

# Regenerasi Embrio Muda Jagung yang Diintroduksi Plasmid *pUBC* dan *pBarGus*

Sutrisno<sup>1</sup>, I.H. Somantri<sup>1</sup>, B. Soegiarto<sup>1</sup>, E. Listanto<sup>1</sup>, D. Damayanti<sup>1</sup>, S.G. Budiarti<sup>1</sup>, A. Sisharmini<sup>1</sup>, T.J. Santosa<sup>1</sup>, dan I. Altosaar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

<sup>2</sup>Ottawa University, Canada

## ABSTRAK

Suatu percobaan regenerasi kalus embrio muda jagung yang diintroduksi plasmid *pUBC* dan *pBarGus* telah dilakukan di Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor pada tahun 1998/99 dengan tujuan awal untuk mendapatkan tanaman yang lolos dari seleksi Basta<sup>R</sup> dan tujuan akhir untuk mendapatkan tanaman jagung transgenik Bt yang tahan hama penggerek jagung. Plasmid *pUBC* yang mengandung gen *cry* IAc dan plasmid *pBarGus* yang mengandung gen *Gus* dan gen *Bar* dimasukkan ke dalam sel kalus embrio muda jagung dengan bantuan alat penembak partikel. Sebanyak 128 kalus embrio muda varietas Antasena dan 264 varietas Bisma telah ditembak dengan plasmid *pBarGus* dan plasmid *pUBC*, serta 302 kalus embrio muda Bisma telah ditembak dengan *pUBC*. Kedua plasmid tersebut ditembakkan secara ko-transformasi yang di-tembakkan dua kali pada jarak 7 cm dengan tekanan 1050 psi. Dari 128 embrio muda Antasena dan 264 Bisma yang ditembak, banyaknya kalus yang dapat bertahan hidup dari seleksi dengan Basta<sup>R</sup> (5 mg/l) ialah 15 Antasena dan 51 Bisma. Data tersebut menunjukkan bahwa 19-20% embrio muda berhasil di-masuki *pBarGus*. Dari kalus yang bertahan hidup, dihasilkan 24-25 planlet. Tiap kalus dapat menghasilkan 0-1 planlet. Planlet yang berhasil diaklimatisasikan sebanyak 9-10 tanaman normal yang menghasilkan tongkol yang berbiji. Biji jagung yang dihasilkan berkisar antara 2-581 per tongkol. Jumlah total biji yang dihasilkan dari 10 tanaman Antasena tersebut ialah 1653 biji dan sembilan tanaman Bisma adalah 205 biji. Tiga ratus dua embrio muda Bisma juga ditembak *pUBC* saja (tanpa *pBarGus*) yang menghasilkan 110 kalus. Kalus tersebut menghasilkan 14 planlet (tunas berakar). Dari planlet itu dihasilkan tiga tanaman yang menghasilkan tongkol berbiji. Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan tujuan menguji integrasi gen *cry*, ekspresi gen *cry*, dan bioasai transforman terhadap penggerek batang jagung Asia.

**Kata kunci:** Jagung, transformasi, *pUBC*, *pBarGus*, regenerasi

## ABSTRACT

An experiment to regenerate immature embryo bombarded with plasmids of *pUBC* and *pBarGus* has been carried out at Research Institute for Food Crop Biotechnology, Bogor in the fiscal year of 1998/99 with the short term aim to develop maize that survived under the selection of Basta<sup>R</sup> and with the long term objective to develop transgenic Bt-maize resistant to Asian corn borer. A *pUBC* plasmid contained *cry* IAc gene and *pBarGus* plasmid contained *Gus* and *Bar* genes were introduced into calli derived from immature embryo of maize with the aid of particle bombardment apparatus. 128 calli derived from immature embryo of Antasena variety and 264 Bisma were bombarded with *pBarGus* and *pUBC* plasmids. The two plasmids were bombarded as co-transformation using particle bombardment with two times shooting at a distance of 7 cm with the pressure of 1050 psi. Out of 128 Antasena and 264 Bisma immature embryo bombarded, 15 calli of Antasena and 51 calli of Bisma survived under the selection of Basta<sup>R</sup> (5 mg/liter). Data

shows that 19-20% of immature embryo have been inserted by *pBarGus*. Twenty four and 25 plantlets could be produced from 15 and 51 calli of Antasena and Bisma, respectively. Each callus could produced 0-1 plantlets. Out of 24-25 plantlets, 9-10 plants were successfully acclimatized to produced kernels. Number of seed on each kernel was vary from 2-581seeds. A total number of seeds produced from 10 plants of Antasena were 1653 seeds and nine plants of Bisma were 205 seeds. Three hundred and two immature embryos of Bisma were also bombarded with *pUBC* alone (without *pBarGus*) which yielded 110 calli. Those calli yielded 14 plantlets (shoot with root). Those plantlets yielded tree plants with kernels. Further research will be needed to check the integration of *cry* gene, the expression of *cry* gene, and the bioassay of transformants against Asian corn borer.

**Key words:** Maize, transformation, *pUBC*, *pBarGus*, regeneration

## PENDAHULUAN

Gen *cry* 1Ab dan 1Ac adalah gen yang berasal dari mikroba *Bacillus thuringiensis* yang dapat menghasilkan protein kristal yang beracun terhadap hama ulat (Ge *et al.*, 1991). Gen tersebut telah berhasil disisipkan ke dalam genom berbagai tanaman, sehingga tanaman mampu menghasilkan protein kristal yang beracun terhadap beberapa jenis hama ulat tanaman (Krattiger, 1997; Maredia, 1995).

Antasena dan Bisma adalah varietas yang banyak ditanam oleh petani karena di samping produksinya tinggi, tanaman itu juga toleran terhadap penyakit bulai. Namun demikian, varietas tersebut tidak toleran terhadap hama ulat jagung, seperti penggerek batang jagung (*Ostrinia furnacalis*) dan penggerek tongkol (*Helicoverpa armigera*). Hama ulat jagung itu menyebabkan kehilangan hasil jagung di beberapa provinsi di Indonesia (Subandi, 1995).

Alat penembak partikel (*particle bombardment*) adalah alat yang dapat digunakan untuk memasukkan gen asing ke dalam sel tanaman. Alat tersebut telah berhasil memasukkan beberapa macam gen asing ke dalam sel beberapa macam tanaman sehingga gen itu berintegrasi dengan genom dan mampu mengekspresikan produk pada tingkatan yang memuaskan (Klein *et al.*, 1989).

Mengingat pentingnya pengendalian hama ulat jagung dan telah tersedianya varietas jagung, gen *cry*, dan alat penembak partikel maka transformasi tanaman jagung dengan gen *cry* menggunakan biolistik perlu segera dilakukan.

Penggerek batang jagung merupakan hama penyebab kehilangan hasil jagung yang belum dapat diatasi dengan varietas tahan karena varietas itu belum tersedia di pasaran. Tanaman jagung transgenik yang tahan terhadap penggerek jagung milik perusahaan swasta sekarang ini di Indonesia masih dalam status pengujian dan evaluasi di lapang. Transformasi tanaman jagung Indonesia dengan gen Bt dapat menghasilkan varietas jagung Indonesia tahan hama penggerek batang jagung.

## **BAHAN DAN METODE**

Percobaan ini dilakukan tiga kali. Pada percobaan pertama dilakukan penembakan sebanyak 128 kalus embrio muda Antasena. Pada percobaan kedua dilakukan penembakan 264 kalus embrio muda Bisma. Pada percobaan ketiga dilakukan penembakan 302 kalus embrio muda Bisma.

### **Penanaman Jagung di Lapang**

Jagung ditanam di Instalasi Penelitian Bioteknologi (Inlitbio) Cikeumeuh, varietas yang ditanam ialah Antasena dan Bisma. Sebanyak 20 biji dari masing-masing varietas ditanam dalam satu baris. Setiap minggu ditanam satu baris tanaman sesuai dengan standar. Tongkol dipanen 9-14 hari setelah penyerbukan, kemudian disimpan dalam ruang dingin (*cold storage*) sampai siap diisolasi embrio mudanya.

### **Isolasi Embrio Muda dan Induksi Kalus**

Tongkol muda dikupas kulitnya kemudian disterilkan. Biji jagung dipotong dan diambil embrio mudanya (1,0-1,2 mm) secara hati-hati. Embrio muda diinokulasikan pada media induksi kalus (Tabel 1) kemudian diinkubasikan selama 3-4 hari pada suhu 25°C dalam ruang gelap untuk induksi kalus (Armstrong dan Green, 1985; Hodges *et al.*, 1986; Ishida *et al.*, 1996).

### **Perbanyakan Plasmid**

Plasmid yang mengandung gen *cry* diperbanyak dalam inang bakteri *Escherichia coli*, kemudian diisolasi dan disiapkan untuk penembakan (Sambrook *et al.*, 1989).

### **Persiapan Kalus Embriogenik untuk Transformasi**

Kalus embriogenik diatur dalam lingkaran tepat ditengah-tengah cawan petri yang mengandung media bombardmen. Kalus diinkubasikan selama satu malam dalam keadaan gelap. Kalus ditembak kemudian diinkubasikan lagi dalam keadaan gelap selama satu malam. Beberapa kalus yang telah ditembak direaksikan dengan larutan X-Gluc (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronic acid) selama 24 jam. Penghitungan dilakukan terhadap banyaknya kalus yang mengekspresikan warna biru dan banyaknya bercak biru per kalus. Pengujian Gus diulangi pada tujuh hari setelah penembakan.

### **Seleksi dan Regenerasi Kalus Menggunakan Basta<sup>®</sup>**

Kalus yang telah ditembak kemudian dipindahkan ke media induksi kalus yang mengandung penyeleksi (Basta<sup>R</sup> 1 mg/l) dan diinkubasikan selama 2 minggu pada suhu 25°C di ruang gelap. Kalus kemudian disubkulturkan pada media yang mengandung penyeleksi (Basta<sup>R</sup> 5 mg/l) selama 3 minggu pada suhu 25°C di ruang gelap. Kelompok sel hasil proliferasi dari embrio muda, yang khas kalus tipe I di-potong dan dikulturkan lagi selama 3 minggu di ruang gelap. Kalus diregenerasikan pada media regenerasi (Tabel 1) di ruang terang. Planlet dipindahkan ke media perakaran (tanpa hormon dan tanpa penyeleksi). Tanaman regeneran kemudian diaklimatisasikan pada pot di rumah kaca.

## Sterilisasi Bahan dan Alat

*Macrocarrier holder, macrocarrier, stopping screen, rupture disks*

**Tabel 1.** Media kultur *in vitro* embrio muda jagung

| Media                                           | Keterangan            |
|-------------------------------------------------|-----------------------|
| Media induksi kalus (N6C1)                      | Untuk 1 liter, pH 5,7 |
| N6S1                                            | : 100 ml              |
| N6S2                                            | : 10 ml               |
| N6S3                                            | : 10 ml               |
| N6S4                                            | : 1 ml                |
| L-proline                                       | : 2,3 g               |
| Casein Hydrolysate                              | : 0,2 g               |
| Dicamba (1 mg/ml)                               | : 2 ml                |
| Sukrosa                                         | : 30 g                |
| Phytigel                                        | : 3 g                 |
| N6S1 (1 liter)                                  |                       |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O            | : 1,660 g             |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O            | : 1,724 g             |
| KNO <sub>3</sub>                                | : 28,330 g            |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | : 4,630 g             |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                 | : 4,000 g             |
| N6S2 (1 liter)                                  |                       |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                  | : 0,160 g             |
| KI                                              | : 0,080 g             |
| MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O             | : 0,596 g             |
| ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O            | : 0,150 g             |
| N6S3 (1 liter)                                  |                       |
| FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O            | : 2,784 g             |
| Na <sub>2</sub> EDTA                            | : 3,724 g             |
| N6S4 (1 liter)                                  |                       |
| Glycine                                         | : 2,0 g               |
| Nicotinic Acid                                  | : 0,5 g               |
| Thiamine HCl                                    | : 0,5 g               |
| Pyrolidone HCl                                  | : 1,0 g               |
| Media regenerasi (MSR)                          | Untuk 1 liter, pH 5,7 |
| MS Salt                                         | : 4,33 g              |
| Thiamine HCl                                    | : 0,04 g              |
| L-Asparagine                                    | : 0,15 g              |
| Sucrose                                         | : 20 g                |
| IAA (mg/ml)                                     | : 0,5 ml              |
| BAP (mg/ml)                                     | : 1,0 ml              |
| Phytigel                                        | : 3 g                 |
| Media perakaran (MSE)                           | Untuk 1 liter, pH 5,7 |
| MS Macroelement                                 | : 50 ml               |
| MS Microelement                                 | : 100 ml              |
| Sucrose                                         | : 20 g                |
| NAA (mg/ml)                                     | : 1 ml                |
| Agar (phytagel)                                 | : 3 g                 |

direndam dalam 70% etanol selama 15 menit. Bahan tersebut dikeringkan dalam *laminar flow* pada kertas saring steril. Pencucian dengan 70% etanol dilakukan terhadap asesori metal seperti *acceleration tube*, *rupture disks retaining cap*, dan *micro-carrier launch assembly*. Komponen lain dari *particle bombardment* juga disteril-kan dengan 70% etanol.

### **Penyiapan Mikrokarier (Emas)**

Sebanyak 30 mg partikel emas dimasukkan ke dalam eppendorf 1,5 ml. Sebanyak 0,5 ml etanol absolut ditambahkan ke dalam eppendorf dan divorteks selama 2 menit. Eppendorf disentrifuse selama 1 menit pada kecepatan 10.000 rpm kemudian dibuang supernatannya. Tahapan b dan c diulang dua kali. Endapan dilarutkan dengan 0,5 ml air steril, disentrifuse, dan dibuang supernatannya. Tahapan ini diulang tiga kali. Endapan *microcarrier* dilarutkan dalam 0,5 ml air steril. Pindahkan setiap 50 mikroliter suspensi ke dalam eppendorf 1,5 ml dan simpan pada suhu -4°C.

### **Presipitasi DNA**

Dalam keadaan terus menerus divorteks, ke dalam 50 mikroliter suspensi emas ditambahkan secara berurutan 8 mikroliter DNA (konsentrasi DNA = 1 mikrogram/ml), 50 mikroliter 24 M CaCl (autoklaf) dan 20 ml 0,1 M spermidine. Vorteks terus dilakukan selama 3 menit. Disentrifuse selama 10 detik pada kecepatan 10.000 rpm. Kemudian dibuang supernatannya. Tambahkan 250 mikroliter etanol absolut dingin (-20°C), vorteks selama 2 menit. Disentrifuse selama 1 menit pada kecepatan 13.000 rpm, kemudian dibuang supernatannya. Larutkan *micro-carrier* dalam 60 ml etanol absolut. *Macrocarrier* dipasang pada *macrocarrier holder*. Dipipet 10 ml *microcarrier* yang telah diselimuti DNA dan dituangkan di tengah-tengah masing-masing *macrocarrier*. Setiap kali penyiapan cukup untuk enam kali penembakan. Dibiarkan kering selama 1 menit.

### **Pemakaian Penembak Partikel**

Penembak partikel dan pompa vakum dinyalakan. Atur jarak antara *rupture disks* dan *macrocarrier*. Pasang *rupture disks* dan pasang *microcarrier*. Atur posisi kalus yang akan ditembak. Tutup pintu penembak partikel. Posisi *switch on* pada vakum dipindah ke posisi *VAC*. Tunggu sampai pada bacaan 25, kemudian tekan *switch VACUUM* pada posisi *HOLD*. Tekan dan tahan *switch FIRE* sampai *disk* pecah pada tekanan yang diinginkan. Lepaskan *switch FIRE* segera setelah *disk* pecah. Letakkan *switch VACUUM* pada posisi *VENT*. Ambil kalus yang telah ditembak dan disimpan dalam keadaan gelap. Buang *macrocarrier*, *stopping screen*, dan *rupture disks*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### Transfer *pBarGus* dan *pUBC* ke dalam Kalus Embrio Muda Antasena

Tanaman jagung varietas Antasena ditanam di Inlithio Cikeumeuh. Tongkol muda dipanen dan embrio muda diisolasi. Sebanyak 128 embrio muda ditumbuhkan pada media induksi kalus, N6C1B1. Kalus yang tumbuh ditembak dengan plas-mid yang mengandung *pBarGus* dan plasmid yang mengandung *pUBC*. Kalus yang telah ditembak diregenerasikan pada media regenerasi (MSRB5). Dari 128 kalus embrio muda yang ditembak, 26 kalus dapat ditumbuhkan lebih lanjut pada media regenerasi (MSRB5) (Tabel 2). Hal ini berarti bahwa sebanyak 20% kalus berhasil hidup di bawah tekanan seleksi Basta<sup>R</sup>. Kenyataan tersebut juga menunjukkan bahwa penembakan plasmid berhasil mengenai 20% dari kalus yang menjadi tar-get dan efisiensi penembakan partikel emas yang mengandung plasmid masih re-latif rendah. Rendahnya efisiensi tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain jarak tembak, jumlah penembakan, tekanan tembakkan, banyaknya plasmid yang ditembakkan, dan kondisi kalus yang ditembak. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mendapatkan cara penembakan yang efisien.

Dua puluh enam kalus yang lolos dari seleksi Basta<sup>R</sup> dikulturkan pada media regenerasi dan membentuk 26 tunas. Tidak semua kalus berhasil membentuk tunas. Banyaknya tunas yang terbentuk tiap kalus berkisar antara 0-4 tunas. Rata-rata tiap kalus menghasilkan satu tunas. Variasi banyaknya tunas yang terbentuk tiap kalus relatif besar. Hal ini menunjukkan bahwa media regenerasi yang diguna-kan masih perlu diperbaiki agar pembentukan tunas per kalus dapat maksimum.

Sebanyak 26 tunas dipindahkan ke media perakaran (MSE) dan sebanyak 24 tunas (92%) berhasil membentuk akar (Tabel 2). Keberhasilan tunas Antasena dalam membentuk akar relatif tinggi, yang berarti bahwa media perakaran yang di-gunakan cocok untuk pembentukan akar tunas Antasena.

Dari 24 tunas berakar yang diaklimatisasikan pada media tanah yang dicam-pur kompos dengan perbandingan 1 : 1, 15 tanaman atau 62% berhasil

**Tabel 2.** Regenerasi kultur embrio muda yang ditembak dengan plasmid *pBarGus* dan *pUBC*

| Parameter                  | Percobaan ke ... |           |           |
|----------------------------|------------------|-----------|-----------|
|                            | 1 (Antasena)     | 2 (Bisma) | 3 (Bisma) |
| Jumlah embrio muda         | 128              | 264       | 302       |
| Jumlah kalus               | 26               | 51        | 110       |
| Jumlah tunas belum berakar | 26               | 40        | 42        |
| Jumlah tunas sudah berakar | 24               | 25        | 14        |
| Jumlah tanaman dewasa      | 15               | 16        | 13        |
| Jumlah tongkol jagung      | 10/20            | 9/22      | 3/16      |
| Jumlah biji jagung         | 1653             | 205       | 133       |

Media induksi: N6C1, N6C1B1; media regenerasi: MSRB5; media perakaran: MSE; media aklimatisasi: tanah + kompos (1 : 1)

tumbuh penuh. Kenyataan itu menunjukkan bahwa media aklimatisasi masih perlu ditingkatkan agar tunas berakar yang berhasil diaklimatisasikan maksimal.

Setelah ditumbuhkan sampai dewasa, sebanyak dua tanaman tidak menghasilkan tongkol dan 13 tanaman menghasilkan tongkol. Banyaknya tongkol yang dihasilkan berkisar antara 1-3 tongkol tiap tanaman dengan rata-rata 1,5 tongkol tiap tanaman. Tidak semua tongkol menghasilkan biji. Dari 20 tongkol yang terbentuk, 10 tongkol (50%) berhasil membentuk biji (Tabel 2). Biji yang terbentuk tersebut sebagai hasil penyerbukan sendiri menggunakan serbuk sari yang telah disimpan dalam kulkas. Rendahnya keberhasilan tongkol menghasilkan biji antara lain belum diketahuinya waktu pemanenan serbuk sari yang tepat dan cara penyimpanan serbuk sari di kulkas, baik dari segi suhu maupun lamanya penyimpanan.

Tiap tongkol menghasilkan antara 7-581 biji. Bila dibandingkan dengan Antasena normal, biji yang dihasilkan tersebut sangat rendah. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh yang dialami pada waktu kultur *in vitro* sehingga menghasilkan tanaman yang kurang normal.

### **Transfer *pBarGus* dan *pUBC* ke dalam Kalus Embrio Muda Bisma**

Sebanyak 264 kalus embrio muda varietas Bisma ditembak dengan plasmid *pUBC* dan *pBarGus*. Setelah dikulturkan pada media MSRB5, kalus yang lolos dari seleksi Basta<sup>R</sup> 5 mg/l sebanyak 51 kalus atau 19% (Tabel 2). Kenyataan ini menunjukkan bahwa kalus Bisma yang berhasil dimasuki gen Bar sebanyak 19%. Efisiensi penembakan pada varietas Bisma yang masih relatif rendah ini sama dengan efisiensi penembakan pada varietas Antasena (20%).

Setelah 51 kalus ditumbuhkan pada media MSRB5, tidak semua kalus berhasil membentuk tunas. Jumlah tunas yang terbentuk ialah 40 tunas. Rata-rata tunas yang terbentuk pada tiap kalus ialah 0,8 tunas. Kemampuan kalus Bisma membentuk tunas ini lebih kecil daripada kemampuan Antasena, yaitu satu tunas/kalus.

Empat puluh tunas dipindahkan pada media perakaran (MSE). Dari 40 tunas yang diakarkan, 25 tunas (62%) berhasil membentuk akar. Kemampuan tunas Bisma membentuk akar lebih rendah daripada varietas Antasena, yaitu 92%. Kenyataan ini menunjukkan bahwa media perakaran yang cocok untuk tunas Bisma masih perlu diteliti lebih lanjut.

Dua puluh lima tunas yang membentuk akar kemudian diaklimatisasikan pada media tanah yang dicampur kompos dengan perbandingan 1 : 1. Sebanyak 16 tunas berakar (64%) berhasil menjadi tanaman dewasa. Daya aklimatisasi Bisma tersebut hampir sama dengan Antasena (62%). Data tersebut menunjukkan bahwa media dan cara aklimatisasi untuk Bisma dan Antasena masih perlu ditingkatkan.



Enam belas tanaman dewasa tersebut dapat menghasilkan 22 tongkol (Tabel 2). Tiap tanaman menghasilkan rata-rata 1,4 tongkol. Namun demikian, dari 22 tongkol tersebut hanya 9 tongkol (41%) yang menghasilkan biji. Kemampuan Bisma menghasilkan tongkol hampir sama dengan kemampuan Antasena. Demikian juga banyaknya tongkol Bisma yang berhasil membentuk biji hampir sama dengan Antasena.

Biji yang terbentuk antara 2-85 tiap tongkol Bisma. Kemampuan tongkol Bisma membentuk biji lebih rendah daripada kemampuan Antasena, yaitu 7-581 biji/tongkol.

#### **Transfer *p*UBC ke dalam Kalus Embrio Muda Bisma**

Sebanyak 302 kalus embrio muda Bisma ditembak dengan *p*UBC saja (tanpa *p*BarGus). Dari 302 kalus yang dikulturkan pada media MSR, 110 kalus mampu terus hidup (Tabel 2). Tidak semua kalus dapat menghasilkan tunas. Tunas yang dihasilkan ialah 42 tunas. Tunas yang terbentuk rata-rata 0,4 tunas per kalus. Kemampuan membentuk tunas Bisma pada media tanpa Basta<sup>R</sup> ini relatif sangat rendah. Hal yang perlu diteliti lebih lanjut ialah pengaruh Basta<sup>R</sup> dalam pembentukan tunas.

Empat puluh dua tunas tersebut dipindahkan ke media perakaran (MSE). Jumlah tunas yang berhasil membentuk akar ialah 14 atau 33%. Kemampuan tunas membentuk akar ini relatif masih rendah. Perlu diteliti lebih lanjut pengaruh Basta<sup>R</sup> terhadap kemampuan tunas membentuk akar.

Empat belas tunas berakar tersebut diaklimatisasikan pada media tanah yang dicampur kompos dengan perbandingan 1 : 1. Tunas berakar yang berhasil menjadi tanaman dewasa ialah 13 tanaman atau 92%. Daya aklimatisasi tunas berakar ini lebih besar daripada percobaan terdahulu.

Dari 13 tanaman dewasa dihasilkan 16 tongkol (Tabel 2). Dari 16 tongkol, hanya 3 tongkol yang berhasil membentuk biji. Biji yang dihasilkan oleh tiap tongkol berkisar antara 3-99 biji. Banyaknya biji yang dihasilkan tiap tongkol Bisma ini hampir sama dengan percobaan Bisma yang terdahulu.

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

Kegiatan transformasi tanaman jagung telah menghasilkan 10 nomor varietas Antasena dan 12 nomor varietas Bisma yang berturut-turut menghasilkan biji sebanyak 1653 dan 338. Integrasi dan ekspresi gen *cry* IAc pada tanaman tersebut akan diteliti lebih lanjut. Cara penembakan gen, media regenerasi, media perakaran, dan media aklimatisasi untuk tanaman jagung masih perlu diperbaiki.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Amstrong, C.L. and C.E. Green. 1985.** Establishment and maintenance of friable embryogenic maize callus and the involvement of L-proline. *Planta* 164:207-214.
- Ge, A., D. Rivers, R. Milne, and H. Dean. 1991.** Functional domains of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins. *Jour. Bio. Chem.* 266(27):17954-17958.
- Hodges, T.K., K.K. Kano, C.W. Imbrie, and M.R. Becwar. 1986.** Genotype specificity of somatic embryogenesis and regeneration in maize. *Bio/Technology* 4:219-223.
- Ishida, Y., H. Saito, S. Ohta, Y. Hiei, T. Komari, and T. Kumashiro. 1996.** High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature Biotechnology* 14:745-750.
- Krattiger, A.F. 1997.** Insect resistance in crops: A case study of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and its transfer to developing countries. No. 2. 42 p.
- Klein, M., L. Korntein, J. Sanford, and M.E. Fromm. 1989.** Genetic transformation of maize cells by particle bombardment. *Plant Physiol.* 91:440-444.
- Maredia, K. 1995.** Technology transfer process within the ABSP project. Indonesia/ ABSP Technology Transfer Workshops. Cisarua, Bogor, Indonesia, April 18-20, 1995.
- Subandi. 1995.** Maize research in Indonesia and the need for a regional network. Indonesia/ABSP Technology Transfer Workshop. Cisarua, Bogor, Indonesia, April 10-20, 1995. 13 p.
- Sambrook, J., E.T. Fritsch, and T. Maniatis. 1989.** Molecular cloning, a laboratory manual second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Book 1.