

RINGKASAN

Kedelai [*Glycine max* (L.) Merr.] merupakan salah satu produk pertanian dengan permintaan yang tinggi tetapi belum dapat dipenuhi dari produksi nasional Indonesia. Salah satu kendala dalam peningkatan produksi kedelai adalah berkurangnya ketersediaan lahan produktif akibat alih fungsi lahan. Oleh karena itu, pemanfaatan lahan suboptimal seperti halnya lahan salin menjadi alternatif dalam upaya mengatasi masalah tersebut. Tanah dengan tingkat salinitas tinggi dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Untuk itu, perlu digunakan tanaman, dalam hal ini varietas kedelai, yang toleran akan salinitas. Tanaman merespon salinitas dengan mengakumulasi asam amino prolin, yang di dalam jalur biosintesisnya, terlibat enzim kunci P5CS. Ekspresi enzim ini diatur oleh gen *P5CS*. Perubahan ekspresi gen tanpa adanya alterasi sekuen DNA, atau yang dikenal sebagai epigenetik, antara lain dapat terjadi melalui mekanisme metilasi DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola metilasi DNA pada varietas kedelai toleran salin (Grobogan) dan varietas kedelai tidak toleran salin (Sinabung) yang tercekam salinitas dan hubungannya dengan akumulasi prolin pada kedua varietas kedelai tersebut.

Penelitian dilaksanakan baik secara eksperimental maupun eksploratif. Metode eksperimental dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor, yaitu tingkat salinitas dan jenis varietas. Faktor tingkat salinitas terdiri atas 0 mM dan 120 mM, sedangkan faktor jenis varietas terdiri atas varietas Grobogan dan varietas Sinabung. Tiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 6 kali sehingga total terdapat 24 unit percobaan. Variabel bebas berupa varietas kedelai dan tingkat salinitas, sedangkan variabel terikat berupa kandungan prolin dan pola metilasi gen *P5CS*. Parameter yang diamati adalah kadar prolin dan jumlah sitosin yang termetilasi pada fragmen gen *P5CS*. Sementara itu, metode eksploratif dilakukan dengan mengamati pola metilasi gen *P5CS* pada tiap varietas kedelai dengan tingkat salinitas yang berbeda. Pola metilasi dilihat berdasarkan hasil sekuensing menggunakan metode *pyrosequencing* dan hasilnya dianalisis secara deskriptif. Kandungan prolin diukur dengan metode reaksi prolin ninhidrin dan hasilnya dianalisis menggunakan ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%. Peningkatan kandungan prolin dihitung dan diuji menggunakan uji t (t-test) dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya pengaruh yang signifikan pada interaksi antara faktor kultivar dan faktor salinitas terhadap kandungan prolin kedelai. Namun, salinitas sebagai faktor tunggal menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kandungan prolin kedelai. Demikian pula, perbedaan varietas menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan kadar prolin kedelai. Pola metilasi yang dianalisis dari persentase tiga situs metilasi pada kedua kultivar dengan salinitas yang berbeda menunjukkan tidak adanya perbedaan dan tidak adanya hubungan dengan kandungan prolin kedelai.

Kata Kunci: *gen P5CS, kedelai, pola metilasi, prolin, salinitas*

SUMMARY

Soybean [(*Glycine max* (L.) Merr.)] is one of the agricultural commodities of high demand but has not yet been fulfilled by Indonesia's national production. One of the obstacles in increasing soybean production is the reduced availability of productive lands due to land use conversion. Therefore, the employment of suboptimal lands, such as saline lands, becomes an alternative plan to solve this problem. Soils of high salinity can disturb plant growth and development. For this reason, plants including soybean varieties of saline-tolerant are necessarily used. Plants respond to salinity by accumulating the amino acid proline, in which the biosynthetic pathway involves P5CS as the key enzyme. The expression of this enzyme is regulated by the *P5CS* gene. Changes in gene expression without alterations in the DNA sequence, known as epigenetics, can occur through DNA methylation mechanisms. This study aims to determine the DNA methylation patterns in a saline-tolerant soybean variety (Grobogan) and a saline-sensitive soybean variety (Sinabung) under salinity stress as well as their relationship with proline accumulation in both soybean varieties.

The study was conducted both experimentally and exploratively. The experimental method was arranged in a factorial Completely Randomized Design (CRD) using two factors, namely salinity level and type of varieties. The salinity level factor consisted of 0 mM and 120 mM, while the variety type factor consisted of Grobogan and Sinabung varieties. Each treatment combination was subjected to six replications, resulting in a total of 24 experimental units. The independent variables were soybean varieties and salinity levels, while the dependent variables were proline contents and the methylation patterns of the *P5CS* gene. The parameters observed were proline levels and the number of methylated cytosines in the *P5CS* gene fragment. Meanwhile, the exploratory method involved examination of the methylation pattern of the *P5CS* gene in each soybean variety at different salinity levels. The methylation pattern was observed based on sequencing results using the pyrosequencing method and was analyzed descriptively. Proline content was measured using the proline ninhydrin reaction method and analyzed using ANOVA at a 95% confidence level. The increase in proline content was calculated and tested using a t-test with a 95% confidence level.

The results showed that no significant effect of interaction between variety and salinity factors on the proline content of soybeans was observed. Nevertheless, salinity as a single factor had a significant effect on the proline content of soybeans. Similarly, differences in varieties showed a significant effect on the increasing level of proline content in soybeans. The methylation patterns analyzed from the percentage of three methylation sites in both cultivars under different salinity conditions showed no difference and indicate no correlation with the proline content of soybeans.

Keywords: *methylation patterns, P5CS gene, proline, salinity, soybean*