

**EKSPRESI GEN ASKORBAT PEROKSIDASE (APX) AKAR BEBERAPA
VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.) SUMATERA BARAT YANG
MENDAPAT CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN PEG**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh :

MARISSA RAHAYU

NIM. 18032126/2018

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

2022

PERSETUJUAN SKRIPSI
EKSPRESI GEN ASKORBAT PEROKSIDASE (APX) AKAR
BEBERAPA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.) SUMATERA BARAT
YANG MENDAPAT CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN
PEG

Nama : Marissa Rahayu
Nim : 18032126
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 18 November 2022

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.
NIP.19750815 200604 2 001

Disetujui Oleh:
Pembimbing



Dr. Violita, S.Si, M.Si.
NIP. 19810704 200801 2 022

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Marissa Rahayu
Nim : 18032126
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

EKSPRESI GEN ASKORBAT PEROKSIDASE (APX) AKAR BEBERAPA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.) SUMATERA BARAT YANG MENDAPAT CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN PEG

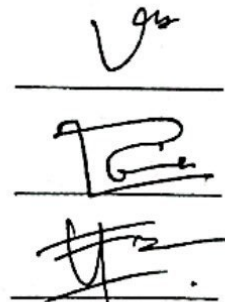
Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 18 November 2022

Tim Penguji

Nama
Ketua : Dr. Violita, S.Si, M.Si.
Anggota : Prof. Dr. Azwir Anhar, M.Si
Anggota : Afifatul Achyar, M.Si

Tanda tangan



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Marissa Rahayu
NIM/TM : 18032126/2018
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul "EKSPRESI GEN ASKORBAT PEROKSIDASE (APX) AKAR BEBERAPA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.) SUMATERA BARAT YANG MENDAPAT CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN PEG" adalah benar hasil karya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 18 November 2022

Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP.19750815 200604 2 001

Saya yang menyatakan,



Marissa Rahayu
NIM.18032126

**EKSPRESI GEN ASKORBAT PEROKSIDASE (APX) AKAR BEBERAPA
VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.) SUMATERA BARAT YANG MENDAPAT
CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN PEG**

Marissa Rahayu

ABSTRAK

Kekeringan merupakan salah satu faktor utama yang dapat menekan pertumbuhan tanaman padi (*Oryza sativa* L.), dengan mengakumulasi senyawa radikal bebas. Tanaman dapat membentuk beberapa mekanisme pertahanan terhadap cekaman kekeringan dengan cara produksi senyawa antioksidan. Salah satu antioksidan yang berperan penting adalah enzim askorbat peroksidase (APX). adanya cekaman kekeringan pada tahap pertumbuhan diduga mampu meningkatkan ekspresi gen APX. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi gen APX pada akar beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) Sumatera Barat yang mendapat perlakuan simulasi kekeringan menggunakan PEG.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilaksanakan mulai bulan Mei 2022 hingga Agustus 2022 di Laboratorium Penelitian terpadu dan Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor dan 2 kali ulangan. Faktor yang pertama adalah varietas padi yang digunakan dan faktor kedua adalah konsentrasi PEG 8000 yaitu konsentrasi 0% dan 20%. Ekspresi gen APX didapatkan dengan melakukan isolasi RNA, selanjutnya pembuatan cDNA kemudian tingkat ekspresi gen dapat diketahui dengan metode rt-PCR. Primer di desain menggunakan software Geneious Prime. Tingkat ekspresi dinormalisasikan menggunakan Housekeeping gene (β -actin). Data dianalisis dengan ragam satu arah (ANOVA).

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada pengaruh pemberian PEG 8000 untuk simulasi cekaman kekeringan terhadap ekspresi gen Askorbat Peroksidase (APX) pada akar beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) Sumatera Barat.

Kata Kunci : Ekspresi gen APX, *Oryza sativa* L., Cekaman kekeringan, PEG 8000

EXPRESSION OF THE ASCORBATE PEROXIDASE (APX) IN THE ROOTS OF SEVERAL RICE VARIETIES (*Oryza sativa* L.) WEST SUMATERA THAT RECEIVED DROUGHT USING PEG

Marissa Rahayu

ABSTRACT

Drought is one of the main factors that can suppress the growth of rice plants (*Oryza sativa* L.), by accumulating free radical compounds. Plants can form several defense mechanisms against drought stress by producing antioxidant compounds. One of the antioxidants that plays an important role is the enzyme ascorbate peroxidase (APX). The presence of drought stress at the growth stage is thought to be able to increase the expression of the APX gene. This study aims to determine the expression of the APX gene in the roots of several rice varieties (*Oryza sativa* L.) West Sumatra which received drought simulation treatment using PEG.

This research is an experimental research conducted from May 2022 to August 2022 at the Integrated Research Laboratory and Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology, FMIPA, Padang State University. This study used a completely randomized design (CRD) which was arranged in a factorial manner with 2 factors and 2 replications. The first factor is the rice variety used and the second factor is the concentration of PEG 8000, namely the concentration of 0% and 20%. APX gene expression was obtained by isolating RNA, then making cDNA and then the level of gene expression could be known by the rt-PCR method. The primer was designed using Geneious Prime software. Expression levels were normalized using Housekeeping gene (β -actin). Data were analyzed with one-way variance (ANOVA).

The results showed that there was no effect of giving PEG 8000 for simulation of drought stress on the expression of the Ascorbate Peroxidase (APX) gene in the roots of several rice varieties (*Oryza sativa* L.) West Sumatra.

Keywords: APX gene expression, *Oryza sativa* L., Drought stress, PEG 8000

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia- Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Ekspresi Gen Askorbat Peroksidase (APX) Akar Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) Yang Mendapat Perlakuan Simulasi Kekeringan Menggunakan PEG”. Sholawat beserta salam semoga senantiasa tersampaikan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Violita, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan waktu, nasehat, saran, pikiran dan tenaga untuk membimbing dalam melaksanakan kegiatan penelitian dan mengarahkan penulis sehingga bisa menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Prof. Dr. Azwir Anhar, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi.
3. Ibu Afiatul Achyar, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran, serta waktu dan tenaga dalam proses penelitian penulis.
4. Bapak Dr. Abdul Razak, M.Si. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan nasehat dan saran selama di Departemen Biologi
5. Seluruh dosen jurusan biologi serta staf tata usaha yang telah memberikan kemudahan dalam proses penyelesaian skripsi ini.
6. Kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan, doa dan segalanya dalam penyusunan skripsi.
7. Keluarga besar yang senantiasa memberikan doa serta dukungan.

8. Sahabat seperjuangan yaitu Ruri, Yuka, Fitri, Intan, Santi, Sri dan, untuk semua dukungan dan bantuannya dalam penulisan skripsi ini.
9. Keluarga besar Biologi 2018 yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
10. Semua pihak yang telah ikut berpartisipasi dan memberikan bantuan demi lancarnya penulisan skripsi ini.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi setiap orang yang membacanya.

Padang, 31 Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Hipotesis Penelitian.....	3
E. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Padi.....	4
B. Cekaman Kekeringan	5
C. Askorbat Peroksidase	7
D. Ekspresi Gen	9
BAB III METODE PENELITIAN.....	12
A. Jenis Penelitian.....	12
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	12
C. Alat dan Bahan.....	12
D. Rancangan Penelitian.....	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
A. Hasil Penelitian	20
B. Pembahasan.....	22
BAB V PENUTUP.....	26
A. Kesimpulan	26
B. Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR TABEL

1. Kombinasi Perlakuan Varietas Padi dan Konsentrasi PEG 8000	13
2. Nama varietas padi yang digunakan	14
3. Komposisi Reaksi rt-PCR	16
4. Profil Siklus Amplifikasi cDNA APX dengan rt-PCR	17
5. Komposisi reaksi rt-PCR untuk housekeeping gene.....	17
6. Profil Siklus rt-PCR Housekeeping gene.....	18
7. Rata-rata Konsentrasi dan Kemurnian RNA Total.....	20

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Padi merupakan sumber makanan pokok sebagian besar penduduk di Indonesia. Padi menyediakan 20% sumber energi, selain itu juga mengandung tiamin, riboflavin, niasin dan serat. Kebutuhan pangan terutama beras dari tahun ke tahun semakin meningkat seiring dengan laju pertumbuhan penduduk. Luas panen padi pada 2021 mencapai sekitar 10,41 juta hektar, mengalami penurunan sebanyak 245,47 ribu hektar atau 2,30 persen dibandingkan luas panen padi di 2020 yang sebesar 10,66 juta hektar. Produksi padi pada 2021 yaitu sebesar 54,42 juta ton GKG, mengalami penurunan sebanyak 233,91 ribu ton atau 0,43 persen dibandingkan produksi padi di 2020 yang sebesar 54,65 juta ton GKG. (BPS, 2022)

Tanaman padi mempunyai habitat asli semi akuatik sehingga rentan terhadap kondisi kekurangan air. Air merupakan faktor pembatas utama yang menentukan produksi padi. Defisit air pada tanaman menyebabkan penurunan tekanan turgor sel, ketidakseimbangan antara penyerapan air dan laju transpirasi (Gowda *et al.*, 2011). Air merupakan salah satu komponen proses fotosintesis dan berbagai proses biokimia seperti sintesis energi dan pembentukan jaringan baru (Chavarria & Santos, 2012). Dampak keterbatasan ketersediaan air (cekaman kekeringan) terhadap penurunan produksi dan distribusi tumbuhan terestrial cenderung lebih besar dibanding yang diakibatkan oleh pengaruh cekaman biotik dan abiotik lain.

Cekaman kekeringan merupakan salah satu bentuk cekaman abiotik yang dapat menginduksi berbagai respons pada tingkat sel dan jaringan tanaman yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman padi (Bartels & Sunkar 2005). Pada tahap awal cekaman kekeringan menyebabkan berkurangnya pembukaan stomata untuk meminimalisir kehilangan air dibawah kondisi cahaya berlebihan. Peristiwa ini menyebabkan terjadinya penurunan konsentrasi CO₂ intrasel sehingga tanaman mengalami over reduksi pada transfer elektron fotosintesis. Hal ini mengakibatkan

terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang diawali dengan pengikatan pada transfer elektron fotosintesis. Proses selanjutnya akan terbentuk senyawa ROS seperti superoksida, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil.

Salah satu respon tanaman menghadapi hal tersebut dengan mengaktifkan enzim antioksidan antara lain katalase (CAT), askorbat peroksidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), glutathione reduktase (GR), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), glutathione S-transferase (GST), dan peroxiredoxin (PRX) (Nahar *et al.* 2018). Komponen pertahanan tersebut akan menangkap ROS sehingga tidak berbahaya bagi tanaman. Salah satu yang berperan penting yaitu APX (Hamim *et al.*, 2017).

APX berperan penting dalam mengubah hidrogen peroksida, yang dilakukan dengan bantuan asam askorbat, sebagai donor elektron untuk reduksi hidrogen peroksida menjadi air; selama reaksi ini, asam askorbat diubah menjadi monodehydroascorbate (Nahar *et al.*, 2018) sehingga tidak berbahaya bagi sel tanaman. Telah diketahui bahwa hingga saat ini peningkatan produksi padi diarahkan pada terbentuknya varietas yang mampu bertahan pada kondisi kekeringan. Pencegahan pembentukan ROS ini menjadi salah satu faktor yang dapat mengatasi penurunan produksi padi akibat kekeringan. Mekanisme anatomi, fisiologi, termasuk gen-gen yang terlibat dalam pembentukan ROS menjadi hal yang penting untuk diketahui mekanisme yang terjadi selama kekeringan. Hal ini diperlukan sebagai informasi awal untuk menghasilkan varietas pada tahan kekeringan.

Simulasi lingkungan yang mengalami cekaman kekeringan dapat dilakukan dengan perlakuan pemberian PEG (*Polyethylene glycol*). Penggunaan PEG yang dilarutkan dalam air dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air (Michel & Kaufmann, 1973). PEG merupakan bahan yang terbaik untuk mengontrol potensial air dan tidak dapat diserap tanaman sehingga tidak menyebabkan keracunan pada tanaman (Verslues *et al.*, 2006). Pada penelitian ini digunakan PEG 8000 yang mempunyai berat molekul kurang lebih 8000 Dalton dengan bentuk padatan kristalin. Menurut Violita & Azhari (2021) penggunaan PEG 8000 dapat menyebabkan penurunan potensial air pada media tanam sehingga menurunkan pertumbuhan kecambah. Sebelumnya sudah

diidentifikasi beberapa varietas biji padi di Sumatera Barat didapatkan jenis padi ada tiga yaitu toleran , sensitif , dan moderat. Cekaman kekeringan dapat mempengaruhi ekspresi gen pada tanaman. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang “Ekspresi gen Askorbat Peroksidase (APX) akar beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) Sumatera Barat yang mendapat perlakuan simulasi cekaman kekeringan dengan menggunakan PEG”.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana tingkat ekspresi gen Askorbat Peroksidase (APX) akar beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) Sumatera Barat yang mendapatkan perlakuan simulasi kekeringan menggunakan PEG ?

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui tingkat ekspresi gen Askorbat Peroksidase (APX) akar beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) Sumatera Barat yang mendapatkan cekaman kekeringan menggunakan PEG.

D. Hipotesis

Cekaman kekeringan menggunakan PEG menyebabkan adanya perbedaan tingkat ekspresi gen APX pada beberapa varietas padi (*Oryza sativa* l) di Sumatera Barat.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah

1. Menambah khasanah penelitian mengenai ekspresi gen Askorbat Proksidase (APX) yang terdapat pada akar padi saat terjadi cekaman kekeringan
2. Memberikan informasi terkait mekanisme tanaman yang mengalami cekaman kekeringan
3. Menambah wawasan di bidang genetika molekuler
4. Sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.