



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

PENGEMBANGAN KIT DETEKSI CEPAT GEN AROMA BERBASIS *MOLECULAR BEACON* UNTUK MENENTUKAN VARIETAS UNGGUL PADI DI KALANGAN PETANI

Jenis Kegiatan:
PKM Gagasan Tertulis

Diusulkan Oleh:

ANGGUN WIDYA NINGGAR	(G84070034/ 2007)
FERDIANSYAH	(G84070077/2007)
ELVITA CITRAWANI	(G84080066/2008)

INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2011

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Pengembangan Kit Deteksi Cepat Gen Aroma Berbasis *Molecular Beacon* untuk Menentukan Varietas Unggul Padi di Kalangan Petani
2. Bidang Kegiatan : PKM GT
3. Bidang Ilmu : Teknologi dan Rekayasa
4. Ketua Pelaksana Kegiatan
 - a. Nama Lengkap : Anggun Widya Ninggar
 - b. NIM : G84070034
 - c. Jurusan : Biokimia
 - d. Universitas/Institut : Institut Pertanian Bogor
 - e. Alamat Rumah dan No.Telp/HP : Pondok Aisyah Gg.
Cangkir no 31C RT 02/08
Babakan Tengah Darmaga
Bogor
 - f. Alamat Email : Lition_anggun@yahoo.com
5. Anggota Pelaksana Kegiatan/Penulis : 2 orang
6. Dosen Pembimbing
 - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Djarot Sasongko HS,MS
 - b. NIP : 19601106 198903 1 001
 - c. Alamat Rumah dan No Telp/HP : Jl. Raya Semplak 153 A,
Bogor. Telp. (0251)7535724,
Hp: 087870155859

Bogor, 5 Maret 2011

Menyetujui

Ketua Departemen Biokimia

Ketua Pelaksana Kegiatan

Dr. Ir.I Made Artika, M.App.Sc
NIP. 1963011 198903 1 001

Anggun Widya Ninggar
NIM. G84070034

Wakil Rektor Bidang Akademik dan
Kemahasiswaan

Dosen Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 19581228 198503 1 003

Dr. Djarot Sasongko HS, MS
NIP. 19601106 198903 1 001



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga kami dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengembangan Kit Deteksi Cepat Gen Aroma Padi Berbasis *Molecular beacon* untuk Menentukan Varietas Unggul Padi di Kalangan Petani”. Karya tulis ini ditujukan dalam rangka mengikuti Program Kreatifitas Mahasiswa bidang PKM-GT yang diselenggarakan oleh Dinas Pendidikan Tinggi, Jakarta. Karya tulis ini bertujuan untuk mengembangkan kit untuk deteksi cepat gen aroma padi yang dapat mendeteksi padi aromatik, nonaromatik, maupun sampel heterozigote berbasis *molecular beacon*

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Djarot Sasongko HS sebagai dosen pembimbing yang banyak memberi bimbingan dan arahan kepada penulis dalam melakukan penulisan, serta semua pihak yang telah membantu hingga terselesainya karya tulis ini. Penulis berharap gagasan ini bermanfaat baik bagi penulis maupun bagi pembaca pada umumnya yang salah satu di antaranya adalah masyarakat industri pangan dan konsumen.

Bogor, Maret 2011

Penulis

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	v
RINGKASAN	vi
PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Tujuan	2
GAGASAN	
Manipulasi Aroma Padi	2
Analisis dan Seleksi Aroma Padi	3
Kit berbasis <i>Molecular beacon</i> sebagai Pendeteksi Gen Aroma	4
Implementasi untuk Petani Indonesia	6
KESIMPULAN	8
DAFTAR PUSTAKA	9
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	vii

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 Seleksi PCR dengan marker <i>badh</i>	3
2 Fluoresensi <i>molecular beacon</i> jika bertemu target	5
3 Outline dari perbedaan aplikasi dari batang- <i>loop molecular beacon</i> di dalam teknologi mikroarray: MB (a), sekuen-target dan deteksi mutasi (b), <i>fluorescent intercalator displacement</i> (c)	6

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

RINGKASAN

Nilai komersial dan besarnya permintaan pasar nasional maupun internasional akan padi aromatik telah mendorong berbagai riset internasional pengembangan padi aromatik baru dengan karakter agronomi sebaik padi nonaromatik. Hal ini mengingat karakter agronomi (lama tanam, produktivitas, ketahanan hama dan penyakit, area geografi kultivasi, penanaman dan pemeliharaan, dan sebagainya) padi aromatik tidak sebaik padi nonaromatik sehingga menjadi kendala bagi petani untuk menanam padi aromatik. Hasil penelitian Djarot *et al.* (2009) mendapatkan hanya Mentik Wangi dan Gunung Perak yang teridentifikasi dengan marka aromatik yang tersedia di dunia pada saat ini. Ketersediaan marker aromatik yang fungsional untuk varietas padi Indonesia sangat diperlukan, apalagi belum ada marka untuk padi andalan Indonesia seperti Pandan Wangi dan Rojo Lele.

Berbagai metode analisis/seleksi aroma telah dikembangkan. Metode PCR merupakan yang paling praktis karena pada level DNA (sensitif dan tidak mudah rusak, serta pengerjaannya lebih mudah); tersedia marka *badh2* komersial; serta lebih sensitif lagi karena adanya aspek amplifikasi. Akan tetapi, metode ini juga memiliki kelemahan yaitu kecilnya InDel (insersi deleksi). Kecilnya ukuran InDel (~5 bp) telah menjadi kendala utama pada konstruksi marka kodominan toleransi genangan (Xu *et al.* 2004) dan pada karakter resesif (misalnya aroma, dsb.) InDel (4, 7, atau 8 bp) menjadi kendala pada aplikasi marka aromatik (Shi *et al.* 2008, Sakthivel *et al.* 2009), dan marka karakter padi yang lain. Oleh karena itu untuk pengembangan varietas padi unggul dimasa mendatang, perlu dikembangkan metode lain yang lebih tegas dari elektroforesis untuk mendeteksi sampel padi heterozygot dengan perbedaan InDel sekuen DNA yang relatif kecil. Kit berbasis *nano-molecular beacon* (Wang *et al.* 2008), yang dapat mendeteksi perbedaan 1 bp pada level nanomolar hingga subnanomolar merupakan salah satu alternatif yang menjanjikan. Metode ini akan lebih tegas, mudah, dan cepat. Selain itu diperkirakan jauh lebih murah karena tidak diperlukan peralatan PCR dan elektroforesis, beserta reagen-reagensya yang relatif mahal.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Padi aromatik merupakan bagian kecil yang istimewa dari kelompok padi karena memiliki mutu beras yang baik. Mutu beras (terutama mutu kimia beras) adalah suatu varietas yang mempengaruhi penerimaan petani dan luas areal tanam varietas tersebut. Beras dengan mutu kimia yang baik, yaitu aromatik dengan tekstur nasi pulen sangat disukai oleh konsumen dan memiliki harga yang tinggi. Oleh karena itu, selain produksi tinggi, meningkatkan mutu beras pada varietas unggul baru merupakan salah satu tujuan utama dalam pemuliaan tanaman (Krishnan & Okita 1986).

Varietas padi jenis aromatik terdiri atas varietas Sintanur, Gilirang, Pulu Mandoti, Pare Bau, Gunung Perak, Pinjan, Celebes, Pandan Wangi, Pare Kembang, Raja Lele, Cianjur, Mentik Wangi Kristal, Mentik Wangi Susu, dan Situ Patenggang. Sedangkan untuk varietas nonaromatik contohnya adalah IR64, Niponbare, T309, Fatmawati, Situ Begendit, Anel Raja, Anel Lombok (beras merah) untuk tepung, dan Anel Lombok (beras merah) untuk konsumsi langsung.

Padi nonaromatik mempunyai sifat agronomi yang lebih baik jika dibandingkan padi aromatik. Umumnya padi nonaromatik lebih tahan terhadap penyakit dan stress, kondisi/lokasi lahan tidak terlalu selektif, penanaman/pemeliharaan lebih mudah, waktu tanam lebih singkat, dan produktivitas lebih tinggi. Namun demikian, mutu (rasa dan aroma) satu-satunya kelebihan padi aromatik yang mempunyai aspek komersial yang tinggi. Oleh karena itu, dalam rangka ketahanan pangan, akan sangat prospektif jika sifat aromatik (hanya aromanya saja) dapat ditambahkan pada padi nonaromatik tanpa merusak kelebihan-kelebihan padi tetua pemulih (*host*) seperti disebutkan di atas. Hal ini akan membuat petani mendapatkan produk beras aromatik dengan kemudahan, waktu, resiko, dan produktifitas seperti menanam padi nonaromatik. Hal ini dapat meningkatkan ekonomi petani dan sekaligus devisa negara jika diekspor, serta lebih menggairahkan minat pertanian baik petani maupun industri, selain mendukung program ketahanan pangan juga meningkatkan industri pertanian nasional.

Selain terhambatnya pengembangan varietas padi aromatik baru di Indonesia akibat kurang berfungsinya marka aromatik yang ada pada saat ini, kecilnya InDel juga menjadi kendala utama pada konstruksi marka kodominan padi secara umum. Seperti pada toleransi genangan (~5 bp), aroma (4, 7, atau 8 bp), atau karakter lain. Umumnya pada hasil elektroforesis sampel heterozygot akan diperoleh pita yang terlalu rapat/berhimpit sehingga sering menimbulkan keraguan di lapangan. Oleh karena itu untuk pengembangan varietas padi unggul (aromatik, toleran banjir, toleran kekeringan, dsb.) dimasa mendatang, perlu dikembangkan metoda lain yang lebih tegas dari elektroforesis untuk mendeteksi sampel padi heterozygot dengan perbedaan InDel sekuen DNA yang relatif kecil. Kit berbasis *nano-molecular beacon* (Wang *et al.* 2008), merupakan alternatif yang menjanjikan.

Kit dan alat ditawarkan pada pihak industri untuk memproduksinya. Pengguna kit relatif banyak (diantaranya litbang penelitian, perguruan tinggi,

industri pertanian, dsb.), dengan frekuensi yang tinggi, baik nasional maupun internasional. Varietas padi aromatik yang belum dapat teridentifikasi umumnya varietas andalan, misalnya Pandan Wangi dan Rojo Lele (Indonesia), Kai Noi Leung (Laos), Paw Sam Hwe (Burma), dsb. Selama ini varietas tersebut tidak memungkinkan digunakan sebagai donor aroma karena ketiadaan marka yang sesuai. Kecepatan (1-2 jam, dibandingkan PCR dan elektroforesis 1-2 hari), kemudahan penggunaan (kualifikasi/pendidikan penggunan/SDM tidak perlu tinggi), portabilitas (dapat dibawa ke lapangan), serta hasil yang lebih tegas dibandingkan elektroforesis akan banyak menarik minat pengguna, dan sekaligus investor. Harga reagen untuk PCR dan elektroforesis mencapai puluhan juta. Perlengkapan PCR dan elektroforesis melampaui ratusan juta. Sementara kit yang akan dihasilkan bisa ditekan dibawah 5 juta.

Tujuan

Karya tulis ini bertujuan menggali gagasan atau ide, mengkaji, serta menganalisis pengembangan kit yang dapat digunakan untuk deteksi cepat gen aroma meliputi padi aromatik, nonaromatik, maupun sampel heterozygote berbasis *molecular beacon*. Pendeteksian alternatif ini bersifat lebih tegas dari elektroforesis dalam mendeteksi sampel padi heterozygot dengan perbedaan InDel sekuen DNA yang relatif serta dilakukan untuk pengembangan varietas padi unggul dimasa mendatang.

GAGASAN

Manipulasi aroma padi

Marka aromatik akan sangat berguna untuk pengembangan padi nonaromatik beraroma Pandan Wangi, sehingga petani dapat mendapatkan produk aromatik yang harganya tinggi dengan kemudahan dan resiko seperti menanam padi non aromatik. Hal ini dapat meningkatkan ekonomi petani dan sekaligus devisa negara jika diekspor, serta lebih menggairahkan minat pertanian baik petani maupun industri, selain mendukung.

Berdasarkan studi yang telah diuraikan, aroma dapat diintroduksi pada padi nonaromatik dengan menginaktivasi gen *badh2* pada padi tersebut. Untuk menghindari diperolehnya produk tanaman transgenik. Varietas (nonaromatik) Ciherang digunakan sebagai tetua betina (host) dan salah satu dari varietas aromatik Mentik Wangi/ Gilirang/ Pandan Wangi sebagai tetua jantan (donor). Varietas-varietas yang digunakan tersebut merupakan varietas pengembangan lokal yang akrab dengan petani maupun konsumen. Selain menghindari produk transgenik, persilangan padi secara konvensional telah terbukti stabil, sedangkan metode rekayasa *genetik* belum sepenuhnya teruji. Teknik molekular diaplikasikan untuk membantu seleksi sehingga dapat akurat, lebih cepat dan mengurangi waktu serta biaya penelitian.

Aroma timbul jika dalam alel gen *badh2* pada keadaan resesif homozigot. Sementara progeni *backcross* heterozigot sehingga tidak dapat diseleksi dengan uji aroma. Varietas resesif homozigot aromatik diperoleh setelah dilakukan selfing

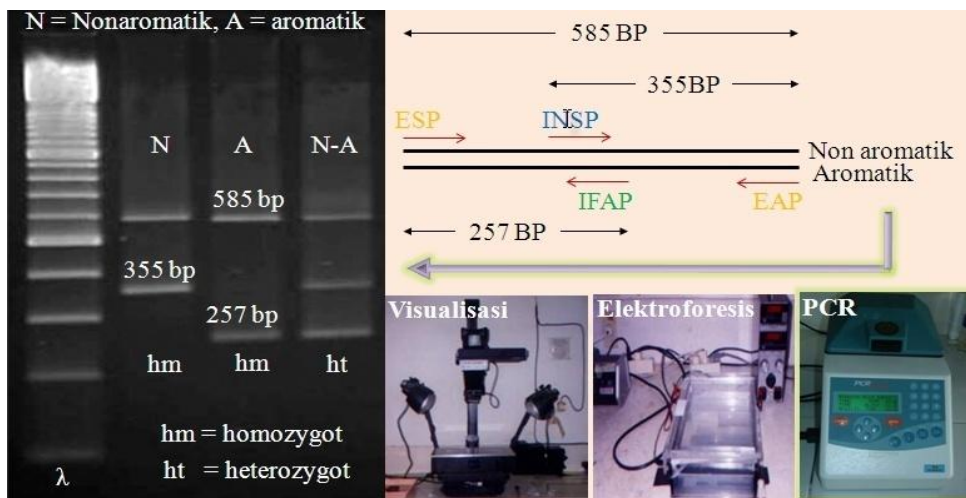
untuk mendapatkan BC5F2. Seleksi atau identifikasi alel gen aromatik dan nonaromatik menggunakan PCR dimungkinkan karena telah tersedianya marker/primer spesifik alel gen *badh2* seperti terlihat pada Tabel 1 (Bradbury *et al.* 2005b). Namun, seleksi menggunakan PCR terlampau mahal sehingga digunakan biosensor dengan probe MB yang didesain menggunakan marker tersebut.

Perbedaan sekuen *badh2* padi aromatik dan nonaromatik akan menghasilkan produk amplifikasi yang berbeda sehingga dapat dibedakan padi aromatik, nonaromatik maupun heterozigot hasil persilangan keduanya (Gambar 1). Oleh karena itu akan dapat dilacak keberadaan alel dari donor pada individu progeni di setiap generasi *backcross* dan memastikan bahwa progeni yang akan di *backcross* selanjutnya dengan host adalah heterozygot, sehingga tidak perlu dilakukan *selfing* tiap generasi *backcross* untuk memastikan individu progeni heterozigot.

Tabel 1 Primer spesifik gen *badh2*

Nama Primer	Sekuen Primer
External Sense Primer (ESP)	TTGTTTGGAGCTTGCTGAGT
Internal Fragrant Antisense Primer (IFAP)	CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC
Internal Non-Fragrant Antisense Primer (INSP)	CTGGTAAAAAGATTAGGCTTA
External Antisense Primer (EAP)	AGTGCTTTACAAAGTCCCGC

Sumber : Bradbury *et al.* (2005b)



Gambar 2 Seleksi PCR dengan marker *badh2* (Bradbury *et al.* 2005b)

Analisis dan Seleksi Aroma

Berbagai metode analisis/seleksi aroma telah dikembangkan, diantaranya metode organoleptik rasa beras (Reinke *et al.* 1991) atau bau daun/bulir padi yang telah dipanaskan atau direaksikan dengan larutan KOH atau I₂-KI (Sood 1978) merupakan metode konvensional yang digunakan pada pengembangan padi aromatik di berbagai negara. Namun selain sulit dilakukan jika jenis sampel banyak, evaluasinya memerlukan panelis yang banyak, sulit dan tidak reliable (Bradbury *et al.* 2005b).

Kemampuan penganalisis untuk membedakan rasa/bau sampel aromatik dan nonaromatik juga akan berkurang akibat abrasi lidah setelah mengunyah bulir padi yang keras atau kerusakan pada organ penciuman (Bradbury *et. al.* 2005b). Deteksi berdasarkan penentuan 2AP menggunakan GC (Lorieux *et. al.* 1996, Widjaja *et. al.* 1996) atau penentuan isotop stabil (Yoshihashi 2002) juga dapat dilakukan, tetapi memakan waktu dan memerlukan sampel yang banyak. Marker molekular SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) atau SSRs (Simple Sequence Repeats) yang dapat digunakan dengan mudah, cepat, dan hanya memerlukan sampel yang sedikit juga telah dikembangkan (Cordeiro *et. al.* 2002). Namun, marker-marker tersebut hanya mendekteksi gen aromatik, tidak dapat membedakan status dari gen (utuh/terdelesi).

Penemuan adanya delesi 8 bp dan 3 SNPs gen *badh2* pada kromosom 8 pada padi aromatik varietas Jasmin dan Basmati (Bradbury *et. al.* 2005a) dibandingkan padi nonaromatik menghasilkan pengembangan marka yang dapat mendeteksi dan sekaligus membedakan padi aromatik/nonaromatik (Bradbury *et. al.* 2005b). Marka lain juga telah dikembangkan diantaranya RM 223 (Lang and Buu 2008), marka Shi *et. al.* (2008), dan marka Sakthivel *et. al.* (2009), namun primer Bradbury *et. al.* (2005b) mempunyai kelebihan karena perbedaan ukuran fragmen hasil PCR padi aromatik dan nonaromatik relatif besar hingga lebih mudah dibedakan, tanpa harus menggunakan agarosa konsentrasi tinggi atau akrilamid. Metode PCR merupakan yang paling praktis karena pada level DNA (sensitif dan tidak mudah rusak, serta pengerjaannya lebih mudah); tersedia marka *badh2* komersial; serta lebih sensitif lagi karena adanya aspek amplifikasi.

Akan tetapi, metode ini juga memiliki kelemahan yaitu kecilnya InDel. Kecilnya ukuran InDel (~5 bp) telah menjadi kendala utama pada konstruksi marka kodominan toleransi genangan, seperti pada marka RM219 (Xu *et al.* 2004). Masalah ini relatif teratasi terkait dengan toleransi genangan yang merupakan karakter dominan, sehingga masih dapat digunakan marka dominan seperti AEX1 dan C173 (Septiningsih *et al.* 2009). Namun pada karakter resesif (misalnya aroma, dsb.), marka kodominan merupakan keharusan, dan kecilnya InDel (4, 7, atau 8 bp) menjadi kendala pada aplikasi marka aromatik (Shi *et al.* 2008, Sakthivel *et al.* 2009), dan marka karakter padi yang lain. Oleh karena itu untuk pengembangan varietas padi unggul dimasa mendatang, perlu dikembangkan metode lain yang lebih tegas dari elektroforesis untuk mendeteksi sampel padi heterozygot dengan perbedaan InDel sekuen DNA yang relatif kecil. Kit berbasis *nano-molecular beacon* (Wang *et al.* 2008), yang dapat mendeteksi perbedaan 1 bp pada level nanomolar hingga subnanomolar merupakan salah satu alternatif yang menjanjikan. Metode ini akan lebih tegas, mudah, dan cepat. Selain itu diperkirakan jauh lebih murah karena tidak diperlukan peralatan PCR dan elektroforesis, beserta reagen-reagennya yang relatif mahal.

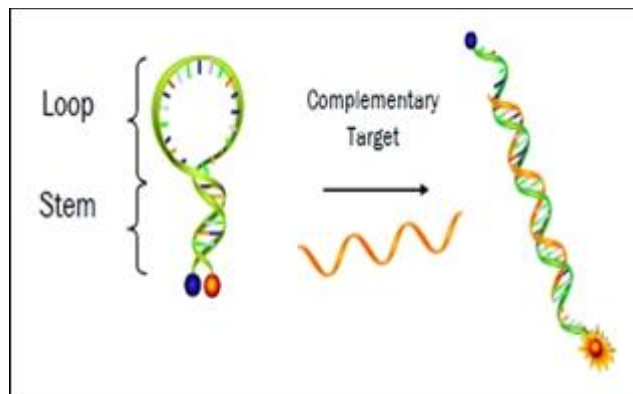
Kit berbasis *Molecular Beacon* sebagai Solusi Utama Alat Pendeteksi Gen Aroma

Molecular beacon adalah probe oligonukleotida utas tunggal yang berisi sekuen yang komplementer dengan target yang diapit oleh terminal *self-complementary*, dan terminal tersebut membawa sebuah *fluorophor* pada ujung 3' dan *quencher* pada ujung 5' nya (Tyagi & Kramer 1996, Tyagi *et al.* 1998)

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

(Gambar 3). Jika tidak terdapat target, batang dari *molecular beacon* akan tertutup (struktur *hairpin*) dalam *fluorophore* dan *quencher* saling berdekatan dan tidak dapat memancarkan fluoresen. Jika terdapat target, *molecular beacon* akan membentuk kompleks dengan target yang memisahkan *fluorophore* dari *quencher*. Setelah *fluorophore* terpisah dari *quencher*, fluoresensi akan meningkat secara kuantitatif dalam persentasi signal dari target.

Spesifisitas dari probe terletak pada struktur batang-*loop*. Spesifisitas dan sensitivitas dapat dioptimalkan untuk aplikasi tertentu dengan menyesuaikan persentase GC (Goel *et al.* 2005). Hibridisasi menghasilkan perubahan konformasi yang dapat memisahkan ikatan probe. Probe didesain sedemikian sehingga dapat berkomplemen dengan target. Molekul membentuk struktur *hairpin*. Hal ini akan menyebabkan transfer elektron antar batang sehingga membentuk sebuah kompleks nonfluoresen yang menyerap energi cahaya dan melepaskan energi sebagai panas. Dengan demikian, hasil *quenching* akan efisien. Namun, kehadiran dari target yang spesifik (probe dengan urutan komplementer) dalam waktu yang lama dan ikatan yang kuat antara probe-target akan mengalahkan struktur *hairpin*. Hal ini menyebabkan gangguan unimolekular konformasi batang-*loop*. Kekakuan dari urutan probe-target akan mendesak *hairpin* (*fluorophore-quencher*) untuk memisah. Akibatnya akan memancarkan fluoresensi dari karakteristik panjang gelombang (Gambar 2).



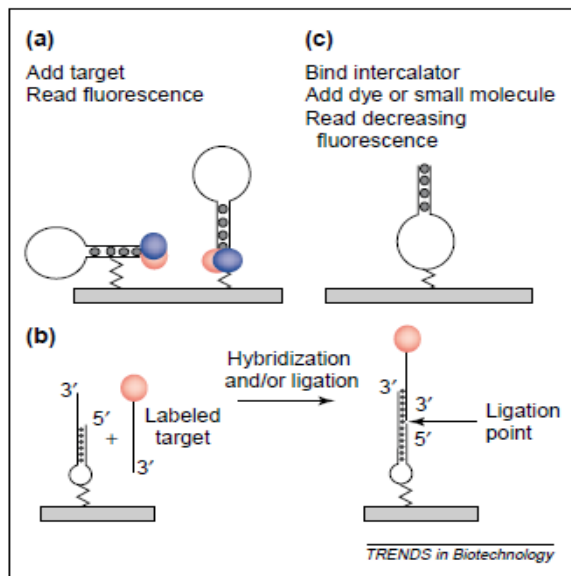
Gambar 2 Fluoresensi *molecular beacon* jika bertemu target (Kim *et al.* 2008).

Contact quenching adalah mekanisme probe *molecular beacon* dengan jarak yang pendek antara pewarna. Selama fenomena ini, *fluorophore* dan kromofor membentuk keadaan dasar heterodimer yang memungkinkan kopling kuat antara transisi dipol dari pewarna (Bernacchi dan Mely 2001). Sedangkan, FRET membutuhkan dua kondisi yaitu *fluorophore* dan *quencher* berinteraksi dalam jarak 20-100 Å dan harus ada yang signifikan tumpang tindih antara spektrum emisi *fluorophore* dan penyerapan spektrum *quencher* (Stryer 1978). Namun, spesifisitas terbatas selama ketidakcocokan nukleotida tunggal.

Peningkatan sensitivitas dari *molecular beacon* dapat dilakukan dengan beberapa cara. Diantaranya adalah dengan menambahkan lebih dari satu *fluorophore* dalam satu molekul *molecular beacon* atau dengan konjugasi polimer dalam *fluorophore* (Wang *et al.* 2008). Konjugasi polimer yang sering digunakan adalah Poly (phenylene ethynylene)/ PPE. Sedangkan untuk meningkatkan stabilitas dari *molecular beacon*, menggunakan modifikasi basa DNA (Wang *et al.*

2008) meliputi derivat 2'-OMe, derivat phosphothioate, dan basa peptide asam nukleat (PNA). Keakuratan probe untuk mendeteksi mutasi merupakan pendekatan yang digunakan sekarang ini (Hacia 1999). Oleh karena itu, batang-*loop molecular beacon* akan meningkatkan diskriminasi *mismatch*, dan juga menemukan aplikasi teknologi mikroarray DNA.

Pengembangan biosensor DNA mempunyai aplikasi potensial pada diagnosis dan mutasi genom. Biosensor hibridisasi DNA dapat memberikan informasi sekuen-spesifik secara cepat, simpel, dan murah jika dibandingkan dengan assay hibridisasi tradisional. Aplikasi pengembangan DNA biosensor diterapkan untuk pembuatan Kit dengan cara memodifikasi *molecular beacon* dengan biotin dan diimmobilisasikan ke dalam permukaan oleh absorpsi streptavidin. Cara penempelan probe pada permukaan berbeda-beda, tergantung pada desain percobaan (Gambar 3). Probe diimmobilisasi dengan streptavidin-biotin (Streemers 2000), atau diikatkan secara kovalen pada permukaan dengan senyawa kimia yang lain (Broude 2001). Klenerman (2000) mendiskripsikan metode baru dalam mengimmobilisasi DNA di dalam biotin. *Glass cover slip* yang diikatkan biotin-streptavidin yang mengaktifkan *microsphere* disimpan dalam matriks biotin, lalu DNA biotin diikatkan ke *microsphere* dan streptavidin yang memfungsikan *microsphere* berperan sebagai “jembatan” antara glass dan probe DNA (Gambar 3).



Gambar 3 Outline dari perbedaan aplikasi dari batang-*loop molecular beacon* di dalam teknologi mikroarray: MB (a), sekuen-target dan deteksi mutasi (b), *fluorescent intercalator displacement* (c) (Broude 2002).

Implementasi untuk petani Indonesia

Marka yang akan dihasilkan merupakan satu-satunya marka aromatik atau mungkin satu-satunya marka padi, yang dihasilkan di Indonesia, dengan SDM lokal, tanpa keterlibatan tenaga asing. Hal ini akan mendorong peneliti Indonesia untuk lebih percaya diri dan meningkatkan nasionalisme.

Produksi kit dapat dilakukan di Indonesia, sehingga menambah lapangan kerja, mengurangi ketergantungan produk asing, dan menambah peran Indonesia secara keilmuan dalam bidang pertanian maupun peralatan/reagen analisis. Kit dan alat dapat diproduksi melalui kerjasama dengan mitra industri dan dikembangkan untuk karakter padi yang lain. Selain beberapa unit di lingkungan IPB, Lembaga pemerintah yang terlibat pada gagasan ini adalah BB Biogen, Kementerian Pertanian, dan LIPI.

Marka aromatik akan sangat berguna untuk pengembangan padi nonaromatik beraroma Pandan Wangi, sehingga petani Indonesia dapat mendapatkan produk aromatik yang harganya tinggi dengan kemudahan dan resiko seperti menanam padi non aromatik. Hal ini dapat meningkatkan ekonomi petani dan sekaligus devisa negara jika diekspor, serta lebih menggairahkan minat pertanian baik petani maupun industri, selain mendukung program ketahanan pangan juga meningkatkan industri pertanian nasional.

Bibit padi nonaromatik wangi yang akan dihasilkan akan menguntungkan petani karena tahan stres dan penyakit (penanaman/pemeliharaan lebih mudah dan kebutuhan pupuk/pestisida dapat ditekan), kondisi tidak selektif (dapat ditanam di berbagai lokasi), masa tanam yang lebih singkat (periode panen lebih singkat/lebih banyak dalam setahun), produktivitas tinggi (± 8 ton/hektar), dan produknya wangi (harganya mahal). Hal ini tidak didapatkan jika menanam padi aromatik, sementara kalau menanam padi nonaromatik tidak dihasilkan produk yang berkualitas tinggi (wangi). Diharapkan hal ini dapat meningkatkan ekonomi petani dan sekaligus devisa negara jika diekspor, serta lebih menggairahkan minat pertanian.

Ketersediaan benih nonaromatik wangi juga akan menguntungkan atau mengurangi beban petani karena walaupun menanam padi nonaromatik (waktu tanam pendek dan produktivitas tinggi), tetapi didapatkan juga produk berkualitas tinggi (aromatik). Ketahanan hama dan penyakit akan mengurangi pupuk dan pestisida yang semakin mahal dan kadang sulit didapat. Ketidakselektifan lahan memberikan keleluasaan lahan untuk budidaya berbagai lokasi. Selain itu, gagasan ini juga dapat memberikan informasi jenis primer aromatik yang sesuai dengan varietas spesifik padi Indonesia. Hal ini merupakan langkah awal konstruksi padi nonaromatik yang memiliki sifat aromatik dalam rangka mendukung program ketahanan pangan nasional, mendorong *establishnya* metode persilangan terarah sebagai *green technology* pengembangan varietas unggul nontransgenik, diterapkan sebagai metode standar pada instansi nasional terkait, dan optimalisasi pemanfaatan fasilitas lembaga dan SDM nasional (IPB dan DEPTAN) terkait pengembangan varietas padi dalam rangka mendorong kemandirian bangsa dalam penguasaan metode pertanian.

KESIMPULAN

Besarnya permintaan pasar nasional maupun internasional akan padi aromatik telah mendorong berbagai riset internasional pengembangan padi aromatik. Ketersediaan marker aromatik yang fungsional untuk varietas padi Indonesia sangat diperlukan, apalagi belum ada marka untuk padi andalan Indonesia, sehingga diperlukan sistem pendeteksian gen aroma padi.

KIT yang dihasilkan merupakan alat yang bisa digunakan untuk mendeteksi gen aroma padi karena memiliki banyak kelebihan yaitu lebih tegas, cepat, dan murah jika dibandingkan dengan metode lain. Prinsip Kit berdasarkan fluoresensi yang ditimbulkan oleh *molecular beacon* bila berikatan dengan target.

DAFTAR PUSTAKA

Bernacchi S, Mely Y. 2001. Exciton interaction in *molecular beacons*: a sensitive sensor for short range modifications of the nucleic acid structure. *Nucleic Acids Res* 29: E62.

Bradbury LM, Fitzgerald TL, Henry RJ, Jin Q, Waters DLE. 2005a. The gene for fragrance in rice. *J Plant Biotech* 3: 363-368.

Bradbury LM, Henry RJ, Jin Q, Reinke RF, Waters DLE. 2005b. A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Mol Breed* 16: 279-283.

Cordeiro GM, Christopher MJ, Henry RJ, Reinke RF. 2002. Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. *Mol Breed* 9: 245-250

Goel G, Kumar A, Puniya AK, Chen W, Singh K. 2005. *Molecular beacon*: a multitask probe. *J Appl Microb* 99: 435-442.

Hami Seno DS, Santoso TJ, Tri Jatmiko KR, Padmadi B, Praptiwi D (2009) Konstruksi padi nonaromatik yang beraroma wangi menggunakan PCR berbantuan marka gen *badh2*. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2009, 678-688. ISBN : 978-602-8853-03-3, 978-602-8853-08-8.

Kim Y, Sohn D, Tan W. 2008. *Molecular beacon* in biomedical detection and clinical diagnosis. *Int J Clin Exp Pathol* 1: 105-116

Kostrikis LG, Tyagi S, Mhlanga MM, Ho DD, Kramer FR. 1998. Spectral genotyping of human alleles. *Science* 279: 1228-1229.

Krishnan HB, Okita TW. 1986. Structure relationship among the rice glutelin polypeptides. *Plant Physiol* 88: 649-655.

Manurung SO, Ismunadji M. 1999. *Padi: Buku Padi 1*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.



Marras SAE, Kramer FR, Tyagi S. 2002. Efficiencies of fluorescence resonance energy transfer and contact-mediated quenching in oligonucleotide probes. *Nucleic Acids Res* 30: E122.

Reinke RF, Welsh LA, Reece JE, Lewin LG, Blakeney AB. 1991. Procedures for quality selection of aromatic rice varieties. *Int. Rice Res. Newslett* 16: 10-11.

Sakthivel K, *et al.* 2009. Development of a simple functional marker for fragrance in rice and its validation in Indian Basmati and nonBasmati fragrant rice varieties. *Mol Breeding* DOI 10.1007/s11032-009-9283-x.

Septiningsih *et al.* 2009. Development of submergence tolerant rice cultivars: The *Sub1* locus dan beyond. *Annals of Botany* 103:151-160.

Shi W, Yang Y, Chen S, Xu M. 2008. Discovery of new fragrance allele and the development of functional markers for the breeding of fragrant rice varieties. *Mol Breeding* 22: 185-192.

Sood BC, Sidiq EA. 1978. A rapid technique for scent determination in rice. *J Genetic Plant Breed* 38: 268-271.

Stryer, L. 1978. Fluorescence energy transfer as spectroscopic ruler. *Ann Rev Biochem* 47:819–846.

Tan W *et al.* 2000. *Molecular beacons*: a novel DNAprobe for nucleic acid and protein studies. *Chemistry* 6: 1107–1111.

Tyagi S, Kramer FR. 1996. *Molecular beacons*: probes that fluoresce upon hybridization. *Nat. Biotechnol* 14: 303–308.

Tyagi S, *et al.* 1998. Multicolor *molecular beacons* for allele discrimination. *Nat. Biotechnol* 16: 49–53.

Wang *et al.* 2008. Molecular engineering of DNA: *Molecular beacon*. *Angew Chem Int Ed* 47: 2-17.

Widjaja R, Craske JD, Wootton M. 1996. Comparative studies on volatile components of non-fragrant and fragrant rices. *J Sci Food Agric* 70: 151–161.

Xu K, Deb R, Mackill DJ. 2004. A microsatellite marker and a codominant PCR-based marker for marker-assisted selection of submergence tolerance in rice. *Crop Sci* 44:248–253.

Yoshihashi T, Huong NTT, Inatomi H. 2002. Precursors of 2-acetyl-1-pyrroline, a potent flavor compound of an aromatic rice variety. *J Agric Food Chem* 50: 2001-2004.

Daftar Riwayat Hidup Ketua dan Anggota Pelaksana

1. Ketua Pelaksana

- Nama : Anggun Widya Ninggar
Tempat, tanggal lahir : Wonogiri, 16 Februari 1989
Jenis kelamin : Perempuan
Status : Belum menikah
Agama : Islam
Pekerjaan : Mahasiswa
Dept./Fak./Angk. : Biokimia/FMIPA/44
NRP : G84070034
No. HP : 085727394133
Email : lition_anggun@yahoo.com
Alamat : Babakan Tengah Dramaga Bogor
Kewarganegaraan : WNI
Golongan Darah : O
Motto Hidup : Jadilah yang terbaik dengan usaha, doa dan ikhtiar
Karya Ilmiah :
- PKM GT dengan judul ‘Potensi Sampah Buah-Buahan sebagai Bahan Bakar Alternatif (Biogas) Melalui Fermentasi Aerob dan Anaerob’ (2008/2009)
- PKMK dengan judul “Puding Kemangi Asyik” Sebagai Perangsang Hormon Estrogen Dalam Mencegah Pengeroposan Tulang (2009/2010)
- Artikel Populer dengan judul ‘Tanaman Transgenik, Menjelmakan Ancaman menjadi Peluang terhadap Peningkatan Pangan Indonesia’ (2009)
- Artikel dengan judul ‘Peran Remaja dan Filosofi Masyarakat dalam Pelestarian Lingkungan Hidup’ (2010)
- PKMK dengan judul “Bisnis Nata De Pina Kaya Serat Berbasis Pemanfaatan Kulit Buah Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*)” (2010)
- Paper untuk 18th International Conference on Composite Materials (ICCM18) dengan judul “Application of a Miniature Biochip Using The Molecular Beacon Probe In Breast Cancer Gene P53 Detection” (2011)

Penghargaan Ilmiah :

- Juara 2 Artikel Populer dengan judul ‘Tanaman Transgenik, Menjelmakan Ancaman menjadi Peluang terhadap Peningkatan Pangan Indonesia’ (2009)

2. Anggota

- a. Nama : Ferdiansyah
Tempat, tanggal lahir : Cianjur, 01 April 1988
Jenis kelamin : Laki-Laki
Status : Belum menikah
Agama : Islam
Pekerjaan : Mahasiswa
Dept./Fak./Angk. : Biokimia/FMIPA/45



NRP : G84070077
No. HP : 085659496513
Email : fers_only@yahoo.com
Alamat : Wisma Teratai No 05, RT/RW 02/08,
Darmaga, Bogor 16680

Kewarganegaraan : WNI
Golongan Darah : A
Motto Hidup : *Just do it and win the game*
Karya Ilmiah :

- Produksi xylitol dari bongkol jagung (2008/2009)
- PKM GT dengan judul 'Potensi Sampah Buah-Buahan sebagai Bahan Bakar Alternatif (Biogas) Melalui Fermentasi Aerob dan Anaerob' (2008/2009)
- Pemanfaatan Limbah Kulit Kayu Mahoni sebagai Penurun Kolesterol (2009/2010)
- Sediaan Obat Herbal Antikolesterol Berbasis Limbah Kulit Kayu Mahoni (*Swietenia marcophylla KING*) yang Diinduksi Terhadap Tikus Sprague Dawley (2011)
- Paper untuk 18th International Conference on Composite Materials (ICCM18) dengan judul "Application of a Miniature Biochip Using The Molecular Beacon Probe In Breast Cancer Gene P53 Detection" (2011)

Penghargaan ilmiah :
-3rd Best Oral Presentation of paper on 2nd annual health conference in Malaysia.

b. Nama : Elvita Citrawani
Tempat, tanggal lahir : Jakarta, 20 Agustus 1990
Jenis kelamin : Perempuan
Status : Belum menikah
Agama : Kristen Protestan
Pekerjaan : Mahasiswa
Dept./Fak./Angk. : Biokimia/FMIPA/45
NRP : G84080066
No. HP : 085694560221
Email : citra_niez_oke@yahoo.com
Alamat : Gg. Bara 5 no. 183, Darmaga, Bogor 16680
Kewarganegaraan : WNI
Golongan Darah : B
Motto Hidup : *Ora et Labora*
Karya Ilmiah :-
Penghargaan ilmiah :-



Daftar Riwayat Hidup Dosen Pembimbing

Nama : Dr. Djarot Sasongko Hami Seno, MS
NIP. : 19601106 198903 1 001
Tempat/tanggal lahir : Klaten, 6 November 1960
Jenis kelamin : Laki-laki
Bidang Keahlian : Biokimia/Biologi molekular/Rekayasa Genetik
Kantor/Unit Kerja : Departemen Biokimia FMIPA IPB*/ LT IPB**
Alamat Kantor : Kampus IPB Darmaga, Gedung Fapet, Wing 5,
Lantai 5, Jl Agatis, Bogor
Telpon/Faks : 0251-8423267,
Email : biokimia @fmipa.ipb.ac.ad

Alamat Rumah : Jl. Raya Semplak 153 A
Telepon : (0251) 7535724, Hp : 087870155859
Email : djarot.hamiseno@gmail.com

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.