
**PEMULIAAN MUTASI UNTUK MENURUNKAN KANDUNGAN
ASAM FITAT (*Low Phytic Acid*) PADA PADI (*Oryza sativa*, L.)**

Azri Kusuma Dewi

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN, Jakarta

ABSTRAK

PEMULIAAN MUTASI UNTUK MENURUNKAN KANDUNGAN ASAM FITAT (*Low Phytic Acid*) PADA PADI (*Oryza sativa*, L.). Asam fitat, myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate (Ins P₆), adalah salah satu senyawa yang mengandung posphat terbanyak dalam biji yang masak dan senyawa anti nutrisi dalam tanaman. Senyawa ini dianggap dapat menyerap ion-ion logam, garam yang sebagian besar dibuang melalui urin dan feses, sehingga mengurangi penyerapan unsur mineral penting baik pada manusia dan hewan. Beras dengan asam fitat rendah merupakan makanan yang baik bagi masyarakat penderita malnutrisi dan sangat cocok untuk makanan bayi, dan orang lanjut usia. Beras dengan asam fitat rendah dapat dihasilkan melalui teknik mutasi induksi. Kegiatan penelitian untuk menurunkan kandungan asam fitat pada padi telah dilakukan terhadap 3 varietas padi hasil litbang BATAN yaitu Atomita 1, Atomita 4 dan Diah Suci. Ketiga varietas ini diiradiasi dengan sinar gamma dosis 0,2 kGy. Seleksi mutan rendah asam fitat dimulai pada malai M₂. Dari hasil seleksi hanya galur mutan 873 yang berasal dari radiasi Diah Suci homogen rendah asam fitat pada standar 3 dan hasil analisisnya stabil dari generasi ke generasi, dan galur ini masih dalam uji dan evaluasi agronomik dan genetik.

Kata kunci : Pemuliaan mutasi, rendah asam fitat, padi

ABSTRACT

MUTATION BREEDING FOR LOW PHYTIC ACID CONTENT IN RICE (*Oryza sativa*, L.). Phytic acid, myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate (Ins P₆), is the most abundant phosphorous-containing compound in mature seeds, and antinutrient compound in plant. It is considered as a compound, which can strongly absorbs metal ions, forming salts that largely are excreted through urine and faeces. It can reduce the potential absorption of minerals by human and animal. Rice with low phytic acid is a good nutrient source for people suffering from malnutrition, and also has a potential value for use in infant, and elderly people feed. Low phytic acid of rice can be produced through induced mutation technique. Mutation breeding for low phytic acid contents in rice was conducted using three high yielding varieties (BATAN varieties) which are Atomita 1, Atomita 4 and Diah Suci. The seeds of these varieties were irradiated by gamma rays with a dose of 0,2 kGy. The selection for low phytic acid mutan started on M₂ panicles. Among the selected lines only line No.873, derived from irradiated Diah Suci, was homogeneous on standard 3 and maintained stable from generation to generation. This line is now under the agronomical and genetical evaluation.

Key words : *Mutation breeding, Low phytic acid, rice*

PENDAHULUAN

Padi merupakan makanan utama bagi sebagian besar penduduk dunia, terutama di daerah kawasan Asia Timur dan Pasifik, di mana lebih dari 90% tanaman ini ditanam (1). Namun problem malnutrisi (*micronutrient deficiencies*) seperti kekurangan zat besi, vitamin A, Iodin, Zn, asam folat dan vitamin B kompleks, justru masih menjadi masalah utama di kawasan tersebut, terutama pada anak-anak dan wanita hamil. Asam fitat yang terdapat dalam biji-bijian turut berperan terhadap defisiensi unsur zat besi dan Zn pada penduduk yang menggunakan sereal seperti beras dan kacang-kacangan sebagai sumber makanan pokoknya (2).

Asam fitat, myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate (Ins P₆), adalah salah satu senyawa yang mengandung posphat terbanyak dalam biji yang masak, umumnya kandungan P dalam asam fitat berkisar 65-80 % dari total P dalam biji normal (3). Kadar asam fitat dalam biji cukup tinggi, oleh sebab itu senyawa ini dapat menyerap ion-ion sehingga mengurangi potensi penyerapan mineral oleh tubuh manusia dan hewan seperti unsur Fe, Zn, Ca, Mg (4, 5, 6). Dalam biji padi, 10-20 % adalah P *cellular* (DNA, RNA, dll), 3-5 % P anorganik dan 65-75 % P asam fitat. Lebih lanjut Hurrell (7) menyatakan bahwa asam fitat adalah penghambat potensial terhadap penyerapan zat besi yang tersedia secara alami maupun zat besi yang diserap dari bahan pangan yang berasal dari sereal atau kekacangan dan merupakan penyebab utama masalah defisiensi zat besi pada bayi. Asam fitat merupakan senyawa anti nutrisi, yang dalam jumlah banyak dapat menghambat penyerapan unsur mineral penting oleh tubuh, sehingga unsur tersebut dibuang keluar tubuh melalui *urine* dan *feces*.

Menurut Rutger (8) beras dengan asam fitat rendah merupakan sumber nutrisi yang baik bagi masyarakat penderita malnutrisi (kekurangan gizi) dan sangat cocok untuk makanan bayi, orang sakit dan orang lanjut usia. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan sebelumnya penurunan kadar asam fitat hanya bisa dilakukan melalui teknik mutasi induksi. Namun saat ini telah diperoleh varietas padi dengan kandungan asam fitat rendah baik dari Amerika (Kaybonet) atau Cina (lpa1-1), sehingga dapat juga digunakan sebagai sumber genetik. Biji padi dengan kandungan asam fitat yang rendah, akan menyebabkan peningkatan penyerapan unsur-unsur essensial yang dibutuhkan tubuh seperti Fe, Zn, dan vitamin (2).

Bagi orang yang menderita malnutrisi atau kekurangan gizi dan melakukan diet ketat, mengkonsumsi beras dengan kadar asam fitat tinggi mungkin akan beresiko terhadap berkembangnya penyakit rakhitis (defisiensi kalsium), anemia (defisiensi zat besi) dan kerdil (defisiensi seng). Oleh sebab itu penurunan kadar asam fitat pada bahan pangan yang berasal dari biji-bijian seperti beras, gandum perlu dilakukan dan diperuntukkan pada orang yang mengalami gangguan gizi (8, 9).

Pemuliaan mutasi untuk menurunkan asam fitat telah dilakukan pada jagung, barley, padi, gandum dan kacang kedelai. Penelitian yang dilakukan pada tanaman padi baru menemukan satu gen termutasi yang mengontrol asam fitat, yaitu gen *low phytic acid 1-1 (lpa 1-1)*. Dari studi genetik yang dilakukan di Cina diperoleh rasio segregasi biji padi yang mengalami mutasi rendah asam fitat dengan yang normal pada populasi F_2 yaitu 1:3, ini mengindikasikan bahwa mutasi yang terjadi dikontrol oleh gen resesif tunggal (10), gen resesif tersebut terletak pada kromosom 2 (2).

Varietas padi yang produksinya tinggi dengan kandungan asam fitat rendah adalah sangat ideal untuk mengatasi masalah malnutrisi tersebut. Pada program pemuliaan untuk mendapatkan tanaman padi yang rendah asam fitat dibutuhkan suatu metode yang dapat menyeleksi mutan padi rendah asam fitat dari populasi yang banyak dalam waktu singkat. Hal ini dapat dilakukan dengan mengevaluasi konsentrasi total dari P organik, P asam fitat dan P anorganik. Dengan mengetahui kandungan P anorganik dalam biji, dapat diperkirakan kandungan asam fitat, di mana P anorganik tinggi berarti asam fitatnya rendah (11). Kandungan P anorganik mudah di analisis secara kualitatif, sehingga dapat dilakukan seleksi individu secara massal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan mutan padi yang rendah kandungan asam fitatnya.

BAHAN DAN METODE

Radiasi material dasar

Material dasar yang digunakan adalah tiga varietas padi hasil litbang BATAN yaitu Atomita 1, Atomita 4 dan Diah Suci. Pemilihan material didasarkan pada 2 syarat, yaitu pertama merupakan varietas unggul nasional agar kalau mutan LPA (*Low*

Phytic Acid) dapat dilepas sebagai varietas baru, petani mau menanam karena produksinya yang tinggi, syarat kedua adanya sifat yang dipandang lebih menguntungkan. Varietas Atomita 1 dipilih selain karena produksi tinggi dan rasa nasinya enak, kandungan zat besinya tinggi. Varietas Atomita 4, meskipun kandungan zat besinya rendah, tapi dapat beradaptasi baik di lahan dengan kandungan Fe tinggi/lahan pasang surut. Varietas Diah Suci adalah varietas nasional dengan produksi tinggi, rasa nasi enak dan sudah ditanam luas di Indonesia. Sebanyak 100 gr benih dari masing-masing varietas diradiasi dengan sinar gamma dosis 0,2 kGy. Selanjutnya materi yang sudah diradiasi ditanam untuk mendapatkan benih M_2 .

Penanaman generasi M_1 dan M_2

Tanaman M_1 dari masing-masing varietas ± 1000 tanaman dipanen dan kemudian ditanam kembali seluruhnya menjadi tanaman M_2 , dengan total populasi per varietas ± 20.000 tanaman. Seleksi rendah asam fitat dilakukan terhadap populasi M_2 -nya. Tanaman M_2 dipanen dengan mengambil tiga malai per rumpun, dan dimasukkan ke dalam kantong tanaman. Selanjutnya gabah dikeringkan sampai kadar airnya mencapai $\pm 12\%$, dan biji dianalisis kandungan asam fitatnya di laboratorium. Analisis dilakukan dengan mengambil delapan biji padi dari malai tanaman M_2 yang dipanen dan sisanya ditanam kembali di lapangan sebagai tanaman M_3 , apabila dari hasil analisis didapatkan galur-galur mutan yang terdeteksi rendah kandungan asam fitatnya.

Seleksi rendah asam fitat

Seleksi cepat asam fitat pertama dilakukan pada malai tanaman M_2 dari masing-masing varietas. Jumlah malai M_2 yang diseleksi pada varietas Atomita 1, Atomita 4 dan Diah Suci berturut-turut adalah 2.040 malai, 1.720 malai dan 3.047 malai. Apabila diperoleh galur mutan yang homogen rendah asam fitat, maka seleksi rendah asam fitat dilakukan kembali pada tanaman generasi berikutnya sampai diperoleh galur mutan yang homogen. Seleksi cepat rendah asam fitat dilakukan di laboratorium, menggunakan metoda yang dikembangkan oleh Chen's dan Toribara (12), yaitu dengan menambahkan *Chen's reagent* (H_2SO_4 6 N, amonium molibdat 2,5 %,

ascorbut acid 10 %, dd H₂O) ke dalam ekstrak biji padi. Pengukuran kandungan asam fitat dilakukan dengan cara sebagai berikut: dari tiap malai diambil 8 biji padi untuk dipecahkan dengan palu. Selanjutnya setiap biji dimasukkan ke dalam cekungan *microtiter plate* yang berisi 96 cekungan dan ditambahkan 300 µl 0,4 M HCl (10 µl untuk tiap mg berat gabah). Ekstrak biji dibiarkan satu malam pada temperatur kamar, kemudian diambil 10 µl larutan ekstraksi per cekungan untuk dipindahkan ke dalam cekungan *microtiter plate* baru. Selanjutnya tambahkan 90 µl ddH₂O dan 100 µl *Chens reagent*. Setelah dua jam pada temperatur kamar dilakukan pengamatan perubahan warna yang terjadi, dan bandingkan dengan warna pada larutan standar (KH₂PO₄ 1 mM, HCl 0,4 M, dd H₂O). Komposisi larutan standar disajikan pada Tabel 1. Semakin biru larutan sampel berarti semakin rendah kandungan asam fitat atau semakin tinggi kandungan fosfor anorganik.

Tabel 1. Komposisi larutan standar

No Standar	Kandungan P anorganik (ppm)	1 mM KH ₂ PO ₄ (µ l)	0,4 M HCl (µ l)	Double destiled H ₂ O
1	0	0	10	90
2	0.775	5	10	85
3	2.325	15	10	75
4	4.650	30	10	60
5	6.975	45	10	45

Keterangan :

Standar 1 = 0,000 ppm kandungan Fosfor anorganik
2 = 0,775 ppm kandungan Fosfor anorganik
3 = 2,325 ppm kandungan Fosfor anorganik
4 = 4,650 ppm kandungan Fosfor anorganik
5 = 6,975 ppm kandungan Fosfor anorganik

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa penurunan kadar asam fitat awalnya hanya bisa dilakukan melalui teknik mutasi induksi, karena dalam koleksi plasma nutfah idak ada varietas yang LPA (*Low Phytic Acid*). Menurut Raboy *et al* (3,

12, 13), dari satu biji padi mengandung sekitar 4 mg/g P total, di mana 3 mg/g P total adalah P pada asam fitat dan sekitar 0,2 mg/g P total (kurang dari 5% phosphat total dalam biji) adalah kandungan P anorganik. Dengan teknik mutasi maka kandungan P pada asam fitat dapat diturunkan antara 45-70%. Pada tanaman sereal asam fitat umumnya terdapat sekitar 80% di lapisan aleuron dan 20% pada embrio dan skutelum (14).

Di samping melakukan perbaikan kandungan asam fitat pada ketiga varietas tersebut dengan teknik mutasi, kegiatan seleksi cepat rendah asam fitat juga dilakukan terhadap sebagian varietas padi lainnya yang ada di Indonesia, data hasil seleksi disajikan pada Tabel 2.

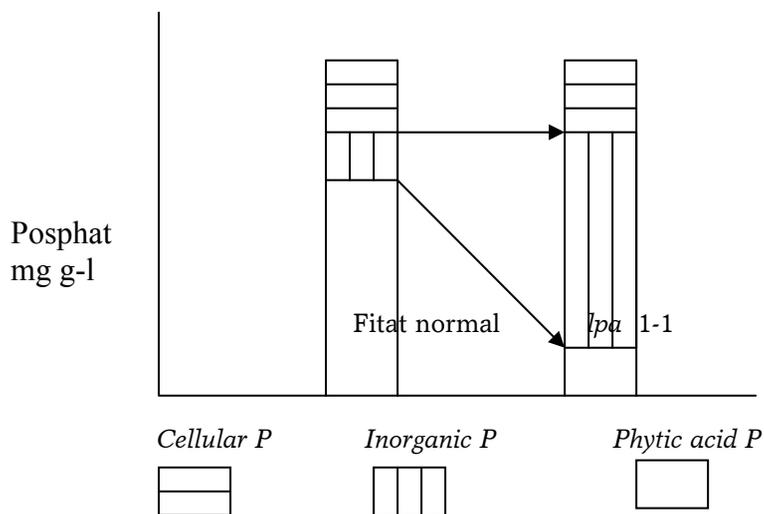
Tabel 2. Data pengamatan cepat asam fitat pada beberapa varietas padi Indonesia

No.	Varietas	Standar nilai asam fitat	No.	Varietas	Standar nilai asam fitat
1.	Atomita 1	1-2	9.	Kahayan	2
2.	Atomita 2	1-2	10.	Winongo	2
3.	Atomita 3	1	11.	Diah Suci	1-2
4.	Atomita 4	1-2	12.	Pelita 1/1	1-2
5.	Cilosari	1-2	13.	Cisadane	1-2
6.	Situgintung	1-2	14.	IR 64	1-2
7.	Meraoke	1	15.	Pandan wangi	1-2
8.	Woyla	1-2	16.	Pandan Putri	1-2

Keterangan : Standar nilai 1 = tinggi asam fitat
Standar nilai 5 = rendah asam fitat

Dari pengamatan cepat asam fitat yang telah dilakukan pada 16 varietas padi tersebut terlihat rerata standar nilai varietas Atomita 1, Atomita 4 dan Diah Suci sama yaitu antara 1-2, yang berarti kandungan asam fitat pada biji dari masing-masing varietas tersebut masih tinggi. Dan apabila kita melihat keterangan komposisi larutan standar pada Tabel 1, dimana asam fitat pada standar 1-2 berarti menunjukkan kandungan phosphor anorganik per bijinya setara dengan 0-0,775 ppm. Oleh sebab itu perlakuan mutagen dengan sinar gamma untuk memperbaiki kandungan asam fitat pada ketiga varietas tersebut perlu dilakukan.

Biasanya proses mutasi dapat menyebabkan terjadinya penurunan kandungan P asam fitat dan meningkatkan P anorganik, namun tidak mempengaruhi kadar P total yang terdapat dalam biji. Seperti pada *lpa 1-1* terjadi penurunan asam fitat sebesar 45 % untuk P asam fitat dalam biji, hal tersebut tidak berpengaruh terhadap kandungan P total atau komponen lainnya dalam biji (14, 15). Pengurangan P asam fitat dalam biji seiring dengan peningkatan P anorganik, sehingga jumlah P asam fitat dengan P anorganik relatif tidak berubah apabila dibandingkan dengan biji padi normal, seperti ilustrasi yang dibuat oleh Lagoda (14) pada Gambar 1. Apabila dalam biji normal mengandung 0,2 - 0,5 mg/g P anorganik, maka biji padi *lpa 1-1* mengandung sekitar 1,0 mg/g P anorganik (2, 16, 17).

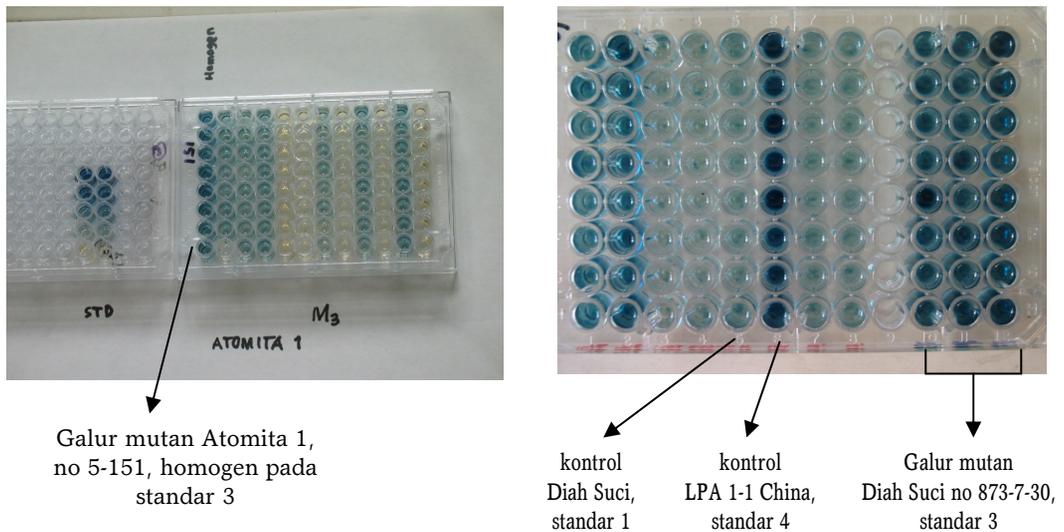


Gambar 1. Komposisi posphat dalam genotipe biji normal dan biji rendah asam fitat (14)

Metoda seleksi cepat rendah asam fitat pada dasarnya mengukur kandungan posphat anorganik dalam biji tanaman. Kandungan posphat anorganik ini berbanding terbalik dengan kandungan P asam fitat. Analisis ini bersifat semi otomatis, yaitu menguji fenotipe *high inorganic phosphat* dari genotipe biji rendah asam fitat dengan membandingkan perubahan warna yang terjadi pada sampel terhadap warna larutan standar. Semakin biru larutan sampel yang ditunjukkan dengan standar nilai 5, berarti

semakin tinggi kandungan posphat anorganik dan semakin rendah kandungan asam fitatnya.

Hasil analisis biji M_3 yang berasal dari iradiasi biji varietas Atomita 1, Atomita 4, dan Diah Suci disajikan pada Tabel 3. Dari 2.040 malai M_2 asal iradiasi varietas Atomita 1 yang diseleksi diperoleh tiga malai masing-masing dari galur mutan no 5, 10 dan 11, yang menunjukkan hasil homogen rendah asam fitat pada standar 3. Hasil seleksi cepat ini disebut homogen dan termasuk kelompok rendah asam fitat bila ke delapan biji per malai yang dianalisis menghasilkan warna biru yang sama, dimana semakin biru larutan sampel berarti semakin rendah kandungan asam fitat, seperti yang terlihat pada Gambar 2. Kategori biji yang termasuk kelompok asam fitat rendah adalah bila hasil analisisnya berada pada standar 3 sampai 5, dengan warna larutan sampel biru agak tua sampai biru tua. Dari seleksi malai M_2 asal iradiasi Diah Suci diperoleh satu malai (galur mutan no. 873) yang homogen rendah asam fitat pada standar 4, sedangkan dari seleksi M_2 asal iradiasi varietas Atomita 4 tidak ditemukan malai yang homogen rendah asam fitat.



Gambar 2. Seleksi cepat kandungan asam fitat pada galur mutan asal iradiasi Atomita 1 dan Diah suci

Sisa benih dari malai M_2 yang homogen rendah asam fitat pada varietas Atomita 1 dan Diah Suci ditanam kembali untuk mendapatkan tanaman M_3 . Namun populasi tanaman pada generasi M_3 tidak banyak karena sebagian benih tidak tumbuh, sehingga jumlah malai untuk dianalisis kembali kandungan asam fitatnya hanya 34 malai untuk mutan asal Atomita 1 dan 2 malai untuk mutan asal Diah Suci. Untuk mendapatkan galur mutan padi yang homogen rendah asam fitat agak sulit diperoleh, ini terjadi pada saat seleksi LPA (*low phytic acid*) lanjut pada malai M_3 dari varietas Atomita 1, yaitu diperoleh 7 malai yang homogen dan 265 malai bersegregasi. Seleksi dilanjutkan sampai pada biji M_5 (tanaman M_4), diperoleh 45 malai yang homogen dan 127 malai bersegregasi (Tabel 3.). Dari seleksi ini diperoleh malai yang masih bersegregasi, bahkan dari malai yang awalnya homogen rendah asam fitat. Menurut teori jika mutan yang rendah asam fitat dikontrol oleh satu gen resesif tunggal, diharapkan dari 10 progeni (keturunan) paling kurang ada dua progeni yang homogen. Oleh sebab itu jika seleksi mutan LPA (*low phytic acid*) dilakukan pada malai M_2 , dan diperoleh delapan biji yang menunjukkan rendah asam fitat, diharapkan diperoleh satu galur mutan LPA yang homogen dari sisa benih pada malai tersebut (18). Menurut Wu (10), pada galur-galur yang homogen rendah asam fitat terkadang ditemukan juga beberapa galur mutan yang tidak pernah homogen dan selalu bersegregasi. Dari uji yang dilakukannya yaitu *half seed testing*, hal ini disebabkan oleh ketidakmampuan dari biji-biji yang homozigot untuk berkecambah yang disebut dengan *homozygous lethality*. Namun pada seleksi lanjut LPA untuk galur mutan Diah Suci diperoleh malai yang masih homogen, tetapi terjadi penurunan kandungan asam fitat menjadi standar 3, dari malai yang awalnya homogen LPA pada standar 4. Terjadinya penurunan standar nilai ini kemungkinan disebabkan oleh galur mutan tersebut pada mulanya bersegregasi dengan kandungan asam fitat berkisar pada standar nilai 3 sampai 4, dan pada saat sisa benih hasil analisis ditanam serta diuji kembali kandungan asam fitatnya, yang muncul adalah galur mutan dengan kandungan asam fitat pada standar 3. Seleksi LPA pada biji M_5 diperoleh 69 malai yang homogen pada standar nilai 3.

Tabel 3. Jumlah malai dan biji M_2 , M_3 , M_4 , dan M_5 yang diseleksi dan dianalisis kandungan asam fitatnya dari Varietas Atomita 1, Atomita 4 dan Diah Suci

Tetua	Jumlah			Jumlah			Jumlah		
	Malai M_2 yang diseleksi	Biji M_3 yang dianalisis	Malai M_2 yang terpilih	Malai M_3 yang diseleksi	Biji M_4 yang dianalisis	Malai M_3 yang terpilih	Malai M_4 yang diseleksi	Biji M_5 yang dianalisis	Malai M_4 yang terpilih
Atomita1	2.040	16.320	3-H 284-S	34 5.680	272	7-H 265-S	172	1.376	45-H 127-S
Atomita4	1.720	13.760	24-S	480	3.840	724-S	7.680	64.440	63-S
Diah Suci	3.047	24.376	1-H 72-S	2 1.440	16 11.520	2-H 91-S	84	672	69-H

Keterangan : H = homogen, S = segregasi,

Malai M_4 yang homogen dari varietas Diah Suci sudah ditanam untuk dilakukan pengamatan karakter agronomisnya dan sebagian lagi disilangkan dengan kontrol rendah asam fitat yaitu padi *lpa1-1* asal Cina untuk dilakukan uji alelik. Apabila hasil analisis biji F_1 dari silangan galur mutan 873 dengan padi *lpa1-1* menunjukkan homogen rendah asam fitat, berarti gen yang mengontrol rendah asam fitat pada galur mutan 873 adalah *lpa1-1*.

KESIMPULAN

Dari uraian diatas dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

Dari varietas Atomita 1, Atomita 4 dan Diah Suci yang telah dilakukan perbaikan kandungan asam fitat melalui pemuliaan mutasi, diperoleh satu galur mutan yang homogen rendah asam fitat pada standar 3 yaitu galur no 873 yang berasal dari iradiasi biji Diah Suci, sedangkan dari galur mutan asal iradiasi Varietas Atomita 1 dan Atomita 4 masih bersegregasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Saudara Arwin dan Yulidar yang telah ikut membantu dalam pelaksanaan kegiatan penelitian ini, demikian juga kepada Bapak Dr. M. Ismachin atas saran dan bimbingan yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. MEDINA, F., AMANO, E., and TANO, S., Mutation breeding manual, FNCA, 178 : (2006) 46p.
2. IAEA, Project on reduction of micronutrient malnutrition in East Asia and the Pacific region, Working material. Vienna, Austria, (2002).
3. RABOY, V., GERBASI, P.F., YOUNG, K.A., STONEBERG, S.D., PICKETT, S.G., BAUMAN, A.T., MURTHY, P.P.N., SHERIDAN, W.F., and ERTL, D.S., Origin and seed phenotype of Maize *low phytic acid* 1-1 and *low phytic acid* 2-1, *Plant Physiol* 124 : (2000) 355-368p.
4. RABOY, V., The biochemistry and genetics of phytic acid synthesis, In DJ Morre., W Boss., FA Loewus, eds. *Inositol metabolism in plants*. Alan R. Liss, New York (1990) 52-73p.
5. GUTTIERI, M., BOWEN, D., DORSCH, J.A., RABOY, V and SOUZA, E., Identification and characterization of a low phytic acid wheat, *Crop Sci.* 44: (2004) 418-424p.
6. STROTHER, S., Homeostasis in germinating seeds, *Ann Bot* 45 : (1980) 217-218.
7. HURRELL, R.F., Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption, *Int J Vitam Nutr Res.* 74(6) : (2004) 445-452p.
8. RUTGER, J.N., New rice could benefit malnourished populations. www.ars.usda.gov/is/AR/archive/sep02/rice0902, Diakses tanggal 19 April 2002 (2002).
9. IAEA, Final report of 1st comprehensive project coordination meeting in conjunction with 2nd reporting meeting on selection efficiency for LP mutants in rice and nutrient bioavailability from fortified foods, (2005) 3-5p.
10. WU, D., Induced mutation for rice with low phytic acid content. In Final report of 1st comprehensive project coordination meeting in conjunction with 2nd

-
- reporting meeting on selection efficiency for LP mutants in rice and nutrient bioavailability from fortified foods, BATAN-IAEA, 170 : (2005), 111-127p.
11. BRYANT, R.J., DORSCH, J.A., PETERSON, K.L., RUTGER, J.N., and RABOY, V., Phosphorus and mineral concentration in whole grain and milled *low phytic acid (lpa)*1-1 rice, *Cereal chemistry*, 82(5) : (2005) 517-527.
 12. RABOY, V., Accumulation and storage of phosphate and minerals. *In* Larkins, B.A., Vasil, I.K. eds. *Cellular and molecular biology of plant seed development*. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands, 1997 : (1997) 441-447.
 13. RABOY, V., Progress in breeding low fitate crops. *The American Society for Nutritional Sciences*, *J. Nutr.* 132 : (2002) 503-505p.
 14. LAGODA, P., The bright and dark side of phytic acid. *In* Final report of 1st comprehensive project coordination meeting in conjunction with 2nd reporting meeting on selection efficiency for LP mutants in rice and nutrient bioavailability from fortified foods. BATAN-IAEA, 170 : (2005) 31-52p.
 15. RABOY, V., Low-phytic-grains, *Food and Nutrition Bulletin*, The United Nations University, Vol 21, No. 4 : (2000) 423-427p.
 16. LOTT, J.N.A., LIU, J.C. and OCKENDEN, I., TRUAX, M., Low phytic acid rice: grain structure and mineral nutrients. Poster: Seed Biology. abstracts.aspb.org/pb2003/public/P45/0886.html, Diakses tanggal 22 April 2002 (2002).
 17. LOTT, J.N.A., Accumulation of seed reserves of phosphorus and other minerals. *In* DR Murray, eds. *Seed physiology*, Academic Press, New York, (1984) 139-166p.
 18. ISMACHIN, M., YULIDAR, ARWIN, AZRI KUSUMA DEWI, dan INA IDAYANI R., 2nd Progress report on the advancement of ongoing LPA program in Indonesia, *In* Final report of 1st comprehensive project coordination meeting in conjunction with 2nd reporting meeting on selection efficiency for LP mutants in rice and nutrient bioavailability from fortified foods, BATAN-IAEA, 170: (2005) 123-127p.