



MORFO-FISIOLOGI DAN PROFIL METABOLOMIK PADI TRANSGENIK *SILENCED-B11* DAN MUTAN SENSITIF ALUMINIUM PADA KONDISI KEKERINGAN

NISSA AUDINA



**BIOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2021**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Morfo-Fisiologi dan Profil Metabolomik Padi Transgenik *Silenced-B11* dan Mutan Sensitif Aluminium pada Kondisi Kekeringan” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Mei 2021

Nissa Audina
G353170261



RINGKASAN

NISSA AUDINA. Morfo-Fisiologi dan Profil Metabolomik Padi Transgenik *Silenced-B11* dan Mutan Sensitif Aluminium pada Kondisi Kekeringan. Dibimbing oleh MIFTAHUDIN dan TRIADIATI.

Cekaman kekeringan menjadi salah satu faktor pembatas utama yang berpengaruh terhadap penurunan produktivitas tanaman padi di lahan kering masam. Tantangan yang dihadapi dalam pemanfaatan lahan kering masam adalah kelarutan Aluminium (Al) yang tinggi dan ketersediaan air yang rendah. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut di antaranya adalah pemanfaatan genotipe tanaman toleran asam dan kekeringan. Tanaman padi var. Hawara Bunar diketahui mampu beradaptasi pada kondisi Al tinggi dan kekeringan karena memiliki gen *B11* yang berperan dalam toleransi terhadap Al, tetapi gen yang berperan dalam toleransi terhadap kekeringan belum teridentifikasi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan membuktikan peranan gen *B11* dalam toleransi tanaman padi var. Hawara Bunar terhadap cekaman kekeringan.

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tiga genotipe padi var. Hawara Bunar yaitu Hawara Bunar tipe liar (HB), transgenik *Silenced-B11* (T87) dan mutan sensitif Al (M8). Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial dengan faktor pertama terdiri dari tiga genotipe padi, yaitu HB, T87, dan M8, sedangkan faktor kedua adalah perlakuan cekaman dan tanpa cekaman kekeringan. Perlakuan diberikan pada fase reproduktif (*booting*) dengan cara menghentikan pemberian air selama 9 hari. Peubah yang diamati meliputi respon morfo-fisiologi yaitu jumlah daun, luas daun (cm^2), bobot kering akar dan tajuk (g), kadar air relatif daun (KAR) (%), kadar air relatif media (KAM) (%), embolisme (%), kandungan prolin dan klorofil total daun ($\mu\text{mol.g}^{-1}$), serta profil senyawa metabolit yang digunakan sebagai penciri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa cekaman kekeringan berpengaruh signifikan terhadap karakter morfo-fisiologi dan profil metabolomik tanaman padi yang diuji. Peubah morfo-fisiologi pada genotipe M8 mengalami penurunan signifikan antara lain jumlah daun, luas area daun, bobot kering akar dan tajuk tanaman, nilai KAR, dan klorofil total daun pada saat mendapat cekaman kekeringan. Sebaliknya, genotype M8 mengalami kenaikan paling signifikan dibandingkan genotipe lain yang diuji untuk persentase embolisme daun dan kandungan prolin daun pada saat mendapat cekaman kekeringan. Perlakuan kekeringan menurunkan hasil tanaman padi, jumlah anakan produktif, panjang malai, jumlah gabah/malai, jumlah gabah isi/malai, jumlah gabah isi total, dan bobot 1000 butir gabah.

Hasil analisis metabolomik daun menggunakan GC-MS setelah cekaman kekeringan menunjukkan perbedaan profil metabolit ketiga genotipe tanaman. Analisis kluster menunjukkan bahwa HB berada pada kluster berbeda, sedangkan M8 dan T87 membentuk kluster yang sama. Profil metabolit yang berbeda pada tiga genotipe tanaman yang diuji menunjukkan adanya perbedaan genetik dan tingkat toleransi terhadap cekaman kekeringan. Perbedaan tersebut menunjukkan adanya peranan beberapa gen yang tidak terekspresi pada tanaman mutan dan gen *B11* pada tanaman transgenik saat mendapat cekaman kekeringan.

Berdasarkan hasil analisis morfo-fisiologi, profil metabolomik serta analisis korelasi keduanya, diketahui beberapa karakter morfo-fisiologi yang menjadi ciri tanaman pada toleran kekeringan antara lain jumlah daun, bobot kering akar, bobot kering tajuk, embolisme, kandungan klorofil, jumlah anakan produktif, panjang malai dan jumlah gabah/ malai, sedangkan metabolit yang dapat digunakan sebagai penanda tanaman toleran kekeringan antara lain *dimethylaminoethyl acrylate*, *4-Oxatricyclo [20.8.0.0(7,16)] Triacenta-1 (20), 7(16)-Diene*, dan *5-(Hydroxymethyl) -2-Furancarboxaldehyde*.

Kata kunci: kekeringan, morfo-fisiologi, metabolomik, toleransi

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





SUMMARY

NISSA AUDINA. Morpho-Physiology and Metabolomics Profile of Silenced-B11 Transgenic and Aluminum-Sensitive Mutant Rice under Drought Conditions. Supervised by MIFTAHUDIN and TRIADIATI.

Drought stress is one of the main limiting factors affecting rice productivity in acid dry land. The challenge faced in the utilization of acid dry land is the high Aluminum solubility and low water content. One of the efforts to solve the problem is the use of tolerant rice genotypes to acid dry land. Rice var. Hawara Bunar is known to be adaptive to high Al and drought conditions. Hawara Bunar has the B11 gene that plays a role in Al tolerance, whereas the genes that responsible for drought tolerance have not been identified. Therefore, this study aims to prove the role of the B11 gene in Al-tolerant rice var. Hawara Bunar against drought stress.

The plants used in this study were three genotypes of rice var. Hawara Bunar, i.e., wild type Hawara Bunar (HB), Silenced-B11 transgenic (T87) and Al-sensitive mutant (M8). The study was carried out using a factorial randomized block design with two factors. The first factor consisted of three rice genotypes, i.e., HB, T87, and M8. The second factor was drought stress and control treatments. Drought stress treatment was administered during the reproductive (booting) phase by stopping watering the plants for 9 days. The observed morpho-physiological responses were the number of leaves, leaf area (cm²), root and canopy dry weight (g), leaf relative water content (LRWC) (%), medium relative water content (MRWC) (%), embolism (%), proline and total leaf chlorophyll content (μmol.g⁻¹). The changes in metabolite compounds as plant response to drought were also observed.

The results showed that drought stress significantly affected plant morpho-physiology and metabolomics. Rice genotype M8 experienced the most significant decrease in morpho-physiological parameters, including number of leaves, leaf area, root and shoot dry weight, LRWC and leaf chlorophyll content. On the other hand, genotype M8 showed the most significant increase on leaf embolism and leaf proline content during drought stress. Drought treatment significantly reduced rice yield, number of productive tillers, panicle length, total grain/panicle, number of filled grains, number of filled grains/panicle and weight of 1000 grains on rice genotype M8.

The results of leaf metabolomic analysis using GCMS after drought stress treatment showed the differences in metabolite profiles among the HB wild-type, mutant, and transgenic genotypes. Cluster analysis showed that HB was grouped in a different cluster, while M8 and T87 were grouped in the same cluster. The different metabolite profiles among the genotypes reflect the differences in genetic background and tolerance levels, which indicates the role of several HB genes that might not be expressed in the rice mutant and the silencing B11 gene in transgenic rice during drought stress.

Based on the morpho-physiological analysis, metabolomic profile and correlation analysis, it is known that several morpho-physiological traits that can be used as markers of plants in drought condition include leaf number, root dry weight, shoot dry weight, embolism, chlorophyll content, number of productive tillers, panicle length, panicles and the number of grain / panicles, while metabolites that can be used as markers for drought include dimethylaminoethyl acrylate, 4-Oxatricyclo

[20.8.0.0 (7,16)] Triacenta-1 (20), 7 (16) - Diene, and 5- (Hydroxymethyl) -2-Furancarboxaldehyde.

Keywords: drought, morpho-physiology, metabolomic, tolerance

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2021¹
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



MORFO-FISIOLOGI DAN PROFIL METABOLOMIK PADI TRANSGENIK *SILENCED-B11* DAN MUTAN SENSITIF ALUMINIUM PADA KONDISI KEKERINGAN

NISSA AUDINA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Biologi Tumbuhan

**BIOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2021**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Tesis : Morfo-Fisiologi dan Profil Metabolomik Padi Transgenik *Silenced-B11* dan Mutan Sensitif Aluminium pada Kondisi Kekeringan

Nama : Nissa Audina
NIM : G353170261

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Ir. Miftahudin, M.Si

Pembimbing 2:
Dr. Dra. Triadiati, M.Si



Digitally signed by:
Miftahudin
[1C0955X86276142]
Date: 6 Feb 2021 21:58:26 WIB
Verify at: dsign.ipb.ac.id



Digitally signed by:
Triadiati
[6A2927120E14E]
Date: 10 Mar 2021 18:16:12 WIB
Verify at: dsign.ipb.ac.id

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, DEA

Dekan Sekolah Pascasarjana :
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng



Digitally signed by:
Aris



Digitally signed by:
Anas Miftah Fauzi
[3FE49AA995DD004F]
Date: 11 Mei 2021 09:37:34 WIB
Verify at: dsign.ipb.ac.id



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Desember 2018 sampai bulan Juli 2019 ini ialah Cekaman Kekeringan pada Tanaman Padi, dengan judul “Morfo-Fisiologi dan Profil Metabolomik Padi Transgenik *Silenced-B11* dan Mutan Sensitif Aluminium pada Kondisi Kekeringan”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. Ir. Miftahudin, M.Si dan Dr. Dra. Triadiati, M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, DEA selaku Ketua Program Studi Biologi Tumbuhan dan Dr. Turhadi, S.Si, M.Si selaku penguji luar komisi pembimbing yang telah memberikan masukan sehingga karya ilmiah ini menjadi lebih baik. Ucapan terima kasih ditujukan pada dosen-dosen Program Studi Biologi Tumbuhan atas semua ilmu yang diberikan selama penulis menempuh Program Magister di IPB. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada kedua orangtua, mertua, suami serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Ucapan terima kasih juga penulis tujukan kepada rekan-rekan Laboratorium Fisiologi dan Biologi Molekuler Tumbuhan atas bantuan dan diskusi selama penelitian berlangsung dan teman-teman Biologi Tumbuhan angkatan 2017 untuk semangat dan kerjasamanya selama masa studi.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Mei 2021

Nissa Audina



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Hipotesis	2
TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Respon Tanaman Padi terhadap Cekaman Kekeringan	3
2.2 Mekanisme Tanaman Padi Menghadapi Cekaman Kekeringan	4
2.3 Metabolomik Tanaman Padi pada Kondisi Cekaman Kekeringan	5
III METODE	6
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	6
3.2 Bahan dan Alat	6
3.3 Analisis data	8
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	9
4.1 Perubahan Tajuk dan Akar selama Cekaman Kekeringan	9
4.2 Morfologi Tanaman pada Kondisi Cekaman Kekeringan	10
4.3 Perubahan Fisiologi Tanaman pada Kondisi Cekaman Kekeringan	12
4.4 Produksi Tanaman setelah Periode Cekaman Kekeringan	15
4.5 Profil Metabolit Tanaman pada Kondisi Cekaman Kekeringan	16
V SIMPULAN DAN SARAN	23
5.1 Simpulan	23
5.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	31
RIWAYAT HIDUP	41

Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL

1	Produksi tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar pada kondisi cekaman kekeringan	16
2	Hasil analisis ragam senyawa metabolit daun pada kondisi cekaman kekeringan dan setelah <i>rewatering</i>	17

DAFTAR GAMBAR

1	Morfologi tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar pada kondisi cekaman kekeringan. Tajuk tanaman pada 3 HSP (A) dan 9 HSP (B), tingkat penggulungan daun membujur dan melintang (C), akar tanaman setelah perlakuan (D) (HBK: Tipe liar kontrol, HBC: Tipe liar perlakuan, M8K: Mutan kontrol, M8C: Mutan perlakuan, T87K: Transgenik kontrol, T87C: Transgenik perlakuan)	9
2	Jumlah daun (A) dan luas daun (B) tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar, HB (tipe liar), M8 (mutan), and T87 (transgenik <i>Silenced-B11</i>) pada kondisi kekeringan. HBK (tipe liar kontrol), HBC (Tipe liar perlakuan), M8K (mutan kontrol), M8C (mutan perlakuan), T87K (transgenik kontrol), dan T87C (transgenik perlakuan). Keterangan: HST (hari setelah tanam), HSP (hari setelah perlakuan), HSR (hari setelah <i>rewatering</i>). Bar = <i>Standard error of the mean</i>	11
3	Bobot kering akar (A) dan tajuk (B) tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar, HB (tipe liar), M8 (mutan), and T87 (transgenik <i>Silenced-B11</i>) pada kondisi kekeringan. Bar = <i>Standard error of the mean</i>	12
4	KAR daun (A) dan KAM (B) tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar, HBK (tipe liar kontrol), HBC (Tipe liar perlakuan), M8K (mutan kontrol), M8C (mutan perlakuan), T87K (transgenik kontrol), dan T87C (transgenik perlakuan) pada kondisi cekaman kekeringan. Keterangan: HSP (hari setelah perlakuan), HSR (hari setelah <i>rewatering</i>)	13
5	Persentase embolisme daun tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar, HB (tipe liar), M8 (mutan), dan T87 (transgenik <i>Silenced-B11</i>) pada kondisi cekaman kekeringan. Bar = <i>Standard error of the mean</i>	14
6	Kandungan prolin (A) dan klorofil total daun (B) tiga genotipe tanaman padi var. Hawara Bunar, HBK (tipe liar kontrol), HBC (Tipe liar perlakuan), M8K (mutan kontrol), M8C (mutan perlakuan), T87K (transgenik kontrol), dan T87C (transgenik perlakuan) pada kondisi cekaman kekeringan. Keterangan : HSP (hari setelah perlakuan), HSR (hari setelah <i>rewatering</i>)	14
7	Perbandingan jumlah senyawa metabolit yang terdeteksi diantara jenis perlakuan (A) dan genotipe tanaman (B)	16
8	Profil <i>Heatmap</i> yang dikombinasikan dengan analisis kluster berhierarki pada data senyawa metabolit hasil analisis GC-MS yang dianalisis melalui situs http://www.metaboanalyst.ca . (HBK: <i>Wild type</i> kontrol,	



HBC: *Wild type* perlakuan, HBR: *Wild type rewatering*, M8K: Mutan kontrol, M8C: Mutan perlakuan, M8R: Mutan *rewatering*, T87K: Transgenik kontrol, T87C: Transgenik perlakuan, T87R: Transgenik *rewatering*)

19

DAFTAR LAMPIRAN

1	Kurva standar prolin (Chen dan Zhang 2016)	33
2	Profil keseluruhan senyawa metabolit daun hasil analisis GCMS pada tanaman padi	34
3	Koefisien korelasi antara data morfo-fisiologi dan metabolit tiga genotipe padi pada kondisi kontrol.	37
4	Koefisien korelasi antara data morfo-fisiologi dan metabolit tiga genotipe padi pada kondisi cekaman kekeringan.	38
5	Koefisien korelasi antara data morfo-fisiologi dan metabolit tiga genotipe padi pada kondisi rewatering.	40

@Hak cipta milik IPB University