

ABSTRAK

EKSPRESI GEN-GEN *FLORAL ORGAN IDENTITY*, *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* DAN *TgAG*, PADA STADIUM PEMBENTUKAN ORGAN BUNGA JATI (*Tectona grandis*, L. f)

Oleh:

Eri Mustari

NIM : 30611025

Program Studi Doktor Biologi

Jati (*Tectona grandis* L.f.) merupakan tanaman hutan penghasil kayu yang bernilai ekonomi tinggi, yang terkenal karena kekuatan dan daya tahan kayunya. Kendala yang dihadapi tanaman jati adalah kecepatan pertumbuhan volume batangnya berkurang setelah memasuki fase generatif. Upaya yang dapat dilakukan adalah menunda tahap pembungaan pada jati melalui pendekatan rekayasa genetik atau pengaturan pembungaan pada jati. Penundaan pembungaan pada jati dilakukan supaya fase vegetatif menjadi lebih lama, sedangkan pengaturan pembungaan pada jati memerlukan pemahaman konsep regulasi gen-gen pembungaan dan pembentukan organ bunga jati. Informasi tentang regulasi gen-gen pembungaan pada jati tersebut masih relatif terbatas, tetapi regulasi gen-gen pembungaan pada *Arabidopsis* sudah banyak diteliti, sehingga dapat digunakan sebagai acuan. Regulasi gen-gen pembungaan pada *Arabidopsis* dikelompokkan ke dalam *flowering time genes*, *meristem identity genes* dan *floral organ identity genes*. Kelompok *floral organ identity genes* pada *Arabidopsis* telah diketahui adalah gen *AP2*, *AP3*, *SEP*, *PI* dan *AG*. Gen-gen yang berperan pada pembentukan organ bunga *Arabidopsis* adalah gen *AP2* menginduksi sepal, gen *AP3* dan gen *PI* yang menginduksi pembentukan petal dan stamen, gen *SEP* menginduksi pembentukan petal, stamen dan karpel, sedangkan gen *AG* menginduksi pembentukan stamen dan karpel. Sejalan dengan penelitian pembungaan pada jati telah diperoleh data *transcriptome* jati yang berasal dari sekuen RNA total yang disolasi dari jaringan tunas vegetatif dan generatif. Pada jaringan ini telah berhasil diidentifikasi gen-gen *TgLFY*, *TgAPI* dan *TgTFL* yang termasuk kelompok *floral meristem identity genes* dan gen *TgAG* dari kelompok *floral organ identity genes*, sedangkan gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* belum diketahui perannya pada pembentukan organ bunga jati. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perkembangan perbungaan pada beberapa tahap pembentukan organ bunga jati, mengevaluasi ekspresi gen-gen dan mengelompokkan gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG* yang berperan pada beberapa stadium pembentukan organ bunga jati. Pengamatan perkembangan perbungaan pada stadium pembentukan organ bunga jati dilakukan dengan mengamati morfologi dan histologi pada tunas vegetatif apikal, tunas bunga apikal, tunas bunga lateral 2, tunas bunga lateral 4 dan kuntum bunga yang dipreparasi dengan metode paraffin. Evaluasi ekspresi gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*,

TgPI, *TgSEP* dan *TgAG* pada beberapa stadium pembentukan organ bunga jati, diawali dengan menentukan gen berdasarkan data *transcriptome* jati, mendesain primer gen, isolasi RNA, sintesis cDNA, analisis ekspresi gen-gen dengan pendekatan QRT-PCR dengan menggunakan *18S Ribosomal RNA* sebagai gen *reference*. Pengelompokan gen-gen berdasarkan ekspresi gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG* pada beberapa stadium pembentukan organ bunga jati dilakukan dengan pendekatan analisis *cluster* dengan metode Algoritma Ward's, kemudian hasil analisis ekspresi gen dianalisis korelasi Pearson menggunakan *software GenEx*. Selanjutnya hasilnya dikonfirmasi dengan *database* yang berkaitan dengan proses dan fungsi biologi pada *Arabidopsis* menggunakan *software genemania, g:profiler*. Setelah itu dilakukan pengelompokan gen-gen yang dikonfirmasi dengan model regulasi gen-gen pembungaan pada *Arabidopsis* berdasarkan (Blazquez, 2000). Hasil pengamatan histologi pada tunas vegetatif apikal terlihat adanya primordia daun yang ditutupi oleh tunas apikal. Pada tunas bunga apikal, tunas bunga lateral 2 dan tunas bunga lateral 4 sudah teramati adanya tunas bunga lateral percabangan yang masing-masing memiliki 3 anak tunas bunga lateral percabangan. Pada kuntum bunga, terlihat adanya tunas bunga lateral percabangan yang memiliki 3 anak tunas bunga lateral percabangan yang terlihat primordia sepal, primordia petal, primordia stamen dan primordia karpel. Hasil analisis ekspresi gen-gen pada tunas vegetatif apikal pada jati memperlihatkan gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG* telah diekspresikan dengan level ekspresi gen berbeda-beda jauh sebelum pembentukan organ bunga. Gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG* diekspresikan dengan level ekspresi gen berbeda-beda pada tunas bunga apikal, tunas bunga lateral 2, tunas bunga lateral 4. Pada kuntum bunga, gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG* diekspresikan dengan level ekspresi gen yang berbeda-beda dan diduga berhubungan dengan pembentukan primordia sepal, primordia petal, primordia stamen dan primordia karpel. Pengelompokan gen-gen berdasarkan ekspresi gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG* pada tunas vegetatif apikal, tunas bunga apikal, tunas bunga lateral 2 dan tunas bunga lateral 4 diduga berhubungan dengan perkembangan perbungaan jati, sedangkan pengelompokan gen-gen berdasarkan ekspresi gen-gen pada kuntum bunga jati, diduga berhubungan dengan pembentukan primordia sepal yang diekspresikan oleh gen *TgAP2* dan gen *TgAP3*, pembentukan primordia petal yang diekspresikan oleh gen-gen *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI* dan *TgSEP*, pembentukan primordia stamen yang diekspresikan oleh gen-gen *TgPI*, *TgSEP* dan *TgAG*, serta pembentukan primordia karpel yang diekspresikan oleh gen *TgSEP* dan gen *TgAG*.

Kata kunci: ekspresi gen, *floral organ identity genes*, *transcriptome*.

ABSTRACT

THE EXPRESSION OF *FLORAL ORGAN IDENTITY GENES*, *TgAP2, TgAP3, TgPI, TgSEP* AND *TgAG*, ON STAGE OF FLORAL ORGAN OF TEAK (*Tectona grandis L. f*)

By:

Eri Mustari

NIM : 30611025

(Doctoral Study Program of Biology)

Teak (*Tectona grandis* L.f.) is a timber producing plant of high economic value, due to its strength and durability properties. The flower formation of generative phase is the problem in timber production in teak because it can inhibit the timber development. Inhibition of the flowers formation can extend the vegetative period so can extend the period of wood formation. Genetic engineering in flowering regulation is one of the effort to delay flower formation. The study of expression of flowering genes is the starting point to engineer the phase of flower formation. Information on the regulation of flowering genes in teak is still limited. However, the regulation of flowering genes in *Arabidopsis* has been extensively studied, including into flowering time genes, meristem identity genes and floral organ identity genes. Floral organ identity genes in *Arabidopsis* are *AP2*, *AP3*, *SEP*, *PI* and *AG*. Floral organ identity genes such as *AP2* induce sepals, *AP3* and *PI* induces on petals and stamens, *SEP* induces on petals, stamens and carpels, while *AG* induces on stamen and carpel. Previous research has analyzed the transcriptome profiles in total RNA sequences of vegetative and generative buds in teak, and have identified are *TgLFY*, *TgAPI* and *TgTFL* genes on floral meristem identity genes and *TgAG* in floral organ identity genes, while are *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* genes have not known their role in the stage of floral organ of teak. The objective of the study was to study the development of floral organ in the flowering stage, evaluate the expression of genes and clustering *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* genes on stages of floral organ. Morphological and histological observations on apical vegetative buds, apical floral buds, 2th lateral floral buds, 4th lateral floral buds and floral buds by paraffin method. Evaluating the genes expression of *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* on stages of floral organs beginning to determinate genes from transcriptome, primer design, histology analysis, RNA isolation, cDNA synthesis, gene expression using QRT PCR using *18S Ribosomal RNA* as gene reference. The clustering of genes from the genes expression of *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* on stages of floral organs with cluster analysis using Ward's Algorithm method, Pearson correlation analysis using GenEx software, database confirmation of process and biological functions on *Arabidopsis* using genemania software g: profiler, and confirmation with the flowering genes regulation model in *Arabidopsis* based on Blazquez. The results of histologic observation on the apical vegetative buds of primordia by apical buds are as follows, in apical floral buds, 2th lateral floral buds and 4th lateral floral buds of flower branches, each of

which has three branching. Floral buds have branches that have three branches of inflorescence, and each branch of sepals of primordia, petals of primordia, stamens of primordia and carpels of primordia. The results of the expression analysis of genes on apical vegetative buds showed that *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* are expressed at different levels of gene expression on stage of floral organs. In apical floral buds, 2th lateral floral buds, 4th lateral floral buds, showed that *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* are expressed at different levels of gene expression on the development of branches. In floral buds, showed that *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* are expressed with different levels of gene expression to sepals of primordia, petals of primordia, stamens of primordia and carpels of primordia. The clustering of genes on the expression showed that *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG* on apical vegetative buds, apical floral buds, 2th lateral floral buds and 4th lateral floral buds are predicted to the branches of inflorescence, while the clustering of genes on the expression in floral buds are predicted to sepals of primordia expressed by *TgAP2* and *TgAP3*, petals of primordia expressed by *TgAP2*, *TgAP3*, *TgPI* and *TgSEP*, stamens of primordia expressed by *TgPI*, *TgSEP* and *TgAG*, carpels of primordia expressed by *TgSEP* and *TgAG*.

Keywords: genes expression, *floral organ identity*, *transcriptome*,