

## POLA INSERSI PARTENOKARPI, *DefH9-iaaM* PADA GALUR TOMAT TRANSGENIK [Insertion Patern of Partenocarpy, *DefH9-iaaM* on Transgenic Tomato Lines]

S.J. Pardal ✉, Slamet, R. Purnamaningsih, dan E.G. Lestari

Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111.

Telp. 0251-8337975, Fax.0251-8338820

email: s\_j\_pardal@yahoo.com,

### ABSTRACT

The development of seedless tomato fruits will be more attractive to consumers and industry. Artificial parthenocarpy can be induced through genetic crossing, hormone application or genetic engineering. Development of parthenocarpic tomatoes has been done by inserting parthenocarpy gene, *DefH9-iaaM* into tomato genome via *Agrobacterium tumefaciens*. Sixty putative transgenic tomato lines were produced, and three events (lines) have been selected as the best event, i.e. OvR1#14-4, OvM2#10-1, OvM2#6-2. These lines contained the *DefH9-iaaM* based on PCR test. This research aimed was to determine the insertion patern of *DefH9-iaaM* gene in the progeny of transgenic tomatoes lines. Parent variety Oval and line Cl 6046 were used as control plants. Results indicated that tomatoes line OvR1#14-4 was still contained the inserted *DefH9-iaaM* gene and followed the Mendelian pattern (3:1) based on molecular analyses and Chi-square test results, while the others were not identified. Line OvR1#14-4 was required to be further evaluated for phenotypic and genotypic analyses for the expression of their parthenocarpy.

**Keywords:** Transgenic tomato, parthenocarpy, gene insertion patern, *DefH9-iaaM* gene.

### ABSTRAK

Pengembangan buah tomat tanpa biji tentu saja akan sangat menarik bagi petani maupun industri. Induksi buah tanpa biji dapat dilakukan melalui persilangan (tanaman triploid), aplikasi hormon ataupun rekayasa genetik. Pengembangan galur tomat partenokarpi melalui rekayasa genetik telah dilakukan dengan insersi gen partenokarpi, *DefH9-iaaM* menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Sebanyak 60 tanaman hasil transformasi (T0) telah dihasilkan, dan tiga galur yaitu OvR1#14-4, OvM2#10-1 dan OvM2#6-2 dipilih untuk diuji lebih lanjut. Ketiga galur tomat tersebut berasal dari varietas Oval dan mengandung gen insert *DefH9-iaaM* berdasarkan uji PCR. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pola insersi gen *DefH9-iaaM* pada progeni T2 dan T3 dari tiga galur tomat partenokarpi. Varietas tua Oval dan galur CL6046 digunakan sebagai kontrol. Hasil pengujian molekuler menunjukkan bahwa ketiga galur tomat generasi kedua (T2) dan ketiga (T3) masih membawa gen insert *DefH9-iaaM*, namun hanya galur OvR1#14-4 yang mengikuti pola segregasi Mendelian 3:1, sedangkan dua galur lainnya memiliki pola segregasi 1:1 berdasarkan hasil Uji *Chi-Square*. Galur OvR1#14-4 perlu diuji lebih lanjut untuk melihat ekspresi fenotipik dan genotipik partenokarpinya.

**Kata Kunci:** Tomat transgenik, partenokarpi, pola insersi gen, gen *DefH9-iaaM*.

### PENDAHULUAN

Kendala yang sering dihadapi petani dalam pengembangan tomat adalah buah tomat umumnya banyak mengandung biji, sehingga kurang disenangi konsumen buah segar dan industri. Untuk itu, upaya perakitan varietas tomat yang dapat menghasilkan buah tanpa biji akan lebih menarik bagi konsumen dan industri.

Buah tomat tanpa biji dapat diinduksi melalui partenokarpi buatan. Buah partenokarpi adalah buah yang dapat terbentuk tanpa melalui proses polinasi dan atau fertilisasi. Partenokarpi buatan dapat meningkatkan proses pembentukan buah (*fruit setting*), sehingga akan meningkatkan produksi buah. Kelebihan lain, buah partenokarpi umumnya berbiji sedikit (*seedless*) sehingga sangat sesuai untuk buah

konsumsi ataupun untuk industri yang membutuhkan bahan baku buah tomat (Pandolfini *et al.*, 2002).

Partenokarpi dapat terjadi secara alami maupun buatan, pembentukan buah partenokarpi alami jarang terjadi di alam. Partenokarpi buatan dapat dirangsang melalui aplikasi zat pengatur tumbuh seperti auksin, giberelin, dan sitokinin (Foz *et al.*, 1999). Namun, metode tersebut kurang ekonomis untuk areal pertanaman yang luas dan dapat menyebabkan malformasi pada buah serta kurang ramah lingkungan (Donzella *et al.*, 2000).

Pembentukan buah partenokarpi secara buatan dapat diinduksi melalui rekayasa genetik, yaitu dengan menginsersikan gen partenokarpi ke dalam genom tanaman (Rotino *et al.*, 1997).

Pembentukan buah partenokarpi melalui rekayasa genetik telah berhasil dilakukan pada beberapa tanaman dengan menggunakan gen *DefH9-iaaM* diantaranya tomat (Ficcadenti *et al.*, 1998), terung (Donzella *et al.* 2000), *strawberry* dan *raspberry* (Mezzetti *et al.*, 2004) serta anggur (Constantini *et al.*, 2007).

Gen *DefH9-iaaM* merupakan gen partenokarpi yang terdiri dari gen *iaaM* dan promotor *DefH9*. Gen *iaaM* diisolasi dari bakteri *Pseudomonas syringae pv savastanoi* (Gaffiney *et al.*, 1990) sebagai pengkode prekursor hormon auksin (IAA). Sedangkan promotor *DefH9* (*deficiens* homologue 9) diisolasi dari bunga *Antirrhinum majus*. Promoter ini akan mengekspresikan gen *iaaM* spesifik pada bagian ovul dan plasenta (Ficcadenti *et al.*, 1998), IAA akan dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan buah menggantikan peran biji, sehingga tanaman tersebut dapat membentuk buah tanpa biji (Rotino *et al.*, 1997).

Pola inseri suatu gen pada progeni tanaman hasil transformasi genetik dapat diketahui dengan melakukan analisis molekuler (PCR), kemudian data hasil analisis PCR tersebut digunakan untuk uji *Chi-Square Test*. Pola inseri suatu gen *insert* bisa mengikuti pola Mendelian dengan ratio 3:1 ataupun ratio 1:1. Pola inseri dengan Ratio 3:1 relatif lebih stabil dibandingkan ratio 1:1 (Russell, 1994).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pola inseri gen *DefH9-iaaM* pada tiga galur tomat transgenik generasi kedua (T2) dan ketiga (T3).

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilakukan di rumah kaca Fasilitas Uji Terbatas (FUT) dan laboratorium Biologi Molekuler Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen) pada tahun 2008-2009.

Bahan penelitian berupa tanaman tomat

transgenik generasi T2 dan T3 (hasil *selfing* tanaman T1 dan T2) dari galur OvR1#14-4, OvM2#10-1, dan OvM2#6-2 yang membawa gen *DefH9-iaaM* (Pardal *et al.*, 2007). Sebagai pembanding atau kontrol negatif adalah tanaman tetua, yaitu var. oval non transgenik dan galur CL 6046 (galur unggul Balitsa). Penelitian dilakukan selama dua tahun berturut-turut, yaitu 2008 dan 2009 yang meliputi kegiatan penanaman tiga galur tomat transgenik generasi kedua (T2) dan ketiga (T3), analisis molekuler dan analisis data dengan *Chi-Square Test*.

## Penanaman tomat transgenik di FUT

Benih tomat transgenik (T2 atau T3) disemai pada bak plastik yang berisi media tanam. Setelah benih berkecambah, kecambah dipindahkan satu-per satu ke dalam polibag kecil dan dipelihara di tempat teduh selama 2 minggu. Tanaman tomat selanjutnya dipindahkan ke dalam polibag/ember plastik besar (ukuran 10 kg) dan dipelihara di dalam FUT. Setelah tanaman berumur 3-4 minggu, siap diambil sampel daunnya untuk analisis molekuler.

## Analisis molekuler gen *iaaM* galur tomat transgenik

Analisis menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan gen *iaaM* pada sampel dari tiga galur tomat transgenik baik pada generasi T2 ataupun T3. Sampel DNA genom sebagai bahan analisis PCR diperoleh dengan mengisolasi jaringan daun muda tanaman. Jumlah sampel untuk masing-masing galur tomat transgenik T2 sebanyak 30 tanaman, sedangkan untuk galur tomat T3 digunakan 10 sampel tanaman. Sebagai kontrol positif adalah DNA plasmid turunan *pBin19* yang terdapat pada *A. tumefaciens* strain C.58.GV 3101 yang membawa gen *DefH9-iaaM*.

Ekstraksi DNA menggunakan protokol dari *Extract-N-Amp<sup>TM</sup> Plant PCR kit* [Invitrogen] eSampel DNA yang diperoleh dapat langsung

digunakan untuk PCR atau jika belum digunakan dapat disimpan dalam *freezer* -20 °C (Wang *et al.*, 1998).

Sampel DNA selanjutnya diamplifikasi menggunakan mesin *Peltier Thermal Cycler* PTC-100™ [MJ-Research]. Volume reaksi total PCR adalah 20 µL yang terdiri atas 4 µL DNA genom sebagai cetakan (*template*), 10 µL *REDExtract-N-Amp*™ PCR Reaction Mix, 0,4 µL primer IAAM 5, 0,4 µL IAAM 3 dan akuabides steril sampai volume 20. µL *Template* yang digunakan dalam reaksi PCR adalah DNA genom yang diisolasi dari organ daun tanaman tomat transgenik dan nontransgenik (kontrol negatif) serta DNA plasmid *A. tumefaciens* yang memiliki insersi gen partenokarpi *DefH9-iaaM* (kontrol positif). Kondisi optimal reaksi PCR adalah tahap denaturasi awal 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan denaturasi pada suhu 95 °C selama 15 detik, proses *annealing* pada suhu 60 °C selama 30 detik, serta polimerisasi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Proses denaturasi, *annealing*, dan polimerisasi tersebut dilakukan secara berulang sebanyak 40 siklus. Tahap akhir amplifikasi diperpanjang dengan inkubasi pada suhu 15 °C selama 60 menit kemudian dilanjutkan pada suhu 4 °C selama 15 menit. Produk PCR dapat langsung dianalisis dengan teknik elektroforesis. Produk yang belum dianalisis disimpan dalam *freezer* -20 °C. Kemudian fragmen DNA hasil amplifikasi dielektroforesis menggunakan gel agarosa 1% (Sambrook *et al.*, 1989). Sepasang Primer yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan gen *iaaM* adalah IAAM 5- *Forward* (5'-CAAAGAA TCGTAATCCGGGTAGCACG-3') dan primer IAAM 3- *Reverse* (5'-AATAGCTGCCTATGCC TCCCGTCAT-3'). gel agarosa divisualisasikan dengan mesin Gel Doc yang memiliki program *QuantityOne*.

Analisis data sampel DNA dilakukan secara kualitatif berdasarkan ukuran pita DNA dibandingkan dengan marka DNA dan kontrol positif (DNA plasmid positif *iaaM*). Hasil positif

amplifikasi dengan menggunakan primer IAAM menghasilkan ukuran DNA sebesar ± 158 pb. Hasil negatif didapatkan jika ukuran DNA yang terdeteksi berada di luar kisaran tersebut atau pita DNA tidak terlihat pada gel elektroforesis. Hasil amplifikasi dibandingkan dengan kontrol positif berupa fragmen hasil amplifikasi dari DNA plasmid *pBin19*, untuk melihat ada tidaknya kontaminasi DNA genomik. Kontrol negatif berupa fragmen hasil amplifikasi dari DNA genom CL 6046 dan Oval digunakan untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada proses kerja.

### Uji *Chi Square Test*

Data hasil uji molekuler dianalisis dengan *chi-square test* untuk mengetahui pola insersi gen dari tiga galur tomat transgenik partenokarpi (OvR1#14-4, OvM2 #10-1 dan OvM2#6-2) turunan ke-2 (T2) dan ke-3 (T3). Galur tomat memiliki pola insersi gen tunggal *iaaM* yang lebih stabil, apabila hasil uji *chi-square* pada *level of significant* 0,05 ( $X^2_{hitung}$ ) lebih kecil dari nilai  $X^2_{tabel}$  (3,841), maka galur tersebut menunjukkan perbandingan antara tanaman transgenik dan non transgenik memenuhi rasio persilangan monohibrid Mendel 3:1.

Rumus yang digunakan untuk uji *chi-square*:

$$X^2_{hitung} = \frac{\sum (O-E)^2}{E}$$

Keterangan:

$X^2_{hitung}$  = nilai hitung *chi-square test*

$\sum$  = jumlah

O = *observed number* (jumlah sampel positif dari percobaan)

E = *expected number* (jumlah yang diharapkan melalui prinsip segregasi Mendel)

$X^2_{tabel}$  = 3,841

Hipotesa:

Ratio 3:1, apabila  $X^2_{hit} < X^2_{tabel}$ .

Ratio 1:1, apabila  $X^2_{hitung} > X^2_{tabel}$

## HASIL PENELITIAN

### Penanaman galur tomat transgenik di FUT

Benih tomat transgenik T2 dan T3 rata-rata dapat berkecambah dengan baik pada media

persemaian. Demikian pula kecambah yang dipindahkan ke media polibag kecil rata-rata dapat tumbuh dengan baik (Gambar 1), sehingga dapat dengan mudah dipindahkan ke dalam media tanam pada ember plastik besar dan dapat tumbuh normal hingga dewasa di rumah kaca FUT.



**Gambar 1.** Bibit tomat transgenik hasil pemindahan dari bak persemaian (*Transgenic tomato seedling resulted from seeds germination*)

### Analisis molekuler gen *iaaM* galur tomat transgenik

#### a. Hasil analisis PCR galur tomat T2

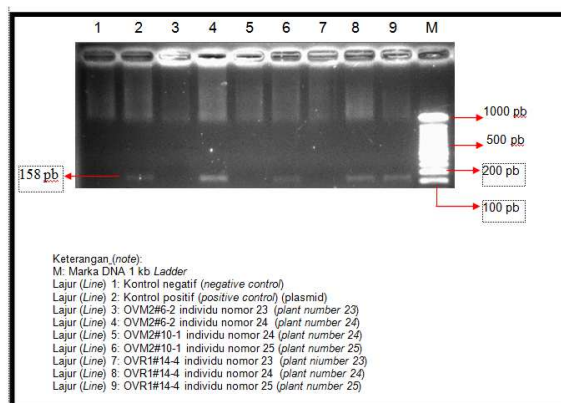
Hasil visualisasi fragmen DNA hasil PCR menunjukkan bahwa pita tunggal fragmen DNA berukuran  $\pm 158$  pb terlihat pada lajur kontrol positif (Gambar 2). Pita berukuran sama juga terlihat pada lajur 4, 6, 8, 9 yang secara berurutan merupakan lajur untuk sampel fragmen DNA hasil amplifikasi dari tanaman OvM2#6-2 nomor 24, OvM2#10-1 nomor 25, OvR1#14-4 nomor 24, dan OvR1#14-4 nomor 25. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman-tanaman yang berada pada lajur tersebut merupakan tanaman yang positif memiliki insersi gen *iaaM*. Hasil negatif terlihat pada lajur 3 (sampel OvM2#6-2 nomor 23), lajur 5 (sampel OvM2#10-1 nomor 25), dan lajur 7 (sampel OvR1#14-4 nomor 24) karena pita DNA tidak terlihat pada gel elektroforesis.

Pita DNA yang tidak terlihat pada lajur kontrol negatif menunjukkan bahwa tidak ada

kontaminasi selama proses kerja (Gambar 2 lajur 1). Pita DNA yang terlihat pada kontrol positif (Gambar 2 lajur 2) dan tanaman positif mengandung insersi gen *iaaM* (Gambar 2 lajur 4,6,8, dan 9) cukup tebal.

Hasil elektroforesis gel pada seluruh sampel menunjukkan bahwa dari 30 sampel tanaman T2 galur OvR1#14-4, sebanyak 23 tanaman positif memiliki insersi gen *iaaM* sedangkan 7 tanaman lainnya menunjukkan hasil negatif (Tabel 1). Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa rasio antara tanaman transgenik dan nontransgenik adalah 23:7 (3:1).

Hasil elektroforesis seluruh sampel dari galur OvM2#10-1 menunjukkan bahwa 14 tanaman positif dan 16 tanaman negatif, sedangkan galur OvM2#6-2 terdiri atas 16 tanaman positif dan 14 tanaman negatif (Tabel 1). Kedua galur tersebut memiliki rasio turunan transgenik dan nontransgenik 1:1. Kedua galur tersebut belum memiliki pola insersi gen yang stabil karena gen *iaaM* hanya terintegrasi pada salah satu gamet, sehingga kemungkinan besar masih akan mengalami segregasi pada generasi berikutnya. Ada kemungkinan gen *iaaM* tidak akan diwariskan lagi ke generasi berikutnya (menghilang).



**Gambar 2.** Visualisasi fragmen gen *iaaM* hasil amplifikasi DNA tomat dengan primer IAAM 3 dan IAAM 5 (*Visualization of *iaaM* gene fragments amplified with primers IAAM3 and IAAM5*).

**Tabel 1.** Data hasil analisis PCR pada tiga galur tomat transgenik T2 (*Data of PCR analysis result of three T2 transgenic tomato lines*)

Galur Tomat (Tomato line)	Jumlah sampel (Number of Sample)	Jumlah sampel Positif gen <i>iaaM</i> (Number of positive <i>iaaM</i> gene)	Jumlah sampel Negatif gen <i>iaaM</i> (Number of negative <i>iaaM</i> gene)
OvR1#14-4	30	23	7
OvM2#10-1	30	14	16
OvM2# 6-2	30	16	14

## b. Hasil analisis PCR galur tomat transgenik T3

Hasil visualisasi fragmen DNA produk PCR pada gel agarosa dari tiga galur tomat T3 menunjukkan bahwa pita tunggal fragmen DNA berukuran + 158 pb terlihat pada lajur kontrol positif untuk ketiga galur. Kemudian dari 10 sampel DNA galur OvR1#14-4 semuanya menghasilkan pita berukuran 158 pb (positif). Sedangkan 10 sampel DNA galur OvM2#10-1 hanya 4 sampel positif dan 6 sampel negatif. Demikian juga pada 10 sampel DNA galur OvM2#6-2, hanya 5 sampel menunjukkan hasil positif dan 5 sampel negatif (Tabel 2).

Data hasil PCR tersebut menunjukkan bahwa galur OvR1#14-4 memiliki pola insersi yang lebih baik dibandingkan dua galur lainnya. Gen *iaaM* pada tanaman tomat transgenik T2 yang dipilih masih diwariskan ke 10 tanaman turunannya (T3)

yang diuji. Sedangkan pada galur OvM2#10-1 dan OvM2#6-2 gen *iaaM* dari tanaman tomat transgenik T2 yang dipilih tidak diwariskan ke semua tanaman T3 yang diuji/disampling.

**Analisis Chi-Square Test**a. Hasil *chi square test* galur tomat T2

Hasil perhitungan *chi-square test* terhadap data hasil PCR tiga galur tomat transgeni T2 disajikan pada Tabel 3. Hasil  $T_{hitung}$  dari galur OvR1#14-4 adalah 0,044 sehingga lebih kecil dari  $X^2_{tabel}$ . Hal ini menunjukkan bahwa galur tersebut memiliki pola insersi gen *iaaM* yang lebih stabil karena rasionya sesuai hasil persilangan dengan satu sifat beda (monohibrid) 3:1. Sedangkan dua galur lainnya, yaitu OvM2#10-1 dan OvM2#6-2 memiliki  $X^2_{hitung}$  lebih besar dari  $X^2_{tabel}$ , sehingga tidak memiliki rasio 3:1.

**Tabel 2.** Data hasil analisis PCR tiga galur tomat transgenik T3 (*Data of PCR analysis result of three T3 transgenic tomato lines*).

Galur Tomat (Tomato line)	Jumlah sampel (Number of sample)	Jumlah sampel positif gen <i>iaaM</i> (Number of sample positive <i>iaaM</i> gene)	Jumlah sampel negative gen <i>iaaM</i> (Number of sample negative <i>iaaM</i> gene)
OvR1#14-4	10	10	0
OvM2#10-1	10	4	6
OvM2# 6-2	10	5	5

**Tabel 3.** Hasil Uji Chi-Square tiga galur tomat transgenik T2 (*Chi-Square Test result of three T2 transgenic tomato lines*)

Hasil uji molekuler ( <i>Result of molecular analysis</i> )	O			E			X <sup>2</sup> <sub>hitung</sub>		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Individu positif ( <i>Positive result</i> )	23	14	16	22,5	22,5	22,5	0,011	3,211	1,878
Individu negatif ( <i>Negative result</i> )	7	16	14	7,5	7,5	7,5	0,033	9,633	5,633
Jumlah ( <i>Total</i> )	30	30	30	30	30	30	<b>0,044</b>	<b>12,844</b>	<b>7,511</b>

Keterangan (*Note*):

X<sup>2</sup> tabel = **3,841**

I = OvR1#14-4, X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> = **0,044**

II = OvM2#10-1, X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> = **12,844**

III = OvM2#6-2, X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> = **7,511**

**Tabel 4.** Hasil Uji *Chi-Square* tiga galur tomat transgenik T3 (*Chi-square test result of three transgenic tomato lines*).

Hasil uji molekuler ( <i>Result of molecular analysis</i> )	O			E			X <sup>2</sup> <sub>hitung</sub>		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Individu positif ( <i>Positive result</i> )	10	4	5	9,99	9,99	9,99	0,001	3,592	2,493
Individu negatif ( <i>Negative</i> )	0	6	5	3,33	3,33	3,33	3,333	2,141	0,838
Jumlah ( <i>Total</i> )	10	10	10	10	10	10	<b>3,334</b>	<b>5,733</b>	<b>3,331</b>

Keterangan (*Note*):

X<sup>2</sup> tabel = **3,841**

I = OvR1#14-4, X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> = **3,334**

II = OvM2#10-1, X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> = **5,733**

III = OvM2#6-2, X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> = **3,331**

b. Hasil *chi square test* galur tomat T3

Hasil T<sub>hitung</sub> dari galur OvR1#14-4 dan galur OvM2#6-2 lebih kecil dari X<sup>2</sup><sub>tabel</sub>. (Tabel 4) Hal ini menunjukkan bahwa dua galur tersebut memiliki pola insersi gen *iaaM* yang lebih stabil. Sedangkan galur OvM2#10-1 memiliki X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> lebih besar dari X<sup>2</sup><sub>tabel</sub>, sehingga pola insersi gen *iaaM* kurang stabil.

**PEMBAHASAN**

Menurut Russell (1994), rasio turunan yang diperoleh dari hasil penelitian dapat dianalisis menggunakan uji *chi-square*. Hasil uji *chi-square* menggambarkan model segregasi gen pada penyilangan monohibrid yang dikemukakan oleh Mendel.

Hasil uji *chi-square* terhadap data hasil uji molekuler tiga galur tomat transgenik menunjukkan bahwa insersi gen partenokarpi *iaaM* pada tanaman tomat T2 dan T3 galur OvR1#14-4 lebih stabil dari dua galur lainnya. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai X<sup>2</sup><sub>hitung</sub> dari galur OvR1#14-4 lebih kecil dari X<sup>2</sup><sub>tabel</sub> 3,841. Menurut Christou *et al.*, (1992), organisme transgenik memiliki insersi transgen yang lebih stabil jika transgen tersebut terintegrasi di dalam genom dan dapat diwariskan ke generasi berikutnya dengan persentase segregasi yang rendah.

Rasio 1:1 dari tanaman tomat T2 dan T3 galur OvM2#10-1 dan OvM2#6-2 sama dengan rasio yang diperoleh Christou *et al.*, (1992) dalam penelitian uji stabilitas dan ekspresi gen *bar* pada

tanaman T3 padi transgenik galur 517-5. Menurut Christou *et al.*, (1992), hasil segregasi yang menyimpang tersebut diduga karena transgen hanya diwariskan oleh salah satu gamet, yaitu gamet jantan atau betina saja.

Tanaman transgenik T3 umumnya belum memiliki insersi transgen yang stabil. Karena belum homosigot. Tanaman yang menyerbuk sendiri seperti tomat, umumnya memiliki gen yang telah stabil pada T4, sedangkan pada tanaman yang menyerbuk silang (*cross pollination*), gen akan stabil pada T8 (Oard *et al.*, 1996).

### KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa galur OvR1#14-4 generasi kedua (T2) dan ketiga (T3) masih memiliki insersi gen partenokarpi *iaaM* dan menunjukkan pola segregasi Mendelian 3:1. Sedangkan dua *event* lainnya, OvM2#10-1 dan OvM2#6-2 menunjukkan pola segregasi 1:1, sehingga ada kemungkinan gen insert akan hilang (tidak diwariskan) pada generasi berikutnya.

Galur tomat transgenik partenokarpi *event* OvR1#14-4 perlu diuji lebih lanjut untuk melihat stabilitas gen insersinya pada generasi berikutnya (T4) agar dapat diperoleh galur tomat transgenik partenokarpi yang homosigot.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Program Riset Insentif, Kemenristek tahun 2007 - 2009.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Giuseppe Rotino dari Pusat Penelitian Sayuran, Montanazo, Milan-Italia yang telah mengizinkan penggunaan konstruksi gen partenokarpi untuk

penelitian perakitan galur tomat transgenik partenokarpi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Christou P, Vain P, Kohli A, Leech M, Oard J and Linscombe S. 1992. Introduction of multiple genes into elite rice varieties: Evaluation of transgene stability, gene expression, and field performance of herbicide-resistant transgenic plants. *Annals of Botany* 77, 223-235.
- Constantini E, Landi L, Silvestroni O, Pandolfini T, Spena A and Mezzetti B. 2007. Auxin synthesis-encoding transgene enhances grape fecundity. *Plant physiology* 147, 1689-1694.
- Ficcadenti N, Sestili S, Pandolfini T, Cirillo C, Rotino GL and Spena A. 1998. Genetic engineering of parthenocarpic fruit development in tomato. *Molecular Breeding* 5, 463-470.
- Gaffney, TD, O da Costa e Silva, T. Yamada, and T. Kosuge. 1990. Indoleacetic acid operon of *Pseudomonas syringae* subsp. *Savastanoi*: transcription analysis and promoter identification. *Journal of Bacteriology* 172 (10), 5593-5601.
- Mezzetti B, Landi L, Pandolfini T and Spena A. 2004. The *DeffH9-iaaM* auxin synthesizing gene increases plant fecundity and fruit production in strawberry and raspberry. *BMC Biotechnology* 4, 1-10.
- Oard JH, Linscombe SD, Braverman MP, Jodari F, Blouin DC, Leech M, Kohli A, Vain P, Cooley JC and Christou P. 1996. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. *Molecular Breeding* 2, 359-368.
- Pandolfini T, Rotino GL, Camerini S, Defez R and Spena A. 2002. Optimization of transgene action at the post-transcriptional level: High quality parthenocarpic fruits in industrial tomatoes. *BMC Biotechnology* 2, 1-10.
- Rotino GL, H. Sommer, H. Saedler, & A. Spena. 1997. Genetic engineering of parthenocarpic plants. *Nature Biotechnology* 15, 1398-1401.
- Russell, P.J. 1994. *Fundamental of genetics* xvi, 528. Harper Collins College Publishes, New York.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, & T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. xxxviii, 18.88, 167. CSHL Press, New York
- Sambrook, J. & D.W. Russell. 2001. *Molecular cloning: A laboratory manual vol 1*, 3rd ed. xxxviii, 7.94, 147. CSHL Press, New York.
- Wang, D., K. Song, C. Kreader, S. Weber, J. van Dinter, & R. Valdes-Camin. 2008. A high throughput system for the rapid extraction of plant genomic DNA for genomic mapping and marker-assisted breeding studies 1-4. *Sigma-Aldrich Corporation*.