

BAB I

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman penghasil beras yang menjadi sumber makanan pokok sebagian besar penduduk Indonesia. Kualitas dan produksi tanaman padi perlu ditingkatkan karena beras merupakan pangan yang menyuplai kalori bagi masyarakat Indonesia sekitar 56--58% dari total kalori pangan. Peningkatan produksi dan kualitas padi dapat dilakukan dengan persilangan secara konvensional atau dengan teknologi transformasi genetik (Herman 1999: 8).

Teknologi transformasi dilakukan untuk menghasilkan tanaman transgenik yang memiliki sifat-sifat unggul. Akan tetapi, kebanyakan dari gen yang berperan dalam menentukan sifat-sifat unggul tersebut belum berhasil diidentifikasi (Rahmawati 2006: 8). Pencarian gen-gen dalam genom padi yang berperan dalam menentukan suatu fenotipe diperlukan untuk memperoleh informasi mengenai fungsi gen-gen padi sehingga kualitasnya dapat ditingkatkan (Jeoung *dkk.* 2002: 1636--1637).

Tahun 2002, International Rice Genome Sequence Project (IRGSP) (*lihat Greco dkk.* 2003: 10--11) telah mempublikasikan secara lengkap sekuen genom padi kultivar Nipponbare dengan ras Japonica dan Indica. Genom tanaman padi secara keseluruhan dapat diprediksi sekitar 32.000--55.000 gen. Informasi tersebut diharapkan dapat membantu penelitian

selanjutnya yaitu mencari metode yang tepat dalam mengidentifikasi fungsi dari gen-gen tersebut.

Identifikasi fungsi gen-gen padi dapat dilakukan melalui tanaman padi mutan yang diperoleh dengan insersi mutagen. Insersi mutagen umumnya dilakukan dengan cara transformasi melalui segmen transfer DNA (T-DNA) yang terletak pada plasmid Ti (*tumor inducing*) dari *Agrobacterium tumefaciens* L. (Sallaud *dkk.* 2004: 451). Namun, transformasi dengan metode tersebut pada sejumlah besar tanaman menjadi kurang efisien karena membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang mahal (Rahmawati 2006: 8).

Sistem transposon *Ac/Ds* (*activator/disociation*) merupakan metode alternatif yang lebih efisien untuk memperoleh tanaman padi mutan. Posisi mutasi yang berbeda-beda pada sejumlah besar tanaman padi dapat diperoleh melalui perpindahan (aktivitas) transposon *Ds* (Marsch-Martinez *dkk.* 2002: 1545). Tahun 1997, Izawa *dkk.* (*lihat Greco dkk.* 2003: 11) menyatakan bahwa transposon *Ac* yang bersifat *immobile* dan transposon *Ds* yang bersifat non-otonom telah berhasil dikembangkan dalam suatu T-DNA. Transposon *Ds* akan stabil dalam suatu genom jika tidak disertai dengan transposon *Ac* (Kolesnik *dkk* 2004: 302).

Tahun 2000, *French National Plant Genome Initiative* 'Genoplante' (*lihat Sallaud dkk.* 2004: 451--452) telah melakukan penelitian mengenai sistem transposon *Ac/Ds* pada tanaman padi ras Japonica kultivar Nipponbare. Sistem transposon tersebut dibuktikan dapat bekerja fungsional

dan menghasilkan koleksi besar padi mutan ras Japonica kultivar Dong-Jin dan Nipponbare. Namun, tanaman padi mutan yang dihasilkan belum dapat memberi banyak informasi mengenai fungsi gen-gen padi karena terjadi *transcriptional silencing* sehingga fenotipe tidak terekspresikan (Qu *dkk.* 2008: 189).

Tanaman padi mutan juga dapat diperoleh melalui insersi *activation tag*. *Activation tag* adalah potongan DNA yang terbentuk sekuen promoter 35S *cauliflower mosaic virus* (CaMV) sehingga dapat meningkatkan ekspresi gen-gen di sekitar daerah insersi. Jeoung *dkk.* (2002: 1636) telah berhasil membuat tanaman padi mutan dengan insersi T-DNA pembawa *activation tag* (tanpa transposon) pada tanaman padi. Namun, penelitian tersebut menjadi kurang efisien karena harus melakukan transformasi berulang-ulang (Qu *dkk.* 2008: 189).

Tahun 2000, *The Arabidopsis Genome Initiative* (lihat Marsch-Martinez 2002: 1544) menyatakan bahwa pada genom *Arabidopsis* insersi T-DNA yang mengandung *activation tag* dengan sistem transposon telah berhasil dibuktikan dapat bekerja fungsional. Analisis perbandingan antara genom padi (*O. sativa* L.) dan *Arabidopsis* menunjukkan bahwa ditemukan sekitar 50% dari genom *Arabidopsis* (terdapat sekitar 25.000 gen) yang diprediksi memiliki homologi dengan gen-gen padi. Oleh karena itu, sistem transposon dengan *activation tag* CaMV 35S *enhancer* diharapkan juga dapat diterapkan pada tanaman padi (Sallaud *dkk.* 2004: 451).

Kelompok peneliti padi di Puslit Bioteknologi LIPI Cibinong, sejak tahun 2005 telah berhasil mentransformasi T-DNA transposon *Ac/Ds* pembawa *activation tag* ke dalam genom tanaman padi (*O. sativa* L.) kultivar Nipponbare, ras Japonica. Transformasi dilakukan melalui metode infeksi *Agrobacterium* dengan plasmid pMO22 sehingga dihasilkan 1.785 tanaman generasi pertama (T0). Populasi tanaman padi mutan yang mengandung transposon *Ds* stabil diduga dapat diperoleh melalui sejumlah analisis terhadap insersi T-DNA pembawa transposon *Ac/Ds* pada tanaman padi hasil transformasi tersebut (Nugroho, *dkk.* 2006: 236).

Penelitian dilakukan pada tanaman T0 dan tanaman T1 yang bertujuan untuk:

1. Memperoleh tanaman padi T0 yang memiliki *single copy* insersi T-DNA transposon *Ac/Ds* melalui analisis *Southern hybridization*,
2. Memastikan terjadinya aktivitas transposon *Ds* melalui analisis PCR (*polymerase chain reaction*) pada tanaman padi T1, dan
3. Menyeleksi genotipe yang mengandung transposon *Ds* stabil dengan memanfaatkan marka reporter gen (*bar*, *hpt*, dan *gfp*).

Populasi tanaman padi mutan T1 dengan transposon *Ds* stabil pembawa *activation tag* diharapkan dapat diperoleh dari alur penelitian yang dilakukan. Penelitian tersebut merupakan bagian dari proyek pembuatan perpustakaan padi mutan untuk identifikasi fungsi gen-gen padi di Laboratorium Biologi Molekuler, Puslit Bioteknologi, LIPI, Cibinong.