

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Padi

Padi merupakan tumbuhan dari famili *Poaceae* atau rerumputan. Tanaman padi merupakan salah satu tanaman berumur pendek. Tanaman ini merupakan tanaman beruas yang memiliki panjang yang bertingkat dari daun paling muda ke yang paling tua. Ciri khas dari daunnya yaitu terdapat sisik seperti bulu dan pelepah daun. Hal inilah yang membedakan padi dengan rerumputan yang lain (Makarim, 2009).

Padi (*Oryza sativa* L.) diklasifikasikan ke dalam divisi Spermatophyta, sub divisi Angiospermae, kelas Monocotyledonae, ordo Graminales, famili Graminae, genus *Oryza*, Spesies *Oryza sativa*. *Oryza sativa* sendiri terbagi menjadi dua sub spesies yaitu *Japonica* yang biasanya tumbuh di daerah subtropis dan *Indica* yang banyak ditanam di daerah tropis. Subspesies *Japonica* sendiri telah berkembang di Indonesia dan disebut dengan subspesies *Javanica* (Makarim, 2009).

Macam-macam padi dibedakan menjadi dua dasar pembeda, yaitu berdasarkan aspek budidaya ada tiga jenis padi yaitu padi gogo atau padi yang tahan akan ketersediaan air yang terbatas, padi rawa yang tumbuh di daerah rawa seperti di Kalimantan, dan padi sawah yang merupakan jenis budidaya paling banyak digunakan dan ditanam di lahan sawah. Pembeda kedua berdasarkan beras yang dihasilkan, terdapat tiga jenis padi yaitu padi pera dengan hasil yang pulen, padi ketan dengan beras yang lengket merekat serta padi wangi yang berasnya beraroma khas (Syahrizal, 2016).

Padi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Situ Bagendit dan Cabacu sebagai tetuanya. Kelebihan dari padi Situ Bagendit ialah mempunyai tinggi 99-105 cm dengan masa pemeliharaan padi selama 110-120 hari, bentuk biji ramping, warna gabah kuning bersih dengan bobot per 1000 butir mencapai 27.5 g. Tekstur nasi Situ Bagendit pulen dan merupakan padi yang tahan terhadap penyakit. Padi Cabacu merupakan padi yang berasal dari Brazil yang toleran kekeringan, tahan blas, mutu gabah yang baik dan *wide compatibility variety*. Padi Cabacu merupakan padi yang digunakan sebagai sumber genetik

perbaikan sifat tahan kekeringan dan juga mutu gabah (Hairmansis, 2005).



Gambar 1. Padi Situ Bagendit (BBPADI, 2015)

2.1.1 Bagian padi

Tanaman padi dikelompokkan menjadi dua bagian yaitu vegetatif dan generatif. Bagian vegetatif tanaman padi terdiri dari akar, batang dan daun padi. Bagian generatif padi terdiri dari bunga, malai, buah dan gabah.

2.1.1.1 Bagian vegetatif

1. Akar

Akar merupakan bagian tanaman yang berfungsi sebagai penyerap air dan unsur hara dari tanah dan disalurkan ke seluruh tubuh tanaman. Tanaman padi memiliki sistem akar serabut dimana akar primer (radikula) yang tumbuh pada awal perkecambahan yang tumbuh bersama akar-akar lain disebut seminal. Akar primer (radikula) jika mengalami kerusakan dalam proses pertumbuhan maka akar seminal akan tumbuh dengan cepat dan membuat akar tanaman padi menjadi sistem perakaran serabut. Akar seminal yang tumbuh dari ruas paling bawah batang disebut akar adventif karna akar ini tidak berasal dari embrio (Makarim, 2009).

2. Batang

Batang merupakan bagian yang menopang tanaman dan merupakan bagian yang mengantarkan unsur hara dari akar ke daun, dan sebagai tempat cadangan makanan. Batang tanaman padi terdiri dari ruas-ruas dimana ruas paling bawah merupakan paling pendek

dan semakin ke atas semakin panjang. Ruas batang padi dalamnya berongga dan bentuknya bulat (Grist, 1959).

3. Daun

Daun merupakan organ tanaman yang tumbuh di ranting biasanya berwarna hijau karena pigmen klorofil dan berfungsi sebagai tempat proses fotosintesis dengan bantuan sinar matahari. Daun padi tumbuh berselang-seling pada tiap ruas. Helaian padi terletak pada ruas batang dan berebentuk pita. Pelepah padi merupakan bagian yang menyelubungi batang. Daun padi berbeda dengan daun rerumputan lain yaitu ia memiliki lidah dan telinga daun sekaligus, sedangkan di rerumputan hanya memiliki salah satu dan bahkan tidak ada sama sekali. Organ daun merupakan bagian morfologi yang berkaitan erat dengan produktifitas. Organ daun diukur panjang, lebar, ketebalan, warna, kelembutan dan penuaan daun di dalam ilmu pemuliaan tanaman khususnya padi.

2.1.1.2 Bagian generatif

1. Malai dan Bunga Padi

Malai berupa tempat sekumpulan bunga padi yang keluar dari ruas paling atas. Panjang malai tergantung dari varietas padinya. Tiap bunga padi pada malai disebut *spikelet*. Pada hakikatnya *spikelet* merupakan bunga padi yang terdiri atas tangkai, bakal buah, lemma, palea, putik, dan benang sari serta beberapa bagian lagi yang bersifat inferior. Setiap unit bunga padi disebut *floret* dimana tiap *floret* berisi satu bunga dengan satu organ betina (pistil) dan 6 organ jantan (stamen). Di dasar bunga dekat palea terdapat 2 struktur transparan yang disebut Lodikula yang menembus lemma palea yang berpisah saat pembungaan (Makarim, 2009).

2. Buah Padi

Buah padi merupakan hasil penyerbukan dan pembuahan ovarium yang telah masak dan bersatu dengan palea. Buah memiliki beberapa bagian yaitu embrio dan endosperma. Bagian populer di masyarakat yang dikonsumsi merupakan gabah yang sudah dibersihkan kulitnya atau biasa disebut beras (Makarim, 2009).

2.2 Siklus Hidup Tanaman Padi

Siklus hidup padi terbagi menjadi tiga fase menurut De Datta pada tahun 1981 dalam Makarim pada tahun 2009 yaitu:

1. Fase Vegetatif (Perkecambahan hingga pembentukan malai).
 - a. Tahap 0

Mulai dari perkecambahan hingga munculnya apeks ke permukaan. Benih dikecambahkan melalui perendaman yang diinkubasi selama 24 jam. Saat sebelum berkecambah tahap yang menentukan biji telah berhasil diimbibisi ialah ditandai dengan adanya bakal daun dan akar berwarna putih di benih. Saat berkecambah bakal akar dan daun menembus kulit gabah. Akhir dari tahap 0 ialah sampai daun pertama muncul dan bakal akar yang memanjang.

- b. Tahap 1

Tahap pertunasan yaitu mulai muncul daun pertama dan berakhir pada saat munculnya anakan yang pertama. Tahap ini akar seminal terbentuk, daun tumbuh tiap 3-4 hari selama awal tahap pertumbuhan, kemuculan akar sekunder membentuk akar serabut permanen menggantikan radikula dan akar seminal sementara. Bibit yang berumur 18 hari siap untuk dipindah. Bibit setidaknya memiliki lima daun dan akar yang berkembang cepat.

- c. Tahap 2

Tahap anakan yaitu mulai munculnya anakan pertama sampai pembentukan anakan maksimum tercapai. Anakan muncul pada tunas aksial pada buku batang dengan menggantikan tempat daun serta memunculkan anakan sekunder yang biasanya terjadi pada hari 30 setelah pindah tanam. Anakan tersier tumbuh pada tubuh anakan sekunder seiring dengan pertambahan panjang dan besar. Anakan terus bertambah hingga akar sulit dilepas dari batang utama dan berakhir pada saat pemanjangan batang.

- d. Tahap 3

Tahap pemanjangan batang yaitu tahap sebelum terbentuknya malai pada tahap akhir pembentukan anakan. Akan terjadi tumpang tidih antara tahap 2 dan 3. Pertambahan anakan baik dalam jumlah dan panjang dan periode waktu berkaitan nyata dengan memanjangnya batang.

2. Fase Reproduksi (Pembentukan malai hingga pembungaan)

a. Tahap 4

Tahap pembentukan malai. Inisiasi primordia malai pada ujung malai menandai mulainya fase reproduksi. Primordia akan sangat terlihat saat sekitar 10 hari setelah inisiasi.

b. Tahap 5

Tahap keluarnya malai ditandai dengan kemunculan ujung malai dari pelepah daun bendera. Malai terus berkembang sampai keluar seutuhnya dari pelepah daun.

c. Tahap 6

Tahap pembungaan dimulai ketika serbuk sari keluar dari bulir dan terjadi proses pembuahan. Saat pembungaan kelopak bunga terbuka dan antera keluar dari kelopak bunga karena stamen memanjang dan serbuk sari tumpah dan kelopak bunga menutup. Proses pembungaan berlanjut sampai semua spikelet pada malai mekar. Anakan dibagi menjadi dua yaitu anakan produktif dan non-produktif.

3. Fase Pematangan (Pembungaan hingga gabah matang)

a. Tahap 7

Tahap gabah matang susu (awal) terlihat gabah mulai terisi cairan putih (serupa susu). Malai hijau dan mulai merunduk. *Senescense* (penuaan) didasar anakan berlanjut tetapi daun bendera dan daun hijau di bawahnya masih tetap hijau.

b. Tahap 8

Tahap gabah setengah matang yaitu gabah yang awalnya berupa cairan menjadi gumpalan lunak dan akhirnya mengeras. Gabah mulai menguning dan pertanaman juga terlihat menguning serta penguningan daun bagian dasar tampak semakin jelas.

c. Tahap 9

Tahap gabah matang penuh yaitu setiap gabah matang, berkembang penuh, keras dan berwarna kuning. Sejumlah daun mati terakumulasi di dasar tanaman.

2.3 Pengaruh Cekaman Kekeringan pada Tanaman

Air merupakan faktor penting dalam produksi pertanian dan makanan dan merupakan sumberdaya yang sangat terbatas. Cekaman

kekeringan dapat menyebabkan hilangnya produksi pertanian dunia, dan merupakan pengaruh yang hebat dalam ketahanan pertanian (Foley, 2011). Pemberian nutrisi secara berkala dapat meningkatkan populasi yang menghabiskan banyak air yang memaksa tanaman harus adaptif terhadap lingkungan kering. Cuaca mempengaruhi jumlah air dan frekuensi terjadinya kekeringan bahkan banjir. Hasil pertanian bergantung pada kondisi cuaca yang spesifik dan berpengaruh besar terhadap jenis cuaca (Serraj dan McNally, 2011).

Kekeringan dapat dibedakan menjadi kekeringan primer dan sekunder. Kekeringan primer yaitu kekurangan air di sekitar tanaman sendiri, sedangkan kekeringan sekunder ialah kekurangan air yang disebabkan keadaan dingin, pembekuan, panas atau kadar garam. Dengan kata lain saat sel tanaman kehilangan air dan selnya memiliki tekanan turgor lebih rendah dari nilai maksimumnya disebut dengan kekeringan air atau disebut kekeringan primer. Tanaman yang mengalami stress kekeringan baik ketika suplai air di akar menjadi sulit ataupun tingkat transpirasi menjadi sangat tinggi. Kejadian ini menghambat pertumbuhan, perkembangan dan hasil akhir produksi padi. Ketika cekaman air terjadi, tanaman bereaksi dengan melambatnya atau bahkan terhentinya perkembangan tanaman. Ini merupakan reaksi normal pada saat kekurangan air, dan sebagai tindakan bertahan hidup (Zhu, 2002). Pertumbuhan dan perkembangan tanaman akan berkurang sebagai konsekuensi dari kurangnya pertumbuhan akar, dengan berkurangnya sifat permukaan daun (lilin kutikula) (Blum, 2011).

Peningkatan jumlah bukti hasil studi tentang perubahan morfologi dini pada padi atas pemaparan kekeringan. Induksi cekaman kekeringan mengurangi pertumbuhan dan pengembangan padi. Kejadian ini juga mengurangi tekanan turgor sel di bawah cekaman, pertumbuhan sel semakin memburuk. Kekeringan menghambat perbesaran sel lebih dari pembelahan sel, merusak germinasi dan pengisian biji padi, mengurangi jumlah bulir dan tinggi tanaman (Tasma dan Asadi, 2016).

2.3.1 Pengaruh cekaman kekeringan pada sifat daun

Pentingnya helai daun dalam pengisian gabah padi sudah diakui. Variasi sifat dari helai daun diusulkan untuk memilih tanaman toleran

kekeringan. Hal ini merupakan korelasi positif antara sifat helai daun dan hasil di bawah cekaman kekeringan (Biswal & Kohli, 2013).

Leaf rolling (penggulungan daun) merupakan respon penyesuaian dari padi yang dijadikan patokan dalam menilai toleran terhadap cekaman kekeringan. Penggulungan daun merupakan hidronasti yang dilakukan untuk mengurangi penangkapan cahaya, transpirasi dan dehidrasi daun. Respon ini dapat membantu menjaga kadar air dalam tanaman. Jika sel turgor dijaga di bawah cekaman kekeringan, maka akan menghasilkan penundaan penggulungan daun. Namun, peningkatan penggulungan daun di bawah cekaman kekeringan memiliki keuntungan yaitu mencegah hilangnya air dan kerusakan akibat radiasi. Variasi diantara genotip penggulungan daun memiliki basis genetik, dan QTLs terkait dengan penggulungan daun pada padi. Penggulungan daun merupakan sebuah respon adaptasi terhadap kekurangan air, dan sudut daun merupakan sebuah karakter yang biasanya terkait dengan kelenturan dalam penggulungan daun ketika didalam mengalami kekurangan air (Chutia & Borah, 2012).

2.4 Pengaruh Cekaman Kekeringan pada Tingkat Molekular

Ditingkatan molekuler, respon terhadap cekaman kekeringan merupakan sifat yang multigenik. Beberapa dari ekspresi gen dalam padi pernah dilaporkan melindungi tanaman dari desikasi persepsi cekaman, sinyal transduksi, jaringan regulator transkripsi di dalam respon seluler atau toleransi terhadap dehidrasi. Hasil dari gen *stress-inducible* diklasifikasikan menjadi dua kelompok. Kelompok pertama termasuk protein yang langsung melindungi terhadap cekaman, melindungi sel dari dehidrasi, seperti enzim yang dibutuhkan untuk biosintesis macam-macam osmoprotektan, *late embryogenesis abundant protein*, protein antibeku, *chaperones* dan enzim detoksifikasi. Kelompok kedua yang meregulasi ekspresi gen dan sinyal transduksi terhadap respon cekaman, yang termasuk *transcription factors* dan protein kinase. Regulator *stress-induced* dan gen fungsional pernah digunakan untuk meningkatkan toleransi kekeringan melalui transfer gen. Hal ini penting untuk menganalisa fungsi dari gen-gen *stress-inducible* tidak hanya dimengerti mekanisme molekular terhadap respon cekaman saja, tetapi juga untuk memperbaiki toleransi cekaman pada tanaman dengan manipulasi gen.

Pembedahan sifat kompleks menjadi faktor-faktor komponen genetik adalah sebuah prasyarat untuk memanipulasi sifatnya. Daerah dengan genom yang mengandung gen-gen yang berikatan dengan partikel yang bersifat kuantitatif diketahui sebagai *Quantitative Trait Loci(s)* (QTLs). Pemetaan genom menggunakan marka molekuler genetik menawarkan sebuah kesempatan baik untuk menemukan gen atau mengontrol karakter kuantitatif QTLs. Banyak sekali sifat QTLs yang terkait dengan sifat komponen tahan kekeringan yang pernah dipetakan, dan yang menggunakan padi sejauh ini ada 15 pemetaan populasi. Singkatnya, banyak pemetaan populasi menggunakan QTLs dan kaitannya dengan tahan kekeringan pada saat fase reproduktif (Liu, 2008).

2.5 Marka Molekuler

Marka Molekuler adalah penanda yang dihasilkan dari DNA atau RNA. Jadi penanda biokimia yang sebenarnya molekul tidak termasuk ke dalam marka molekuler. Marka molekuler dapat disebut juga sebagai penanda DNA yang menunjukkan lokasi dari karakter genetik yang diinginkan untuk menspesifikasi perbedaan yang diinginkan. Suatu gen yang diinginkan akan dengan mudah ditemukan dengan dicari secara pendekatan molekuler.

Penanda molekuler bersifat stabil karena seperti yang telah diketahui bahwa DNA bersifat tidak terpengaruh oleh lingkungan. Penanda ini digunakan semenjak ditemukannya enzim endonuklease restriksi, teknik Southern blot, dan PCR pada 1970-an. Terdapat beberapa metode marka molekuler yang umumnya dipakai yaitu RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*); RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*); AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) dan SSR (*Simple Sequence Repeat*).

2.6 Simple Sequence Repeat (SSR)

SSR merupakan teknik deteksi ada tidaknya pita hasil amplifikasi oleh enzim polimerase yang cocok dengan primer tertentu. Primer merupakan urutan basa pendek yang menggambarkan suatu gen tertentu dan sebagai media pengkroscek ada tidaknya kode tersebut di dalam DNA yang diamplifikasi. Marka ini sangat berguna karena bersifat kodominan dan dapat diketahui lokasinya pada DNA sehingga dapat mendeteksi keberagaman genetik, dan pengaplikasiannya dapat

menggunakan metode PCR. Marka ini prinsipnya memanfaatkan proses amplifikasi PCR suatu DNA dengan menggunakan bantuan dengan primer yang mampu menghibridisasi dengan sekuen DNA. Automatisasi proses amplifikasi PCR mampu mengamplifikasi DNA sampai mendekati jumlah tidak hingga sehingga dapat divisualisasikan pada gel akrilamid atau agarosa.

Penggunaan SSR menjadi standar marka DNA yang digunakan dalam analisis genom tanaman. Telah banyak penelitian pada yang menggunakan marka molekuler SSR dalam pemetaan genetik. SSR juga digunakan dalam menaksir kemungkinan tetua yang digunakan dalam perakitan padi hibrida. Penelitian tentang marka molekuler sendiri di Indonesia telah gencar dilakukan. Karakterisasi kemiripan genetik koleksi in hibrida jagung dengan marka SSR dan Tasma. (2006) menggunakan marka molekuler untuk tingkat toleran tanaman kedelai terhadap keracunan aluminium. Kedua penelitian tersebut dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.

Keuntungan menggunakan marka SSR ialah daerah sekitar lokus mikrosatelit bersifat spesifik dan terkonservasi atau memiliki kecepatan evolusi yang relatif lebih lambat dari lokus mikrosatelit. Lokus mikrosatelit memiliki kecepatan mutasi tinggi, sehingga dapat menunjukkan variasi yang tinggi antar individu dalam spesies. Lokus mikrosatelit memiliki panjang sekitar 20-300bp yang relatif pendek sehingga dapat dibuat primer untuk mengamplifikasi daerah mikrosatelit dengan PCR. SSR dapat memperlihatkan polimorfisme dalam jumlah yang besar, stabil secara somatik dan diwariskan secara mendelian. SSR juga merupakan marker kodominan jadi heterozigot dapat teridentifikasi. Kodominan meningkatkan efisiensi dan akurasi dari pengukuran populasi genetik berdasarkan marka ini yang dibanding dengan marka RFLP dan RAPD. Karena sifat ini penanda SSR memiliki daya pembeda yang sangat tinggi dan akurat. Pemulia dapat memperoleh data dengan cepat dan dapat merancang suatu persilangan yang efisien (Winter & Kahl, 1995). Kerugian metode SSR ialah memakan biaya yang mahal. Perancangan primer membutuhkan waktu yang lama untuk menemukan lokus spesifik mencari mikrosatelit. Pekerjaannya rumit serta biaya yang tidak sedikit.

2.7 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Metode ini dikembangkan tahun 1985 oleh Kary Mullis. Reaksi PCR adalah metode enzimatik untuk melipatgandakan sekuens DNA atau RNA tertentu secara *in vitro*. Komponen-komponen yang harus tersedia dalam proses untuk melakukan PCR antara lain (1) DNA *template*; (2) Oligonukleotida primer, untuk memulai dan penanda tempat tertentu pada DNA *template* yang digandakan berkali-kali; (3) dNTP (deoksiribonukleotida trifosfat); dan (4) enzim polimerase yaitu enzim yang melakukan katalisis reaksi sintesis DNA. Dasar siklus PCR ada 30-35 siklus. Peningkatan jumlah siklus di atas 35 siklus tidak memberikan hasil yang positif (Fatchiyah dkk, 2006).

Tahap utama pada PCR terdapat tiga siklus utama. Pertama tahap denaturasi, tahap ini bertujuan untuk memisahkan antara dua rantai DNA yang berikatan. Pemanasan DNA dilakukan pada 93-95°C berfungsi untuk melepaskan ikatan hidrogen DNA dan memisahkannya menjadi dua untai yang terpisah. Tahap kedua yaitu *annealing* atau penempelan, dimana primer akan menempel pada untai tunggal DNA yang terdenaturasi. Optimalisasi suhu *annealing* dimulai dengan menghitung temperatur *melting*-nya terlebih dahulu atau 5°C di bawah T_m primer sebenarnya. *Annealing* biasanya dilakukan 2-3 menit. Tahap ketiga yaitu elongasi, dimana terjadinya proses pemanjangan untai DNA tunggal dan primer yang menempel untuk membentuk DNA yang baru. Basa nitrogen akan dirakit dari ujung 5' ke arah 3' dari untai DNA tunggal. Temperatur yang biasanya digunakan sekitar 70-72°C (Fatchiyah dkk, 2006). Selain tiga tahap itu ada tambahan tahap yaitu *full extension* yang berfungsi untuk menghomeostasiskan keadaan DNA setelah polimorfisme yang terjadi. Tahap ini dilakukan selama 5-10 menit dan pada suhu 72°C.

2.8 Seleksi Marka Molekuler Hasil Persilangan

Advanced Marker Assisted Backcrossing (AdvMABc) metode ini meliputi dua tahap. Tahap pertama adalah seleksi hasil persilangan dengan marka yang terpaut erat dengan gen yang diinginkan yang dinamakan seleksi *foreground* (*foreground selection*) dan seleksi rekombinan (*recombinant selection*). Seleksi *foreground* ini menggunakan satu marka (atau beberapa) yang terpaut sangat erat (*tightly linked*) dengan sifat yang diinginkan (apabila sudah diketahui

gen yang dimaksud dapat menggunakan marka untuk gen tersebut). (Friscth. 1999).

Seleksi *foreground* merupakan seleksi menggunakan marka yang terpaut sangat erat pada suatu sifat tertentu. Seleksi ini sangat erat kaitannya dengan akan ekspresi gen yang diperkuat dengan adanya seleksi ini. Individu yang lolos dalam tahap seleksi ini ialah individu yang memiliki semua gen target yang diinginkan.

Seleksi *background* merupakan seleksi yang menggunakan banyak marka. Seleksi ini bertujuan untuk melihat profil kromosom secara menyeluruh dan menentukan seberapa persen kemiripan anakan dengan tetua yang digunakan.