P.S., Esterase as genetic markers in finger millet, *J. Sci. Food Agric.* 36 (1985) 319.
4. PALANICHAMY, K., and SIDDIQ, E.A., Study of interrelationship among A-genome species of the genus *Oryza* through isoenzyme variation, *Theor. Appl. Genet.* 50 (1977) 201.
5. GLASZMANN, J.C., de los REYES, B.G., and KHUSH, G.S., Electrophoretic variation of isoenzymes in plumules of rice (*Oryza sativa* L.) - A key to the identification of 76 alleles at 24 loci, IRRI Research Paper Series 134 (1988) 7.
6. HARANTUNG, E.K., SOFYAN, R., dan ISMACHIN, M., "Studi elektroforesis isoenzim dari daun mutan padi varietas Cisadane dan galur mutan 627-10-3", (Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam Bidang Pertanian, Peternakan, dan Biologi, Jakarta 1990), BATAN, Jakarta (1991) 339.
7. CLARK, J.M. JR., and SWITZER, R.L., *Experimental Biochemistry*, Freeman W.H. and Co., San Fransisco (1977) 43.



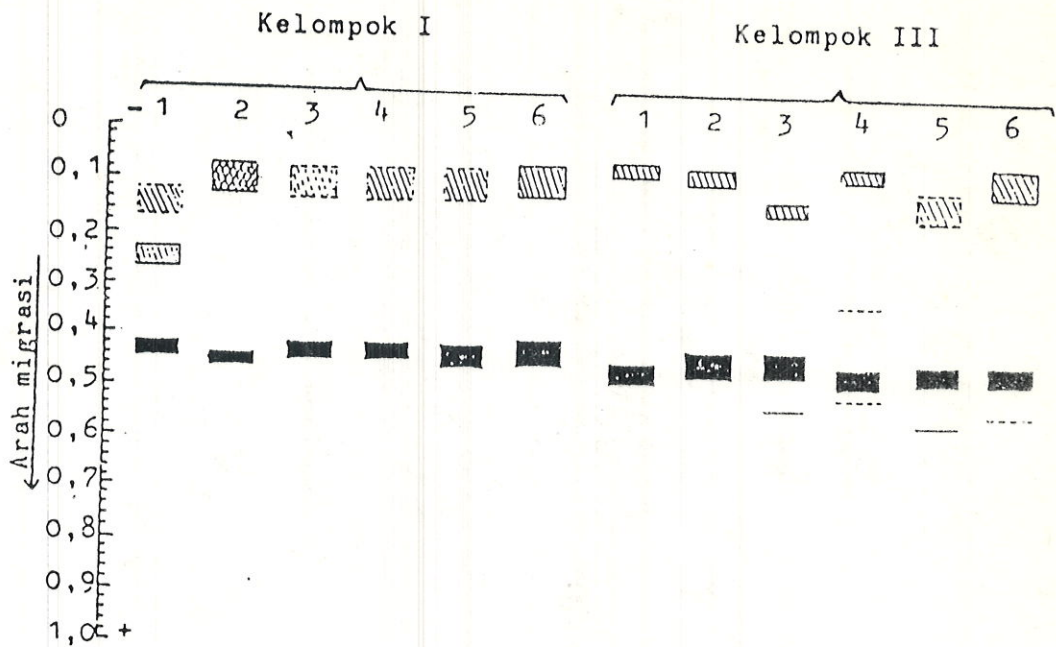
Gambar 1. Zimogram isoenzim alkohol dehidrogenase daun padi Kelompok I (1. Atomita 1, 2. Pelita I/1, 3. A227/5, 4. Mudgo, 5. TN-1, dan 6. IR-26); Kelompok II (1. Cisdane, 2. OBS 18. 3. OBS 208, OBS 297, OBS 306, dan OBS 330), serta Kelompok III (1. 627-10-3, 2. 1063, 3. 1066, 4. 1067, 5. 1076, 6. 1090).



Gambar 2. Zimogram isoenzim malat daun padi Kelompok I (1. Atomita 1, 2. Pelita I/1, 3. A227/5, 4. Mudgo, 5. TN-1, dan 6. IR-26), Kelompok II (1. Cisadane, 2. OBS 18, 3. OBS 208, 4. OBS 306, 5. OBS 306, dan 6. OBS 330), serta Kelompok III (1. 627-10-3, 2. 1063, 3. 1066, 4. 1067, 5. 1076, dan 6. 1090).



Gambar 3. Zimogram isoenzim peroksidase daun padi Kelompok I (1. Atomita 1, 2. Pelita I/1, 3. A227/5, 4. Mudgo, 5. TN-1, dan 6. IR-26).



Gambar 7. Zimogram isoenzim aminopeptidase (substrat alapin) daun padi Kelompok I (1. Atomita 1, 2. Pelita I/1, 3. A227/5, 4. Mudgo, 5. TN-1, dan 6. IR-26), dan Kelompok III (1. 627-10-3, 2. 1063, 3. 1066, 4. 1067, 5. 1076, dan 6. 1090).