

PEMULIAAN TANAMAN UNTUK KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT DENGAN TEKNIK BIOTEKNOLOGI

PLANT BREEDING TO DISEASE RESISTANT WITH BIOTECHNOLOGY TECHNIQUE

Kristamtini

**Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta
Karangsari, Wedamartani, Ngemplak, Sleman PO. BOX 1013
Telp. (0274)884662, Fax (0274) 562935**

ABSTRACT

Conventional plant breeding for disease resistant have been conducted for quite a long time has some limitation because of limited field selection, require a long time to conduct, cross incompatibility, interspecific crossing. So to adopt a need a new technique to stimulate agricultural technology for disease resistant. This technique biotechnology were plant tissue culture to disease resistant (meristem culture, callus culture, cell culture), mutation isolated to disease resistant from cell culture, protoplast fusion, anther culture, embryo rescue and genetic engineering to disease resistant.

Key words: resistant to disease, plant breeding, biotechnology.

INTISARI

Pemuliaan tanaman untuk mendapat tanaman tahan terhadap penyakit secara konvensional telah banyak dilakukan dan memberikan hasil. Namun semakin lama teknik tersebut mendapat banyak tekanan karena semakin terbatasnya lahan seleksi, waktu yang relatif lama, kesulitan mengatasi kendala alamiah, seperti inkompatibilitas dan persilangan kerabat jauh. Oleh karena itu diperlukan terobosan yang dapat memberikan harapan bagi masa depan bidang pertanian, yaitu dengan teknik bioteknologi untuk mendapat tanaman tahan penyakit. Teknik tersebut meliputi kultur jaringan tanaman tahan penyakit (kultur meristem, kultur jaringan kalus, kultur sel, isolasi mutan tahan penyakit dari kultur sel tanaman), fusi protoplasma, kultur anther, penyelamatan embrio, dan teknik rekayasa genetika untuk ketahanan terhadap penyakit.

Kata kunci: ketahanan terhadap penyakit, pemuliaan tanaman, bioteknologi

PENDAHULUAN

Penggunaan varietas unggul merupakan teknologi yang dapat diandalkan, tidak hanya dalam hal meningkatkan produksi pertanian, tetapi dampaknya juga meningkatkan pendapatan dan kesejahteraan petani. Varietas unggul pada umumnya

memiliki sifat yang menonjol dalam hal potensi hasil tinggi, tahan terhadap organisme pengganggu tertentu, dan memiliki keunggulan ekolokasi tertentu serta mempunyai sifat-sifat agronomis lainnya. Penggunaan varietas unggul tahan hama penyakit merupakan cara paling murah untuk menekan pengganggu tanaman, tanpa

kekhawatiran akan dampak negatif terhadap lingkungan.

Dalam rangka meningkatkan produksi pertanian, para pemulia tanaman senantiasa berusaha untuk mendapatkan varietas atau klon tahan terhadap penyakit yang dapat ditempuh dengan cara hibridisasi (persilangan) untuk memindahkan atau menggabungkan gen ketahanan terhadap penyakit, baik secara konvensional maupun inkonvensional.

Plasma nutfah merupakan sumber genetik utama yang dapat digunakan sebagai bahan tetua untuk proses hibridisasi, baik varietas komersial atau yang telah dibuang oleh pemulia atau tanaman liar sekerabat maupun tidak dan mungkin berasal dari organisme lain (misal dari bakteri dan virus). Hibridisasi secara konvensional pada spesies yang sama pada umumnya tidak mengalami kesulitan, tetapi pada spesies yang berbeda (antarspesies) umumnya mengalami kesulitan (kegagalan). Menurut Arangzeb(1992), kegagalan tersebut disebabkan adanya faktor sterilitas, gangguan sitoplasma, dan gangguan fisiologis. Gangguan fisiologis tersebut karena adanya inkompatibilitas.

Di samping kendala tersebut, hibridisasi secara konvensional semakin lama banyak mendapat tekanan karena terbatasnya lahan seleksi, waktu yang relatif lama, juga semakin kompleks dan sulitnya tujuan pemuliaan tanaman. Oleh karena itu semakin terasa diperlukannya teknik baru untuk mendapatkan varietas unggul tahan penyakit. Bioteknologi modern kini dipandang dapat memberikan harapan untuk melengkapi teknik pemuliaan konvensional. Dalam arti luas, bioteknologi dapat didefinisikan sebagai teknologi yang menggunakan organisme hidup atau bagian

dari organisme untuk menghasilkan atau memodifikasi produk tertentu serta untuk perbaikan/pemuliaan mikro organisme, tanaman atau hewan (Office of Technology Assessment/OTA-USA, 1988). Beberapa teknik bioteknologi yang dapat menunjang para pemulia tanaman untuk mendapatkan varietas tahan terhadap penyakit adalah kultur jaringan tumbuhan tahan penyakit (kultur meristem, kultur jaringan kalus, kultur sel), isolasi mutan tahan penyakit dari kultur sel tumbuhan, fusi protoplas, kultur anther, embrio rescue (penyelamatan embrio), dan teknik rekayasa genetika.

Kultur jaringan tanaman tahan terhadap penyakit. Pada dasarnya kultur jaringan merupakan teknik mengisolasi dan memelihara potongan jaringan atau bagian tanaman (eksplan) pada medium buatan yang tepat. Teknik kultur jaringan ini didasari oleh adanya teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden(1838) dan Schwann (1839) bahwa setiap sel yang menyusun satu individu secara tidak langsung memiliki informasi genetik yang sama, sehingga pada prinsipnya, setiap sel dari individu tanaman secara otonomik mempunyai kemampuan beregenerasi dan membentuk individu baru yang utuh.

Kultur jaringan yang semula ditujukan untuk mendapatkan tanaman secara besar-besaran dengan cara vegetatif, sekarang sudah berkembang pesat hingga dapat dipergunakan untuk keperluan lain (Soeryowinoto, 1985). Kultur jaringan memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan perbanyakan generatif dan vegetatif konvensional antara lain membentuk tanaman yang bebas hama penyakit, tidak tergantung pada waktu, iklim, dan musim, sehingga penanaman dapat dilaksanakan

setiap saat, tidak membutuhkan lahan yang luas, dan menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif pendek (Nurhadi, 1988). Berdasarkan bahan eksplan yang digunakan, ada beberapa teknik kultur jaringan untuk mendapatkan tanaman tahan penyakit, yaitu:

Kultur meristem. Jaringan meristem terdapat di bagian ujung (apeks) pucuk. Pada sel meristem ini tidak ditemukan partikel virus ataupun organisme patogen lainnya. Oleh karena itu, apabila sel meristem diregenerasikan maka tanaman baru yang diperoleh tidak mengandung virus dan penyakit. Kultur meristem ini telah banyak berhasil pada tanaman hortikultura seperti apel dan strawberry.

Kultur jaringan kalus (biakan kalus). Eksplan tanaman dapat membentuk kalus, yaitu massa sel yang tidak terdiferensiasi, selnya bersifat meristematik. Sel kalus dapat diregenerasikan menjadi tanaman utuh. Selama dalam kultur, kalus dapat diberi berbagai cekaman seperti herbisida, hama, penyakit atau yang lainnya. Perlakuan cekaman yang terus-menerus dapat menginduksi variasi genetika dan mutasi pada sel kalus dan menghasilkan lini kalus (*callus line*). Regenerasi sel somatik dari lini kalus yang telah diberi cekaman dapat menghasilkan tanaman baru yang berbeda sifat dengan asalnya. Variasi genetika yang ditimbulkan ini dikenal sebagai variasi somaklonal. Somaklonal yang dihasilkan dapat memiliki resistensi terhadap penyakit.

Dengan teknik kultur jaringan dengan memberi tekanan, tanaman yang muncul akan secara langsung tahan terhadap tekanan seleksi yang diberikan (Nickell dan Heins, 1978; Nickell, 1975; Chaleff, 1983).

Kultur sel. Kultur sel dapat diperoleh dari kalus atau langsung dari eksplan. Kultur sel dapat berupa sel tunggal atau gabungan beberapa sel (agregat). Sel tunggal biasanya dibiakkan dalam medium cair sehingga membentuk suspensi. Sel somatik dari kultur sel dapat diregenerasikan menjadi tanaman utuh melalui embriogenesis somatik. Oleh karena itu, kultur sel dapat dimanfaatkan untuk memproduksi bibit dalam jumlah besar. Widiyanto (1994) mengatakan bahwa seperti kultur kalus, sel somatik dalam kultur sel dapat diberi cekaman selama sub kultur dan menghasilkan lini sel (*cell line*). Induksi variasi genetika dan mutasi pada kultur sel lebih cepat dan efektif.

Isolasi mutan tahan penyakit dari kultur sel tanaman. Tanaman hasil regenerasi yang berasal dari kultur (kalus, jaringan sel atau protoplasma) sebagian besar ada yang tidak berguna atau bersifat mengganggu. Akan tetapi, tanaman dengan sifat yang kita inginkan dapat muncul. Misalnya, apabila tanaman yang berasal dari protoplasma daun varietas kentang yang rentan terhadap *Phytophthora infestans* dan *Alternaria solani*, beberapa di antaranya (5 dari 500) tahan terhadap *A. solani* dan beberapa (20 dari 800) tahan terhadap jamur *P. infestans*. Dengan cara yang sama dapat dihasilkan kultur jaringan tebu yang meningkat ketahanannya terhadap *Helminthosporium* dan *Ustilago* (Agrios, 1996).

Fusi protoplasma. Protoplasma adalah sel tanaman tanpa dinding sel (hanya membran plasma), sehingga manipulasi genetika dapat lebih mudah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, apabila sumber gen ketahanan terhadap penyakit berasal dari spesies yang berbeda (spesies liar) atau berkerabat jauh,

maka hibridisasi interspesifik secara konvensional akan mengalami kesulitan karena adanya inkompatibilitas, sehingga untuk mengatasi masalah tersebut dapat dilakukan dengan teknik fusi (penggabungan) protoplasma antara dua tanaman yang tidak sekerabat. Fusi protoplasma yang menunjukkan keberhasilannya dengan sumber ketahanan dari spesies tidak sekerabat adalah *Glycine canescens* (tahan terhadap penyakit) x *Glycine max* (kedelai) dan *Solanum brevidens* (tahan terhadap virus) x *Solanum tuberosum* (kentang) (Stafford dan Warren, 1991).

Melalui peleburan protoplasma (fusi protoplasma), peleburan nukleus dan sitoplasma dari dua protoplasma berbeda dapat terjadi dan menghasilkan heterokarion. Karena memiliki kemampuan totipotensi, protoplasma tanaman dapat diregenerasikan menjadi individu baru yang utuh. Fusi protoplasma dapat dilakukan dengan mikro injeksi atau elektrofusi protoplasma.

Kultur anther Kultur anther merupakan bagian dari kultur jaringan untuk memproduksi tanaman haploid dengan anther (kepala sari) sebagai eksplan. Menurut Gunawan (1987), terjadinya tanaman haploid secara spontan di alam, frekuensinya masih rendah (0,001 - 0,01 %).

Kultur anther merupakan teknik yang menunjang program pemuliaan tanaman dengan cara memperpendek siklus persilangan (hibridisasi) dan menghasilkan tanaman haploid ganda homozigot yang stabil. Namun demikian, teknik ini perlu diikuti teknik persilangan secara konvensional (persilangan antara dua tetua secara *in vivo* dengan salah satu tetua tahan terhadap penyakit). Selanjutnya F1 yang

diperoleh dilakukan proses silang balik (*back cross*) beberapa kali yang diikuti dengan seleksi. Dengan cara ini diperlukan waktu dan biaya yang tinggi (7-9 generasi).

Menurut Morrison dan Evans (1988), teknik kultur anther dalam pemuliaan tanaman merupakan salah satu cara untuk menggantikan proses silang balik, yang apabila dilaksanakan secara konvensional perlu waktu yang lama. Tanaman haploid hasil kultur anther apabila digandakan kromosomnya akan diperoleh tanaman haploid ganda yang bersifat homozigot fertil (Raina, 1989). Penggandaan kromosom ini dapat dilakukan melalui perlakuan colchisin. Kultur anther ini telah banyak yang berhasil, misalnya pada tanaman padi atau tembakau. Oleh karena itu tujuan untuk memperoleh varietas baru tahan penyakit akan lebih cepat tercapai.

Penyelamatan embrio. Kultur immature embrio (embrio belum matang) merupakan teknik bioteknologi yang dapat menunjang program pemuliaan untuk mendapatkan varietas tahan penyakit. Kultur immature embrio merupakan cara untuk mengatasi kendala persilangan kerabat jauh (interspesifik) yaitu karena adanya kendala inkompatibilitas. Hibridisasi interspesifik (antara dua varietas yang berbeda spesies atau kerabat jauh) untuk mendapatkan varietas tahan penyakit tertentu, misalnya *Hibiscus cannabinus* (varietas praktek) x *H. radiatus* (spesies liar tahan penyakit nematoda) atau *H. trilocularis* (spesies liar tahan penyakit busuk batang, mosaik daun) x *C. capsularis* (var. praktek produksi tinggi) akan mengalami sterilitas (kegagalan membentuk biji) pada F1. Menurut Ahmad (1992), ketidakberhasilan membentuk biji juga disebabkan oleh adanya hambatan pada

mekanisme pembuahan, sehingga terjadi keguguran embrio, meskipun embrio tersebut memiliki kemampuan untuk berkembang. Oleh karena itu untuk mengatasi masalah tersebut dilakukan dengan kultur immature embrio, artinya sebelum embrio tersebut mengalami keguguran perlu dilakukan penyelamatan yaitu dengan menanam embrio yang belum matang tersebut (mengisolasi dan memelihara) secara *in vitro*, sehingga dikenal dengan istilah penyelamatan embrio (*embryo rescue*).

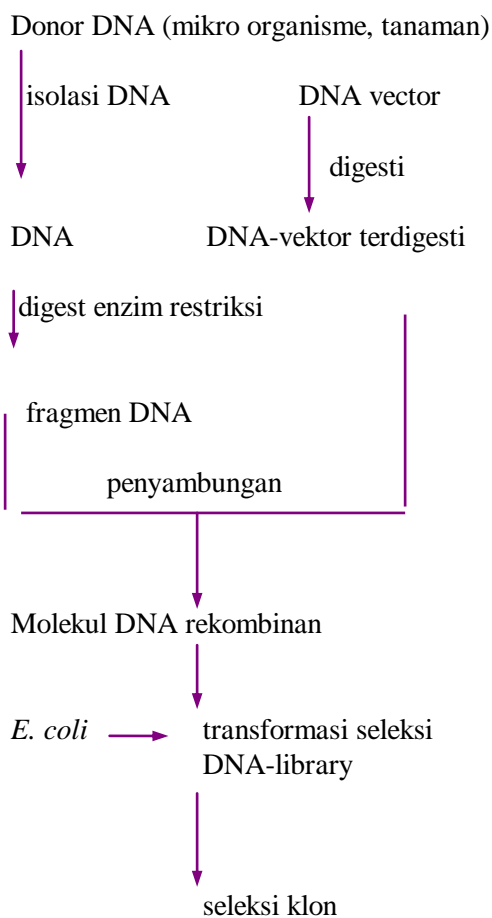
Rekayasa genetika. Teknik rekayasa genetika tanaman merupakan salah satu teknik bioteknologi modern yang digunakan para pemulia tanaman untuk mendapatkan varietas baru tahan terhadap penyakit. Rekayasa genetika tanaman dapat dikatakan sebagai usaha untuk memindahkan gen (DNA) tertentu dari satu spesies tanaman ke spesies tanaman yang lain (baik kerabat dekat maupun kerabat jauh), atau sumber gen tersebut dapat berasal dari organisme lain (seperti jamur, bakteri, dan virus), dan mengekspresikannya pada spesies penerima. Sifat tanaman penerima (disebut tanaman transgenik) menjadi berubah/bertambah sesuai dengan sifat yang dibawa oleh gen baru tadi dan tanaman penerima gen baru dikatakan mengalami transformasi.

Ada beberapa langkah penting dalam rekayasa genetika untuk ketahanan terhadap penyakit, yaitu:

Kloning gen. (1) Identifikasi dan isolasi gen yang menjadi target untuk dipindahkan, (2) Penempatan gen pada sistem vektor (plasmid) agar gen tersebut dapat diintroduksi atau dimasukkan ke dalam sel/protoplasma/jaringan tanaman penerima, dan (3) Ekspresi gen baru dalam

sel/protoplasma/jaringan penerima serta regenerasi dan pertumbuhan bagian tanaman menjadi tanaman transgenik

Transformasi gen ke tanaman. Penyisipan gen pada tanaman dilakukan melalui perantara bakteri *Agrobacterium*, yaitu dengan DNA-vektor turunan dari plasmid *Ti-Agrobacterium*. Proses transformasi gen dari *Agrobacterium* ke tanaman dapat melalui proses elektroporation, microinjection, particle bombardment, dan lain-lain (Potrykus, 1990) pada jaringan tanaman (kalus, protoplasma, daun, dan lain-lain).



↓
klon positif (+)

Kloning gen (Murdiyatmo dan Sugiyarta, 1993)

Proses-proses fisiologi sel. Di sini peran disiplin ilmu agronomi dan penyakit tanaman sangat diperlukan, misalnya untuk pertumbuhan, regenerasi hasil transformasi dari kultur jaringan, seleksi terhadap penyakit, baik di rumah kaca maupun di lapang.

Rekayasa genetika tanaman tahan penyakit karena virus. Serangan virus pada berbagai spesies tanaman dapat menyebabkan kerugian yang besar. Ada tiga cara pendekatan untuk mencegah serangan virus tersebut, yaitu menghilangkan sumber infeksi (misal dengan bibit bebas virus), mencegah penyebaran virus (dengan membasmi vektornya), dan menggunakan varietas tahan virus. Cara pendekatan terakhir mempunyai keunggulan, di antaranya ekonomis dan tidak menimbulkan masalah ekologi akibat penggunaan pestisida dan dipandang paling efektif untuk jangka panjang.

Dengan teknik rekayasa genetika dapat diperoleh varietas tahan terhadap virus. Ada beberapa bentuk ketahanan terhadap virus secara non konvensional, salah satunya adalah gen CP (*Coat Protein*) dari virus itu sendiri. Secara umum bentuk ketahanan ini dapat diperoleh melalui kloning gen CP dan menggunakannya untuk mentransformasi sel/protoplasma tanaman yang peka terhadap virus tersebut. Selanjutnya tanaman transgenik ini disebut

CP (+). Dengan metode ini untuk pertama kalinya Powel-Abel *et. al* (1986) melaporkan keberhasilannya merekayasa tanaman tembakau transgenik yang tahan terhadap TMV (*Tobacco Mozaic Virus*). Untuk menunjukkan ketahanan ini diperlukan ekspresi CP yang cukup tinggi dalam sel tanaman (Beachy, 1988).

Pada kondisi lapang, kemungkinan timbulnya gejala infeksi virus pada galur tanaman CP (+) adalah kecil. Hal ini karena pada saat uji ketahanan diperlukan konsentrasi inokulum sebesar 100 - 10.000 kali dibanding dengan kontrol (Beachy, 1990). Pada kebanyakan ketahanan penyakit, gen tertentu hanya dapat memberikan proteksi terhadap strain patogen tertentu. Ternyata tidak demikian pada gen CP. Seperti dilaporkan oleh Cuozzo *et al* (1988) bahwa gen CP dari CMV-strain D juga dapat melindungi tanaman tembakau terhadap infeksi CMV-strain C. Berdasarkan data dari Anderson *et al* (1989), proteksi silang terjadi jika urutan asam amino CP yang diproduksi oleh tanaman transgenik mempunyai tingkat homologi 82%, sedangkan pada tingkat homologi 40%, proteksi silang hampir tidak terjadi. Menurut Murry *et al* (1993), berdasarkan kisaran inang dan hubungan serologi, ada 55-60% homologi asam amino pada Coat Protein TMV (*Tobacco Mozaic Virus*) dan SMV (*Soybean Mozaic Virus*) sehingga proteksi silang dapat saling melindungi.

KESIMPULAN

1. Teknik bioteknologi merupakan teknologi modern yang dapat menunjang pemuliaan tanaman tahan penyakit secara konvensional. Teknik bioteknologi tersebut antara lain kultur jaringan

tumbuhan tahan terhadap penyakit (seperti kultur meristem, kultur jaringan kalus, kultur sel, isolasi mutan tahan penyakit dari kultur sel tanaman), fusi protoplasma, kultur anther, penyelamatan embrio (*embryo rescue*) dan teknik rekayasa genetika.

2. Kegiatan penelitian bioteknologi pertanian selain menjanjikan harapan yang jelas dan positif juga memerlukan dana besar serta waktu. Namun, jika karena tantangan dan kendala demikian kita mundur, maka kapan kita dapat membuat terobosan untuk dunia pertanian kita.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1996. *Ilmu Penyakit Tumbuhan. Edisi ketiga*. Terjemahan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ahmad, S. 1992. in Vitro Approaches to Interspecific Hybridisation and Chromosome Manipulation in Jute and Kenaf. *Proceeding of the IJO/BJRI Training Course on Specialized Techniques In Jute and Kenaf Breeding*, BJRI, Dhaka Bangladesh.
- Anderson, E.J., D.M. Stark, R.S. Nelson, N.E. Tuiner and R.N. Beachy. 1989. *Phytopathology*. 12 : 1284 - 1290.
- Arangzeb. 1992. *Genetic Changes in Morpho-Agronomic Characters in Relation to Breeding for Higher Yield and Quality*.
- Beachy, R.N. 1988. Dalam : D.P. Verma & R.B. Golberg (eds). *Plant Gene Research. Temporal & Spatial regulation of Plant Genes*. Springer-Verlag. pp. : 313-327.
- Beachy, R.N. 1990. Dalam : J.P. Guastafson (eds). *Gene Manipulation in Plant Improvement*. Plenum Press. pp. : 305-312.
- Chaleff, R.S. 1983. *Science*. 219 : 676-682.
- Cuzzo, M., K.M. Oconnel, W. Kaniewski. 1988. *Biotechnology*. 6 : 549 -557.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Morrison, R.A. and D.A. Evans. 1988. Haploid Plants from Tissue Cultures; New Plant Varieties in Shortened time frame. *Biotechnology*. 6 : 800 - 804.
- Murdiyatmo, U dan E. Sugiyarta. 1993. *Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman II di P3GI Pasuruan*. Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Tanaman Indonesia. Komda Jawa Timur.
- Nickell, L.G. 1975. *Science* 187 : 457 - 458.
- Nickell, L.G., D.J. Heins. 1978. In A.M. Sarb (eds). *Genes, Enzymes and Populations*. Plenum, New York.
- Nurhadi, E. 1988. *Potensi dan Prospek Kultur Jaringan di Bidang Pertanian*. Disampaikan dalam Seminar Sehari Kultur Jaringan Se-Jatim. Fak. Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- OTA-USA. 1988. *New Development in Biotechnology : Patenting Live*. Special

Report. Office of Technology Assessment,
Washington DC.

Potrykus, I. 1990. *Biotechnology*. 8 : 535 -
542.

Powel, P.A., R.S. Nelso, D.B.N. Holfmann.
1986. *Science*. 232 : 738 -743.

Soeryowinoto. 1985. *Budidaya Jaringan
dan Manfaatnya*. Lab. Biologi. Universitas
Gadjah Mada, Yogyakarta.

Widiyanto, S.N. 1994. *Peranan Kultur
Jaringan dalam Bioteknologi Pertanian*.
Disampaikan dalam Seminar Nasional
Sehari Prospek Bioteknologi Pertanian
dalam Agroindustri pada PJPT II. himpunan
Mahasiswa Jurusan Budidaya Universitas
Winaya Mukti.