

**TOLERANSI GALUR-GALUR MUTAN CRISPR/Cas9-OsGA20ox-2 PADI
(*Oryza sativa* L.) 'KITAAKE' GENERASI T₂ TERHADAP KONDISI
KEKERINGAN**

Husni Mubarak, Panjisakti Basunanda, Tri Joko Santoso

Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

INTISARI

Padi (*Oryza sativa* L.) adalah tanaman penghasil makanan pokok terpenting di Indonesia. Jumlah penduduk meningkat dari tahun ke tahun, sedangkan 200 ribu hektare lahan pertanian selalu mengalami kekeringan. Permintaan pangan yang terus naik sementara lahan kurang memadai dapat disiasati dengan perakitan kultivar unggul menggunakan metode penyuntingan genom sistem CRISPR-Cas9. Penyuntingan genom dengan memutasi gen *GA20ox-2* dapat meningkatkan hasil tanaman sekaligus unggul di lahan marginal (kekeringan). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman mutan non-transgenik, mendapatkan informasi tingkat ekspresi gen *GA20ox-2*, dan mempelajari tingkat toleransi galur-galur mutan CRISPR/Cas9-OsGA20ox-2 'Kitaake' generasi T₂ terhadap kondisi kekeringan. Dari 20 tanaman yang diuji keberadaannya terhadap gen *Cas9* dan *hpt*, secara berurutan galur K23.1, K15, K29.1, dan K19.1 memiliki 50%, 50%, 0%, dan 45% tanaman non-transgenik. Mutasi DNA berupa delesi 44 basa (K23.1, K29.1, K19.1) dan insersi dua basa (K15) tertranskripsi menjadi RNA. Hasil transkripsi menghasilkan jumlah asam amino yang berbeda dengan tipe liarnya (389 asam amino). Galur K23.1, K29.1, K19.1 memiliki 373 asam amino dan galur K15 memiliki 300 asam amino (*frameshift*). Perbedaan jumlah asam amino menghasilkan perbedaan ekspresi fenotipe. Galur mutan K15 memiliki tinggi tanaman dan panjang daun lebih rendah dibandingkan galur mutan lain dan tipe liarnya. Penurunan tersebut tidak meningkatkan potensi hasil panen. Galur mutan yang lain yaitu K23.1, K29.1, dan K19.1 memiliki fenotipe yang mayoritas tidak berbeda nyata dengan tipe liarnya. Mutasi pada galur K15 tidak mengindikasikan respon toleran cekaman kekeringan pada fase vegetatif maupun generatif yang lebih baik dibandingkan galur mutan lain (K23.1, K29.1, K19.1) dan tipe liarnya.

Kata kunci: padi, CRISPR-Cas9, *GA20ox-2*, toleran cekaman kekeringan.

**TOLERANCE OF T₂ GENERATION 'KITAAKE' RICE (*Oryza sativa* L.)
CRISPR/Cas9-*OsGA20ox-2* MUTANT LINES IN DROUGHT CONDITION**

Husni Mubarak, Panjisakti Basunanda, Tri Joko Santoso

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture of Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is the most important staple crop in Indonesia. The human population increases year by year, while 200 thousand hectares of agricultural land always experience drought. Food demand that continues to rise while inadequate land could be managed by assembling superior cultivar using CRISPR-Cas9 system method. Editing the genome by mutating the *GA20ox-2* gene could improve both crop yield and ability to thrive in marginal land (drought). This experiment aims to obtain non-transgenic mutant plants, gain information on *GA20ox-2* gene expression levels, and study the tolerance levels of the CRISPR /Cas9-*OsGA20ox-2* mutant lines 'Kitaake' T₂ generation against drought conditions. From 20 plants tested for existence against the *Cas9* and *hpt* genes, respectively the K23.1, K15, K29.1, and K19.1 lines have 50%, 50%, 0%, and 45% of non-transgenic plants. DNA mutations in the form of deletion 44 bases (K23.1, K29.1, K19.1) and insertion of two bases (K15) are transcribed into RNA. The transcription results in a number of lower amino acids compare to its wild type (389 amino acids). The lines K23.1, K29.1, K19.1 have 373 amino acids and the K15 line has 300 amino acids (frameshift). Differences in the number of amino acids result in different phenotypic expressions. K15 mutant line has lower plant height and leaf length than the other mutant lines and wild type. The decrease does not decrease the potential of the crop. Other mutant lines that are K23.1, K29.1, and K19.1 have phenotypes that the majority is not significantly different from the wild type. Mutations in the K15 line did not indicate better tolerant response to drought stress than other mutant lines (K23.1, K29.1, K19.1) and wild type in both vegetative and generative phase.

Keywords: rice, CRISPR-Cas9, *GA20ox-2*, tolerance of drought stress.