

Ekspresi Gen *OsRKD4* pada Padi Hitam Transgenik (*Oryza sativa* L. ‘Cempo Ireng’) Generasi T2 Pembawa Konstruk 35S::*GAL4*::*OsRKD4*::*GR*

Dewi Fatmawati Oktaviani

13/347285/BI/9098

Intisari

Penyisipan gen *OsRKD4* dengan konstruk 35S::*GAL4*::*OsRKD4*::*GR* yang bertanggungjawab dalam pembentukan embriogenesis-somatik pada tahap awal perkembangan tanaman padi, telah berhasil dilakukan pada kalus tanaman padi hitam. Galur padi hitam transgenik generasi T1 yaitu OS1, telah diuji pola segregasinya dan menunjukkan adanya peningkatan ekspresi *OsRKD4* setelah diinduksi dengan dexamethasone (DEX) pada kalus padi hitam transgenik. Namun belum dilakukan induksi DEX pada *seedling* padi transgenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi *OsRKD4* saat induksi dengan DEX maupun tanpa DEX pada kultur *seedling* padi hitam OS1. Pada penelitian ini, induksi DEX 30 μ M dan non-DEX dilakukan dengan cara sub-kultur *seedling* padi hitam umur 7 hari pada medium cair ½MS selama 0 jam dan 24 jam. Setelah itu, dilakukan ekstraksi RNA dan dilanjutkan dengan sintesis cDNA. Kualitas cDNA diketahui dengan amplifikasi gen *UBQ* menggunakan PCR. Gen sisipan diamati dengan amplifikasi gen *HPT* (455 bp) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan selanjutnya ampikon diamati dengan elektroforesis agarose. Gen *OsRKD4* (191 bp) diamplifikasi secara semi kuantitatif dengan PCR dan secara kuantitatif menggunakan *real-time* PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *HPT* (455 bp) terdeteksi pada semua tanaman padi hitam transgenik. Ekspresi *OsRKD4* (191 bp) pada padi hitam transgenik generasi T2 setelah diinduksi dengan DEX selama 24 jam lebih tinggi sebesar 49,36 kali dibandingkan dengan kontrol, sedangkan pada perlakuan tanpa DEX selama 24 jam hanya meningkat sebesar 4,47 kali dibandingkan dengan kontrol.

Kata kunci : Padi Hitam, Transgenik, *OsRKD4*, Dexamethasone/DEX

The Expression of *OsRKD4* Gene in Transgenic Black Rice (*Oryza sativa* L. ‘Cempo Ireng’) T2 Generation Harboring 35S::*GAL4*::*OsRKD4*::*GR* Construct

Dewi Fatmawati Oktaviani

13/347285/BI/9098

Abstract

The insertion of the *OsRKD4* gene with 35S::*GAL4*::*OsRKD4*::*GR* construct can be responsible for formation of somatic embryogenesis in early stages of plant development has been successfully carried out in black rice callus. The *OsRKD4* expression in transgenic black rice was increase after dexamethasone (DEX) induction in callus. However, DEX induction has been not tested on transgenic black rice seedling. The aim of this research was to determine the *OsRKD4* expression during DEX induction and without DEX treatment in transgenic black rice seedling culture. In this study, 7 days old seedling culture was sub-cultured into ½MS liquid media containing 30 µM DEX and incubated for 0 hour and 24 hours. The seedlings were also sub-cultured into ½MS liquid media without DEX treatment as control. The RNA of seedlings was extracted followed by cDNA synthesis. The quality of cDNA synthesis was observed by *UBQ* gene amplification using PCR. The presence of *HPT* gene (455 bp) was observed by amplification using PCR and visualized using gel agarose electrophoresis. The *OsRKD4* gene (191 bp) expression was measured semi-quantitatively using PCR and quantively using real-time PCR. The result showed that the level expression of *OsRKD4* gene in transgenic black rice T2 generation was higher after 24 hours DEX treatment with value of 49.36 times up-regulated to control compared to 24 hours without DEX treatment with value of 4.47 times up-regulated to control.

Keywords : Black Rice, Transgenic, *OsRKD4*, Dexamethasone/DEX