

**KONSTRUKSI PADI NONAROMATIK YANG BERAROMA WANGI
MENGUNAKAN PCR BERBANTUAN MARKA GEN *BADH2***
(Construction of Fragrant-Nonaromatic Rice Using *BADH2* Marker-Assisted
PCR)

**Djarot Sasongko Hami Seno¹⁾, Santoso TJ²⁾, TriJatmiko KR²⁾,
Padmadi B³⁾, Praptiwi D³⁾**

¹⁾ Dep. Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB

²⁾ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian

³⁾ Dep. Biokimia, Fakultas Matematika dan IPA IPB

ABSTRAK

Tingginya permintaan pasar dan nilai komersial padi aromatik telah mendorong penelitian terkait aroma padi. Berbagai marka aromatik telah dilaporkan (Bradbury *et al.* 2005b, Lang and Buu 2008, Shi *et al.* 2008, Sakthivel *et al.* 2009). Namun selain aroma, sifat agronomi lain (produktivitas; waktu tanam; ketahanan hama dan penyakit; selektivitas area kultivasi, kemudahan tanam dan pemeliharaan; dsb.) padi aromatik tidak sebaik padi nonaromatik. Hal ini menjadi kendala bagi petani untuk menanam padi aromatik. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengembangan varietas Ciherang aromatik/wangi dengan sifat agronomi sebaik host Ciherang ditambah sifat aroma dari donor Mentik Wangi. Konstruksi dilakukan melalui *site-directed crossing* berbantuan PCR dengan marker gen *badh2*, untuk menghindari produk transgenik. Seleksi dilakukan menggunakan PCR dengan primer spesifik gen *badh2* (Bradbury *et al.* 2005). Pada tahun pertama (2009), DNA padi varietas nonaromatik (Ciherang) dan aromatik (Mentik Wangi, Gilirang, Pandan Wangi) diisolasi dari daun menggunakan metoda Shure *et al.* (1983), selanjutnya diamplifikasi dengan PCR menggunakan marka dan kondisi sesuai dengan yang dilaporkan oleh Bradbury *et al.* (2005). Padi aromatik yang dapat dibedakan dari padi nonaromatik kemudian disilangkan dengan padi nonaromatik Ciherang. Biji F1 kemudian ditanam, disolasi DNA nya, kemudian dianalisis dengan PCR menggunakan primer dan kondisi yang serupa. F1 yang heterozygot kemudian di *backcross* dengan Ciherang, dan BC1F1 ditanam dan dianalisis PCR sebagaimana F1. Hasil analisis PCR mendapatkan bahwa hanya varietas aromatik Mentik Wangi yang dapat dibedakan dari varietas nonaromatik Ciherang, sedangkan Gilirang dan Pandan Wangi tidak. Selanjutnya Mentik Wangi digunakan sebagai donor aromatik. Analisis progeni F1 persilangan Ciherang-Mentik Wangi, mendapatkan heterozygot F1 yang memberikan pita amplifikasi dari Ciherang dan Mentik Wangi, sebagaimana dilaporkan oleh Bradbury *et al.* (2005b). Hasil serupa juga didapatkan pada analisis progeni BC1F1 Ciherang-Mentik Wangi. Pada tahun kedua (2010) dan ketiga (2011) akan diteruskan *backcross* hingga 4 x untuk mendapatkan BC5F1 dan *diselfing* untuk mendapatkan BC5F2 homozygot (Ciherang beraroma Mentik Wangi).

Kata kunci : Ciherang, mentik wangi, aroma, tidak beraroma, *badh2*, *backcross*.

ABSTRACT

The high commercial value and market demand of fragrant rice have triggered a number of researches related to fragrant in rice. Various fragrant specific markers have been reported (Bradbury *et al.* 2005b, Lang and Buu 2008, Shi *et al.* 2008, Sakthivel *et al.* 2009). However, except for fragrant property, other agronomic traits (productivity; geographical location and period of cultivation; stress, insects, and diseases tolerance;

simplicity of cultivation and maintenance, etc.) of non-fragrant rice are disadvantages compare to those of fragrant rice. These have become barriers for farmer to grow fragrant rice. Therefore, Ciherang rice possessing native agronomic traits and additional fragrant property, was developed in this research. To avoid transgenic plant product, construction was carried out through site-directed crossing and using *badh2* specific marker-assisted PCR for progeny selection (Bradbury *et al.* 2005b). In the first year (2009), DNA of non-fragrant Ciherang and fragrant (Mentik Wangi, Gilirang, Pandan Wangi) rice were isolated from leaves and PCR amplified following the method as described by Shure *et al.* (1983) and Bradbury *et al.* (2005b), respectively. Fragrant rice with distinct PCR profile than that of non-fragrant Ciherang rice was then crossed to Ciherang. F1 seeds were planted, their DNA were isolated, and PCR analyzed as previous. The selected heterozygous F1 were then *backcrossed* to Ciherang, and the obtained BC1F1 were planted and analyzed as described for F1. PCR results showed that only Mentik Wangi profile was distinct compare to that of Ciherang, and therefore was selected as fragrant donor. In F1 progeny (Ciherang-Mentik Wangi) selection, heterozygote F1 with band amplification of Ciherang and Mentik Wangi, as described by Bradbury *et al.* (2005b), were obtained. The same results were obtained in BC1F1 (Ciherang-Mentik Wangi) progeny selection. In the 2nd (2010) and the 3rd (2011) year of research, BC1F1 will be further backcrossed 4 x and selfed, to obtain homozygous BC5F2 (Ciherang possessing Mentik Wangi fragrant).

Keywords : Ciherang, mentik wangi, fragrant, non-fragrant, *badh2*, backcross.

PENDAHULUAN

Hasil penelitian mendapatkan bahwa sifat aromatik disebabkan karena mutasi pada gen *badh2* (Bradbury *et al.* 2005a,b; Bourguis *et al.* 2008). Oleh karena itu aroma dapat diintroduksi pada padi nonaromatik melalui inaktivasi gen *badh2*nya. Inaktivasi dapat dilakukan dengan berbagai metoda rekayasa genetik seperti : ekspresi gen atau fragmen pada orientasi antisense; kloning bagian dari gen dalam konstruksi RNAi dan mengekspresikannya pada tanaman transgenik; mutagenesis melalui berbagai cara seperti TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes), insersi tDNA, atau metoda lain yang diikuti dengan skrining PCR atau metoda lain untuk mendapatkan varian aromatik; atau kloning gen aromatik yang termutasi pada varietas nonaromatik (Wachana *et al.* 2004, Vanavichit *et al.* 2008). Namun metoda-metoda tersebut menghasilkan produk varietas tanaman transgenik yang pemasarannya terhambat dengan regulasi GMO (Genetically Modified Organism). Oleh karena itu pada penelitian ini, aromatisasi padi nonaromatik dilakukan melalui penggantian alel gen *badh2* padi nonaromatik dengan alel gen terkait dari varietas aromatik, menggunakan teknik *backcross*