

KROMOSOM *STICKY* PADA KECAMBAH PADI (*Oryza sativa* L.) ASAL KABUPATEN BENGKALIS, RIAU TERKAIT CEKAMAN GARAM

Ermi Ningsih, Dewi Indriyani Roslim, Nery Sofiyanti

**Mahasiswa Program S1 Biologi
Bidang Genetika Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*nemi_9391@yahoo.co.id***

ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is a plant that is not resistant to the salt stress, but the development of agriculture in coastal areas requires the analysis of rice genotypes that are resistant to the salt stress. The salt stress may cause chromosomal abnormality, such as sticky chromosome. This study was aimed to analyze the influence of the salt stress on the formation of chromosomes in four rice genotypes originating from Bantan Air village, Bengkalis. This research was conducted using randomized block design (RBD) with two factors, i.e. NaCl concentrations (0 mM, 60 mM, 75 mM, and 90 mM) and the rice genotypes (IR64, Indragiri, Solok, Sadani, Yamin, and Amat Candu) with three replications for each treatment. Normal anaphase chromosomes were visible in control, whereas sticky chromosomes were seen in 90 mM salt exposure. It concluded that salt stress may cause sticky chromosomes.

Keywords: salt stress, sticky chromosome, *Oryza sativa*, Riau

ABSTRAK

Tanaman padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman yang tidak tahan cekaman garam, namun pengembangan lahan pertanian di wilayah pesisir membutuhkan analisis genotipe padi untuk mendapatkan genotipe yang tahan terhadap cekaman garam. Cekaman garam dapat menyebabkan kelainan kromosom berupa kromosom *sticky*. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh cekaman garam terhadap pembentukan kromosom *sticky* pada empat genotipe padi yang berasal dari desa Bantan Air, Kabupaten Bengkalis. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor, yaitu konsentrasi NaCl (0 mM, 60 mM, 75 mM, dan 90 mM) dan genotipe padi (IR64, Indragiri, Solok,

Sadani, Yamin, dan Amat Candu), dengan 3 kali ulangan. Anafase normal terdeteksi pada preparat kromosom tanpa perlakuan garam dan kromosom *sticky* terlihat pada preparat kromosom dengan perlakuan garam. Oleh karena itu, cekaman garam dapat menyebabkan terbentuknya kromosom *sticky*.

Kata kunci : cekaman garam, kromosom *sticky*, *Oryza sativa*, Riau

PENDAHULUAN

Tanaman padi merupakan tanaman yang tidak resisten terhadap cekaman garam (Zhen-hua *et al.*, 2012). Cekaman garam dapat menjadi masalah utama dalam pertumbuhan dan produksi tanaman padi, khususnya di daerah kering dan pesisir (Ashraf dan Harris, 2004). Pengembangan usaha pertanian di wilayah pesisir merupakan salah satu bagian dari kebijaksanaan pemerintah untuk mengatasi alih fungsi lahan dan meningkatkan produksi pangan nasional. Pada wilayah pesisir terjadi perembesan air laut yang banyak mengandung garam dan berpengaruh besar terhadap kadar garam di dalam tanah (salinitas) (Sitorus, 2012).

Cekaman abiotik juga dapat menyebabkan kelainan pada tingkah laku kromosom dalam pembelahan sel. Salah satunya adalah terbentuknya kromosom *sticky* akibat putusnya suatu kromosom dan bergabung dengan kromosom yang lain menjadi kromosom disentris. Kromosom disentris ini ditarik ke arah kedua kutub gelendong mikrotubulus pada saat anafase, sehingga membentuk jembatan anafase (Rayburn *et al.*, 2002).

Analisis tanaman padi yang tahan terhadap cekaman garam belum pernah dilakukan pada genotipe padi lokal dari desa Bantan Air, Kecamatan Bantan, Kabupaten Bengkalis. Analisis ini penting untuk mengidentifikasi dan memperoleh

genotipe padi yang tahan cekaman garam yang diharapkan dapat membantu meningkatkan produksi padi di wilayah pesisir. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi kromosom *sticky* pada genotipe padi asal Desa Bantan Air, Kecamatan Bantan, Kabupaten Bengkalis.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah bak kultur hara, *waterbath*, mikroskop, kaca objek, dan alat tulis. Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah empat genotipe padi lokal dari Desa Bantan Air, Kecamatan Bantan, Kabupaten Bengkalis, Riau, yaitu; Amat Candu, Yamin, Solok, dan Sadani. Varietas pembandingan yang digunakan adalah varietas padi Indragiri sebagai varietas padi pasang surut dan IR64 sebagai varietas padi yang tidak tahan cekaman garam tinggi. Kedua varietas diperoleh dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi Kebun Percobaan Tanaman Padi Muara, Bogor, Jawa Barat. Bahan lain yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah: larutan 0,5% khloroks, akuades, larutan hara minimal (0,400 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,65 mM KNO_3 , 0,250 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,010 mM NH_4SO_4 , dan 0,040 mM

NH₄NO₃), 0,01% Kolkisin, NaCl, 45% Asam asetat, 1N HCl, *Carbol fuchin*.

b. Prosedur Penelitian

Biji padi disterilisasi permukaan dengan cara direndam dalam larutan 0,5% khloroks selama 15 menit lalu dibilas dengan akuades, selanjutnya biji direndam dalam akuades selama 24 jam pada suhu ruang dan keadaan gelap (Roslim *et al.*, 2010).

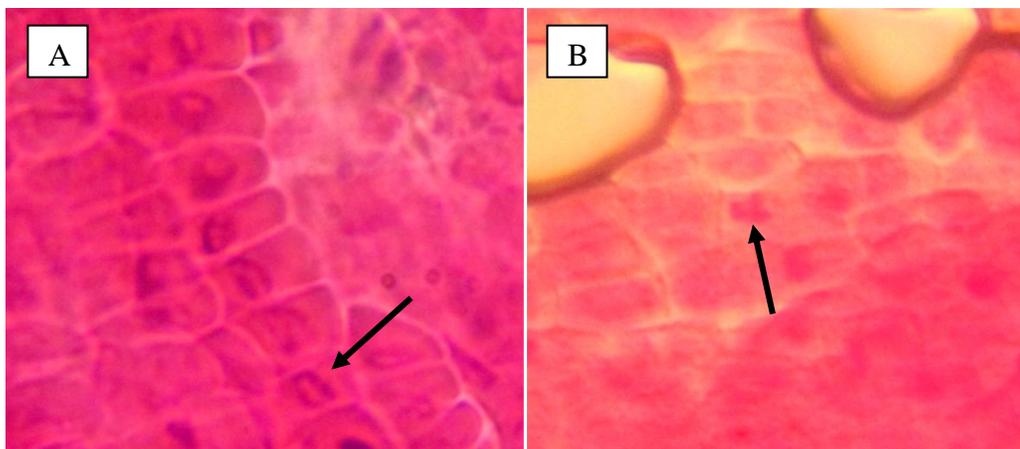
Biji padi selanjutnya dikecambahkan lalu ditumbuhkan pada larutan kultur hara minimal selama 3 hari. Setelah 3 hari, kecambah padi tersebut ditanam pada larutan hara minimal yang ditambahkan dengan 60, 75, dan 90 mM NaCl. Kecambah padi juga ditumbuhkan secara terpisah pada larutan hara minimal tanpa penambahan NaCl sebagai kontrol.

Kecambah padi pada kontrol dan perlakuan garam, selanjutnya diambil akarnya untuk pembuatan preparat kromosom. Ujung akar dicuci dengan akuades, selanjutnya direndam dalam 0,01% kolkisin selama 3 jam pada suhu

ruang. Setelah itu ujung akar dibilas dengan akuades dan difixasi dalam larutan 45% Asam asetat selama 10 menit. Akar selanjutnya dimaserasi dengan larutan 1N HCl dan 45% Asam asetat dengan perbandingan 3:1 di dalam *waterbath* pada suhu 60°C selama 10-18 menit. Akar kemudian diwarnai dengan *Carbol fuchin* selama 1 jam. Setelah 1 jam, ujung akar dipotong 1-2 mm dan diletakkan di atas gelas objek kemudian ditutup dengan gelas penutup, selanjutnya *disquash* dan diamati di bawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparat kromosom padi pada kontrol dan setelah perlakuan cekaman garam diamati pada anafase (Gambar 1). Anafase normal tampak pada Gambar 1 A. Kromosom bersaudara akan ditarik oleh gelendong mikrotubulus ke kutub sel yang berlawanan arah sehingga kromosom terlihat seperti membentuk dua garis yang saling berpisah.



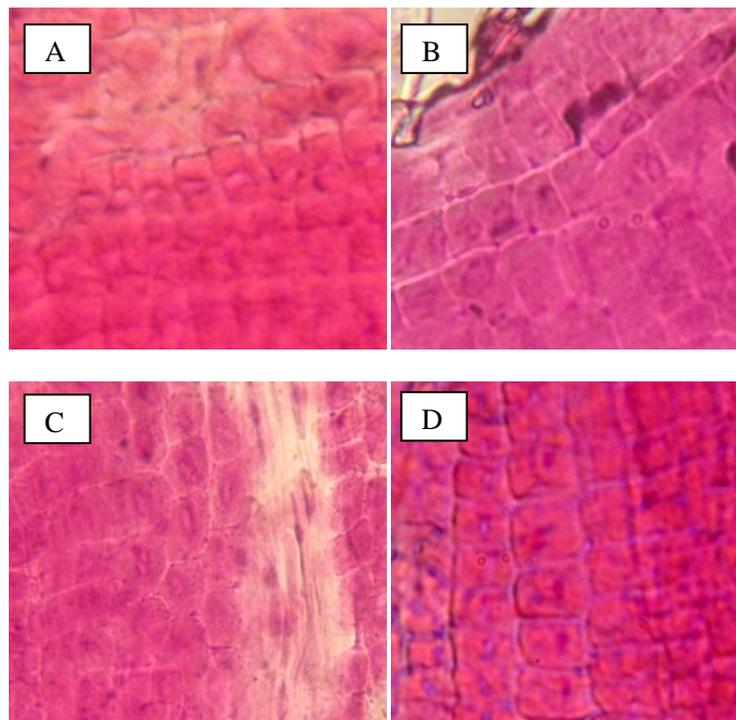
Gambar 1. Preparat kromosom padi pada varietas Indragiri. (A) Tanpa perlakuan NaCl (B) Dengan perlakuan 90 mM NaCl selama 24 jam. Tanda panah menunjukkan sel dalam keadaan anafase (perbesaran 4000×)

Kromosom *sticky* tampak pada Gambar 1 B. Kromosom mengalami perlekatan sehingga saat ditarik oleh gelendong mikrotubulus ke kutub yang berlawanan akan membentuk jembatan anafase (Hoffelder *et al.*, 2004).

Masing-masing genotipe padi dibuat preparat kromosom pada kontrol dan perlakuan NaCl 90 mM, namun tidak semua preparat kromosom saat anafase berhasil dibuat pada keenam genotipe padi yang diuji. Preparat kromosom pada genotipe padi Solok, Sadani, Amat Candu, Yamin, dan IR64 berhasil dibuat pada kontrol namun pewarnaannya belum sempurna dan anafasanya belum diperoleh secara jelas (Gambar 2).

Akar dari genotipe padi yang tercekam garam diduga mengalami kelainan dalam pembelahan sel. Diduga semakin tinggi konsentrasi garam, maka semakin terganggu pembelahan sel. Penelitian ini baru berhasil memperoleh preparat kromosom *sticky* pada genotipe padi Indragiri pada perlakuan NaCl sebesar 90 mM. Tahap anafase diperoleh pada pengambilan akar pukul 09.05 WIB.

Menurut Radic *et al.* (2004), cekaman osmotik dapat mempengaruhi pembelahan sel pada tanaman *C. ragusina*. Kelainan yang paling sering ditemui akibat cekaman osmotik adalah terbentuknya kromosom *sticky*.



Gambar 2. Preparat kromosom pada genotipe padi(A) Solok (B)Sadani (C) Yamin (D) IR64 tanpa perlakuan garam (perbesaran 4000×)

Perlakuan cekaman osmotik dapat meningkatkan terbentuknya kromosom *sticky* pada *C. ragusina* hingga tiga kali lipat dari kontrol. Toksisitas akibat cekaman osmotik yang lebih tinggi dapat menyebabkan kematian pada sel.

Kromosom *sticky* adalah kromosom yang saling lengket membentuk jembatan anafase saat pembelahan sel. Jembatan ini akan menyebabkan kromosom yang lengket terputus dan patah pada daerah acak. Kejadian tersebut memicu berbagai mutasi pada kromosom, misalnya delesi, insersi, substitusi, dan translokasi. Patahnya kromosom dapat menghasilkan kromosom yang tidak memiliki sentromer (asentris). Kromosom ini akan didegradasi oleh sel, sehingga sel akan kehilangan bagian kromosom tertentu, dan ini dapat memicu kematian sel. Pada akhirnya akan menghambat pembelahan sel di ujung akar dan laju pertumbuhan akar terhambat.

Preparat kromosom dapat dibuat dengan berbagai metode, namun tidak semua metode cocok untuk diaplikasikan pada sampel tertentu. Keberhasilan pembuatan preparat kromosom dipengaruhi oleh pengetahuan tentang waktu mitosis aktif pada sel yang akan dipreparasi. Selain itu pengalaman dan keahlian dibutuhkan untuk memperoleh preparat kromosom yang baik.

Menurut Mokodompit (2010), waktu mitosis aktif terjadi pada kultivar padi Rojolele, *Super Toy*, dan Pandan Wangi-Cianjur antara pukul 08.00-12.00 WIB. Percobaan berulang-ulang perlu dilakukan untuk mendapatkan waktu anafase pada genotipe padi yang diuji. Selain pencarian waktu anafase sel, pencarian waktu optimal dalam tahap maserasi juga

diperlukan untuk memperoleh preparat yang baik. Apabila waktu maserasi melebihi waktu optimal, maka saat *disquash* sel-sel akan saling menumpuk dan tidak dapat diamati di bawah mikroskop. Waktu maserasi yang belum optimal menyebabkan sel-sel masih keras dan tidak dapat berpecah saat *disquash*.

Proses pewarnaan preparat juga sangat mempengaruhi keberhasilan preparat kromosom. Sampel ujung akar di gelas objek harus ditutup dengan *cover glass* agar pewarna *Carbol fuchin* tidak menguap. Proses pewarnaan yang terlalu lama dapat menyebabkan sel bewarna gelap, sehingga kromosom sulit diamati di bawah mikroskop. Tekanan saat proses *squash* juga mempengaruhi keberhasilan pembuatan preparat kromosom. Apabila tekanan pengetukan terlalu pelan, maka sel-sel sulit berpecah, sedangkan bila tekanan pengetukan terlalu kuat, maka dinding-dinding sel akan pecah dan bentuk sel menjadi rusak.

KESIMPULAN

Preparat sel pada anafase normal dan kromosom *sticky* berhasil diperoleh pada genotipe padi Indragiri. Anafase normal didapatkan pada preparat tanpa perlakuan NaCl dan kromosom *sticky* didapatkan pada perlakuan NaCl 90 mM. Cekaman garam dapat menyebabkan terbentuknya kromosom *sticky* di dalam sel-sel akar padi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara melalui Bantuan Penelitian Mahasiswa Dana PNBPN tahun 2014 dari Lembaga Penelitian Universitas Riau atas nama Ermi Ningsih.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashraf M, Harris JC. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 166: 3–16.
- Hoffelder DR, Luo L, Burke NA, Watkins SC, Gollin SM, Saunders WS. 2004. Resolution of anaphase bridges in cancer cells. *Chromosoma* (2004) 112: 389–397.
- Mokodompit H. 2010. Intisari dan Materi Seminar: Karakterisasi Kromosom Padi (*Oryza sativa* L.) Kultivar Rojolele, *Super Toy*, dan Pandan Wangi-Cianjur. <http://formasigenbiougm.wordpress.com/2010/02/23/seminar-2-padi-dari-sel-hingga-molekular-2/>. Diakses pada 6 Juni 2014.
- Radic S, Prolic M, Pavlica M, Kozlina BP. 2005. Cytogenetic effects of osmotic stress on the root meristem cells of *Centaurea ragusina* L. *Environmental and Experimental Botany* 54:213-218.
- Rayburn L, Wetzel JB, Baligar VC. 2002. Mitotic analysis of sticky chromosomes in aluminum tolerant and susceptible wheat lines grown in soils of differing aluminum saturation. *Euphytica* 127: 193–199.
- Roslim DI, Miftahudin, Suharsono U, Aswidinnoor H, Hartana A. 2010. Karakter root re-growth sebagai parameter toleransi aluminium pada tanaman padi. *Jurnal Natur Indonesia* 13(1):82-88.
- Sitorus TA. 2012. Analisis Salinitas dan Dampaknya terhadap Produktivitas Padi di Wilayah Pesisir Indramayu [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor .
- Zhen-hua Z, Qiang L, Hai-xing S, Xiang-min R, Ismail AM. 2012. Responses of different rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to salt stress and relation to carbohydrate metabolism and chlorophyll content. *African Journal of Agricultural Research* 7(1): 19-27.