

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



A. *BEGONIA ARCEUTHOBIA* (ciri khas buah buni tdk berbulu)



B. *BEGONIA FLACCIDA* (ciri khas batang menjalar)



C. *B. HYPOLEUCA* (ciri khas daun berwarna hijau kebiruan)



D. *B. WATSUWILAE* (ciri khas pada perbungaan memiliki sekitar 30 buah tiap perbungaan)



E. *B. ARCEUTHOBIA VAR. HIRSA* (ciri khas perawakan, bung dan buah berbulu)



F. *B. MEKONGENSIS* (ciri khas bunga jantan dan betina terpisah pada dua individu berbeda)

Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Tukirin Partomihardjo

Redaksi Pelaksana

Marlina Ardiyani

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarmo

Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id

ksama_p2biologi@yahoo.com

herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depan: *Keanekaragaman Begonia Kawasan G. Watuwila dan G. Mekongga, Sulawesi Tenggara*, sesuai makalah di halaman 33. Deden Girmansyah-Koleksi Pusat Penelitian Biologi-LIPI.



ISSN 0126-1754

Volume 10, Nomor 1, April 2010

Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

In Memoriam
Dr Anggoro Hadi Prasetyo



Dr Anggoro Hadi Prasetyo yang merupakan staf pegawai Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, telah menghadap Yang Maha Kuasa pada hari Sabtu tanggal 20 Pebruari 2010, setelah dirawat selama 4 hari di RS PMI Bogor dan RS Ciptomangunkusumo, Jakarta, karena Leukaemia Akut yang dideritanya. Almarhum adalah seorang ahli taksonomi rayap yang mendapatkan gelar PhD dari Queen Mary University of London. Almarhum meninggalkan seorang istri Dr Marlina Ardiyani, yang bekerja di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dan dua orang anak laki laki (M Ammar Zaky dan M Zuhdi Ali) dan dua anak perempuan (Anisa Zahra dan Aisyah Zafrina Aini).

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.
Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. Hasil dipisahkan dari Pembahasan.
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
 - b. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Septoteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogor@indo.net.id
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptari*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid AH Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Mogeia (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Suidiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Endang Tri Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Hertu Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Spto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan AH (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
10(1)-April 2010

- Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Didik Widyatmoko - *Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor*
Dr. Heddy Julistiono - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Herman Daryono - *Pusat Penelitian Hutan Badan Litbang Kehutanan*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Kusumadewi Sri Yulita - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Marlina Ardiyani - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Sarjiya Antonius - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Tukirin Partomihardjo - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Yuyu Suryasari Poerba - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

- Prof. Dr. Cece Sumantri- *Institut Pertanian Bogor*
Dr. Satya Nugraha - *Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI*
Dr. Subowo - *Balai Besar Sumber Daya Lahan Pertanian*
Dr. Tatiek Chikmawati - *Institut Pertanian Bogor*

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

UJI AKTIFITAS ENZIM SELULASE DAN LIGNINASE DARI BEBERAPA JAMUR DAN POTENSINYA SEBAGAI PENDUKUNG PERTUMBUHAN TANAMAN TERONG (<i>Solarium melongena</i>) [The Test of Cellulase and Ligninase Enzymes from Some Fungi as Plant Growth Promoter for Eggplant] YB Subawo.....	1
PENGARUH PEMBERIAN JERAMI PADITERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN PADI (<i>Oryza Sativa</i>) DITANAH SULFAT MASAM [The Effect of Rice Straw Application on The Growth of Rice (<i>Oryza Sativa</i>) in Acid Sulphate Soils] Arifin Fahmi.....	7
PERUBAHAN KADAR KOLESTEROL SERUM PADA TIKUS SETELAH MENGONSUMSI MALTOOLIGOSAKARIDA YANG DISINTESIS SECARA ENZIMATIK MENGGUNAKAN AMILASE <i>Bacillus licheniformis</i> BL1 [The Change of Serum Cholesterol Level in Rats after Consuming Maltooligosaccharide Synthesized by Enzimatic Reaction of <i>Bacillus licheniformis</i> BL1 Amylase] Achmad Dinoto, Rita Dwi Rahayu dan Aryani S. Satyaningtjas.....	15
KERAGAMAN GENETIK, HERITABILITAS DAN KORELASI BEBERAPA KARAKTER AGRONOMI PADA GALUR F2 HASIL PERSILANGAN KACANG HIJAU (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek) [Genetic Variability, Heritability and Correlation of some Agronomic Characters in the F2 of Varietal crosses of Mungbean (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek)] Lukman Hakim.....	23
KEANEKARAGAMAN <i>Begonia</i> (BEGONIACEAE) DARI KAWASAN GUNUNG WATUWILA DAN MEKONGGA, SULAWESI TENGGARA [Diversity of <i>Begonia</i> (Begoniaceae) from Mt. Mekongga and Mt. Watuwila Area, South East Sulawesi] Deden Girmansyah.....	33
NITROGEN REMOVAL BY AN ACTIVATED SLUDGE PROCESS WITH CROSS-FLOW FILTRATION [Perombakan Nitrogen Menggunakan Proses Lumpur Aktif Yang Dilengkapi Dengan Filtrasi] Dwi Agustiyani dan Takao Yamagishi.....	43
STRUKTUR DAN KOMPOSISI JENIS TUMBUHAN HERBA DAN SEMAI PADA HABITAT SATWA HERBIVOR DI SUAKA MARGA SATWA CIKEPUH, SUKABUMI, JAWA BARAT [Structure and Composition of Herbaceous and Seedling Communities on the Herbivore Habitat within Cikepuh Wildlife Sanctuary, Sukabumi, West Java] AsepSadili.....	51
PEWARISAN GEN PENANDA <i>HPT</i> (<i>HYGROMYCINE PHOSPHOTRANSFERASE</i>) BERDASARKAN ANALISIS PCR DAN EKSPRESINYA PADA POPULASI PADI TRANSFORMAN MENGOVEREKSPRESIKAN GEN HD ZIP <i>OSHOX-6</i> [Segregation of <i>hpt</i> gene by PCR analysis and its expression in transgenic rice population overexpressing HD-Zip <i>oshox6</i> gene] EnungSriMulyaningsih, HajrialAswidinnoor, Didy Sopandie, Pieter B.F.Ouwerkerk, Inez Hortense Slamet Loedin.....	59

PENGETAHUAN LOKAL DAN PEMANFAATAN TUMBUHAN OLEH MASYARAKAT LOKAL PULAU KABAENA - SULAWESI TENGGARA [Local Knowledge and Plant Utilization By Local People Of Kabaena Island - Southeast Celebes] <i>Mulyati Rahayu dan Rugayah</i>	67
ESTIMASI MATERNAL HETEROSIS UNTUK BOBOT BADAN PADA POPULASI DOMBA SINTETIK [Estimates of Maternal Heterosis for Body Weights in the Synthetic Population of Sheep] <i>Benny Gunawan</i>	77
KINETIKA BIOTRANSFORMASI SUKSINONITRIL OLEH <i>Pseudomonas</i> sp [Succinic acid Biotransformation Kinetic by <i>Pseudomonas</i> sp] <i>Nunik Sulistinah dan Bambang Sunarko</i>	85
PENGUJIAN PENCEMARAN DAGING BABI PADA BEBERAPA PRODUK BAKSO DENGAN TEKNOLOGI PCR: PENCARIAN SISTEM PENGUJIAN EFEKTIF [Analysis of Porcine Contamination by Using PCR Technology in Several Meat Ball Products: To Find an Effective Assessment System] <i>Endang Tri Margawati dan Muhamad Ridwan</i>	93
KAJIAN SUPERPARASIT DAN PREFERENSI INANG BENALU <i>Viscum articulatum</i> Burm. f. (Viscaceae) DIKEBUN RAYA PURWODADI DAN CIBODAS [Study on superparasite and host preference of the mistletoe <i>Viscum articulatum</i> Burm. f. (<i>Viscaceae</i>) in Purwodadi and Cibodas Botanic Gardens, Java] <i>Sunaryo</i>	99
FLOWERING PHENOLOGY AND FLORAL BEHAVIOR OF <i>Scutellaria discolor</i> Colebr. AND <i>S. slametensis</i> Sudarmono & B.J. Conn (<i>Lamiaceae</i>) [Fenologi dan Perilaku Pembungaan pada <i>Scutellaria discolor</i> Colebr. dan <i>S. Slametensis</i> Sudarmono & B.J. Conn (<i>Lamiaceae</i>)] <i>Sudarmono</i>	105
KAJIAN ETNOBOTANI PANDAN SAMAK (<i>Pandanus tectorius</i> Sol.) DI KABUPATEN TASIKMALAYA, JAWA BARAT [Ethnobotany Study of pandan samak (<i>Pandanus tectorius</i> Sol.) in Tasikmalaya Regency, West Java] <i>Siti Susiarti & Mulyati Rahayu</i>	113
PENGARUH RADIASI DAN LOKASI TUMBUH TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PENYAKIT HAWAR DAUN TALAS "KETAN" [The Effect of Irradiation and Growing Locations on The Growth and Leaf BLIGHT Disease of Taro "Ketan"] <i>L. Agus Sukanto dan Saefudin</i>	123
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANALISIS KIMIA EKSTRAK DAUN JUNGRAHAB (<i>Baeckea frutescens</i> L.) [Antioxidant Activity and Chemical Analysis of Extract of Jungrahab (<i>Baeckea frutescens</i> L.) Leaves] <i>Tri Murningsih</i>	129

**PEWARISAN GEN PENANDA *HPT*(*HYGROMYCINE PHOSPHOTRANSFERASE*)
BERDASARKAN ANALISIS PCR DAN EKSPRESINYA PADA POPULASI PADI
TRANSFORMAN MENGOVEREKSPRESIKAN GEN HD ZIP *OSHOX-6*¹
[Segregation of *hpt* Gene by PCR Analysis and its Expression
in Transgenic Rice Population Overexpressing HD-Zip *oshox6* Gene]**

**Enung Sri Mulyaningsih^{2-3*}, Hajriah Aswidinnoor³, Dedy Sopandie³,
Pieter BF Ouwerkerk dan Inez Hortense Slamet Loedin⁵**

²Mahasiswa Pasca Sarjana Departemen Agronomi Institut Pertanian Bogor, ³Departemen Agronomi Institut Pertanian Bogor, ⁴Institute of Biology, IBL Leiden University Netherlands, ⁵Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI
*e-mail: enungf@yahoo.com

ABSTRACT

First generation (*T0*) transgenic plants do not always segregate their transgenes in a Mendelian segregation pattern. Moreover, instability of heterologous gene expression was often observed in transgenic plants. This phenomenon is often called gene silencing. Gene silencing could happen on different level of gene expression, notably at transcriptional or post-transcriptional level. The purpose of this research was to identify the transgene segregation pattern of a marker gene (*hpt*) as well as the introduced- regulator gene (*OsLEA-oshox6*) in second generation (*T1*) transgenic rice plants. Gene segregation (*hpt*) analysis was carried out using PCR method. Gene expression analysis was done by hygromycin antibiotic resistant test of leaf samples. Analysis was carried out on 17 lines of *T1* transgenic rice plants from Batuteji and Kasalath cultivars. Mendelian segregation pattern of 3:1 was revealed for all lines based on PCR analysis. Gene expression analysis showed almost all lines was segregated in a Mendelian fashion except for T1-BT III 2C line. Less transgenic plants that expressed the *hpt* gene were suggested due to gene silencing effects. It was suggested to happen at transcriptional level.

Kata kunci: Transkripsi, post-transkripsi, Mendelian, *hpt*, *OsLEA-oshox6*

PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk Indonesia mencapai 1.34% pada tahun 2000-2005 (BPS 2006) yang jika tidak diimbangi oleh peningkatan produksi pangan dapat menyebabkan kerawanan pangan. Produksi pangan di Indonesia khususnya beras sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor penting antara lain: pemanasan global, penurunan luas lahan garapan akibat alih fungsi lahan, kelangkaan air, jumlah air irigasi menurun, degradasi lingkungan dan erosi, serangan hama dan penyakit, serta perubahan iklim yang sulit diprediksi (Miflin, 2000).

Peningkatan produksi padi di Indonesia di masa mendatang sangat tergantung pada pemanfaatan lahan marginal termasuk lahan kering. Ekstensifikasi pada lahan kering terkait erat dengan perubahan iklim global. Fenomena El Nino berpengaruh besar terhadap produktivitas tanaman. El Nino tahun 1997/1998 menyebabkan volume impor beras Indonesia mencapai 5,8 juta ton yang setara dengan 20% dari total perdagangan beras dunia (Naylor *et al.*, 2007). Kejadian

kemarau panjang tahun 2006 juga menyebabkan sebagian besar lahan pertanian padi gagal panen. Oleh karena itu, pengembangan varietas tanaman padi gogo toleran kekeringan sangat diperlukan.

Pengembangan padi toleran kekeringan dapat dilakukan dengan menggunakan transformasi genetik menggunakan gen regulator faktor transkripsi (FT). Transformasi genetik pada level FT berpeluang untuk mendapatkan tanaman padi toleran kekeringan, karena FT berperan dalam meregulasi sejumlah gen lain yang bertanggung jawab terhadap sifat kekeringan. Beberapa gen regulator FT yang telah dikarakterisasi yang diduga terkait dengan respon terhadap cekaman kekeringan ialah DREB (*dehydration respon element binding*) (Yamaguchi dan Shinozaki 2001), SNAC (*stress responsive NAC1*) (Hu *et al.*, 2006), dan HD-Zip (*Homeodomain leucine zipper*) (Meijer *et al.*, 1997; Meijer *et al.*, 2000).

Penggunaan gen regulator FT pada tanaman transgenik yang telah dilaporkan umumnya menggunakan promoter konstitutif seperti CaMV

(*Cauliflower Mosaic Virus*). Penggunaan promoter tersebut dapat menghasilkan fenotipe tanaman yang tidak diharapkan. Penggunaan promoter terinduksi kekeringan menjadi pertimbangan karena promoter ini akan bekerja mengekspresi gen targetnya hanya jika ada induser kekeringan. Salah satu promoter terinduksi cekaman kekeringan ialah *OsLEA3-1* (*late embryogenesis abundant*) yang memiliki ekspresi kuat hanya pada kondisi kekeringan dan memiliki ekspresi yang rendah pada saat kondisi normal (Xiao *et al.*, 2007).

Gen *oshox6* termasuk dalam HD-Zip I yang responsif terhadap kekeringan, regulasinya meningkat ketika ada cekaman kekeringan, namun karakterisasi fungsi gen ini belum dipelajari. Gen ini dipasangkan dengan promoter *OsLEA3-1* (*late embryogenesis abundant*) yang ekspresinya kuat hanya pada kondisi kekeringan dalam plasmid pC 1301H *oshox-6*. Pada daerah T-DNA plasmid tersebut terdapat gen penyeleksi *hpt* (*hygromycin phosphotransferase*) dan penanda *gusA* yang keduanya dikendalikan oleh promoter CaMV (*Cauliflower Mosaic Virus*). Pada penelitian sebelumnya, plasmid rekombinan pC 1301H *oshox-6* telah berhasil ditransformasikan ke dalam genom padi indica kultivar Batutegi dan Kasalath menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* (Mulyaningsih *dkk.* 2010). Batutegi merupakan kultivar padi gogo yang telah dilepas di Indonesia dan Kasalath merupakan padi varietas lokal Thailand. Pada generasi pertama (T₀), gen *hpt* terbukti terintegrasi dalam genom. Jumlah salinan gen yang terintegrasi dalam genom antara 1-4 (Mulyaningsih *dkk.* 2010).

Diperolehnya tanaman transgenik generasi **pertama** yang membawa gen tertentu tidak menjamin gen tersebut diwariskan pada generasinya karena adanya mekanisme segregasi. Selain itu, ketidakstabilan ekspresi gen sisipan dalam genom tanaman transgenik sering terjadi. Fenomena tidak terekspresinya gen sisipan ini yang dinamakan pembungkaman gen (*gene silencing*). Pembungkaman gen dapat terjadi pada fase transkripsi dan pasca transkripsi setelah proses transformasi. Gen sisipan yang tidak terekspresi seringkali disebabkan oleh terjadinya peningkatan metilasi pada DNA, khususnya jika pembungkaman terjadi pada tahap transkripsi

(Meyer 1995; 2000). Pembungkaman pada tahap transkripsi diidentifikasi oleh ketiadaan transkrip dari gen tersebut, dan terjadi jika ada homologi antara sekuen promoter dengan gen yang dimaksud. Sedangkan pembungkaman gen pasca transkripsi terjadi karena gen tersebut mengandung sekuen yang homolog (daerah homolog dalam gen). Meskipun gen tersebut secara aktif ditranskripsi tetapi mRNA stabil yang terbentuk hanya sedikit (Lucy *et al.*, 2000). Dengan demikian terbentuknya protein yang dimaksud akan sedikit sekali.

Beberapa penelitian pada tanaman padi menunjukkan fenomena pembungkaman gen, baik pada tahap transkripsi maupun pasca transkripsi. Pembungkaman gen *cry MA* dan gen penyeleksi *bar* yang dikontrol promotot *Ubil* terjadi pada tahap transkripsi, hal ini terkait dengan metilasi pada daerah promoter (Kumpatla dan Hall, 1999), karena kedua gen diekspresi dengan promoter yang sama. Pembungkaman gen penyandi chitinase dan *hpt* dilaporkan terjadi pada tahap transkripsi yang mencapai 23% dari tanaman hasil transformasi (Chareonpornwattana *et al.*, 1999). Sedangkan pembungkaman gen *gusA* dengan promoter *Itp* (*lipid transfer protein* dari barley) terjadi pada tahap pasca transkripsi. Jumlah salinan gen *itp-gusA* antara 4-12, dan setidaknya dua lokus berperan dalam terjadinya pembungkaman, yang menghasilkan kompleks RNA transkrip sense maupun antisense dari sekuen gen *gus* (Morino *et al.*, 1999).

Untuk melihat bahwa gen sisipan yang transformasi bersifat stabil maka perlu dilakukan analisis pola pewarisan gen tersebut. Jika gen tersebut telah masuk ke dalam genom dan diwariskan **pada** generasinya, maka generasinya mengandung **gen** tersebut. Meskipun demikian analisis integrasi **dan** kestabilan gen sisipan masih perlu dilakukan **pada** beberapa generasi agar mencapai homozigot. Kehadiran gen sisipan juga perlu dianalisis ekspresinya, agar gen tersebut berfungsi baik pada generasinya.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui pola pewarisan gen sisipan *hpt* sekaligus untuk menduga pola pewarisan gen *oshox6* transgen dalam genom padi generasi kedua (T₁), karena gen-gen

tersebut tersusun secara tandem dalam T-DNA yang sama. Analisis pewarisan gen dan ekspresinya dilakukan dengan metoda PCR dan higromisin tes pada tanaman padi transgenik generasi kedua (77) dari cv. Batutegi dan Kasalath.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini ialah 17 galur tanaman transgenik dari cv. Batutegi (BT) dan Kasalath (Kas) generasi kedua (77) hasil transformasi menggunakan plasmid rekombinan pC 1301H *oshox-6*. Galur-galur tersebut dipilih karena memiliki satu dan dua salinan gen sisipan. Galur-galur dengan satu salinan gen ialah: T1-BTIII2C, T1-BTIII1A, T1-BTIII4A, T1-BTIII1B, T1-BTIII2A, T1-Kas miB, T1-Kas V1B, T1-Kas IV 1 A, T1-Kas VH6A, T1-KasIII3A, T1-Kas III2B, T1-Kas V 1 A, dan T1-Kas III 2A sedangkan galur-galur dengan dua salinan gen sisipan ialah: T1-BTIII1A, T1-BT in IE, T1-Kas IV 2A dan T1-Kas IV IB. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular dan rumah kaca, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI pada Desember 2009-Februari2010.

Persiapan Tanaman

Benih generasi kedua dari 17 galur yang digunakan ditanam dalam bak plastik berukuran 40 cm x 30 cm x 10 cm. Media pembibitan yang digunakan ialah tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 3:1. Masing-masing galur ditanam 50 benih dalam setiap bak plastik. Kemudian dipilih 30 tanaman yang diambil secara acak untuk dianalisis PCR dan selanjutnya dilakukan tes higromisin.

Isolasi DNA genomik

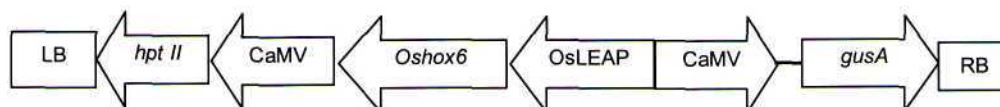
DNA genom padi diisolasi dengan metoda CTAB (hexaethyl trimethyl ammonium bromide). Metoda

isolasi adalah sebagai berikut: daun sepanjang 5 cm dari bibit berumur 15 hari dimasukkan ke dalam tabung 1.5 ml, diberi N₂ cair lalu digerus dan ditambahkan 750 µl dapar isolasi. Dapar isolasi terdiri dari dapar lisis (Tris-HCl pH 7.5 0.2 M, EDTA 0.05 M, NaCl 2 M, dan CTAB 2%), dapar ekstraksi (sorbitol 0.35 M, Tris-HCl pH 7.5 0.1 M, 5 mM EDTA) dan 5% sarkosil. Selanjutnya reaksi diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. Kemudian ke dalam tube ditambahkan 750 µl *chloroform:isoamylalkohol* (24:1) dan disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 8.000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan dipindahkan ke tabung baru dan ditambah dengan 400 µl isopropanol dingin, lalu disentrifugasi selama 6 menit dengan kecepatan 8.000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dengan 70% etanol. Pelet dalam tabung dikeringkan dan dilarutkan dengan 50 µl dapar TE pH 8.0.

Analisis integrasi gen *hpt*

Analisis PCR (Polymerase Chain Reaction) dilakukan untuk mengetahui keberadaan gen sisipan pada genom tanaman generasi kedua (T1). Posisi gen *hpt* dalam daerah T-DNA yang sama dengan keberadaan gen target *oshox-6* disajikan dalam Gambar 1.

Sepasang primer untuk penggandaan gen *hpt* yang digunakan ialah *hpt* forward 5'-GATGCCTCCGCTCGAAGTAGCG-3' dan reverse 5'-GCATCTCCCGCCGTG CAC-3'. Volume untuk 1 x reaksi PCR ialah 12.5 µl dengan komposisi : 6.25 µl taq polimerase mix (*dream taq mix* (Fermentas), 0.2 µl M primer *hpt* reverse, 0.2 M primer *hpt* forward, 100 ng DNA hasil isolasi sebagai cetakan, dan dH₂O. Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan alat PCR Thermal Cycler (Biometra). Kondisi PCR ialah: satu siklus denaturasi (95°C, 3 menit); 30 siklus amplifikasi [denaturasi 95°C 1 menit, *annealing* 65°C 1 menit,



Gambar 1. Skema daerah T-DNA dalam vektor transformasi pC1301H *Oshox-6*. RB, Right border; hpt II, gen penyeleksi higromisin; CaMV, Promoter dari *Cauliflower Mosaic Virus*; gen *oshox-6*; *OsLEAP*, promotor dari padi *late embryogenesis abundant*, gen penanda *gusA*; RB, Right Border.

sintesis 72°C 1 menit]; 72°C 10 menit (pemanjangan final); 4°C (penyimpanan). Hasil PCR dianalisis pada 1% gel agarose. Gel diwarnai menggunakan ethidium bromida untuk visualisasi pita DNA. Produk amplifikasi yang diharapkan berukuran ±500 pb (pasang basa).

Analisa pola segregasi gen *hpt*

Pola segregasi gen penyeleksi *hpt* berdasarkan keberadaan pita DNA hasil amplifikasi di analisis dengan khi-kuadrat, yaitu dengan membandingkan nilai khi kuadrat hitung dengai nilai Tabel. Nilai khi-kuadrat (X^2) dihitung dengan persamaan:

$$X^2 = \frac{(O_i - e_i)^2}{e_i}$$

dimana:

O_i = jumlah suatu fenotip ke-*i* menurut hasil pengamatan.

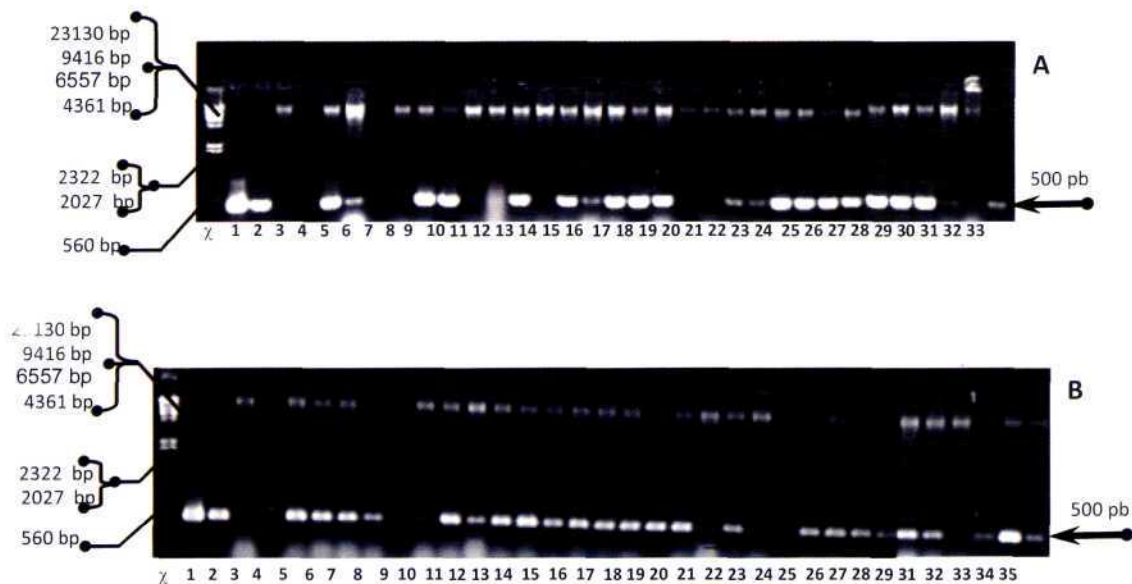
e_i = jumlah fenotipe tersebut yang diharapkan menurut hipotesis

Model pewarisan yang memiliki nisbah sesuai dengan pengamatan dianggap sebagai model pewarisan sifat

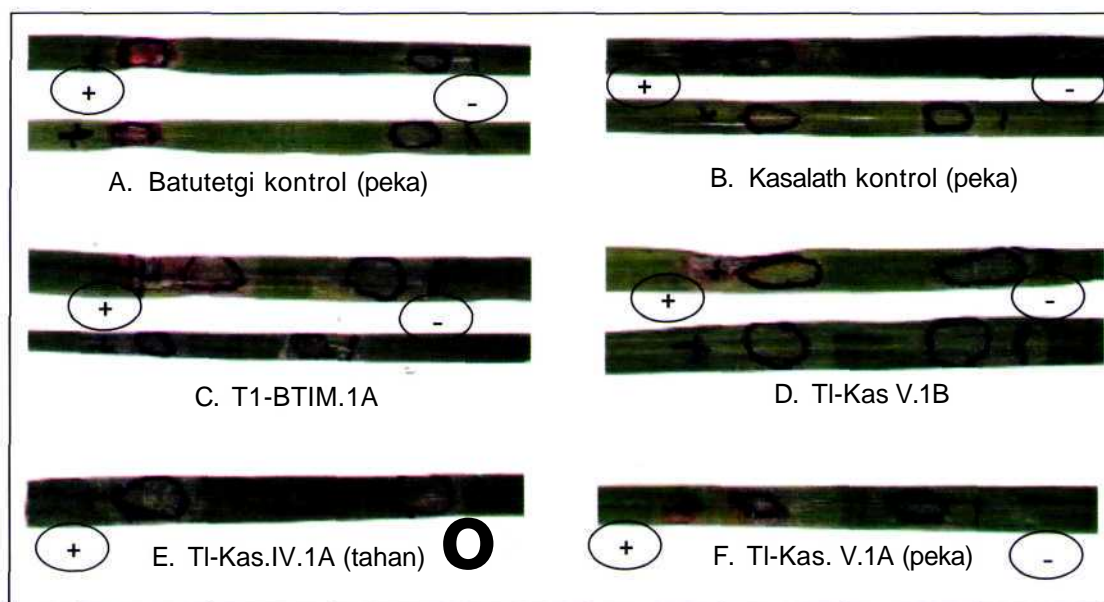
gen penyeleksi *hpt* yang mengikuti pola Mendel 3:1 untuk gen tersebut.

Analisis ekspresi dan segregasi gen *hpt*

Analisis dilakukan terhadap daun tanaman berumur 3 minggu. Larutan penguji yang digunakan terdiri dari: 0,01% gel (gelrite) 1000 µl yang telah dipanaskan, 780 µl air steril, 1% triton X-100 200 (il, setelah suhu larutan sekitar 30°C, ditambahkan 20 µl higromisin (stok 50 µg/ml). Larutan kontrol dibuat seperti larutan penguji tanpa higromisin. Pada daun dibuat dua buah lingkaran di helai daun yang sama dengan menggunakan spidol. Di samping masing-masing lingkaran diberi tanda + dan - untuk memudahkan aplikasi pengujian. Selanjutnya dengan menggunakan *cotton bud* lingkaran dengan tanda + diulasi dengan larutan penguji dan pada lingkaran lainnya diulasi dengan larutan kontrol. Pengamatan ketahanan daun tanaman terhadap higromisin dilakukan setelah 3 hari perlakuan. Daun yang mengalami nekrotik pada lingkaran yang diulas oleh



Gambar 2. Hasil analisis PCR menggunakan primer *hpt* pada generasi kedua (77) tanaman padi transgenik cv. Batutegi galurT1-BTII 1B (A) dan Kasalath galurT1-Kas VII 6 A (B) hasil transformasi menggunakan *pCl30m oshox-6* X- *IHindIII*, 1. plasmid pCl301H *Oshox-6*; 2. Batutegi *TO K+* / Kasalath *TO K+* 3. Batutegi 77 K- / Kasalath *Tl K-*; 4. air; 5-33 pada A. transforman Batutegi; 5-35 pada B. transforman Kasalath. Panah dengan 500 pb adalah gen *hpt*.



Gambar 3. Contoh hasil uji higromisin pada daun tanaman. A-B adalah daun tanaman cv. Batutetgi dan Kasalath yang menunjukkan gejala nekrotik (peka). C-F daun tanaman beberapa galur transgenik yang menunjukkan tahan dan peka terhadap higromisin. (+) lingkaran yang diberi larutan higromisin dan (-) lingkaran yang diberi larutan tanpa higromisin.

Tabel 1. Analisis pewarisan untuk parameter keberadaan gen *hpt* dalam genom dan ekspresi gen *hpt* pada populasi tanaman transgenik cv. Batutetgi dan Kasalath generasi kedua (77).

Galur	Populasi	Nilai E	Nilai O		X^2		X^1 Tabel	Kesimpulan	
			PCR	Hig.	PCR	Hig.		PCR	Hig.
T1-BTIII2C	30	22,5	14	11	3,2	5,9	3,84	1	2
T1-BTIII1A	30	22,5	30	29	2,5	1,9	3,84	1	1
T1-BTIIIIE	19	14,3	18	15	1,0	0,0	3,84	1	1
T1-BTIII11A	30	22,5	28	27	1,3	0,9	3,84	1	1
T1-BTII4A	30	22,5	19	18	0,5	0,9	3,84	1	1
T1-BTII1B	29	21,8	25	25	0,5	0,5	3,84	1	1
T1-BTII2A	30	22,5	29	27	1,9	0,9	3,84	1	1
T1-Kas III IB	30	22,5	21	21	0,1	0,1	3,84	1	1
T1-Kas V IB	30	22,5	30	28	2,5	1,3	3,84	1	1
T1-Kas IV 2A	19	14,3	17	16	0,5	0,2	3,84	1	1
T1-Kas IV 1A	30	22,5	27	27	0,9	0,9	3,84	1	1
T1-Kas VII 6A	30	22,5	30	24	2,5	0,1	3,84	1	1
T1-Kas UI3A	30	22,5	29	29	1,9	1,9	3,84	1	1
T1-Kas III2B	30	22,5	24	21	0,1	0,1	3,84	1	1
T1-Kas V 1A	30	22,5	24	21	0,1	0,1	3,84	1	1
T1-Kas III2A	30	22,5	27	24	0,9	0,1	3,84	1	1
T1-Kas IV IB	16	12,0	16	16	1,3	1,3	3,84	1	1

Keterangan:

- Hipotesis

H_0 : Data yang diamati sesuai dengan nisbah 3:1

H_1 : Data yang diamati tidak sesuai dengan nisbah 3:1

larutan pengujian menunjukkan bahwa tanaman tersebut peka terhadap antibiotik higromisin.

HASIL

Pola pewarisan gen *hpt* yang dihitung menggunakan persamaan χ^2 terhadap parameter keberadaan pita hasil PCR dan pola pewarisan berdasarkan ekspresi gen *hpt* yang disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil PCR nampak bahwa ke 17 galur yang dianalisis bersegregasi Mendel 3:1 untuk gen *hpt*, sedangkan berdasarkan ekspresinya galur T1-BT III 2C tidak bersegregasi Mendel. Hasil Amplifikasi gen *hpt* disajikan pada Gambar 2 yaitu untuk galur T1-BT II IB dan T1-Kas VII6A. Contoh hasil analisis ketahanan higromisin pada daun ditampilkan pada Gambar 3. Daun yang menunjukkan gejala nekrotik merupakan tanaman peka terhadap higromisin, sebaliknya daun yang segar tahan higromisin.

PEMBAHASAN

Analisis segregasi gen hpt dengan PCR

Pada dasarnya analisis PCR bertujuan untuk mengetahui integrasi suatu gen. Dalam penelitian ini selain mengetahui integrasi gen *hpt* ke genom padi, hasil PCR digunakan juga untuk melihat pola pewarisan gen tersebut yang berdasarkan jumlah tanaman terintegrasi. Hasil PCR menunjukkan bahwa sebagian besar segregan dari 17 galur yang diuji menghasilkan produk penggandaan/amplifikasi untuk gen *hpt* sebesar +/- 500 pb. Selanjutnya hasil analisis pewarisan menunjukkan bahwa gen tersebut terwariskan secara Mendelian dengan pola 3:1 pada semua galur. Berdasarkan hasil tersebut, diduga bahwa gen *hpt* telah masuk ke dalam genom tanaman dan terwariskan pada generasinya. Keberadaan gen *hpt* dapat merupakan indikasi keberadaan gen lain dalam satu T-DNA yang sama. Meskipun demikian ada kemungkinan bahwa sekuen T-DNA tidak secara utuh masuk ke dalam genom (*truncated gene*), sehingga gen target menjadi terpotong atau tidak masuk ke dalam genom.

Analisis ekspresi dan segregasi gen hpt

Higromisin merupakan sistem marker ketahanan antibiotik yang banyak digunakan untuk transformasi

pada tanaman monokotil terutama *gramineae* (Bashir *et al.*, 2004). Uji ketahanan terhadap higromisin pada daun tanaman segregan transgenik merupakan salah satu cara untuk mengetahui keberadaan gen *hpt* di genom dan ekspresinya. Antibiotik higromisin bekerja dengan cara menghambat sintesis protein melalui gangguan translokasi yang menyebabkan kesalahan translokasi pada ribosom 80S (Bashir *et al.*, 2004).

Tanaman transgenik yang mengandung gen *hpt* (berdasarkan uji PCR) dan mengekspresikan gen tersebut tidak menunjukkan gejala nekrotik pada lingkaran yang disapu dengan larutan uji. Terekspresinya gen *hpt* terjadi pada sebagian besar segregan yang diuji. Pada tanaman tersebut, enzim higromisin fosfotransferase yang dihasilkan gen *hpt* mampu mendetoksifikasi aminosiklitol higromisin B (Rodriguez dan Nottenburg 2002) dan mengkatalisis fosforilasi kelompok hidroksyl dalam antibiotik higromisin sehingga menjadi tidak aktif dan tidak meracuni sel tanaman (Brasileiro dan Aragao 2001).

Pengamatan selanjutnya menunjukkan bahwa keberadaan gen *hpt* dalam genom tidak selalu menunjukkan ekspresi gen tersebut. Pada sebagian besar galur (12 galur) jumlah tanaman yang mampu mengekspresikan ketahanan higromisin lebih sedikit dibandingkan jumlah tanaman yang mengandung *hpt* berdasarkan PCR, dengan menggunakan metoda uji ini. Tanaman transgenik yang tidak mampu mengekspresikan ketahanan higromisin menunjukkan gejala nekrotik pada daerah lingkaran yang disapu dengan larutan uji dan tidak nekrotik pada lingkaran yang disapu larutan kontrol. Gejala nekrotik pada tanaman transgenik serupa dengan gejala nekrotik pada kontrol. Pada galur-galur yang demikian diduga telah terjadi mekanisme pembungkaman gen *hpt*.

Mekanisme pembungkaman gen dalam transformasi genetik dapat terjadi pada berbagai proses. Menurut Iyer *et al.* 2000, Pertama, gen sisipan yang masuk ke dalam sitoplasma akan dihancurkan secara enzimatik. Gen sisipan juga membungkam jika terintegrasi pada daerah heterokromatin dalam inti sel. Gen sisipan yang terintegrasi pada daerah eukromatin akan membungkam jika dikenali oleh enzim methyltransferase atau enzim penjaga lainnya. Selain itu, salinan gen sisipan yang terintegrasi dalam jumlah

banyak juga dapat menyebabkan perpasangan diantara gen tersebut atau dengan sekuen yang ada dalam genom. Pasangan DNA-DNA atau DNA-RNA dapat memberi sinyal metilasi di gugus sitosin. Selanjutnya DNA termetilasi berfungsi sebagai sinyal untuk memanfaatkan protein DNA termetilasi dan selanjutnya terjadi heterokromatinisasi.

Sebelumnya Taylor (1997) menjelaskan beberapa mekanisme pembungkaman gen. Menurut Taylor, pembungkaman gen digolongkan atas tiga macam yaitu *cis-inactivation*, *trans-inactivation* dan *co-suppression*. *Cis* dan *trans-inactivation* terjadi saat transkripsi. *Cis-inactivation* terjadi jika satu atau beberapa salinan gen terintegrasi pada satu lokus di dalam atau berdekatan dengan sekuen genom tanaman dengan tingkat metilasi tinggi. Sehingga gen yang terintegrasi termetilasi dan tidak terekspresi. Kejadian *cis-inactivation* berkorelasi dengan kerapatan benang-benang kromatin dan metilasi. Kejadian *trans-inactivation* lebih rumit dari *cis-inactivation*. *Trans-inactivation* terjadi jika beberapa salinan gen terintegrasi pada tempat (lokus) yang berbeda. Kemudian salah satu transgen mengalami *cis-inactivation* sehingga meng-inaktivasi homolognya yang terintegrasi pada lokus/alel/kromosom di tempat lain. *Co-suppression* terjadi saat pasca transkripsi (prosesing, lokalisasi dan atau degradasi mRNA) dan pengaruhnya bersifat resiprokal. Contoh kejadian ini ialah saat mRNA diproduksi sangat banyak di bawah promotorkuat.

Pendapat lain mengemukakan bahwa pembungkaman pada tanaman dan eukariot lainnya dibagi menjadi dua tipe, yaitu pembungkaman gen saat transkripsi (TGS = *transcriptional gene silencing*) dan pasca transkripsi (PTGS = *post transcriptional gene silencing*). Pembungkaman gen pada tahap transkripsi terutama disebabkan oleh metilasi yang terjadi pada daerah promotor (Meyer, 2000). Jika pembungkaman gen terjadi pada pasca transkripsi maka promotor akan tetap aktif, gen ditranskripsi, tetapi mRNA gagal terakumulasi. Beberapa percobaan pada tanaman membuktikan bahwa *co-suppression* berlangsung pada tahap degradasi RNA, dan bukan pada berhentinya sintesis RNA (Waterhouse *et al*, 1998).

Pada penelitian ini pembungkaman gen *hpt* pada sejumlah segregan diduga termasuk dalam mekanisme pembungkaman tahap transkripsi yang diakibatkan oleh proses metilasi di daerah promotor. Kemungkinan lain, pembungkaman terjadi karena ada cekaman lingkungan yang dirasakan tanaman sehingga menginduksi terjadinya metilasi, walaupun dalam penelitian ini semua tanaman ditanam dalam kondisi yang sama. Pembungkaman gen *hpt* kecil kemungkinan terjadi pada tahap pasca transkripsi karena segregan yang diuji hanya memiliki (satu dan dua salinan). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa jumlah salinan gen sisipan yang sedikit akan menghambat proses pembungkaman gen dibandingkan tanaman dengan jumlah salinan gen banyak pada level pasca transkripsi (Meyer, 1995). Untuk mendukung dugaan bahwa pembungkaman terjadi pada fase transkripsi, maka pada masa mendatang perlu dilakukan analisis RT-PCR (*real time PCR*) untuk melihat akumulasi RNA yang terbentuk dari populasi tanaman yang bungkam. Selain itu untuk melihat kestabilan pembungkaman, ada baiknya dilakukan pengujian kembali pada segregan yang bungkam di generasi ini. Dengan demikian dapat dilihat pewarisan ekspresi gen tersebut. Jika pada generasi berikutnya gen tersebut terekspresi maka diduga pembungkaman saat ini lebih disebabkan oleh kondisi lingkungan.

Beberapa strategi penelitian untuk menghindari pembungkaman gen dapat dilakukan antara lain dengan menganalisis terlebih dahulu sekuen gen dari promotor dan atau gen target yang akan disisipkan. Analisis dilakukan secara bioinformatik menggunakan program komputer tertentu sehingga dapat terlihat kemungkinan terjadi homologi antara promotor dengan gen target, atau homologi dalam sekuen gen itu sendiri. Jika ada kemungkinan yang demikian maka perlu dilakukan rekayasa terlebih dahulu terhadap sekuen tersebut. Penggunaan promotor konstitutif kuat sebaiknya dihindari sehingga produksi mRNA tidak terlalu banyak. Usahakan mendapatkan tanaman dengan jumlah salinan gen sisipan tunggal (sedikit) untuk mengantisipasi terjadinya pembungkaman gen. Strategi lainnya ialah dengan membuat populasi transgen yang besar, sehingga ada kesempatan memilih

untuk mendapatkan tanaman terbaik seperti yang diharapkan.

KESIMPULAN

Pola segregasi Mendel 3:1 diperoleh pada semua galur tanaman (17 galur) yang diuji untuk gen *hpt* berdasarkan produk amplifikasi gen tersebut. Segregasi Mendel tidak diperoleh pada galur T1-BT III 2C berdasarkan ekspresi gen *hpt* yang diuji pada daun. Lebih sedikitnya jumlah tanaman yang mengekspresikan gen *hpt* diduga ada pembungkaman pada gen tersebut. Dugaan saat ini, pembungkaman terjadi pada fase transkripsi. Pembungkaman gen dapat dihindari dengan melakukan studi terlebih dulu terhadap promotor dan gen target menggunakan perangkat lunak bioinformatik, menghindari penggunaan promotor konstitutif kuat, usahakan mendapatkan tanaman dengan jumlah salinan gen sedikit, dan membuat populasi transgen yang besar sehingga bisa memilih seperti yang diharapkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima disampaikan kepada Dr Satya Nugroho, Dr Amy Estiati, Dr Asrul M Fuad, Puspita Deswina, MSc atas bantuan bahan kimia, bahan aus dan diskusinya. Terimakasih kepada Dr. Yuyu Suryasari Poerba atas kesempatannya menggunakan alat dokumentasi gel. Terimakasih pula kepada Bapak Adang, Bapak Kohar atas bantuannya menyiapkan tanaman di rumah kaca, dan Oktri Yurika atas bantuannya di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- BPS.** 2006. Statistik Indonesia. Jakarta. Indonesia.
- Miflin B.** 2000. Crop improvement in the 21st century. *J. Exp Bot.* 51,1-8
- Mulyaningsih ES, H Aswidinnoor, D Sopandie, PBF Ouwerkerk dan IH Slamet-Loedin.** 2010. Transformasi Padi Indica Kultivar Batutegi dan Kasalath dengan Gen Regulator HD-Zip untuk Perakitan Toleran Kekeringan. *J Agronomi Indonesia* (dalam proses penerbitan).
- Bashir K, M Raflq, T Fatima, T Husnain and S Riazuddin.** 2004. Hygromycin based selection of transformants in a local inbred line of *Zea mays* (L). *Pakistan J. of Biol. Sci.* 7(3), 318-323
- Brasileiro ACM and FJL Aragao.** 2001. Marker genes for *in vitro* selection of transgenic plants. *J. Plant Biotech.* 3(3), 113-121
- Chareonpornwattana S, KV Thara, L Wang, SK Datta, W Pangbangred and Muthukrisnan.** 1999. Inheritance, expression and silencing of a chitinase transgene in rice. *Theor. Appl. Genet.* 98, 371-378.
- Hu H, M Dai, J Yao, B Xiao, X Li, Q Zhang and L Xiong.** 2006. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *PNAS.* 103(35), 12987-12992.
- Iyer LM, SP Kumpatla, MB Chandrasekharan and TC Hall.** 2000. Transgene silencing in monocots. *Plant Mol. Biol.* 43, 323-346.
- Kumpatla SP and TC Hall.** 1999. Organizational complexity of a rice transgene locus susceptible to methylation-based silencing. *IUBMB life,* 459-467
- Lucy AP, H Guo, W Li and SW Ding.** 2000. Suppression of post-transcriptional gene silencing by a plant viral protein localized in nucleus. *EMBO J.* 19(7), 1672-1680.
- Meijer AH, E Scarpella, EL van Dijk, L Qin, AJ Taal, S Rueb, SE Harrington, SR McCouch, RA Schilperoort and JHC Hoge.** 1997. Transcriptional repression by *oshoxl*, a novel homeodomain leucine zipper protein from rice. *Plant J.* 11, 263-276.
- Meijer AH, RJ De Kam, I d'Erfurth, W Shen and JHC Hoge.** 2000. HD-Zip protein of family I and II from rice: interaction and functional properties. *Mol. Gen. Genet.* 236, 12-21.
- Meyer P.** 1995. Understanding and controlling transgene expression. *Trends in Biotech.* 13(9), 332-337.
- Meyer P.** 2000. Transcriptional transgene silencing and chromatin components. *Plant Mol. Biol.* 43, 221-234.
- Morino K, OA Olsen and K Shimamoto.** 1999. Silencing of an aleuron specific gene in transgenic rice is caused by a rearranged transgene. *Plant J.* 17, 275-285.
- Naylor R, D Battisti, DJ Vimonts, WP Falcon and MB Burke.** 2007. Assessing risks of climate variability and climate change for Indonesian rice agriculture. *PNAS.* 19(104) 7752-7757.
- Rodriguez RC and C Nottenburg.** 2003. Antibiotic resistance genes and their use in genetic transformation especially in plants. CAMBIA. Available at [http : www. cambiaip. org/ whitepapers/ Transgenic/ Ab_resistance /books / whole.pdf](http://www.cambiaip.org/whitepapers/Transgenic/Ab_resistance/books/whole.pdf) [18 September 2005]
- Taylor CB.** 1997. Comprehending cosuppression. *The Plant Cell.* 9, 1245-1249
- Waterhouse PM, MW Graham and MB Wang.** 1998. Virus resistance and gene silencing in plants can be induced by simultaneous expression of sense and antisense RNA. *PNAS.* 95, 13959-13964
- Xiao B, Y Huang, N Tang and L Xiong.** 2007. Over-expression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field condition. *Theor. Appl. Genetics.* 115, 35-46.
- Yamaguchi-Shinozaki K and K Shinozaki.** 2001. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. In: *Rice Biotechnology: Improving Yield, Stress Tolerance and Grain Quality - No. 236*, 176-189. (Novartis Foundation Symposium), Wiley, Chichester.