



Program Studi S2/S3 Bioteknologi
Sekolah Pascasarjana UGM

Prosiding

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI UNIVERSITAS GADJAH MADA

*“Bioteknologi untuk mendukung
kualitas hidup bangsa”*

Auditorium Sekolah Pascasarjana UGM, 18 Oktober 2014



Program Studi S2/S3 Bioteknologi
Sekolah Pascasarjana UGM

PROSIDING

*Seminar Nasional Bioteknologi
Universitas Gadjah Mada*

BIOTEKNOLOGI UNTUK MENDUKUNG
KUALITAS HIDUP BANGSA

Sekolah Pasca Sarjana UGM, 18 Oktober 2014

KEYNOTE SPEAKERS

Prof. Hajime Watanabe
(Osaka University, Japan)

Prof. Sofia Mubarika
(Universitas Gadjah Mada, Indonesia)

Sastia Prama Putri
(Osaka University, Japan)

REVIEWERS

Prof. drh. Widya Asmara, SU, Ph.D

Ir. Donny Widianto, Ph.D

Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc

Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si

Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknika Utara, Pogung, Yogyakarta, 55281,

Telp : 0274-564239, 544975, 555881

E-mail : sps@ugm.ac.id

<http://pasca.ugm.ac.id>



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
KEPANITIAAN.....	vii
SUSUNAN ACARA.....	viii

Uji Aktivitas Madu terhadap <i>Eschericia coli</i> dan <i>Aspergillus fumigatus</i>	1
<i>Ambarwati, Ria Utami, Ratna Puspita Meisyaroh dan Ayu Khoirotul Umaroh</i>	

The Used of AntiSMASH for Secondary Metabolites Analysis of Anticancer-Producing <i>Streptomyces</i> sp. GMY01	15
<i>Camelia Herdini, Sofia Mubarika, Bambang Hariwiyanto, Nastiti Wijayanti, Akira Hosoyama, Atsushi Yamazoe, Hideaki Nojiri, dan Jaka Widada</i>	

Studi Polimorfisme Sitokrom P450 2A6 pada Etnis Jawa di Indonesia: Identifikasi Sitokrom P450 2A6 alel 1 dan 4	23
<i>Christine Patramurti, Sugiyanto, Arief Nurrochmad, dan Sudibyo Martono</i>	

Genetic Evaluation of Five Rice Landraces of South Kalimantan's Tidal Swamp Area Based on Chromosomal Character	40
<i>Dindin H. Mursyidin, Yudhi A. Nazari, Budi S. Daryono</i>	

Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Rizosfer Tanaman Pisang (<i>Musa paradisiaca</i>) di Patallasang Gowa	50
<i>Eka Sukmawaty, Hafsan</i>	



Evaluasi Genetik Varietas Padi Lokal Lahan Rawa Pasang Surut Kalimantan Selatan Berdasarkan Karakter Kromosom

Dindin H. Mursyidin^{1*}, Yudhi A. Nazari²,
Budi S. Daryono³

¹Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat,
Kalimantan Selatan, Indonesia 70714/Mahasiswa Program Doktorat,
Fakultas Biologi UGM

²Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas
Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan, Indonesia 70714

³Laboratorim Genetika, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta, Indonesia 55281

*E-mail : dindinhm@gmail.com

Intisari

Genetic evaluation of germplasm collections is an important foundation for crop improvement. Due to the importance of rice as a major world crop, the deep studies or genetic evaluation of *Oryza sativa* has attracted great interest. This study was conducted to evaluate the genetic identity of five rice landraces from South Kalimantan's tidal swamp area based on chromosomal character. The chromosomal study was carried out using a modified squash method. The construction of karyotype was done by following procedure of Levan *et al.* (1964). Results found that mitosis period of all samples mainly occurred from 12.00 to 13.00 a.m. (WITA-Center Indonesia Time). Prometaphase stages of rice landraces was commonly found at 12.30 a.m. (WITA). Results also found that all of rice landraces have chromosomal numbers of $2n=24$ (diploid), with the differences of chromosomal character (karyotype). *Adil ganal* is the variety that has unique chromosomal character of 23 metacentric and 1 submetacentric (11m+1sm) chromosomes with satellite found on this study. Whereas, *Siam Unus* and *Siam Gadis* are the local rice varieties that have primitive chromosome type of 24 metacentric (24m+0). The results of this study would provide valuable information for crop improvement or rice breeding program in future.

Keywords : *Oryza sativa* L.; Genetic evaluation; Karyotype; Chromosomal character.

Pendahuluan

Dalam upaya pemuliaan dan pengembangan varietas padi unggul diperlukan sumber plasma nutfah dengan variabilitas genetik yang relatif tinggi, sehingga dihasilkan varietas baru yang diinginkan dalam waktu singkat. Tersedianya plasma nutfah terutama varietas lokal (*landraces*) dalam jumlah besar, mempunyai arti penting secara genetik untuk sifat-sifat tertentu yang diinginkan (Poespodarsono, 1988). Disamping itu, dalam upaya pemuliaan dan pengembangan varietas padi unggul diperlukan pula informasi yang mendalam tentang hubungan kekerabatan diantara varietas padi lokal yang ada, baik melalui karakter morfologi, sitologi, maupun molekular (Herrera *et al.*, 2008; Virk *et al.*, 2004).

Di Kalimantan Selatan, terdapat beragam sumber plasma nutfah berupa varietas padi lokal lahan rawa yang relatif besar untuk dijadikan bahan pemuliaan dan pelestarian. Balai Penelitian Pertanian Lahan Rawa (Balittra) Kalimantan Selatan, melaporkan bahwa di Kalimantan Selatan terdapat sekitar 70 varietas padi lokal lahan rawa yang dapat dijadikan sumber plasma nutfah untuk bahan pelestarian dan pemuliaan tersebut (Balittra, 2011). Wahdah & Langai (2011), berhasil mengoleksi sebanyak 62 varietas padi lokal lahan rawa Kalimantan Selatan yang dapat dijadikan bahan mutan. Namun demikian, sebagian besar varietas padi lokal tersebut belum dikarakterisasi dengan baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi identitas genetik varietas padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan, menggunakan karakter kromosom (penanda sitologi). Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan penting untuk pengembangan varietas padi lokal lahan rawa Kalimantan Selatan, terutama untuk mendukung program pemuliaan tanaman atau perakitan varietas padi unggul berbasis petani di masa mendatang.



Metode

Sampel Tanaman

Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian merupakan benih varietas padi lokal hasil eksplorasi di lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan, meliputi Kabupaten Barito Kuala (Batola), Tanah Laut (Tala), Banjar, dan Banjarbaru.

Karakterisasi Sitologi

Metode yang digunakan dalam kegiatan ini adalah metode *squash* yang telah dimodifikasi (Jahier *et al.*, 1996). Prosedur kerja yang dilakukan dalam pengamatan ini adalah sebagai berikut: terlebih dulu biji padi ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi air hingga akarnya tumbuh. Jika akar sekunder tanaman padi telah tumbuh, maka akar tersebut kemudian dipotong menggunakan silet pada bagian ujungnya dengan panjang sekitar 3-5 mm. Potongan akar tersebut kemudian dimasukkan kedalam air dingin (akuades yang telah dibekukan selama 15 menit), dan setelah itu disimpan dalam lemari es pada suhu 5°C selama 10 menit. Praperlakuan ini bertujuan untuk mendapatkan pembengkakan sel sehingga preparat kromosom akan lebih mudah diamati. Pemotongan ujung akar dilakukan setiap 15 menit mulai pukul 08.00 WITA sampai dengan pukul 13.00 WITA.

Setelah perlakuan, sampel akar kemudian difiksasi (dimasukkan kedalam botol flakon yang berisi larutan fiksatif asam asetat 45% pada suhu 4°C selama 15 menit). Setelah fiksasi, sampel dicuci dengan akuades hingga bersih (menggunakan pipet hisap) dan selanjutnya dimaserasi menggunakan HCl 1 N pada suhu 55°C selama 10 menit. Tujuan maserasi adalah untuk melisiskan lamela tengah, sehingga *squash* akan lebih mudah dilakukan. Sampel selanjutnya dicuci kembali dengan akuades hingga bersih dan setelah itu diwarnai dengan *aceto-orcein* 1% selama kurang lebih 30 menit.

Setelah pewarnaan, sampel diletakkan dalam obyek gelas dan bagian ujung sampel akar tersebut dipotong. Sementara itu, larutan *aceto-orcein* yang masih menempel pada bagian tepi sampel diserap dengan tisu. Selanjutnya, sampel akar ditetesi dengan gliserin dan

ditutup dengan gelas penutup untuk kemudian dipencet (*squash*) dengan pangkal kuas kayu sambil diketuk-ketukkan sedemikian rupa sehingga akar tergencret. Setelah itu preparat ditutup dengan gelas penutup dan dilekatkan dengan cat kuku (*cutex*). Untuk identitas preparat, preparat diberi label dengan keterangan nama varietas, waktu dan tanggal pemotongan.

Tahap-tahap pembelahan mitosis pada akar tanaman padi kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya dengan ditetesi minyak imersi untuk meningkatkan indeks bias dan didokumentasikan dengan digital kamera. Sel-sel yang digunakan untuk karakterisasi sitologi adalah sel-sel yang berada pada tahap prometafase dengan keadaan utuh, tersebar merata dan tidak tumpang tindih. Adapun sel yang berada dalam keadaan interfase, profase, metafase, anafase dan telofase digunakan untuk mempelajari siklus sel. Hasil dokumentasi sel prometafase digunakan untuk karakterisasi sitologi dan pembuatan karyotipe.

Karakterisasi sitologi (pengamatan kromosom dan pembuatan karyotipe) mengikuti petunjuk Levan *et al.* (1964), didasarkan pada nilai Indeks Sentromer (IS) sebagaimana tercantum dalam Tabel 1. Pembuatan karyotipe dilakukan dengan memproyeksikan foto preparat pembelahan mitosis pada tahap prometafase menggunakan program *ImageJ* dan *Adobe Photoshop CS2*.

Tabel 1. Klasifikasi bentuk kromosom berdasarkan indeks sentromer dan rasio lengan kromosom (Levan *et al.*, 1964).

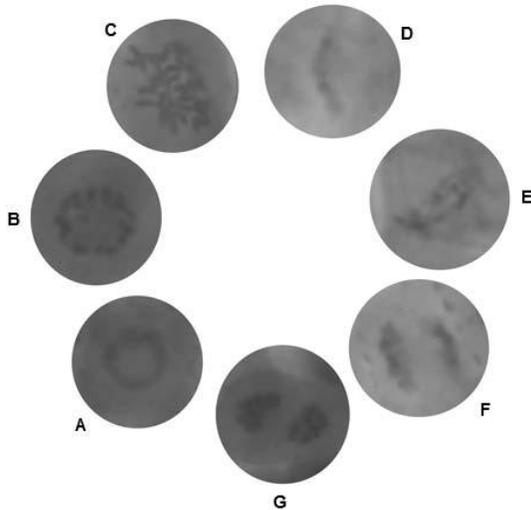
Indeks Sentromer	Rasio Lengan Kromosom	Bentuk Kromosom
37,50-50,00	1,00-1,67	Metasentris
25,50-37,49	1,68-3,00	Submetasentris
12,50-25,49	3,01-7,00	Akrosentris
0,00-12,49	>7,00	Telosentris

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa tanaman padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan memiliki karakteristik pembelahan sel dan kromosom yang menarik.



Secara umum, pembelahan sel akar tanaman padi lokal terjadi pada pukul 12.00-13.00 WITA. Gambar 1 memperlihatkan siklus pembelahan sel yang terjadi pada salah satu varietas padi lokal tersebut.



Gambar 1. Siklus pembelahan sel pada salah satu tanaman padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan (Siam Mutiara) yang terjadi antara pukul 12.00-13.00 WITA. (Ket. A= Interfase, B= Profase, C= Prometafase, D= Metafase, E= Anafase, F= Telofase awal, G= Telofase akhir, Perbesaran 10x100).

Berdasarkan Gambar 1, terlihat bahwa semua fase pembelahan sel tanaman padi lokal lahan rawa Kalimantan Selatan teramati dengan baik, bahkan fase Prometafase yang akan dipergunakan untuk analisis selanjutnya memperlihatkan sebaran, bentuk dan jumlah kromosom yang jelas. Gambar 2 dan Tabel 2 memperlihatkan karakteristik kromosom yang dimiliki lima varietas padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan.



Gambar 2. Karyogram lima varietas padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan, terdiri atas masing-masing 12 pasangan kromosom $2n=24$ (ket. A = Adil Ganal, B = Siam Unus, C = Unus Mayang, D = Siam Gadis, E = Siam Mutiara).

Tabel 2. Karakteristik kromosom padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan

Varietas	Rentang Panjang Kromosom (μ m)			Rumus Karyotipe
	Lengan Pendek (p)	Lengan Panjang (q)	Panjang absolut (p+q)	
Adil Ganal	1,18-3,17	1,45-4,17	2,58-7,15	$22m + 2sm +$ satelit
Siam Unus	2,17-5,65	2,17-6,10	4,34-11,75	$24m + 0$
Unus Mayang	1,62-3,66	1,66-6,47	1,02-2,18	$23m + 1sm$
Siam Gadis	1,51-2,65	1,53-3,72	3,04-6,11	$24m + 0$
Siam Mutiara	0,49-0,99	0,52-1,84	1,01-2,79	$23m + 1sm$

Ket. m=metasentris, sm=submetasentris.

Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 2, diketahui bahwa semua sampel tanaman padi lokal mempunyai set kromosom diploid dengan jumlah 12 pasang atau $2n=24$. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Cheng *et al.* (2001), yang menyebutkan bahwa



kromosom padi berjumlah 24 buah atau $2n=24$. Berdasarkan Tabel 2, terlihat pula bahwa padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan mempunyai kromosom dengan panjang absolut yang bervariasi. Sebagai contoh, varietas Siam Mutiara dan Unus Mayang memiliki rentang panjang kromosom absolut relatif lebih kecil dibandingkan varietas lainnya, masing-masing 1,01-2,79 μm dan 1,02-2,18 μm . Sementara varietas Siam Unus memiliki kromosom dengan panjang absolut tertinggi, yaitu antara 4,34-11,75 μm , mendekati panjang kromosom padi yang dikaji oleh Iijima *et al.* (1991), yang menyebutkan panjangnya sekitar 5,8-13,6 μm . Terjadinya perbedaan panjang kromosom ini mungkin disebabkan karena pembengkakan sel dan besarnya kondensasi masing-masing kromosom padi.

Hasil analisis karyotype lebih lanjut pada padi lokal Kalimantan Selatan menunjukkan bahwa lima varietas padi lokal lahan rawa Kalimantan Selatan tersebut mempunyai formula karyotype yang berbeda, secara umum terbagi menjadi tipe kromosom simetris dan asimetris. Varietas yang memiliki tipe kromosom simetris ditunjukkan oleh Siam Unus dan Siam Gadis, sementara tiga varietas lainnya tergolong asimetris. Menurut Singh (1993), tipe kromosom simetris dianggap lebih konservatif (primitif) dibandingkan asimetri dalam perjalanan evolusinya. Oleh karena itu, varietas Siam Unus dan Siam Gadis diperkirakan merupakan varietas lokal asli lahan rawa Kalimantan Selatan. Sementara tiga varietas lainnya merupakan varietas hibrid, atau merupakan varietas hasil silangan dari tetua lainnya.

Berdasarkan penelusuran pustaka, diketahui bahwa varietas Siam Unus telah dimanfaatkan oleh para pemulia sebagai tetua dalam merakit varietas unggul khusus lahan rawa pasang surut, seperti dilaporkan Suprihatno *et al.* (2006). Hasil penelitian serupa diperlihatkan pula oleh Daryono & Mokodompit (2008) yang mengkaji padi Super Toy yang merupakan varietas hibrid hasil persilangan antara padi Rojolele dan Pandan Wangi Cianjur, yang merupakan varietas padi lokal Pulau Jawa. Kedua varietas padi ini (Rojolele dan Pandan Wangi Cianjur) merupakan tetua

padi yang mempunyai formula karyotype yang sama, yaitu $2n = 2x = 24 = 24m$.

Hasil penelitian Iijima *et al.* (1992), juga memperlihatkan bahwa bentuk kromosom padi bervariasi dari metasentris, submetasentris dan subtelosentris. Menurut Wang *et al.* (1991), terjadinya perbedaan pada bentuk kromosom padi dapat disebabkan oleh peristiwa defisiensi. Semetara itu, Nishimura (1961), melaporkan bahwa perbedaan bentuk kromosom padi dapat disebabkan oleh peristiwa translokasi. Namun demikian, untuk memastikan kebenaran terjadinya heteromorfisme pada tanaman padi lokal Kalimantan Selatan diperlukan pengamatan yang lebih teliti dan akurat, terutama setelah analisis meiosis dengan menggunakan teknik pewarnaan yang lain pada gambaran kromosom tanaman tersebut, misalnya *fluorescence in situ hybridization* (FISH) dan pewarnaan *4',6-diamidino-2-phenylindole* (DAPI) (Cheng *et al.*, 2001).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa secara umum lima varietas padi lokal lahan rawa pasang surut Kalimantan Selatan memiliki jumlah kromosom diploid yang sama ($2n=24$), namun memiliki formula karyotipe yang berbeda, yaitu simetris dan asimetris. Varietas Siam Unus dan Siam Gadis memiliki identitas genetik kromosom simetris sehingga diperkirakan merupakan varietas lokal asli lahan rawa Kalimantan Selatan. Oleh karena itu, hasil ini diharapkan sangat bermanfaat untuk mendukung program pemuliaan tanaman di masa mendatang.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Jakarta atas dukungan dana penelitian ini, melalui Hibah Pekerti tahun anggaran 2013.



Daftar Pustaka

- Balitra. 2011. Koleksi varietas padi lokal lahan rawa Sumatera dan Kalimantan. Buku Panduan Loka Pekan Raya Lahan Rawa, Balai Penelitian Pertanian Lahan Rawa. Banjarbaru.
- Cheng, Z., C.R. Buell, R.A. Wing, M. Gu, and J. Jiang. 2001. Toward a Cytological Characterization of the Rice Genome, *Genome Res.* 11(12): 2133–2141.
- Daryono, BS dan H. Mokodompit. 2009. Menyimak Identitas Genetika Padi Supertoy. Makalah Penelitian. Fakultas Biologi UGM. 4 hal
- Herrera, TG., DP. Duque, IP. Almeida, GT. Núñez, AJ. Pieters, CP. Martinez, and JM. Tohme. 2008. Assessment of genetic diversity in Venezuelan rice cultivars using simple sequence repeats markers. *Electronic Journal of Biotechnology*, 11(5):1-14.
- Iijima, K., K. Kakeda, K. Fukui. 1991. Identification and characterization of somatic rice chromosomes by imaging methods. *Theor. Appl. Genet.* 81(5):597-605.
- Wahdah, R dan B.F. Langai. 2011. Seleksi awal varietas padi lokal di lahan pasang surut Kabupaten Barito Kuala dan Tanah Laut Kalimantan Selatan sebagai bahan mutasi. *Agroscentiae*, 18(1):44-50.
- Jahier, J., A.M. Chevre, R. Delourme, F. Eber, A.M. Tanguy. 1996. *Techniques of Plant Cytogenetics*. Science Publisher Inc. 180 p.
- Levan A., Fredga K. and Sandberg A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201–220.
- Nishimura, Y., 1961. Studies on the reciprocal translocation in rice and barley. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci.*, Japan, D9: 171-235.
- Poespodarsono, S. 1988. Dasar-dasar Ilmu Pemuliaan Tanaman, PAU IPB bekerjasama dengan Lembaga Sumber Daya Informasi IPB, Bogor, 163 hal.
- Singh, R. J., 1993. *Plant Cytogenetics*. CRC Press, Boca Roton Ann Arbor, London and Tokyo.
- Suprihatno, B., A.A. Daradjat, Satoto, Baehaki, I.N. Widiarta, A. Setyono, S.D. Indrasari, O.S. Lesmana, dan H. Sembiring. 2006.

- Deskripsi varietas padi.* Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Balai Besar Penelitian Tanaman padi. 78 hlm.
- Virk, P. S., G. S. Khush, S. Peng. 2004. Breeding to enhance yield potential of rice at IRRI: the ideotype approach. (*Mini Review*). International Rice Research Notes 29(1):5-9.
- Wang, Z. X., N. Iwata, Y. Sukekiyo and A. Yoshimura, 1991. Induction of chromosome aberrants in rice (*Oryza sativa* L.) by using irradiated pollen. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 36: 99-108.