

## 6. APLIKASI TEKNOLOGI DNA UNTUK PENINGKATAN KETAHANAN TERHADAP HAMA PENGGEREK PADI

Amy Estiati, Syamsidah Rahmawati, Sigit Purwantomo, Fatimah Zahra,  
Yuli Sulistyowati & Dwi Astuti

### ABSTRAK

Penelitian tahun 2005 ini merupakan kegiatan lanjutan dari perakitan padi transgenik cv. Rojolele tahan penggerek batang. Berdasarkan percobaan lapangan terbatas pada tahun 2004 di daerah Karawang dan Indramayu, telah diperoleh satu galur padi transgenik T<sub>6</sub> (galur 6.11 +/-) mengandung gen *cryIAb*, potensial tahan penggerek batang kuning. Selain itu, berdasarkan penelitian di laboratorium dan rumah kaca transgenik, telah diperoleh tanaman transgenik T<sub>1</sub> mengandung fusi dua gen *cry*, yaitu *cryIB-cryIAa*, dan gen *cryIB* yang ekspresinya dikendalikan oleh promoter gen terinduksi pelukaan, *mpi*. Pada tahun ini kegiatan difokuskan pada uji lapangan terbatas ketahanan padi transgenik mengandung gen *cryIAb* (galur 6.11 +/-) generasi T<sub>7</sub> terhadap penggerek batang kuning di daerah Karawang. Sebagai data penunjang dilakukan pengamatan terhadap populasi serangga non-target (musuh alami) dalam ekosistem tanaman transgenik; analisis molekuler dan bioasai skala rumah kaca padi Rojolele transgenik generasi T<sub>2</sub> hasil transformasi dengan gen *cryIB-cryIAa* atau dengan gen *cryIB* di bawah kendali promoter gen terinduksi pelukaan, *mpi*. Hasil uji lapangan terbatas menunjukkan bahwa galur 6.11 +/- tahan penggerek batang kuning dengan tingkat kerusakan 5%, sementara serangan pada padi non-transgenik yaitu cv. Rojolele dan IR42 masing-masing dapat mencapai 21 dan 50%. Pelepasan galur transgenik 6.11 +/- tidak berpengaruh terhadap populasi musuh alami dalam ekosistem tanaman transgenik. Dari hasil analisis PCR pada padi transgenik generasi T<sub>2</sub> mengandung fusi dua gen *cryIB-cryIAa* dan *cryIB* dengan promoter *mpi* didapatkan 6 dan 3 galur bersegregasi dengan pola pewarisan 3:1. Berdasarkan hasil bioasai di rumah kaca, tanaman yang positif mengandung gen *cryIB-cryIAa* atau *cryIB*, lebih tahan terhadap penggerek batang kuning dengan skala 0-1, dibandingkan dengan tanaman padi kontrol (cv. Rojolele non-transgenik) dengan skala 9.

**Kata kunci:** Padi transgenik, penggerek batang, *cryIAb*, *cryIB-cryIAa*, *cryIB*

### PENDAHULUAN

Dengan menggunakan teknologi DNA, telah berhasil dirakit padi transgenik cv. Rojolele tahan penggerek batang kuning, yang sulit diperoleh menggunakan pendekatan persilangan secara konvensional. Gen *cryIAb* yang diisolasi dari bakteri

*Bacillus thuringiensis* telah berhasil diinsersikan ke dalam genom padi cv. Rojolele. Gen ini menghasilkan kristal protein yang bersifat toksik terhadap lepidoptera, namun tidak berbahaya bagi manusia (Hofte dan Whiteley, 1989).

Berdasarkan analisis PCR (*Polymerase Chain Reaction*), hibridisasi Southern, dan bioasai terhadap penggerek batang kuning di rumah kaca sampai dengan generasi kelima, membuktikan bahwa gen *cry IA(b)* tetap diwariskan pada setiap generasinya dan ditemukan galur yang efektif terhadap penggerek batang kuning. Sementara itu dari hasil pengujian di lapangan terbatas pada musim tanam tahun 2003 dan 2004, telah diperoleh satu galur Rojolele transgenik tahan penggerek batang kuning, yaitu galur 6.11 (+/-).

Selain itu, untuk mendapatkan padi tahan penggerek yang memiliki ketahanan yang tahan lama, dua pendekatan dilakukan; pertama, transformasi ke dalam genom padi cv. Rojolele dengan dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*) yang berbeda binding site di dalam pencernaan larva serangga dan kedua transformasi gen *cryIB* dibawah kendali promoter gen terinduksi pelukaan dari jagung maize proteinase inhibitor (*mpi*). Dari hasil penelitian di laboratorium, pada tahun 2004 telah diperoleh tanaman padi Rojolele transgenik generasi ke-dua ( $T_1$ ) yang berdasarkan hasil analisis PCR, positif mengandung dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*) dan gen *cryIB* dibawah kendali promoter *mpi*. Untuk mengetahui apakah gen *cry* dan ekspresinya tetap diwariskan pada generasi selanjutnya, maka pengujian baik di laboratorium, rumah kaca transgenik dan pengujian lapangan terbatas mutlak diperlukan.

Penelitian tahun 2005 ini merupakan penelitian lanjutan yang meliputi uji lapangan terbatas padi Rojolele transgenik mengandung gen *cryIAb* tahan terhadap penggerek batang kuning, analisis molekuler dan bioasai padi Rojolele transgenik generasi ke-tiga ( $T_2$ ) hasil transformasi dengan dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*) berbeda *binding site* di dalam pencernaan larva serangga, dan analisis molekuler dan bioasai padi Rojolele transgenik generasi ke-tiga ( $T_2$ ) hasil transformasi dengan gen *cryIB* di bawah kendali promoter gen terinduksi pelukaan, *mpi*.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### 1. Bahan Tanaman

Untuk percobaan lapangan terbatas, digunakan tanaman transgenik generasi ke-8 (T7) galur 6.11 (+/-). Galur ini dipilih karena menunjukkan tingkat ketahanan terhadap penggerek batang yang cukup tinggi dibandingkan dengan kontrolnya. Sebagai kontrol (tanaman non-transgenik) digunakan padi Rojolele sebagai galur isogenik dan varietas IR42 sebagai varietas yang berpotensi hasil tinggi. Untuk padi yang ditransformasi dengan dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*) dipilih 6 galur, yaitu Rjl 04 F2.2 2.4-25, RFZ 3.3.2A-11, RFZ 4.2.2-1, RFZ 4.2.3-28, RFZ 4.2.4-21, dan RFZ 3.2.2-1, sedangkan padi yang ditransformasi dengan gen *cryIB* yang dikendalikan oleh promoter terinduksi pelukaan (*mpi*) dipilih 4 galur, yaitu 3R5, 3R2.5-7, 3R7-8, 3R9-8. Benih yang digunakan berasal dari tetua yang positif mengandung gen *cry*. Hasil pengamatan terhadap pola segregasi gen pada tahun sebelumnya menunjukkan bahwa gen *cry* diwariskan mengikuti pola pewarisan Mendel (3:1) pada ke-10 galur tersebut. Bioassai terhadap penggerek batang juga menunjukkan bahwa ke-10 galur tersebut potensial tahan terhadap penggerek batang kuning dibandingkan dengan tanaman kontrolnya (Rojolele non-transgenik).

### 2. Persiapan Penelitian

#### *a Percobaan lapangan terbatas galur transgenik 6.11(+/-) mengandung gen cry1Ab*

Pengujian lapangan terbatas ketahanan satu galur padi transgenik (6.11 +/-) terhadap penggerek batang kuning dilakukan di Kecamatan Tempuran, Kabupaten Karawang pada musim kemarau. Galur dan varietas yang digunakan dalam pengujian meliputi satu galur transgenik 6.11(+/-), varietas Rojolele sebagai galur isogenik, dan varietas IR42 sebagai varietas yang berpotensi hasil tinggi. Percobaan lapangan terbatas ini dilakukan bekerjasama dengan Balai Penelitian Tanaman Padi, Badan Penelitian Ddn Pengembangan Pertanian Sukamandi.

#### *b. Seleksi dan aklimatisasi padi transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) mengandung fusi dua gen cry (cry1B-cry1Aa) dan gen cry1B dengan promoter mpi*

Seleksi tanaman transgenik dilakukan dengan menumbuhkan benih T<sub>2</sub> yang berasal dari tanaman T<sub>1</sub> heterozigot positif mengandung gen *cry1B-cry1Aa* atau *cry1B*

pada media yang mengandung higromisin 75 mg/l. Seleksi menggunakan higromisin dilakukan karena pada masing-masing plasmid yang ditransformasikan ke dalam genom padi cv. Rojolele mengandung gen *hpt*. Jumlah galur yang digunakan sebanyak 10 galur, terdiri dari 6 galur mengandung fusi dua gen *cry* yaitu Rjl 04 F2.2 2.4-25, RFZ 3.3.2A-11, RFZ 4.2.2-1, RFZ 4.2.3-28, RFZ 4.2.4-21, dan RFZ 3.2.2-1 dan 4 galur mengandung gen *cry1B* dengan promoter *mpi*, yaitu 3R5, 3R2.5-7, 3R7-8, 3R9-8. Dari masing-masing galur ditanam sebanyak 50 benih. Tanaman yang mengandung transgen akan tumbuh dan tahan higromisin. Sebaliknya, tanaman yang tidak mengandung transgen tidak tahan higromisin, sehingga tidak mampu tumbuh pada media tersebut. Tanaman tahan higromisin selanjutnya dipindahkan ke dalam pot dan ditumbuhkan di rumah kaca transgenik. Tanaman ini selanjutnya akan dianalisis (PCR) untuk mengevaluasi kestabilan gen dan diuji ketahanannya terhadap penggerek batang kuning.

### 3. Percobaan lapangan terbatas galur transgenik 6.11(+/-) mengandung gen *cry1Ab*

Pengujian lapangan terbatas ketahanan satu galur padi transgenik (6.11 +/-) terhadap penggerek batang kuning dilakukan di Kecamatan Tempuran, Kabupaten Karawang pada musim kemarau 2005. Galur dan varietas yang digunakan dalam pengujian meliputi satu galur transgenik yaitu galur 6.11(+/-), varietas Rojolele sebagai galur isogenik, dan varietas IR42 sebagai varietas yang berpotensi hasil tinggi. Galur dan varietas ditanam pada 30 hari setelah sebar dengan jarak tanam 25 cm x 25 cm dengan 3 bibit/rumpun. Budidaya padi dilakukan seperti anjuran. Pupuk diberikan pada waktu tanam sebanyak : 40 kg N/ha dan 40 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> /ha. Pupuk susulan diberikan sebanyak 40 kg N/ha pada 25 hari setelah tanam dan pupuk susulan kedua 40 kg N/ha pada 50 hari setelah tanam. Di sekeliling percobaan ditanam varietas Rojolele selebar 1 m sebagai isolasi varietas yang ditanam di sekitar. Percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan sembilan ulangan. Ukuran plot 8 m x 6 m (Gambar 1).



Gambar 1. Plot percobaan lapangan terbatas

Pengamatan gejala serangan penggerek batang padi dilakukan tiap dua minggu, mulai 2 minggu setelah tanam sampai 10 hari sebelum panen. Untuk menentukan tingkat serangan penggerek batang padi diamati pada 32 rumpun untuk tiap plot, jumlah anakan sehat dan anakan dengan gejala serangan penggerek batang.

Tingkat serangan dihitung dengan rumus :

$$I = \frac{a}{a + b} \times 100 \%$$

I = Tingkat serangan (%)  
a = Jumlah anakan terserang  
b = Jumlah anakan sehat

Sebagai data penunjang diamati juga keberadaan hama lain, musuh alami, dan penyakit. Pengamatan hama lain dan musuh alami dilakukan dengan cara penghitungan langsung (*direct counting*). Data dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA) dan perbedaan antar perlakuan dievaluasi dengan uji wilayah berganda Duncan pada taraf nyata 5 %.

4. Isolasi DNA dan amplifikasi gen ubi *-cryIB-cryIAa* atau mpi *-cryIB* pada padi transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) mengandung gen ubi *-cryIB-cryIAa* atau mpi *-cryIB*

PCR dilakukan untuk mendeteksi keberadaan gen *cry* pada tanaman padi cv. Rojolele generasi ke-3 (T<sub>2</sub>) hasil transformasi dengan gen *cryIB-cryIAa* dan gen *cryIB*

dengan promoter *mpi*. DNA diisolasi dari daun tanaman hasil transformasi dan kontrol (tidak ditransformasi). Sekitar 10 cm daun muda dimasukkan ke dalam tabung steril 1,5 ml dibekukan dengan nitrogen cair, digerus hingga menjadi bubuk, dan ditambah dengan 750 µl buffer isolasi yang mengandung buffer lisis [0,2 M tris-HCL pH 7,5, 0,05M EDTA, 2M NaCl, 2% (b/v) CTAB], buffer ekstraksi [0,35M sorbitol, 0,1M Tris HCl pH 7,5, 5 mM EDTA], dan 5% (b/v) sarkosil dengan perbandingan 2,5: 2,5: 1. Kemudian diinkubasi 1 jam pada suhu 65 °C sambil dikocok perlahan, ditambah 750 µl kloroform:isoamil alkohol (24:1) dan dikocok. Kemudian sampel disentrifus (12.000 rpm, selama 5 menit pada suhu ruang). Lapisan atas diambil dan dipindah ke tabung 1,5 ml yang baru dan ditambah 400µl isopropanol dan dikocok. Sampel disentrifus (12.000 rpm, selama 6 menit pada suhu ruang). Supernatan dibuang, pellet dicuci dengan 500µl 70% etanol dan disentrifus (12.000 rpm selama 3 menit). Supernatant dibuang dan pellet dikering anginkan. DNA dilarutkan dalam 50µl TE (van Heusden *et al.*,2000)

Amplifikasi PCR dilakukan dengan total reaksi 25 µl [1x buffer PCR, 0,05 mM dNTPs, masing-masing 2,5 ng/µl primer, 0,05 U/µl *taq* polymerase, 100 ng sampel DNA, dan H<sub>2</sub>O). Primer yang didesain untuk memperbanyak fragmen DNA (785 pb) dari fusi dua gen *cryIB-cryIAa* mempunyai urutan sebagai berikut: forward 5' gcc caa gaa gct gtc aac gc 3' dan reverse 5' cga tgt cga gaa ctg tga gg 3'. Sedangkan primer yang didesain untuk memperbanyak fragmen (1,9 kb) dari gen *cryIB* mempunyai urutan sebagai berikut: forward 5' gct gtg tcc aac cac tcc gc 3' dan reverse 5' gta ccg aat tgg gct gca gg 3'. Kondisi PCR untuk amplifikasi gen *cryIB-cryIAa* adalah 95°C (3 menit); 95°C (1 menit), 60°C (1 menit), 72°C (1 menit) 40 siklus; 72°C (5 menit). Kondisi PCR untuk gen *cry IB* adalah 95°C (3 menit); 95°C (1 menit), 62°C (1 menit), 72°C (1 menit) 40 siklus; 72°C (5 menit). Produk PCR dipisahkan dengan elektroforesis menggunakan 1.2% gel agarose dalam 0,5x buffer TBE dan diwarnai dengan ethidium bromida.

5. Analisis segregasi transgen padi transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) mengandung gen ubi *-cryIB-cryIAa* atau *mpi -cryIB*

Analisis segregasi transgen dilakukan untuk mengetahui apakah gen diwariskan ke generasi berikutnya mengikuti segregasi Mendel untuk gen tunggal, yaitu 3:1. DNA total tanaman diisolasi dari tanaman padi generasi ketiga (T<sub>2</sub>) hasil transformasi dengan

fusi dua gen *cry*, yaitu *cryIB-cryIAa* yang dikendalikan promoter ubiquitin, atau gen *cryIB* yang dikendalikan oleh promoter terinduksi pelukaan, *mpi*. Selanjutnya analisis PCR dilakukan menggunakan primer spesifik untuk masing-masing gen yaitu forward 5' gcc caa gaa gct gtc aac gc 3' dan reverse 5'cga tgt cga gaa ctg tga gg 3' untuk fusi dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*); forward 5' gct gtg tcc aac cac tcc gc 3' dan reverse 5' gta ccg aat tgg gct gca gg 3' untuk gen *cryIB* dengan promoter *mpi*. Jumlah sampel tanaman dari masing-masing galur adalah 30 yang diambil secara acak. Hasil PCR kemudian dianalisis menggunakan uji khi-kuadrat.

6. Bioassai terhadap penggerek batang kuning padi transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) mengandung gen ubi -*cryIB-cryIAa* atau *mpi* -*cryIB*

Tanaman transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) positif mengandung gen *cry* dan tanaman yang tidak ditransformasi (kontrol) diinfestasi dengan larva penggerek batang kuning yang baru menetas (*neonate*), masing-masing satu larva untuk tiap anakan. Sebagai tanaman kontrol digunakan padi Rojolele non-transgenik sebagai galur isogenik. Anakan diinfestasi pada fase vegetatif. Pengamatan terhadap jumlah anakan yang terserang sundep dilakukan dua dan empat minggu setelah infestasi. Persentase sundep untuk masing-masing galur dihitung menggunakan formula sebagai berikut;

$$\text{Serangan sundep} = \frac{\text{Jumlah sundep pada galur yang diamati}}{\text{Jumlah anakan dari galur yang sama}} \times 100\%$$

Persentase sundep tersebut dikonversikan ke dalam nilai D sebagai berikut;

$$D = \frac{\% \text{ sundep dari galur yang diuji}}{\% \text{ sundep dari varitas pembanding rentan}} \times 100\%$$

Nilai D ditransformasikan ke dalam skala 0-9 (0 = 0%, 1 = 1-20%, 3 = 21-40%, 5 = 41-60%, 7 = 61-80%, 9 = 81-100%). Nilai untuk ketahanan terhadap sundep (*deadhearts*) berdasarkan Standard Evaluation System (IRRI 1996) adalah sebagai berikut; 0 = tidak ada gejala, 1 = 1-10%, 3 = 11-20%, 5 = 21-30%, 7 = 31-60%, dan 9=>60% menunjukkan gejala sundep.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Percobaan lapangan terbatas padi transgenik galur 6.11 (+/-) mengandung gen *cry1Ab*

Serangan penggerek batang padi kuning (PBPK) pada 2, 4, dan 6 minggu setelah tanam (MST) masih rendah, namun demikian sudah terlihat adanya perbedaan tingkat serangan PBPK antar varietas. Tingkat serangan PBPK pada galur transgenik (6.11 (+/-)) dan varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat serangan PBPK pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan tingkat serangan PBPK antara galur transgenik (6.11 (+/-)) dan varietas Rojolele. Tingkat serangan meningkat pada 8 MST dan mencapai puncaknya pada 12 MST. Selanjutnya tingkat serangan menurun pada 18 MST. Pada 8 MST, tingkat serangan pada varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat serangan pada galur transgenik (6.11 (+/-)) dan varietas IR42. Ada perbedaan tingkat serangan antar varietas Rojolele, IR42, dan galur transgenik (6.11 (+/-)). Tingginya tingkat serangan pada galur transgenik 6.11 (+/-) dan Rojolele serta rendahnya tingkat serangan PBPK pada IR42 pada 2,4,6 dan 8 MST bukan disebabkan perbedaan ketahanan tetapi penyebabnya bahwa varietas IR42 ditanam lebih akhir. Keadaan ini menyebabkan IR42 masih stadia bibit sementara galur transgenik 6.11 (+/-) dan varietas Rojolele sudah memasuki umur 30 Hari setelah tanam. Menurut Viajante & Saxena (1988) dalam Bandong & Litsinger (2005), stadia bibit adalah inang yang paling miskin untuk perkembangan larva PBPK dan larva yang hidup pada stadia bibit tersebut biasanya kurang dari 5%. Baru setelah bibit berumur 34 hari, kemampuan bertahan hidup dan daya makan dari PBPK akan meningkat.

Tabel 1. Tingkat serangan penggerek batang padi kuning, *S. incertulas* (Walker) pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005.

Galur/Varietas	Rata-rata tingkat serangan penggerek batang padi kuning (%) <sup>*</sup>				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11(+/-)	1,56 a	0,74 a	2,80 a	4,51 b	3,50 c
Rojolele	1,38 a	0,32 ab	5,31 a	7,28 a	7,84 a
IR42	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,84 c	5,53 b

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam



Tabel 2. Tingkat serangan penggerek batang padi kuning, *S. incertulas* (Walker) pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005.

Galur/Varietas	Rata-rata tingkat serangan penggerek batang padi kuning (%) <sup>*</sup>			
	12 MST	14 MST	16 MST	18 MST
Galur 6.11(+/-)	5,59 c	4,78 c	1,03 a	0,00 b
Rojolele	21,30 b	16,02 b	1,36 a	0,13 b
IR42	54,80 a	42,23 a	1,60 a	2,14 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

Pada 10, 12, 14, dan 18 MST, tingkat serangan PBPK pada galur padi transgenik (6.11 (+/-)) konsisten nyata lebih rendah dibandingkan dengan tingkat serangan PBPK pada varietas Rojolele dan varietas IR42. Pada 10 MST, tingkat serangan PBPK tertinggi terlihat pada varietas Rojolele, sementara pada 12, 14, dan 18 MST tingkat serangan PBPK tertinggi terlihat pada varietas IR42 (Tabel 1 dan 2). Sebagai data penunjang, pengamatan terhadap hama lain, keberadaan musuh alami dan penyakit yang menyerang baik pada plot tanaman transgenik maupun pada plot tanaman non-transgenik juga diamati.

a. *Toleransi galur padi transgenik 6.11 (+/-) dan varietas non-transgenik (Rojolele dan IR42) terhadap hama lain :*

*Wereng punggung putih (Sogatella furcifera Hovarth) (Homoptera: Delphacidae)*

Populasi wereng punggung putih (WPP) sudah tinggi sejak 2 MST. Pada 4 MST, populasi WPP meningkat dan mencapai puncaknya. Selanjutnya populasi WPP menurun sampai 14 MST. Pada 2 MST, Populasi WPP pada galur padi transgenik (6.11 ±) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi WPP pada varietas Rojolele dan varietas IR42. Pada 4 MST, populasi WPP pada galur padi transgenik (6.11 ±) dan varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi WPP pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan populasi WPP pada galur padi transgenik (6.11 ±) dan varietas Rojolele. Pada 6 MST, populasi WPP pada varietas IR42 meningkat, namun antar varietas uji tidak terlihat adanya perbedaan populasi WPP. Pada 8 MST, tidak ditemukan WPP pada semua varietas uji. Pada 10 MST, populasi WPP pada galur padi

transgenik ( $6.11 \pm$ ) nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi WPP pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan populasi WPP pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele, demikian pula pada varietas Rojolele dan IR42 (Tabel 3).

Tabel 3. Populasi wereng punggung putih (WPP) pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi WPP (ekor/32 rumpun)*				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11( $\pm$ )	91,78 a	624,44 a	147,44 a	0,00 a	12,00 b
Rojolele	71,11 b	604,67 a	168,56 a	0,00 a	15,67 ab
IR42	0,00 c	0,00 b	133,00 a	0,00 a	21,67 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

#### *Wereng Coklat (Nilaparvata lugens (Stal)) (Homoptera: Delphacidae)*

Populasi wereng coklat sudah tinggi sejak 2 MST, kemudian menurun pada 4 MST, meningkat kembali pada 6 MST, dan mencapai puncaknya pada 8 MST. Selanjutnya populasi wereng coklat menurun sampai 14 MST. Pada 2 MST, populasi wereng coklat pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi wereng coklat pada varietas Rojolele dan IR42. Pada 4 MST, populasi wereng coklat pada varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi wereng coklat pada varietas IR42 dan galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ). Pada 6 MST, populasi wereng coklat pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi wereng coklat pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan populasi wereng coklat pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele. Pada 8 MST, populasi wereng coklat pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi wereng coklat pada varietas Rojolele dan varietas IR42. Tidak ada perbedaan populasi wereng coklat pada varietas Rojolele dan varietas IR42. Pada 10 MST, populasi wereng coklat pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi wereng coklat pada varietas IR42 (Tabel 4).

Tabel 4. Populasi wereng coklat pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi wereng coklat (ekor/32 rumpun)*				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11( ±)	191,44 a	44,33 b	421,11 a	891,56 b	171,67 b
Rojolele	144,22 b	59,78 a	478,11 a	1086,33 a	274,44 b
IR42	0,00 c	0,00 c	105,56 b	1098,11 a	416,89 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

*Kepinding Tanah, Scotinophara coarctata (Fabricus) (Heteroptera: Pentatomidae)*

Selama percobaan, kepinding tanah baru muncul pada 16 dan 18 MST. Pada 16 MST populasi kepinding tanah pada galur transgenik (6.11 ±) dan Rojolele nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi kepinding tanah pada IR42. Tidak ada perbedaan populasi kepinding tanah pada galur transgenik (6.11 ±) dan Rojolele. Sebaliknya pada 18 MST populasi kepinding tanah pada varietas IR42 nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi kepinding tanah pada Rojolele. Tidak ada perbedaan populasi kepinding tanah pada varietas IR42 dan galur transgenik (6.11 ±) (Tabel 5).

Tabel 5. Populasi kepinding tanah pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi kepinding tanah (ekor/32 rumpun)*	
	16 MST	18 MST
Galur 6.11( ±)	0,56 b	7,33 ab
Rojolele	0,00 b	9,44 a
IR42	16,33 a	3,00 b

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

*Tikus*

Hama tikus menyerang tanaman padi pada stadia generatif dan puncaknya pada 18 MST. Pada 16 dan 18 MST intensitas serangan tikus pada galur padi transgenik (6.11 ±) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan intensitas serangan tikus pada varietas

Rojolele dan varietas IR42. Ada perbedaan intensitas serangan tikus antar galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ), varietas Rojolele, dan varietas IR42 (Tabel 6).

Tabel 6. Intensitas serangan tikus pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Intensitas serangan tikus (%) <sup>*</sup>	
	16 MST	18 MST
Galur 6.11( $\pm$ )	27,78 a	81,36 a
Rojolele	10,00 b	68,11 b
IR42	0,00 c	24,67 c

<sup>\*</sup> Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

*b. Toleransi galur padi transgenik 6.11 (+/-) dan varietas non-transgenik (Rojolele dan IR42) terhadap musuh alami*

#### *Laba-laba*

Selama percobaan, populasi laba-laba sudah ada sejak 2 MST, kemudian meningkat pada 4 MST, dan mencapai puncaknya pada 8 MST. Selanjutnya populasi laba-laba menurun sampai 18 MST. Pada 2 dan 4 MST, populasi laba-laba pada galur transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan populasi laba-laba pada varietas IR42. Namun sebaliknya pada 6, 8, 10, dan 14 MST, populasi laba-laba pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele nyata lebih rendah dibandingkan populasi laba-laba pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan populasi laba-laba pada galur padi transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan varietas Rojolele, baik pada 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, dan 18 MST (Tabel 7 dan 8).

Tabel 7. Populasi laba-laba pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi laba-laba (ekor/32 rumpun) <sup>*</sup>				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11( $\pm$ )	5,67 a	9,67 a	11,11 b	14,89 b	9,89 b
Rojolele	5,22 a	9,56 a	12,89 ab	17,11 b	9,44 b
IR42	0,00 b	0,00 b	15,78 a	24,11 a	14,56 a

<sup>\*</sup> Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

Tabel 8. Populasi laba-laba pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi laba-laba (ekor/32 rumpun)*			
	12 MST	14 MST	16 MST	18 MST
Galur 6.11( ±)	2,33 a	0,56 b	1,89 a	0,22 a
Rojolele	1,56 a	0,67 b	2,11 a	0,44 a
IR42	2,11 a	2,22 a	3,00 a	0,00 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

### *Coccinella*

Sampai 6 MST populasi *Coccinella* masih rendah, kemudian meningkat pada 8 MST, dan mencapai puncaknya pada 18 MST. Pada 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 MST tidak terlihat adanya perbedaan populasi *Coccinella* pada semua varietas uji. Sebaliknya pada 14 dan 16 MST terlihat adanya perbedaan populasi *Coccinella* dimana pada galur padi transgenik (6.11 ±) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi pada IR42. Tidak ada perbedaan populasi *Coccinella* pada galur transgenik (6.11 ±) dan varietas Rojolele. Pada 18 MST, populasi *Coccinella* pada Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan *Coccinella* pada galur transgenik dan IR42. Tidak ada perbedaan populasi *Coccinella* pada galur padi transgenik (6.11 ±) dan IR42 (Tabel 9 dan 10).

Tabel 9. Populasi *Coccinella* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Coccinella</i> (ekor/32 rumpun)*				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11( ±)	0,11 a	0,11 a	0,00 a	2,44 a	6,00 a
Rojolele	0,00 a	0,00 a	0,00 a	1,78 a	5,33 a
IR42	0,00 a	0,00 a	0,00 a	1,67 a	7,11 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

Tabel 10. Populasi *Coccinella* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Coccinella</i> (ekor/32 rumpun)*			
	12 MST	14 MST	16 MST	18 MST
Galur 6.11( ±)	37,89 a	101,00 a	102,33 a	123,22 b
Rojolele	41,33 a	95,00 a	110,11 a	193,11 a
IR42	39,00 a	29,78 b	64,44 b	74,67 b

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

## *Paederus*

Populasi *Paederus* sampai 6 MST juga masih rendah, kemudian meningkat pada 8 MST, dan mencapai puncaknya pada 18 MST. Pada 2-16 MST tidak terlihat adanya perbedaan populasi *Paederus* pada semua varietas uji. Sebaliknya pada 12 MST terlihat adanya perbedaan populasi *Paederus* dimana populasi *Paederus* pada galur transgenik ( $6.11 \pm$ ) nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi pada IR42. Tidak ada perbedaan populasi *Paederus* pada galur transgenik dan Rojolele. Pada 18 MST, populasi *Paederus* pada galur transgenik dan Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan populasi *Paederus* pada IR42. Tidak ada perbedaan populasi *Paederus* pada galur transgenik ( $6.11 \pm$ ) dan Rojolele (Tabel 11 dan 12).

Tabel 11. Populasi *Paederus* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Paederus</i> (ekor/32 rumpun)*				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11( $\pm$ )	0,11 a	0,11 a	0,00 a	3,22 a	23,11 a
Rojolele	0,00 a	0,00 a	0,00 a	3,56 a	20,67 a
IR42	0,00 a	0,00 a	0,00 a	1,44 a	17,56 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

Tabel 12. Populasi *Paederus* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Paederus</i> (ekor/32 rumpun)*			
	12 MST	14 MST	16 MST	18 MST
Galur 6.11( $\pm$ )	34,56 b	39,11 a	51,11 a	71,33 a
Rojolele	34,56 b	34,33 a	49,22 a	92,78 a
IR42	53,78 a	31,78 a	58,56 a	24,33 b

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

## *Ophionea*

Selama percobaan, populasi *Ophionea* sangat rendah dan baru terlihat pada 10-18 MST. Tidak ada perbedaan antar varietas uji (Tabel 13 dan 14).

Tabel 13. Populasi *Ophionea* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Ophionea</i> (ekor/32 rumpun)				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11(±)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,89
Rojolele	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IR42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabel 14. Populasi *Ophionea* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Ophionea</i> (ekor/32 rumpun)*			
	12 MST	14 MST	16 MST	18 MST
Galur 6.11(±)	2,11 a	5,11 a	0,11 a	5,78 a
Rojolele	2,67 a	4,22 a	0,00 a	6,22 a
IR42	2,78 a	3,67 a	0,11 a	0,44 b

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

#### *Cyrtorhinus*

Populasi *Cyrtorhinus* sudah ada sejak 2 MST, kemudian meningkat pada 4 MST, dan mencapai puncaknya pada 10 MST. Pada 2, 4, dan 6 MST populasi *Cyrtorhinus* pada galur transgenik nyata lebih tinggi dibandingkan dengan *Cyrtorhinus* pada IR42. Sebaliknya pada 8 dan 10 MST, populasi *Cyrtorhinus* pada galur transgenik dan varietas Rojolele nyata lebih rendah dibandingkan dengan populasi *Cyrtorhinus* pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan populasi *Cyrtorhinus* pada galur padi transgenik (6.11 ±) dan varietas Rojolele baik pada 2, 4, 6, 8, dan 10 MST (Tabel 15).

Tabel 15. Populasi *Cyrtorhinus* pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata populasi <i>Cyrtorhinus</i> (ekor/32 rumpun)*				
	2 MST	4 MST	6 MST	8 MST	10 MST
Galur 6.11(±)	6,56 a	36,00 a	15,44 a	31,44 b	53,00 b
Rojolele	3,44 a	32,44 a	14,11 a	30,44 b	53,89 b
IR42	0,00 b	0,00 b	2,33 b	43,11 a	107,56 a

\* Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. MST – Minggu setelah tanam

c. *Toleransi galur padi transgenik 6.11 (+/-) dan varietas non-transgenik (Rojolele dan IR42) terhadap penyakit*

Pada stadia vegetatif penyakit yang muncul hanya stem rot dan sheath blight. Sementara pada stadia generatif penyakit yang muncul adalah stem rot, sheath blight, dan hawar daun jingga. Baik pada stadia vegetatif maupun stadia generatif intensitas serangan penyakit stem rot pada galur transgenik (6.11 ±) dan Rojolele nyata lebih rendah dibandingkan dengan intensitas serangan penyakit stem rot pada varietas IR42. Tidak ada perbedaan intensitas serangan penyakit stem rot pada galur padi transgenik (6.11 ±) dan Rojolele. Pada stadia vegetatif, intensitas serangan penyakit sheath blight terlihat nyata lebih tinggi pada varietas Rojolele kemudian diikuti pada galur padi transgenik. Sementara intensitas serangan penyakit sheath blight terendah terlihat pada varietas IR42. Pada stadia generatif, intensitas serangan penyakit sheath blight pada galur padi transgenik (6.11 ±) dan varietas Rojolele nyata lebih tinggi dibandingkan dengan intensitas serangan penyakit sheath blight pada varietas IR42. Penyakit hawar daun jingga hanya menyerang varietas IR42 pada stadia generatif (Tabel 16 dan 17).

Tabel 16. Intensitas serangan penyakit pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia vegetatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata intensitas serangan penyakit (%) <sup>*</sup>	
	Stem Rot	Sheath blight
Galur 6.11( ±)	9,26 b	2,15 b
Rojolele	9,34 b	2,47 a
IR42	14,66 a	1,08 c

\*Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Tabel 17. Intensitas serangan penyakit pada galur padi transgenik dan 2 varietas padi non transgenik pada stadia generatif. Karawang, MK 2005

Galur/Varietas	Rata-rata intensitas serangan penyakit (%) <sup>*</sup>		
	Stem Rot	Sheath blight	Hawar Daun Jingga
Galur 6.11( ±)	28,09 b	6,32 a	0,00 b
Rojolele	28,16 b	6,35 a	0,00 b
IR42	38,19 a	5,21 b	39,43 a

\*Angka yang diikuti huruf sama pada satu kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%



2. Seleksi dan aklimatisasi padi transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) mengandung fusi dua gen *cryIB-cryIAa* dan gen *cryIB* dengan promoter *mpi*

Hasil penanaman benih 10 galur terpilih pada media yang mengandung higromisin (75 mg/l) menunjukkan bahwa lebih dari 75% benih dari masing-masing galur mampu tumbuh normal pada media tersebut. Galur 3R5, yaitu galur yang berdasarkan hasil penelitian sebelumnya potensial tahan penggerek batang dengan pola pewarisan 1:1, hanya tumbuh 20% (Tabel 18).

Tanaman tahan higromisin kemudian dipindahkan ke rumah kaca. Pada saat aklimatisasi banyak tanaman yang mati sehingga perlu dilakukan penanaman ulang untuk memperoleh jumlah tanaman yang diinginkan (minimal 30 tanaman per galur). Jumlah tanaman total yang dihasilkan baik dari hasil seleksi pertama dan penanaman ulang dirangkum pada Tabel 18 di bawah ini.

Tabel 18. Seleksi benih T<sub>2</sub> mengandung ubi-*cryIB-cryIAa* atau *mpi-cryIB* pada media mengandung higromisin (75 mg/l)

Galur	Σ benih yg ditanam	Σ tanaman yg tumbuh di media higromisin	Σ tanaman yg tumbuh setelah aklimatisasi	Σ tanaman hasil sulaman
Rojolele	25	25*	10	20
Rojolele	25	0	-	-
Rjl 01 F1.1 11.1-24	50	3	2	34
Rjl 04 F2.2 2.4-25	50	43	13	20
RFz 3.2.2-1	50	37	13	21
RFz 4.2.2-1	50	47	8	24
RFz 4.2.4-21	50	39	9	26
RFz 3.3.2A-11	50	33	8	23
RFz 4.2.3-28	50	44	20	15
3R 2.5-7	50	48	2	31
3R 5	50	28	15	18
3R 7-8	50	48	2	28
3R 9-8	50	49	24	10

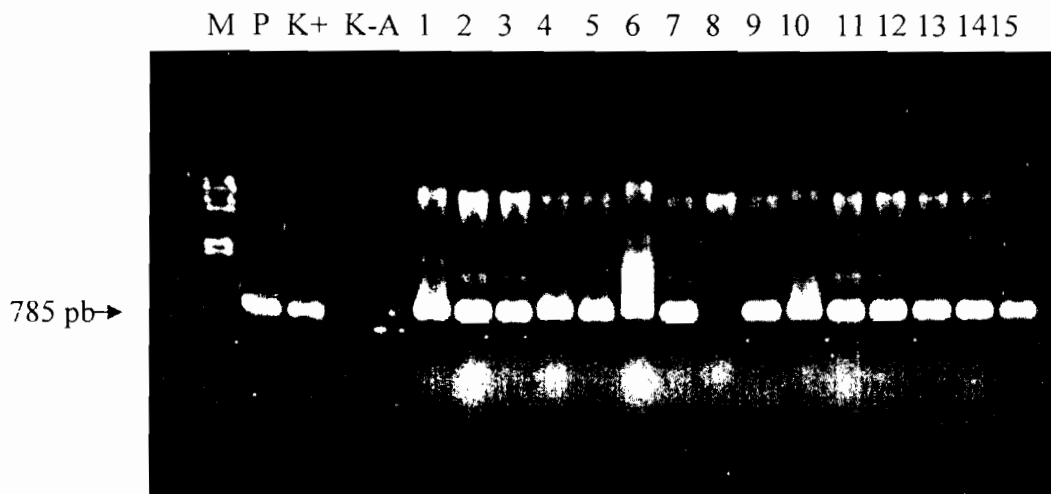
Keterangan: \* ditumbuhkan pada media tidak mengandung higromisin (kontrol)

3. Analisis PCR tanaman T<sub>2</sub> mengandung ubi-*cryIB-cryIAa* atau *mpi-cryIB*

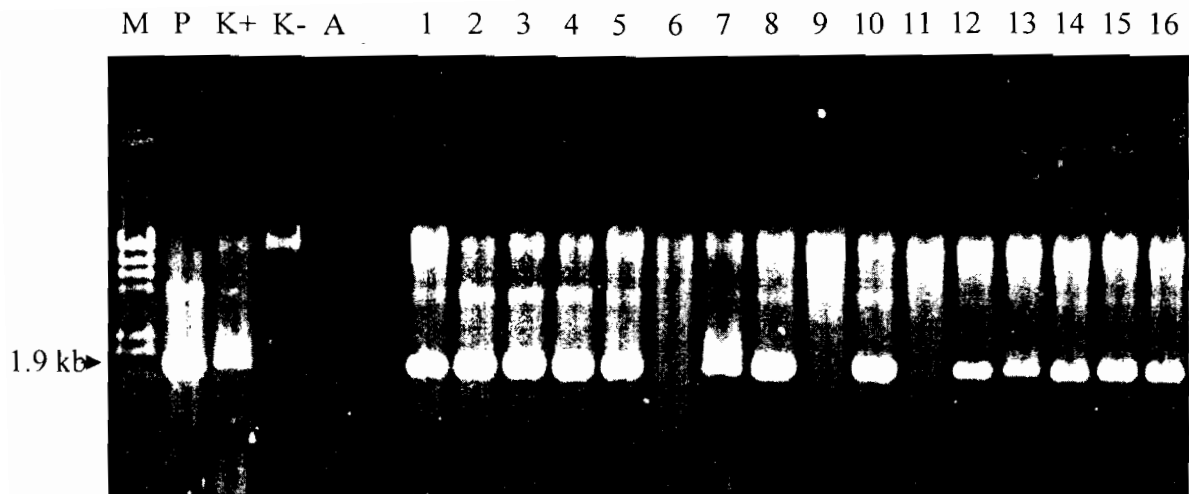
Hasil PCR menggunakan primer untuk fusi dua gen *cryIB-cryIAa* menunjukkan adanya pita DNA dengan ukuran yang diharapkan (785 pb) yang tidak diperoleh pada sampel DNA dari tanaman yang tidak ditransformasi (kontrol). Contoh hasil PCR

sampel DNA tanaman T<sub>2</sub> menggunakan primer untuk fusi dua gen *cryIB-cryIAa* disajikan pada Gambar 2.

Sementara itu untuk mendeteksi keberadaan gen *cryIB* yang dikendalikan oleh promoter terinduksi pelukaan mpi didisain untuk mengamplifikasi fragmen gen *cryIB* sepanjang 1.9 Kb. Hasil PCR pada DNA tanaman transgenik menunjukkan adanya satu pita DNA dengan ukuran seperti yang diharapkan (1.9 Kb) yang tidak ditemukan pada DNA tanaman padi non transgenik (Gambar 3). Selanjutnya data mengenai jumlah total tanaman positif mengandung gen *cryIB* disajikan pada Tabel 19.



Gambar 2. Hasil amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik untuk gen *cryIB-cryIAa*. DNA diisolasi dari daun tanaman padi generasi ke-3 (T<sub>2</sub>) yang ditransformasi dengan dua gen *cryIB-cryIAa*. M: DNA Marker  $\lambda$  *HindIII*, P: DNA plasmid pCAMBIA ubi *cryIB-cryIAa*, K+: DNA tanaman positif mengandung gen *cryIB-cryIAa* (kontrol positif), K- : DNA tanaman non transgenik (kontrol negatif), A: kontrol reaksi (air), 1-15: Sampel DNA dari tanaman hasil transformasi dengan *cryIB-cryIAa*.



Gambar 3. Hasil amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik untuk gen *cryIB*. DNA diisolasi dari daun tanaman padi cv Rojolele generasi ke-3 ( $T_2$ ) hasil transformasi dengan gen *cryIB* yang dikendalikan oleh promotor *mpi*. M: DNA Marker  $\lambda$  *HindIII*, P: DNA plasmid pCAMBIA *mpi cryIB*, K+: DNA tanaman positif mengandung gen *cryIB* (kontrol positif), K- : DNA tanaman non transgenik (kontrol negatif), A: kontrol reaksi (air), 1-16: DNA dari tanaman hasil transformasi dengan *cryIB*

#### 4. Analisis segregasi gen *ubi-cryIB-cryIAa* atau *mpi-cryIB* pada populasi tanaman $T_2$

Hasil analisis PCR pada sepuluh galur terpilih menunjukkan bahwa tanaman transgenik generasi ke tiga ( $T_2$ ) tetap mengandung gen target ditandai dengan adanya pita DNA dengan ukuran yang diharapkan, yaitu 785 pb untuk tanaman hasil transformasi dengan *cryIB-cryIAa* atau 1,9 Kb untuk tanaman hasil transformasi dengan *cryIB*. Jumlah tanaman positif PCR dari masing-masing galur yang diuji dan hasil analisis khi-kuadrat dirangkum pada Tabel 19.

Tabel 19. Hasil PCR dan analisis khi-kuadrat populasi tanaman T<sub>2</sub> hasil transformasi dengan ubi *cryIB-cryIAa* dan *mpi cryIB*

Galur	Gen <i>cry</i>	Σ tanaman yang diuji	PCR		Ratio	X <sup>2</sup>	
			+	-		Hitung	Tabel (d.b. 1, α 0.05)
3R 5	IB	30	18	12	3:1	3.6	3.84
3R 2.5-7	IB	30	27	3	3:1	3.6	
3R 7-8	IB	16	14	2	3:1	1.33	
3R 9-8	IB	30	12	18	-	19.6	
Rjl 04 F2.2 2.4-25	IB-IAa	30	23	7	3:1	0.04	
RFz 3.2.2-1	IB-IAa	30	23	7	3:1	0.04	
RFz 4.2.2-1	IB-IAa	30	23	7	3:1	0.04	
RFz 4.2.4-21	IB-IAa	30	25	5	3:1	1.11	
RFz 3.3.2A-11	IB-IAa	30	20	10	3:1	1.11	
RFz 4.2.3-28	IB-IAa	30	24	6	3:1	0.4	

Catatan: segregasi gen memenuhi ratio 3:1 bila X<sup>2</sup> hitung < X<sup>2</sup> tabel pada selang kepercayaan 95%.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa 9 dari 10 galur yang diuji bersegregasi dengan ratio 3:1. Sembilan dari sepuluh galur bersegregasi 3:1 tersebut konsisten dengan hasil percobaan tahun sebelumnya. Hal ini mengindikasikan bahwa gen terintegrasi pada satu lokus pada kromosom inti, sehingga memungkinkan untuk mendapatkan galur homozigot untuk masing-masing gen *cry*. Namun, saat ini dari semua galur yang diuji masih heterozigot. Pada percobaan tahun ini (2005) galur 3R9-8 tidak mengikuti pola segregasi 3:1 meskipun hasil analisis pada generasi sebelumnya (T<sub>1</sub>) mengikuti segregasi 3:1. Sebaliknya, galur 3R5 sebelumnya diketahui bersegregasi 1:1, namun pada percobaan ini bersegregasi 3:1. Belum jelas dimengerti mengapa hal ini terjadi, namun diduga ada hubungannya dengan proses penyusunan kembali (DNA *rearrangement*).

5. Bioassai terhadap penggerek batang kuning padi transgenik generasi ketiga (T<sub>2</sub>) mengandung fusi dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*) dan gen *cryIB* dengan promoter *mpi*

Hasil bioasai dirumah kaca (*biosafety containment*) menunjukkan bahwa tanaman transgenik baik yang mengandung gen *cryIB* maupun fusi gen *cryIB-cryIAa* potensial tahan terhadap penggerek batang kuning. Hal ini ditandai dengan rendahnya gejala sundep (0-10% pada skala 0-1) yang muncul setelah 2 dan 4 minggu diinfestasi dibandingkan dengan tanaman kontrol (100% pada skala 9) (Tabel 20).

Tabel 20. Rangkuman hasil bioasai tanaman transgenik generasi ketiga terhadap penggerek batang kuning, dua dan empat minggu setelah infestasi (MSI).

Galur	Gen <i>cry</i>	% sundep		D		Nilai akhir (skala 0-9)	
		2 MSI	4 MSI	2 MSI	4 MSI	2 MSI	4 MSI
Rojolele	Tidak ada	16.6	73.05	100	100	9	9
Rjl 04 F2.2 2.4-25	<i>cryIB-cryIAa</i>	0	5	0	6.8	0	1
RFz 3.2.2-1	<i>cryIB-cryIAa</i>	0	0	0	0	0	0
RFz 4.2.2-1	<i>cryIB-cryIAa</i>	0	3.3	0	4.5	0	1
RFz 4.2.4-21	<i>cryIB-cryIAa</i>	0	0	0	0	0	0
RFz 3.3.2A-11	<i>cryIB-cryIAa</i>	0	5	0	6.8	0	1
RFz 4.2.3-28	<i>cryIB-cryIAa</i>	0	0	0	0	0	0
3R 2.5-7	<i>cryIB</i>	1.6	4.99	9.6	6.8	1	1
3R 5	<i>cryIB</i>	0	5	0	6.8	0	1
3R 7-8	<i>cryIB</i>	0	3.3	0	4.5	0	1
3R 9-8	<i>cryIB</i>	5	5	30	6.8	3	1

### KESIMPULAN

Dari hasil uji ketahanan tanaman transgenik (galur 6.11 +/-) mengandung gen *cryIAb* di lapangan terbatas, terhadap penggerek batang kuning, diketahui bahwa serangan penggerek batang kuning pada galur trasgenik 6.11 (+/-) nyata lebih rendah dibandingkan dengan dua varietas non-transgenik lainnya (Rojolele dan IR42). Selain itu dari pengamatan populasi musuh alami di lapangan, pelepasan galur transgenik 6.11 (+/-) tidak berpengaruh terhadap populasi musuh alami pada ekosistem tanaman transgenik. Dari hasil analisis PCR terhadap 10 galur padi transgenik masing-masing mengandung fusi dua gen *cry* (*cryIB-cryIAa*) dan gen *cryIB* dengan promotor *mpi*, didapat 9 galur padi transgenik yang bersegregasi dengan pola pewarisan 3:1. Dan berdasarkan hasil bioasai pada 10 galur diatas terhadap penggerek batang kuning di rumah kaca transgenik pada 2 MSI dan 4 MSI, menunjukkan bahwa tanaman transgenik baik yang mengandung fusi gen *cryIB-cryIAa* maupun gen *cryIB* potensial

tahan terhadap penggerek batang kuning. Hal ini ditandai dengan rendahnya gejala sundep pada tanaman transgenik dengan skala 0-1 dibandingkan dengan tanaman kontrol (tanaman yang tidak ditransformasi) dengan skala 9.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Deni Zulfiana, Hayat Rahardja, Taufik, Budi, Juanda, dan Pupung Zainal yang telah membantu kelancaran penelitian di laboratorium, dan rumah kaca, kepada Dr. Inez H.Slamet-Loedin atas masukan-masukannya yang sangat bermanfaat. Terimakasih juga disampaikan kepada Ir. Hj. Hendarsih S., MSc, Ir.N. Usyati MSi dan Dr. Satoto dari Balitpa Sukamandi atas kesediannya dalam kerjasama penelitian pengujian ketahanan tanaman transgenik di lapangan terbatas dan atas bantuannya dalam menyediakan imago penggerek batang kuning.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bandong JP and Litsinger JA. 2005. Rice crop stage susceptibility to the rice yellow stemborer *Scirpophaga incertulans* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *Inter Jour Pest Manag* 51(1): 37-43
- Hofte, H. and H.R.Whiteley. 1989. Insectisidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol, Rev.* 53 : 242 –255.
- IRRI. 1996. Standard evaluation system for rice. International Rice Testing Program (IRTP). Manila
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan (Puslitbangtan). 1990. Hasil pemahaman secara singkat serangan penggerek padi di jalur pantura Jawa Barat pada MT 1989/1990. Puslitbangtan Bogor.
- Van Heusden, A.W., J.W. van Ooijen, R. Vrieling van Ginkel, W.H.J. Verbeek, W.A. Wietsma and C. Kik. 2000. A genetic map of interspecific locus cross in *Allium* based on amplified fragment length polymorphism (AFLP<sup>TM</sup>) markers. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 118-126