

ISOLASI DAN TRANSFEKSI PROTOPLAS PADI HITAM (*Oryza sativa* L.) ‘CEMPO IRENG’

Rahayu Opi Anggoro

17/419983/PMU/09194

INTISARI

Tanaman padi varietas unggul yang resisten terhadap stress biotik maupun abiotik serta mempunyai produktivitas tinggi dan sifat agronomis lainnya, dapat diperoleh dengan berbagai macam teknologi. Penggunaan protoplas mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan dengan kultur jaringan diantaranya adalah dapat menghindari *chimera* yang dihasilkan pada kultur jaringan tumbuhan. Dalam penelitian ini protoplas digunakan untuk transfeksi pada tanaman padi hitam (*Oryza sativa* L.) ‘Cempo Ireng’ *Wild Type*. Transfeksi merupakan salah satu cara yang paling ideal untuk mentransfer gen yang diinginkan secara efisien. Salah satu metode yang digunakan untuk transfeksi adalah dengan menggunakan *Polyethylenglycol* (PEG). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode isolasi yang paling sesuai untuk mendapatkan protoplas dari padi hitam ‘Cempo Ireng’ *Wild Type* dan memperoleh informasi apakah metode transfeksi dengan PEG dapat dilakukan pada protoplas padi kultivar ‘Cempo Ireng’ *Wild Type*. Langkah pertama yang dilakukan adalah memperbanyak plasmid pCK205 untuk transformasi. Plasmid diperbanyak dengan ditransformasikan pada *E. coli*. Langkah selanjutnya dilakukan inisiasi kalus dan *seedling* dari biji padi hitam ‘Cempo Ireng’ *Wild Type*. Kalus dan *seedling* diluruhkan dindingnya dengan perlakuan enzim selulase. Untuk mendapatkan metode yang paling sesuai, dilakukan optimasi pada umur *seedling*, konsentrasi larutan enzim, lama proses enzimatik, optimasi sentrifugasi, dan konsentrasi larutan PEG. Plasmid yang telah ditransformasi ke *E. coli* ditransfeksikan pada protoplas menggunakan PEG. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa umur *seedling* 11 hari memberikan jumlah protoplas terbanyak tetapi protoplas dari *seedling* umur 15 hari mampu bertahan hingga 72 jam, konsentrasi larutan enzim yang paling sesuai yaitu maserozyme 1,5% dan selulase RS 3%, lama waktu *shake* untuk proses enzimatik yaitu 4 jam, penggunaan sentrifuse menyebabkan banyak protoplas rusak dan pecah, penggunaan larutan PEG 6000 dengan konsentrasi 30% dapat mentransformasi gen GFP ke protoplas. Dari penelitian ini didapatkan metode yang sesuai untuk mendapatkan protoplas dari padi hitam ‘Cempo Ireng’ *Wild Type* dan metode transfeksi dengan PEG dapat dilakukan pada protoplas padi kultivar ‘Cempo Ireng’ *Wild Type*.

Kata kunci : transfeksi, protoplas, PEG, padi hitam ‘Cempo Ireng’ *Wild Type*

PROTOPLAST ISOLATION AND TRANSFECTION IN BLACK RICE (*Oryza sativa* L.) ‘CEMPO IRENG’

Rahayu Opi Anggoro

17/419983/PMU/09194

ABSTRACT

A superior variety plant that is also resistant to biotic or abiotic stress can be obtained by some kinds of technology. Protoplast is one of the alternative technologies which can be applied to develop new variety in rice plant. The use of protoplast has several benefits compared to tissue culture, such as avoiding chimera that is resulted from plant's tissue culture. In this research, protoplast is used to transfection in black rice (*Oryza sativa* L.) ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type. Transfection is one of the most ideal methods to transfer the wanted gen effectively. One of the used methods to transform genetic is by using polyethylenglycol (PEG). This research has a purpose to get the most suitable method to get protoplast from black rice ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type and to get info whether transfection with PEG can be done to protoplast rice plant cultivar ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type. The first step is to do callus initiation and seedling from black rice ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type. With the treatment of selulase, callus and seedling were shed off their walls. To obtain the best method, can be done optimum to seedling's age, concentrated of enzyme solution, enzymatic process, centrifuge optimum and concentrated of PEG 6000 solution. After obtaining protoplast, transformation plasmid pCK205 is done that had been transformed before in *Escherichia coli* by using PEG solution. The result shows that a 11-days-old seedling gets the highest protoplast, but protoplast from a 15-days-old seedling can survive for 72 hours. Concentration of enzyme solution which becomes the most appropriate one is maserozyme 1,5% and selulase RS 3%. The time of shake for enzymatic process is 4 hours, using sentrifuse causes a lot of broken and smashed protoplasts, and using PEG 6000 solution with 30% concentration can transform GFP gen to protoplast. From this method, the proper method to gain protoplast from black rice ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type can be gotten, and transfection method with PEG can be conducted into protoplast of rice plant cultivar ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type.

Keyword : transfection, protoplast, PEG, black rice ‘*Cempo Ireng*’ Wild Type