

Teknik PCR Kualitatif untuk Deteksi Produk Rekayasa Genetika Jagung *Event* BT11 dan GA21

(Qualitative PCR Techniques for Detection of Genetically Modified Organism on Maize *Event* BT11 and GA21)

Bahagiawati*, Reflinur, dan Tri J. Santoso

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: bahagiawati@indo.net.id

Diajukan: 10 Maret 2015; Direvisi: 16 April 2015; Diterima: 12 Juni 2015

ABSTRACT

In some countries, including Indonesia, labelling of GMO products is mandatory for giving consumers the right to choose between GMOs and conventional products. Therefore, development of methodology that can detect a specific genetically modified (GM) crops and to verify the absence or presence of GM material in a product including raw materials (e.g. grains) and/or their derivatives is needed. The objectives of this study were to find the most efficient screening methods to detect whether or not a product is GM material and to develop a specific detection method to identify GM product BT11 and GA21. In addition, present study was also aimed to obtain a duplex detection method for both GM products. Two GM-maize, including the BT11 and GA21 lines of maize (*Zea mays* L.), and one plant, namely NK11 as the nontransgenic control, were used as plant genetic materials in the event-specific detection of maize. The target gene from each sample was amplified in different reaction (simplex) using both the event specific primer and the endogenous maize reference, Zein, as internal control. Furthermore, in duplex PCR, two targets were simultaneously amplified in the same reaction. The results showed that detection method of the GM product obtained from present study enabled us to screen the GM products and specifically the event of BT11 and GA21 using simplex and duplex methods. The duplex method is more efficient because it can detect two GM crops in one time compared to simplex method that only can detect GM crop one by one.

Keywords: GMO detection, GMO screening, maize, BT11, GA21.

ABSTRAK

Pelabelan produk hasil rekayasa genetika (PRG) di beberapa negara, termasuk Indonesia, merupakan mandat yang memberikan kesempatan kepada konsumen untuk mendapatkan informasi produk yang akan dibeli atau digunakan. Untuk itu, diperlukan perangkat teknologi yang dapat mendeteksi keberadaan produk PRG tersebut, baik dalam bentuk bahan dasar (biji-bijian) maupun produk turunannya. Penelitian ini bertujuan membandingkan dan mendapatkan teknik yang akurat dan efisien untuk deteksi tanaman jagung BT11 dan GA21 berdasarkan teknik PCR, baik secara tunggal (simpleks) maupun ganda (dupleks). Jagung produk PRG, yaitu BT11 dan GA21, dan non-PRG, yaitu Nk11, digunakan sebagai sampel dalam pengembangan metode deteksi PRG pada kedua *event* tersebut. Setiap sampel diamplifikasi secara simpleks menggunakan primer spesifik untuk mendeteksi keberadaan gen target pada *event* PRG dan sepasang primer spesifik sebagai internal kontrol untuk tanaman jagung. Selanjutnya, pada metode dupleks, sampel DNA kedua *event* diamplifikasi dengan primer-primer tersebut secara bersamaan dalam suatu reaksi PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik deteksi yang didapatkan dari penelitian ini dapat digunakan untuk skrining PRG dan identifikasi spesifik BT11 dan GA21, baik secara simpleks maupun dupleks. Kemampuan metode dupleks untuk mendeteksi PRG akan sangat bermanfaat dalam kegiatan skrining PRG dalam jumlah sampel yang besar karena metode ini lebih efisien dibanding dengan metode simpleks.

Kata kunci: Deteksi PRG, skrining PRG, jagung, BT11, GA21.

PENDAHULUAN

Sejak tahun 1996 hingga kini, pemanfaatan tanaman produk rekayasa genetika (PRG) telah berkembang dengan pesat di dunia (James, 2013). Di berbagai negara, termasuk Indonesia, untuk mendapatkan izin edar, baik untuk ditanam (benih), pangan maupun pakan, tanaman PRG tersebut harus lolos pengkajian keamanan hayati yang berupa persetujuan keamanan (*approval*) lingkungan, pangan, dan pakan. Di Indonesia, peraturan tentang pengkajian keamanan produk PRG telah dituangkan dalam Peraturan Pemerintah Nomor 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetika (Bahagiawati dan Herman, 2008; Herman, 2008). Pemerintah Indonesia juga telah menerbitkan peraturan tentang pelabelan makanan, yaitu Peraturan Pemerintah Nomor 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan (Bahagiawati dan Herman, 2008) yang kemudian dilengkapi oleh Keputusan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.03.12.1564/2012 tentang Pengawasan Pelabelan Pangan PRG (Badan POM, 2012). Pelabelan produk hasil rekayasa genetika di beberapa negara, termasuk Indonesia, merupakan mandat yang memberikan kesempatan kepada konsumen untuk mendapatkan informasi produk yang akan dibeli atau digunakan, termasuk produk PRG dan turunannya.

Untuk implementasi dan pengawasan terhadap peraturan pelabelan tersebut, sangat diperlukan perangkat teknologi untuk mendeteksi keberadaan produk PRG, baik dalam bentuk bahan dasar (bijibijian) maupun produk turunannya. Beberapa metode deteksi telah dikembangkan di dunia, antara lain oleh Ahmed (2002), Lee *et al.* (2004), dan Onishi *et al.* (2005). Di Indonesia, beberapa institusi telah mengembangkan teknik deteksi PCR secara kualitatif (Bahagiawati dan Sutrisno, 2007).

Jagung (*Zea mays*) termasuk produk pertanian utama yang telah banyak dimodifikasi menggunakan teknik rekayasa genetika. Pada saat ini, luasan jagung PRG telah mencapai 57,4 juta ha dengan produksi mencapai 32% dari produksi jagung dunia. Beberapa produk jagung PRG telah ditanam secara luas di beberapa negara, yaitu jagung tahan hama, seperti Mon89034, Mon810, BT11, TC1507, dan MIR162, serta jagung toleran herbisida, antara lain GA21, NK603, dan MIR604. Beberapa jagung PRG, yaitu GA21, TC1507, BT11, MIR162, MIR604, NK603, dan Mon89034, telah mendapatkan persetujuan keamanan pangan PRG (aman untuk dikonsumsi sebagai pangan) dari Kepala Badan POM.

Indonesia termasuk negara pengimpor jagung. Pada tahun 2013, Indonesia mengimpor jagung se-

banyak 3 juta ton untuk bahan pakan ternak, yang 76% berasal dari negara penanam jagung PRG. Jadi, terdapat kemungkinan beberapa jagung PRG tersebut sudah ada di Indonesia.

Konstruk gen artifisial pada tanaman PRG pada dasarnya tersusun atas beberapa elemen, seperti promotor, gen interes, dan terminator. Biasanya, sekuen target untuk skrining dan/atau deteksi PRG merupakan bagian dari konstruk gen yang dimodifikasi tersebut (misalnya promotor, gen interes, atau terminator) atau daerah pengapit antara gen sisipan dan genom inangnya. Berdasarkan sekuen target, terdapat beberapa kategori PCR yang digunakan untuk deteksi PRG, yaitu PCR untuk skrining, PCR spesifik gen, PCR spesifik konstruk, dan PCR spesifik *event* (Holst-Jensen *et al.*, 2003). Kebanyakan tanaman PRG yang beredar secara komersial ditransformasi dengan konstruk yang mengandung promotor 35S dari *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) atau disingkat P-35S dan/atau terminator *nopaline synthase* (T-nos) dari *Agrobacterium* sp.

BT11 merupakan tanaman jagung PRG tahan (resisten) terhadap hama Lepidoptera, terutama hama penggerek batang jagung. Ketahanan tersebut dikarenakan adanya sisipan gen interes *cryIAb* yang diapit oleh promotor 35S CaMV dan terminator nos serta dikombinasikan dengan sisipan gen interes *phosphinothricin-N-acetyltransferase* (*PAT*) untuk ketahanan terhadap herbisida glufosinat (Gambar 1). Nama dagangnya adalah Agrisure® CB/LL. Tanaman BT11 ini telah dilepas dan ditanam pertama kali pada tahun 1996 di Amerika Serikat. Kini telah ada 17 negara yang menanam jagung BT11 ini. Negara yang menyetujui (*approval*) BT11 untuk pangan ada 18 negara, termasuk Indonesia (CERA, 2014).

GA21 merupakan jagung PRG yang mempunyai sifat toleran herbisida glifosat karena mengandung gen *enolpyruvylshikimate-phosphate synthase* (*EPSPS*) yang menyandi pembentukan protein/enzim *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase*. Gen sisipan *EPSPS* ini diapit oleh promotor *rice-actin 1* dan terminator nos yang dilengkapi dengan sekuen intron yang memberikan toleransi terhadap herbisida glifosat (Tabel 1). Jagung GA21 ini pertama kali dilepas pada tahun 1997 di Amerika Serikat dan sekarang telah ada tujuh negara penanam jagung ini. Jagung ini telah disetujui (*approval*) untuk pangan di enam belas negara, termasuk Indonesia. Nama dagang jagung GA21 adalah Agrisure® GT (CERA, 2014).

Di Indonesia, metode yang biasa dipakai dalam mendeteksi produk PRG selama ini masih menggunakan metode deteksi nonspesifik yang dikenal

juga dengan metode skrining. Metode ini biasanya hanya menggunakan primer P35F-CaMV dan T-nos sehingga hasil deteksi hanya menyimpulkan bahwa sampel hanya mengandung PRG dan non-PRG tanpa mengetahui jenis/*event* PRG yang dideteksi. Metode deteksi tanaman atau produk PRG secara spesifik yang dapat mengetahui jenis/*event* produk PRG belum pernah dikembangkan. Kebanyakan protokol PCR yang dikembangkan dalam mendeteksi PRG secara spesifik melibatkan reaksi yang mengamplifikasi satu target *event* (simpleks). Mengingat semakin meningkatnya *event* PRG di pasaran, metode deteksi produk PRG yang mampu mendeteksi lebih dari satu *event* dalam satu reaksi dapat mempercepat waktu dan mengurangi biaya analisis.

Tujuan penelitian ini adalah membandingkan dan mendapatkan teknik yang akurat dan efisien untuk deteksi tanaman jagung PRG BT11 dan GA21 berdasarkan teknik PCR kualitatif secara tunggal (simpleks) maupun ganda (dupleks).

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah benih jagung PRG BT11, GA21, jagung hasil persilangan BT11 dan GA21, dan NK11 (non-PRG) yang didapatkan dari PT. Syngenta Indonesia. NK11 merupakan *wild type* non-PRG kedua varietas tersebut dan digunakan sebagai kontrol negatif. Peta konstruk gen sisipan dari kedua jagung PRG tersebut ditampilkan pada Gambar 1. Di samping menggunakan NK11 sebagai kontrol negatif, penelitian ini juga menggunakan air distilasi sebagai kontrol negatif. Pasangan primer yang digunakan adalah primer universal P-35S CaMV dan T-nos, primer kontrol internal Zein, serta primer spesifik *event* BT11 dan GA21 (Tabel 2).

Isolasi DNA

Benih jagung dikecambahkan pada media tanah yang telah disterilkan. Sampel daun dari kecambah yang berumur 7 hari diambil dan digerus dengan



Gambar 1. Peta konstruk gen sisipan pada jagung *event* BT11 dan GA21.

Tabel 1. Deskripsi jagung PRG *event* BT11 dan GA21.

Nama <i>event</i>	Promotor	Terminator	Gen interes	Sifat yang diberikan
BT11	35S CaMV	nos	<i>cry1Ab</i> <i>phosphinothricin acetyl transferase (PAT)</i>	Tahan hama penggerek batang jagung Toleran herbisida glufosinat
GA21	rice-actin 1	nos	<i>enolpyruvylshikimate-phosphate synthase (EPSPS)</i>	Toleran herbisida glifosfat

Tabel 2. Sekuen primer yang digunakan untuk deteksi *event* jagung spesifik BT11 dan GA21.

Sekuen target	Asal	Primer	Sekuen (5'-3')	Produk (bp)	Pustaka
Zein	Jagung	Zein-F	GACATTGTGGCATCATCATTT	277	Gurakan <i>et al.</i> (2011)
		Zein-R	AGTGCGACCCATATTCCAG		
P-35S CaMV	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	P35S-F	GATAGTGGGATTGTGCGTCA	195	Gurakan <i>et al.</i> (2011)
		P35S-R	GCTCCTACAAATGCCATCA		
T-nos	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tnos-F	GAATCCTGTTGCCGGTCTTG	180	Randhawa dan Firke (2006)
		Tnos-R	TTATCCTAGTTTGCGCGCTA		
<i>cryIAb</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	BT11-F	CCATTTTTCAGCTAGGAAGTTC	110	Matsuoka <i>et al.</i> (2001)
		BT11-R	TCGTTGATGTTKGGGTTGTTC		
EPSPS	Jagung	GA21-F	ACGGTGGAAGAGTTCAATGTATG	270	Matsuoka <i>et al.</i> (2001)
		GA21-R	TCTCCTTGATGGGCTGCA		

bantuan nitrogen cair untuk mendapatkan DNA-nya. Isolasi DNA total jagung dilakukan berdasarkan metode CTAB sesuai prosedur yang dilaporkan oleh Doyle dan Doyle (1990).

Teknik PCR Simpleks (Tunggal)

DNA genomik total dari sampel uji (jagung PRG BT11 dan GA21, jagung hasil persilangan PRG BT11 dan GA21, serta jagung non-PRG NK11) diamplifikasi dengan pasangan primer masing-masing (Tabel 1 dan Tabel 2) pada setiap komponen PCR secara terpisah (simpleks). Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 25 μ l yang mengandung sebanyak 25 ng DNA genomik, dNTPs 0,125 mM, $MgCl_2$ 1,5 mM, primer 0,5 μ M, dan Kapa *Taq* polimerase DNA 0,04 U. Program PCR terdiri atas predenaturasi pada suhu 98°C selama 3 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 15 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 30 detik, dan perpanjangan DNA pada suhu 72°C selama 30 detik. Perpanjangan akhir dilakukan pada suhu 72°C selama 7 menit.

Teknik PCR Dupleks (Ganda)

DNA sampel yang diamplifikasi diisolasi dari *event* jagung hasil persilangan jagung PRG GA21 dan BT11. Pengujian PRG menggunakan teknik PCR dupleks dilakukan dengan volume total reaksi 20 μ l dengan komponen PCR sebagai berikut: 25 ng DNA genomik sampel uji, 1 \times Kapa 2G Fast Multiplex Mix (2 \times), dan 0,2 μ M campuran dari primer spesifik masing-masing dari *event* GA21 dan BT11. Program PCR terdiri atas denaturasi awal pada suhu 94°C selama 10 menit, diikuti dengan 10 siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 65°C selama 1 menit, dan pemanjangan DNA pada suhu 72°C selama 30 detik. Tahapan PCR selanjutnya adalah amplifikasi sebanyak 27 siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 1 menit, dan pemanjangan DNA pada 72°C selama 1 menit. Proses amplifikasi diakhiri dengan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 7 menit.

Elektroforesis Gel

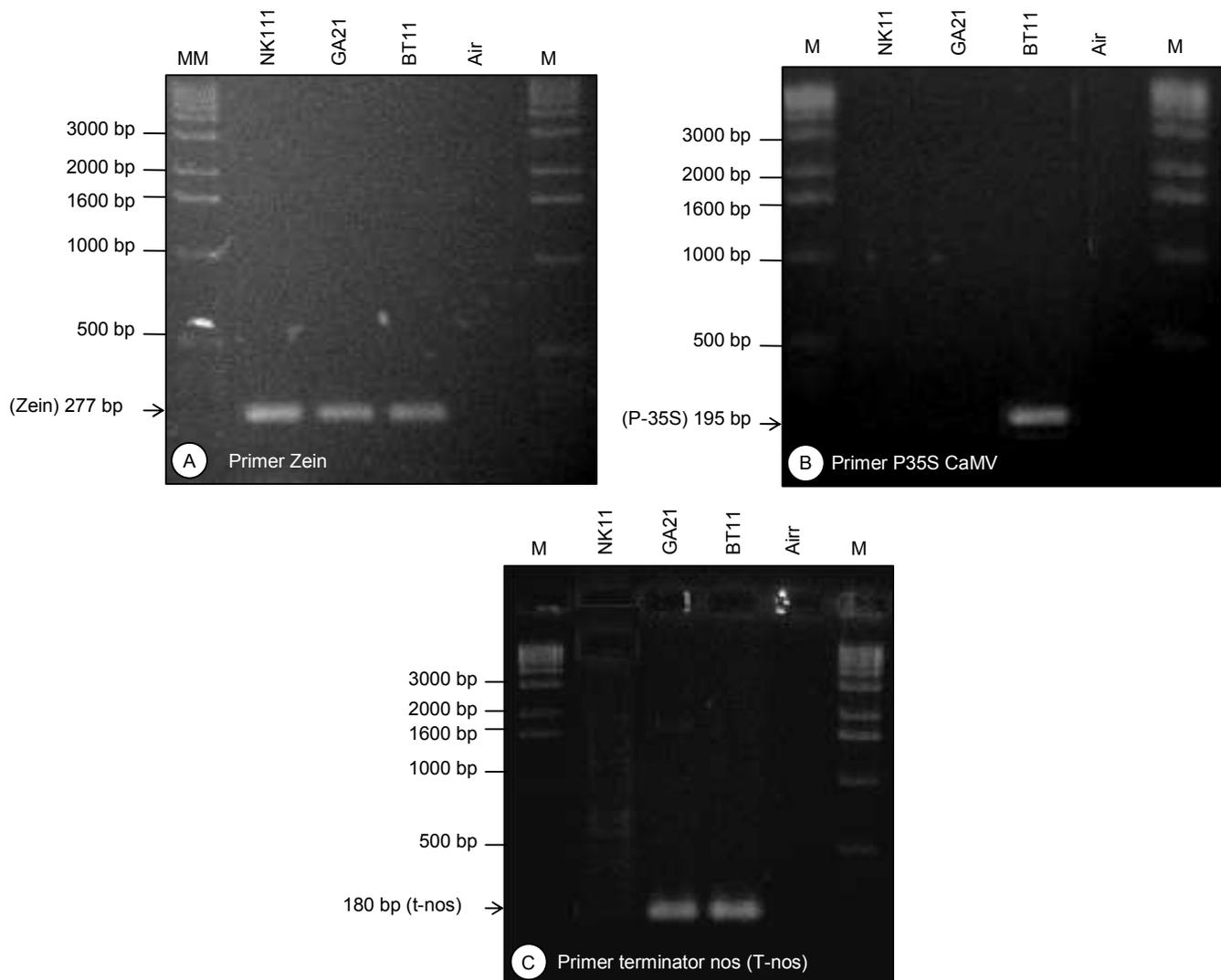
Sebanyak 5 μ l produk PCR hasil amplifikasi fragmen DNA target diseparasi dengan teknik elektroforesis menggunakan gel agarosa 2% dan 3% (w/v) dalam bufer TBE 0,5 \times masing-masing untuk teknik PCR simpleks dan dupleks. Pada tahap selanjutnya, sampel DNA diseparasi dengan dialiri arus listrik pada voltase tertentu dan gel agarosa diwarnai dengan larutan etidium bromida 10 mg/l selama 10

menit, kemudian dihilangkan pewarnaannya dengan air selama 5 menit. Visualisasi DNA dilakukan pada *UV Transilluminator* ChemiDoc EQ™ System (Bio-Rad).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi PCR pada DNA sampel-sampel uji menggunakan primer kontrol internal, primer universal, dan primer spesifik telah menghasilkan amplikon dengan ukuran seperti yang diharapkan (Gambar 2 dan 3). Amplifikasi PCR menggunakan primer kontrol internal Zein menghasilkan amplikon berukuran 277 bp pada semua sampel, yaitu NK11 (jagung non-PRG), GA21, dan BT11, kecuali sampel air (Gambar 2A). Hasil ini menunjukkan bahwa DNA sampel yang digunakan untuk analisis memang benar berasal dari jagung. Seperti diketahui, gen *zein* hanya terdapat pada tanaman jagung sehingga apabila didesain pasangan primer yang berasal dari sekuen gen ini, akan dihasilkan amplikon hanya pada sampel DNA yang berasal dari jagung. Jadi, kontrol internal Zein ini spesifik untuk mendeteksi jagung dan disertakan dalam penelitian ini untuk memastikan dan menjamin bahwa sampel yang dideteksi memang berasal dari jagung. Penggunaan primer kontrol internal ini akan menjadi hal yang sangat penting, terutama jika sampel yang dianalisis berupa tepung atau hasil proses yang bahan dasarnya mungkin tidak diketahui atau telah dicampur dengan bahan dasar lain.

Amplifikasi PCR menggunakan primer universal, yaitu untuk deteksi promotor 35S CaMV dan terminator nos, juga telah menghasilkan amplikon yang masing-masing berukuran 195 bp dan 180 bp (Gambar 2B dan 2C). Hasil amplifikasi dengan primer P-35S CaMV menunjukkan bahwa hanya sampel DNA jagung BT11 saja yang menghasilkan pita DNA, sedangkan dua sampel lain NK11 (non-PRG) dan GA21, serta air menunjukkan hasil negatif atau tidak menghasilkan amplikon (Gambar 2B). Promotor 35S dari CaMV merupakan promotor konstitutif yang banyak dipakai untuk gen-gen interes pada produk-produk rekayasa genetika, salah satunya pada *event* BT11 (Gambar 1). Namun demikian, terdapat beberapa jenis promotor lain yang juga digunakan dalam perakitan tanaman produk rekayasa genetika, sebagai contoh promotor *rice actin* yang digunakan pada *event* GA21. Oleh karena itu, deteksi PRG menggunakan primer P-35S CaMV menunjukkan hasil positif pada jagung *event* BT11 dan negatif pada *event* GA21. Sementara, sampel jagung NK11 (non-PRG) menunjukkan hasil negatif karena memang tidak ada transgen yang disisipkan pada jagung tersebut.



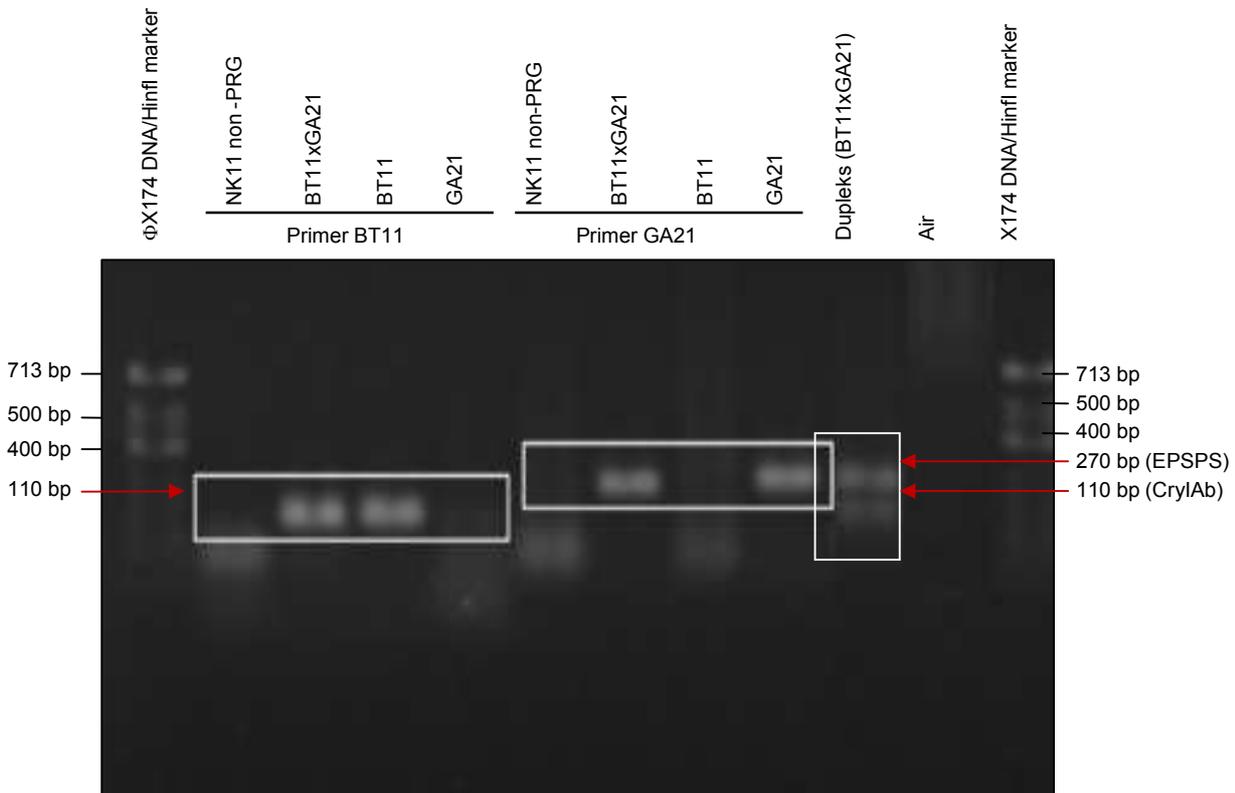
Gambar 2. Elektroforesis gel hasil amplifikasi PCR kualitatif untuk deteksi jagung PRG *event* BT11 dan GA21. A = hasil deteksi menggunakan primer kontrol internal Zein, B = promotor 35S CaMV, dan C = terminator nos. Kontrol negatif: NK11 (non-PRG) dan air, M = DNA ladder 1 kb plus (Invitrogen™).

Hasil berbeda ditunjukkan pada amplifikasi PCR menggunakan primer terminator nos. Baik jagung PRG *event* BT11 maupun GA21 menunjukkan hasil positif ketika diamplifikasi dengan primer terminator nos yang diindikasikan dengan terbentuknya amplicon berukuran 180 bp (Gambar 2C). Seperti terlihat pada peta konstruk, kedua jagung PRG tersebut menggunakan terminator nos pada konstruksi gen interesnya (Gambar 1) sehingga akan memberikan hasil positif. Kontrol negatif, NK11 (non-PRG) dan air, memberikan hasil negatif dan hasil ini sesuai dengan yang diharapkan, yaitu kedua sampel tersebut harus tidak menghasilkan amplicon.

Selain primer universal, deteksi PRG juga dapat dilakukan dengan menggunakan primer spesifik.

Dalam penelitian ini digunakan primer spesifik *event* BT11 dan GA21. Hasil deteksi dengan primer spesifik menunjukkan bahwa kedua pasangan primer dapat menghasilkan amplicon yang berukuran 110 bp dan 270 bp masing-masing untuk *event* BT11 dan GA21 (Gambar 3). Gambar tersebut juga memperlihatkan hasil PCR pada elektroforesis gel dengan menggunakan primer spesifik untuk *event* GA21 dan BT11, baik sebagai simpleks (tunggal) atau dupleks (dua pasang primer digabungkan).

Analisis PCR secara simpleks dengan menggunakan primer spesifik untuk *event* BT11 memperlihatkan hasil positif pada sampel jagung *event* BT11 dan sampel *event stacked* PRG (BT11 x GA21), namun negatif pada kontrol jagung NK11 (non-PRG) dan



Gambar 3. Elektroforesis gel hasil amplifikasi PCR kualitatif untuk deteksi jagung PRG *event* GA21 dan BT11 dengan primer spesifik secara simpleks dan dupleks.

event GA21. Penggunaan primer spesifik GA21 memperlihatkan hasil positif pada sampel jagung untuk *event* GA21 dan sampel *event stacked* PRG, namun negatif pada kontrol non-PRG NK11 dan jagung PRG BT11. Hasil ini menunjukkan bahwa primer spesifik BT11 dapat digunakan untuk mendeteksi jagung *event* BT11 saja atau *stacked* PRG yang salah satu tetuanya BT11. Demikian juga dengan primer spesifik GA21 hanya mendeteksi secara khusus jagung *event* GA21 saja atau *stacked* PRG yang salah satu tetuanya GA21.

Deteksi PRG secara kualitatif dengan menggunakan teknik PCR secara simpleks telah banyak dilakukan (Gurakan *et al.*, 2011; Randhawa dan Firke, 2006), bahkan di antaranya dikombinasikan dengan teknik PCR secara kuantitatif (Greiner *et al.*, 2005) atau metode *immunoassay-kit* (Chiueh *et al.*, 2001; Lin *et al.*, 2001). Dengan teknik PCR simpleks, lebih banyak jumlah reaksi PCR yang dapat disiapkan, tentunya banyak pula *event* PRG yang dapat dideteksi sesuai dengan primer yang digunakan pada setiap reaksi PCR. Akan tetapi, teknik deteksi secara terpisah (simpleks) ini membutuhkan biaya yang relatif lebih besar dan membutuhkan waktu yang lebih lama dalam pelaksanaannya. Sebagai alternatif, teknik PCR

secara multipleks dapat digunakan dalam meningkatkan efisiensi teknik deteksi PRG yang mengandung lebih dari satu gen interes dalam suatu genom atau multi *event* dalam suatu sampel, baik tanaman, makanan, maupun pakan ternak, secara simultan. Teknik PCR secara dupleks atau multipleks telah digunakan oleh beberapa peneliti untuk deteksi PRG baik yang berupa *event* tunggal atau *stacked* (Babekova *et al.*, 2008; Hedreyda dan Roxas, 2010; Xu *et al.*, 2009). Namun demikian, teknik PCR secara multipleks biasanya memerlukan optimasi kondisi PCR untuk mengatasi rendahnya sensitivitas produk amplifikasi atau ampikon yang dihasilkan oleh primer yang berbeda-beda. Pada penelitian ini, sebagai langkah awal dalam kegiatan deteksi PRG yang mengandung lebih dari satu gen, teknik dupleks untuk mendeteksi *event* PRG BT11 dan GA21 telah berhasil dilakukan (Gambar 3). Kemampuan deteksi *event* PRG secara dupleks yang memiliki dua target *event* ini akan sangat bermanfaat dalam meningkatkan efisiensi kegiatan evaluasi produk rekayasa genetika, terutama apabila sampel yang akan dideteksi pada sampel PRG memiliki banyak target *event*.

KESIMPULAN

Primer kontrol internal Zein dapat digunakan untuk mendeteksi apakah bahan yang diuji mengandung DNA jagung.

Primer universal P-35S dan/atau T-nos yang digunakan dalam penelitian ini dapat mendeteksi suatu bahan PRG yang mengandung 35S dan/atau terminator nos.

Primer BT11 dan GA21 yang digunakan dalam penelitian ini dapat mendeteksi secara spesifik apakah bahan yang diuji mengandung DNA jagung *event* BT11 dan GA21 serta hasil persilangannya.

Metode dupleks yang digunakan dalam penelitian ini dapat mendeteksi keberadaan DNA jagung *event* BT11 dan GA21 dalam satu kali uji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Syngenta Indonesia yang telah memberikan jagung BT11, GA21, dan NK11 untuk digunakan dalam penelitian ini.

PUSTAKA

- Ahmed, F.E. 2002. Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends Biotechnol.* 20(5):215–223.
- Babekova, R., T. Funk, S. Pecoraro, K.H. Engel, D. Baikova, and U. Busch. 2008. Duplex polymerase chain reaction (PCR) for the simultaneous detection of *cryIA(B)* and the maize ubiquitin promoter in the transgenic rice line KMD1. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 705–708.
- Badan POM. 2012. http://clearinghouse.pom.go.id/admin/editor/gambar/File/PERATURAN%20LABEL%20PANGAN/per_pelabelan2012.pdf (diakses 15 Desember 2014).
- Bahagiawati dan Sutrisno. 2007. Pemanfaatan tanaman hasil rekayasa genetika: Status, regulasi, dan metode deteksi di Indonesia. *J. AgroBiogen* 3(1):40–48.
- Bahagiawati dan M. Herman. 2008. Peraturan perundang-undangan tentang keamanan produk bioteknologi dan status perakitan tanaman produk bioteknologi di Indonesia. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian, Jakarta.
- CERA. 2014. GM crop database. Center for environmental risk assessment. <http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase>. (diakses 28 Mei 2015).
- Chiueh, L.-C., Y.-L. Chen, J.-H. Yu, and D.-Y.-C. Shih. 2001. Detection of four types of genetically modified maize by polymerase chain reaction and immuno-kit methods. *J. Food Drug Anal.* 9(1):50–57.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.
- Greiner, R., U. Konietzny, L.C.H. Anna, and Villavicencio. 2005. Qualitative and quantitative detection of genetically modified maize and soy in processed foods sold commercially in Brazil by PCR-based methods. *Food Control* 16:753–759.
- Gurakan, G.C., G. Aydin, and R. Yilmaz. 2011. Qualitative detection of GM maize (BT11) in food and feed sold commercially in Turkey by PCR based methods. *Indian J. Biotechnol.* 10:143–146.
- Hedreyda, C.T. and J.L. Roxas. 2010. Detecting genes inserted into genetically modified *Zea mays* L. Yieldgard[®] MON810, Roundup Ready[®] GA21, and Roundup Ready[®] NK603 using multiplex polymerase chain reaction. *Philipp. Sci. Lett.* 3(2):59–63.
- Herman, M. 2008. Tanaman produk rekayasa genetik dan kebijakan pengembangannya. Status global tanaman produk rekayasa genetik dan regulasinya. Volume 2. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. Bogor
- Holst-Jensen, A., S.B. Ronning, A. Lovseth, and K.G. Berdal. 2003. PCR technology for screening and quantification of genetically modified organisms (GMOs). *Anal. Bioanal. Chem.* 375:985–993.
- James, C. 2013. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2013. *ISAAA Brief No. 46*. ISAAA. Ithaca, NY.
- Lee, S.-H., Y.-H. Park, and J.-K. Kim. 2004. Qualitative PCR method for detection of genetically modified maize lines NK603 and TC1507. *Agric. Chem. Biotechnol.* 47(4):185–188.
- Lin, H.-S., J.-W. Chiang, and D.-Y.-C. Shih. 2001. Detection of genetically modified soybeans by PCR methods and immunoassay kits. *J. Food Drug Anal.* 9(3):160–166.
- Onishi, M., T. Matsuoka, T. Kodama, K. Kashiwara, S. Futo, H. Akiyama, T. Maitani, S. Furui, T. Oguchi, and A. Hino. 2005. Development of a multiplex polymerase chain reaction method for simultaneous detection of eight events of genetically modified maize. *J. Agric. Food Chem.* 53(25):9713–9721.
- Matsuoka, T., H. Kuribara, H. Akiyama, H. Miura, Y. Goda, Y. Kusakabe, K. Isshiki, M. Toyoda, and A. Hino. 2001. A multiplex PCR method of detecting recombinant DNAs from five lines of genetically modified maize. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 42:24–32.

Randhawa, G.J. and P.K. Firke. 2006. Detection of transgenes in genetically modified soybean and maize using polymerase chain reaction. *Indian J. Biotechnol.* 5:510–513.

Xu, W., Y. Yuan, Y. Luo, W. Bai, C. Zhang, and K. Huang. 2009. Event-specific detection of stacked genetically modified maize Bt11 x GA21 by UP-M-PCR and real-time PCR. *J. Agric. Food Chem.* 57:395–402.
