

## PENAMPILAN GALUR MUTAN PADI RENDAH ASAM FITAT PADA GENERASI M.4 DARI IRADIASI VARIETAS DIAH SUCI

Arwin, Azri Kusuma Dewi, Yulidar dan Winda Puspitasari  
Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN

### ABSTRAK

**PENAMPILAN GALUR MUTAN PADI SAWAH RENDAH KANDUNGAN ASAM FITAT PADA GENERASI M.4 DARI IRADIASI VARIETAS DIAH SUCI.** Telah dilakukan penelitian padi untuk mendapatkan rendah kandungan asam fitat yang berasal irradiasi varietas Diah Suci. Asam fitat merupakan unsur anti nutrisi yang kalau terdapat dalam jumlah tinggi pada makanan yang dikonsumsi, akan menyebabkan sulitnya penyerapan unsur-unsur esensial oleh tubuh. Materi yang digunakan yaitu varietas Diah Suci yang diradiasi dengan sinar gamma menggunakan  $^{60}\text{Co}$  dengan dosis 0,2 KGy. Seleksi kandungan asam fitat dilakukan dilaboratorium pada tanaman M.2 (biji M.3) dengan menggunakan metoda Chen's dan Torribara. Pada generasi M.4 dilakukan pemurnian dan pendiskripsian sifat agronomi galur mutan yang diperoleh, agar didapatkan keseragaman baik dari segi kandungan asam fitat maupun dari segi sifat fenotip dilapangan. Sifat fenotip dilapangan yang diamati meliputi tinggi tanaman, jumlah anakan, panjang malai. Hasil pengamatan secara fenotip di lapangan menunjukkan tanaman sebagian besar sudah homogen dan sebagian lainnya masih bersegregasi. Hasil analisa kandungan asam fitat di laboratorium didapatkan sudah homogen pada standar 4.

### ABSTRACT

**PERFORMANCE OF RICE LOW PHYTIC ACID MUTANT LINES IN M4 GENERATION FROM IRRADIATION OF DIAH SUCI VARIETY.** The research on low phytic acid content in rice had been done from irradiated Diah Suci Variety. Phytic acid as anti nutrition, if high content in food is consumed, will difficult for adsorption minerals essential by body. The material used Diah Suci variety irradiated 0.2 Kgy gamma rays. Selection for phytic acid content was done in laboratory on M.2 plants (M.3 seeds) with Chen's and Torribara reagent. In M.4 generation was done purified and description agronomy character for mutant lines., for homogenous low phytic acid content or phenotypes character in the field. Phenotypes character in the field ie: plant high, branch total and long of panicle. Phenotypes character in the field, plant is homogenous and the others is segregation. Phytic acid content was analyzed in the laboratory, homogenous in standard 4<sup>th</sup>.

### PENDAHULUAN

Peningkatan produksi pangan khususnya beras, yang merupakan makanan pokok sebagian besar masyarakat Indonesia, terus dilakukan. Peningkatan produksi dapat dilakukan dengan cara perluasan areal tanam, perbaikan teknik bercocok tanam, penggunaan varietas unggul dan lain-lain. Berbagai macam varietas unggul padi hasil pemuliaan yang sudah dikeluarkan oleh pemerintah untuk memenuhi kebutuhan makanan pokok masyarakat Indonesia.

Selain peningkatan produksi beras dari segi kuantitas, juga perlu diperhatikan segi kualitas. Kualitas antara lain bentuk beras yang bagus dan disukai masyarakat, rasa nasi enak, aroma yang memikat serta cukup kandungan unsur mineral yang dibutuhkan tubuh. Salah satu faktor kecukupan unsur mineral yang dibutuhkan tubuh yaitu rendahnya kandungan asam fitat dalam makanan yang dimakan.

Asam fitat merupakan senyawa anti nutrisi bagi tubuh yang kalau kandungannya tinggi, asam fitat akan menghambat penyerapan unsur-unsur esensial oleh tubuh baik unsur makro maupun mikro. Meskipun unsur-unsur esensial tersebut cukup tersedia dalam makanan yang dikonsumsi, tapi karena sulit diserap akhirnya dibuang keluar tubuh melalui feses dan urine (1).

Berdasarkan berbagai penelitian yang dilakukan, telah ditemukan teknik untuk menurunkan kandungan asam fitat dalam produk pertanian yaitu melalui pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi. Menurut Raboy *et al* (1) kandungan asam fitat pada sereal dapat diturunkan antara 45 – 70 %. Dari hasil pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi tersebut telah ditemukan padi, kedele, barley yang rendah kandungan asam fitat (2).

Asam fitat merupakan senyawa yang bersifat anti nutrisi, yang jika terdapat dalam biji padi akan menurunkan penyerapan unsur-unsur

essensial oleh tubuh baik unsur makro maupun unsur mikro. Semakin tinggi kandungan asam fitat dalam biji padi, akan semakin banyak unsur-unsur esensial yang tidak dapat diserap oleh tubuh. Menurut Raboy *et al*, (3), kandungan asam fitat dalam biji tanaman dapat diturunkan melalui pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi. Penurunan kandungan asam fitat pada berbagai jenis tanaman telah berhasil dilakukan, contohnya pada tanaman padi, kedelai, jagung dan barley (3).

Kandungan asam fitat di dalam biji padi berbanding terbalik dengan kandungan P anorganik. Semakin tinggi kandungan asam fitat akan semakin rendah kandungan P anorganik, demikian pula semakin rendah asam fitat akan semakin tinggi kandungan P anorganik. Secara total P jumlahnya tidak berubah.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

1. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N, dibuat dengan cara melarutkan 16,3 ml p.a dengan aquades hingga menjadi 100 ml.
2. Amonium Molibdat 2,5 %, dibuat dengan cara melarutkan 2,5 gram dengan aquades hingga menjadi 100 ml.
3. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mM, dibuat dengan cara melarutkan 0,0136 gram dengan aquades hingga menjadi 100 ml.
4. HCl 0,4 M, dibuat dengan cara melarutkan 3,4 ml p.a dengan aquades hingga menjadi 100 ml)
5. Ascorbit Acid 10 %, dibuat dengan cara melarutkan 10 gram dengan aquades hingga menjadi 100 ml)

### Alat

Mikropipet 10 µl – 300 µl, gelas ukur, palu, pinset, timbangan analitik, magnetik stirer, tabung dan Erlenmeyer serta tempat bahan kimia.

### Metode

Padi varietas Diah Suci sebanyak 500 butir, diradiasi dengan dosis 0,2 KGy, lalu ditanam di lapangan. Tanaman M.1 dipanen dan ditanam kembali seluruhnya menjadi tanaman M.2. Tanaman dipanen, tiap rumpun diambil tiga malai, dan dimasukkan ke dalam kantong tanaman, lalu dikeringkan dengan cara dijemur dibawah panas matahari sampai kadar airnya mencapai ± 14 %. Kemudian biji dianalisa kandungan asam fitatnya di laboratorium. Malai yang terdeteksi rendah kandungan asam fitatnya, ditanam kembali di lapangan sebagai tanaman M3 dan hasil panennya dianalisa kembali kandungan asam fitatnya di laboratorium.

Seleksi rendah asam fitat pertama kali dilakukan pada tanaman M2 (biji M3) di laboratorium. Metoda analisa asam fitat dilakukan dengan menggunakan metoda yang dikembangkan oleh Chen's dan Toribara *dalam* (3). Pada prinsipnya metoda ini adalah mendeteksi kandungan fosfor anorganik dalam biji tanaman. Kandungan fosfor anorganik berbanding terbalik dengan kandungan asam fitat, semakin tinggi kandungan fosfor anorganik, maka semakin rendah kandungan asam fitat. Seleksi bertujuan mendapatkan padi dengan kandungan fosfor anorganik tinggi yang berarti rendah asam fitat.

Untuk pengukuran kandungan asam fitat di laboratorium dilakukan dengan cara sebagai berikut : dari tiap malai diambil 8 biji padi untuk dipecahkan dengan palu dan tiap biji dimasukkan ke dalam lubang-lubang pada 96-well plate. Ke dalam tiap lubang yang 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 lubang diambil 10 µl larutan untuk dipindahkan ke dalam lubang-lubang 96-well plate yang lain, lalu ke dalamnya ditambahkan 90 µl ddH<sub>2</sub>O dan 100 µl Chens Reagent. Setelah dua jam, amati perubahan warna yang terjadi, dan dibandingkan dengan warna pada larutan standar. Semakin biru larutan sampel berarti semakin rendah kandungan asam fitat atau semakin tinggi kandungan fosfor inorganik.

Pada tanaman M4 dilakukan pengamatan dilapangan untuk melihat penampilan dan data agronomi yang meliputi tinggi tanaman, jumlah anakan dan panjang malai. Data diambil pada saat panen. Data tinggi tanaman diambil dengan cara mengukur 5 tanaman yang diambil secara acak untuk masing-masing nomor galur. Data panjang malai diambil dengan mengukur panjang malai 5 sampel tanaman secara acak untuk masing-masing nomor galur. Data jumlah anakan diambil dengan cara menghitung jumlah anakan 5 sampel tanaman dari masing-masing nomor galur.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi laboratorium terhadap kandungan asam fitat dilakukan pertama kali pada tanaman M2 atau pada biji M3. Dari hasil analisa laboratorium pada biji M3 tersebut didapatkan beberapa malai yang rendah kandungan asam fitatnya dan selanjutnya ditanam kembali sebagai tanaman M3 dilapangan. Hasil panen tanaman M3 ini dianalisa lagi kandungan asam fitat dilaboratorium dan yang terseleksi ditanam kembali dilapangan sebagai tanaman M4.

Data hasil pengukuran dilapangan terhadap tinggi tanaman, jumlah anakan dan panjang malai ditampilkan dalam Tabel 1. Data diambil dari 5 tanaman untuk tiap nomor dan diambil rata-ratanya.

Kandungan asam fitat didapatkan dari pengujian laboratorium dengan menggunakan reagent Chen's dan Torribara yang dikembangkan oleh Raboy *et al* (7). Hasil pengujian kandungan asam fitat pada generasi M4 dari radiasi varietas Diah Suci ditampilkan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Rata-rata tinggi tanaman, panjang malai dan jumlah anakan dari galur mutan rendah kandungan asam fitat pada generasi M.4 dari radiasi varietas Diah Suci.

Nama Galur Generasi M.4	Tinggi Tanaman (cm)	Panjang Malai (cm)	Jumlah Anakan
DS 873/1	79.83	27.17	8.51
DS 873/2	75.47	25.94	6.47
DS 873/3	75.89	25.77	6.23
DS 873/4	78.00	25.52	6.76
DS 873/5	74.92	25.58	6.69
DS 873/6	74.38	26.18	6.85
DS 873/7	71.72	23.81	5.81
DS 873/8	69.66	26.37	7.63
DS 873/9	74.74	25.77	5.97
DS 873/10	75.76	25.95	6.84
Varietas Diah Suci (kontrol)	91.31	25.38	5.77

Penampilan gambar hasil analisa kandungan asam fitat dilaboratorium dan penampilan tanaman dilapangan dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengamatan secara fenotip melalui data agronomi yang ditampilkan dalam Tabel 1 dapat dikatakan panjang malai, tinggi tanaman dan jumlah anakan sebagian sudah homogen dan sebagian lagi masih bersegregasi. Hal ini disebabkan tanaman masih dalam taraf generasi M4 dimana sebagian sudah mulai homogen dan yang lainnya masih bersegrasi. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh IAEA dalam buku Manual Mutation Breeding (4), bahwa tanaman pada generasi M4 sebagian masih bersegrasi dan sebagian lagi sudah homogen.

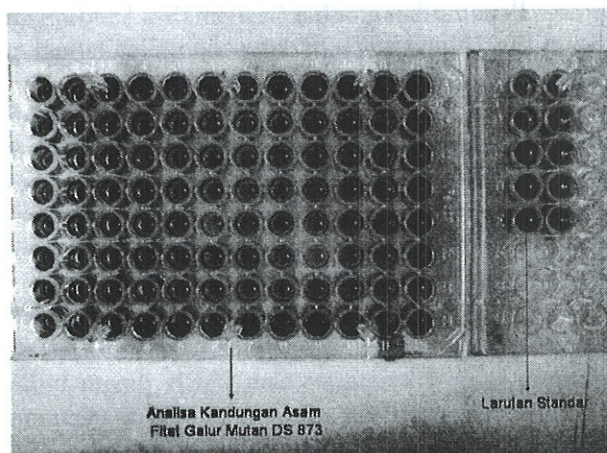
Tinggi tanaman galur mutan yang rendah kandungan asam fitat menjadi lebih pendek bila dibandingkan dengan varietas Diah Suci sebagai tetua dan kontrol. Panjang malai relatif sama dengan varietas Diah Suci sebagai kontrol. Sedangkan jumlah nakan menjadi lebih banyak pada nomor DS 873/1 yaitu dengan jumlah anakan rata-rata 8,51 bila dibandingkan dengan varietas Diah Suci sebagai kontrol dengan jumlah anakan 5,77.

Terjadinya perubahan tinggi tanaman dan jumlah anakan dari radiasi varietas Diah Suci yang diseleksi rendah kandungan asam fitat, disebabkan karena terjadinya perubahan gen akibat pengaruh radiasi, sehingga terjadi perubahan sifat dari varietas asalnya.

Tabel 2. Hasil analisa kandungan asam fitat di laboratorium pada generasi M4 dari iradiasi varietas Diah Suci

Galur Biji M5	Nilai Standar Kandungan asam fitat								Keterangan
	Nomor urut vertikal 96 well plate untuk tiap satu galur								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
DS 873/1	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/2	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/3	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/4	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/5	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/6	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/7	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/8	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/9	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
DS 873/10	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen
Kontrol Diah Suci	1	1	1	1	1	1	1	1	-
Kontrol LPA 1-1	4	4	4	4	4	4	4	4	Homogen

Keterangan : 1 = 0,000 ppm kandungan Pospor anorganik  
 2 = 0,775 ppm kandungan Pospor anorganik  
 3 = 2,325 ppm kandungan Pospor anorganik  
 4 = 4,650 ppm kandungan Pospor anorganik  
 5 = 6,975 ppm kandungan Pospor anorganik



Laboratorium



Lapangan

Gambar 1. Penampilan galur mutan DS 873 rendah kandungan asam fitat di laboratorium dan lapangan

Untuk nilai kandungan asam fitat sudah homogen pada standar 4. Hal ini sudah menyamai nilai kandungan asam fitat untuk kontrol galur mutan rendah asam fitat *LPA 1-1* yang berasal dari IAEA yaitu pada standar 4. Dengan telah homogennya nilai kandungan asam fitat dan menyamai kontrol yang berasal dari IAEA, maka selanjutnya akan dilakukan seleksi pada generasi berikutnya agar homogen secara fenotip di lapangan.

#### KESIMPULAN

1. Penampilan galur mutan rendah kandungan asam fitat pada generasi M.4 yang berasal dari radiasi varietas Diah Suci untuk data agronomi yang meliputi tinggi tanaman, jumlah anakan dan panjang malai sebagian sudah homogen dan sebagian lagi masih bersegregasi.
2. Untuk pengujian kandungan asam fitat di laboratorium pada generasi M.4 dari galur mutan DS-873 sudah homogen dengan nilai standar 4, yang berarti sudah menyamai kontrol padi rendah asam fitat (*LPA 1-1*) yang berasal dari IAEA.

#### 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., Origin and seed phenotype of maize low phytic acid 1-1 and low phytic acid 2-1, *Plant Physiology* 124 (2000) 355-368.
2. LARSON, S.R., YOUNG, K.A., COOK, A., BLAKE, T.K. & RABOY, V., Linkage mapping two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theor. Appl. Genet.* 97 (1998) 141-146.
3. RABOY, V., Accumulation and storage of phosphate and minerals, Larkins, B.A. Vasil, I.K. eds., *Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development* 1997:441-477 Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands (1997).
4. IAEA, "Manual on mutation breeding, second edition (Technical Report Series No. 119), IAEA, Vienna (1977).
5. LARSON, S.R., RUTGER, J.N., YOUNG, K.A. & RABOY, V., Isolation and genetic mapping of a non-lethal rice low phytic acid mutation, *Crop Sci.*, 40 (2000) 1397-1405.
6. RASMUSSEN, S.K. & HATZACK, F., Identification of two low-fitate barley (*Hordeum vulgare* L.) grain mutants by TLC and genetic analysis, *Hereditas* 129 (1998) 107-112.
7. RABOY, V., YOUNG, K.A., DORSCH, J.A. & COOK, A., Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid., *J. Plant Physiol.* 158 (2001) 489-497.