

ISSN 1410-1939

# JURNAL AGRONOMI

Publikasi Nasional Ilmu Budidaya Pertanian  
Volume 8, Nomor 2, Juli - Desember 2004

Diterbitkan sejak tahun 1996 oleh Fakultas Pertanian Universitas Jambi

# JURNAL AGRONOMI

Publikasi Nasional Ilmu Budidaya Pertanian

Terbit dua kali setahun pada bulan Juni dan Desember, berisi tulisan yang diangkat dari hasil-hasil penelitian dan kajian analisis-kritis di bidang ilmu budidaya pertanian (teknologi benih, perbanyak tanaman, pemuliaan tanaman, perlindungan tanaman, produksi tanaman, panen dan pasca panen, bioteknologi tanaman, dan ilmu tanah). ISSN 1410-1939.

## Ketua Penyunting

Zulkarnain

## Wakil Ketua Penyunting

Sarman S.

## Penyunting Pelaksana

Bambang Irawan

Nerty Soverda

Wilma Yunita

Henny H.

Eliyanti

## Pelaksana Tata Usaha

Husda Marwan

Gusniwati

M. Zuhdi

---

**Alamat Penyunting Tata Usaha:** Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Kampus Pinang Masak, Mendalo Darat, Jambi 36361. Telp./Faks. (0741) 583051 atau (0741) 582781. Email: doktor\_zulkarnain@unja.ac.id

---

**JURNAL AGRONOMI** diterbitkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Jambi. **Dekan:** Zulkifli, **Pembantu Dekan I:** A. Rahman, **Pembantu Dekan II:** Sarman S., **Pembantu Dekan III:** Y.M.S. Rambe. Terbit pertama kali pada tahun 1996 dengan nama Buletin Agronomi Universitas Jambi.

---

Penyunting menerima sumbangan tulisan yang belum pernah diterbitkan pada media lain, baik cetak maupun elektronik. Naskah tulisan diketik di atas kertas HVS ukuran A4 spasi ganda, panjang tulisan 10 – 20 halaman dengan format seperti tercantum pada halaman kulit dalam-belakang (“Pedoman Penulisan”). Naskah yang masuk akan dievaluasi dan disunting untuk keseragaman format, istilah dan tata cara lainnya tanpa mengubah isi tulisan. Kontribusi penulisan sebesar Rp100.000,00 bagi pelanggan dan Rp150.000,00 bagi bukan pelanggan untuk setiap artikel yang dimuat, dan dapat dibayar setelah ada pemberitahuan pemuatan tulisan. Penulis yang artikelnya dimuat akan mendapatkan lima eksemplar cetak lepas dan satu eksemplar nomor bukti pemuatan. Artikel yang tidak dimuat *tidak akan dikembalikan*.

---

Harga berlangganan (sudah termasuk ongkos kirim): Rp30.000,00 per tahun, Rp55.000,00 per dua tahun atau Rp80.000,00 per tiga tahun untuk dua nomor penerbitan setiap tahun.

---

# JURNAL AGRONOMI

Publikasi Nasional Ilmu Budidaya Pertanian

Volume 8, Nomor 2, Juli - Desember 2004

## Daftar Isi

|  |           |
|--|-----------|
| Multiplikasi <i>In Vitro</i> Tunas Bawang Merah ( <i>Allium ascalonicum</i> L.) pada Berbagai Taraf Konsentrasi Air Kelapa<br><b>Djoko Pitoyo Budiono</b>                      | 75 - 80   |
| Pengaruh BAP terhadap Pertumbuhan Jahe Emprit ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc. var. <i>amarun</i> ) dalam Kultur <i>In Vitro</i><br><b>Dodo Rusnanda Sastra dan Neliyati</b> | 81 - 85   |
| Keragaman Genetik Galur-galur S <sub>1</sub> Jagung Kultivar Bisma pada Lingkungan Populasi Jarang<br><b>Edwar Canto</b>   | 87 - 93   |
| Pengaruh Metoda Penyimpanan terhadap Viabilitas dan Vigor Benih Kedelai<br><b>Rinaldi</b>  | 95 - 98   |
| Kemampuan Adaptasi Tanaman Kedelai terhadap Kekeringan pada Tanah dengan Tekstur Berbeda<br><b>Arsyad A. R.</b>  | 99 - 103  |
| Adaptasi Tanaman Padi Gogo terhadap Naungan<br><b>Nerty Soverda</b>  | 105 - 110 |
| Pengaruh Olah Tanah Konservasi dan Pola Tanam terhadap Sifat Fisika Tanah Ultisol dan Hasil Jagung<br><b>Arsyad A. R.</b>  | 111 - 116 |
| Studi Biologi Tanah dalam Penerapan Beberapa Teknik Pengolahan Tanah dan Sistem Pertanaman pada Ultisol<br><b>Margarettha</b>  | 117 - 120 |
| Pengaruh Mikoriza dan Kapur Super Fosfat terhadap Ketersediaan P Tanah, Serapan P Tanaman dan Hasil Jagung pada Ultisol<br><b>Itang Ahmad Mahbub</b>                           | 121 - 124 |
| Peranan Bioteknologi dalam Menunjang Program Pemuliaan Tanaman<br><b>Zulkarnain</b>  | 125 - 131 |
| Indeks Pengarang dan Judul   |           |
| Pedoman Penulisan  |           |

## PERANAN BIOTEKNOLOGI DALAM MENUNJANG PROGRAM PEMULIAAN TANAMAN

### [THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY IN SUPPORTING PLANT BREEDING PROGRAMME]

Zulkarnain<sup>1</sup>

#### Abstract

Increasing agricultural productivity by environmental manipulations is subjected to limited availability and support of natural resources. Biotechnology, therefore, offers a new approach to increase and maintain the sustainability of plant productivity through the utilization of biological systems within microorganism, animal and plant cells. A number of experimental success proved that biotechnology has a bright future and may serve as a complement for existing conventional plant breeding. Some of new development in plant breeding involving biotechnology have been the induction of haploid and doubled-haploid plants, protoplast fusion of two different genotype or even genera, the use of somaclonal variation as a source of genetic variation, *in vitro* mutagenesis using chemicals and physical mutagens, and the introduction of foreign gene into plant individual that is recognized as molecular breeding. All these will end up to the creation of plants with desired characteristics, such as resistant to pest/disease, tolerant to environmental stress, high quantity and quality of yield, etc. Despite of its advantages, however, plant biotechnology is associated with problems regarding scientific ethic, ecosystem stability, as well as misuse of the technology.

*Key words: haploid, hybridization, mutagenesis, protoplast fusion.*

*Kata kunci: haploid, hibridisasi, mutagenesis, fusi protoplas.*

#### PENDAHULUAN

Tindak budidaya pertanian yang dimulai pada kira-kira 10.000 tahun yang lalu merupakan titik penting bagi dimulainya peradaban manusia. Perbaikan teknologi dan upaya peningkatan produktifitas tanaman yang dilakukan secara terus-menerus dan berkesinambungan telah berpengaruh pada peningkatan peradaban manusia. Peningkatan produksi tanaman, terutama tanaman sereal, selama kurun waktu 50 tahun terakhir yang berujung pada "revolusi hijau" pada tahun 1960-an hingga 1970-an, merupakan cermin prestasi di bidang pemuliaan tanaman yang patut dicatat dalam sejarah pertanian.

Dalam satu abad terakhir jumlah penduduk dunia telah meningkat secara eksponensial dan diperkirakan mencapai angka 8,3 milyar menjelang tahun 2025, sebelum (*mudah-mudahan*) menjadi stabil pada angka 11 milyar pada akhir abad ke-21 (Borlaug, 2002).

Dengan makin bertambahnya jumlah penduduk, kebutuhan lahan untuk pemukiman dan aktifitas industri juga meningkat, sehingga memaksa manusia berusaha tani pada lahan-lahan marjinal. Di lain pihak, kebutuhan akan bahan sandang dan pangan harus dapat dipenuhi melalui peningkatan hasil panen. Menurut Borlaug (2002), untuk memenuhi kebutuhan pangan bagi penduduk dunia yang diproyeksikan terus meningkat ini, produksi rata-rata tanaman sereal harus meningkat 80 persen antara sekarang hingga tahun 2025.

Harus diingat bahwa peningkatan produksi pertanian melalui manipulasi lingkungan dihadapkan pada keterbatasan daya dukung alam. Salah satu upaya untuk memperbaiki dan mempertahankan produktifitas tanaman pada tingkat yang berkesinambungan adalah melalui eksploitasi bioteknologi. Sesungguhnya sasaran utama bioteknologi adalah peningkatan hasil (*biomass*) sambil tetap memelihara ekosistem yang stabil.

<sup>1</sup> Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jambi  
Kampus Pinang Masak, Mendalo Darat, Jambi 36361  
Telp./Fax: (0741) 582781  
Email: doktor\_zulkarnain@unja.ac.id

Bioteknologi tanaman dan pemuliaan molekuler telah memperlihatkan keampuhannya dalam meningkatkan produktifitas tanaman pertanian. Teknologi ini akan terus memberikan sumbangsih nyata pada usaha penciptaan tanaman dengan sifat-sifat unggul (*novel traits*), yang tadinya sulit atau bahkan mustahil dikembangkan melalui pemuliaan tanaman secara konvensional.

### TEKNOLOGI HAPLOID

Teknologi haploid menawarkan keunggulan yang tidak dijumpai pada teknik pemuliaan tanaman secara konvensional. Dengan teknologi ini akan dapat dikembangkan tanaman-tanaman homozigous hanya dalam kurun waktu satu generasi. Sedangkan dengan teknologi konvensional, tanaman homozigous baru dapat dihasilkan setelah melalui proses seleksi hingga 5 atau 6 generasi (Taji *et al.*, 2002). Sejumlah sifat-sifat unggul, a.l. toleransi terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti kekeringan, suhu rendah, hara rendah atau pun kandungan logam berat yang tinggi di dalam tanah merupakan karakter resesif yang dapat dideteksi secara dini pada tanaman haploid. Selain itu, permasalahan yang berkaitan dengan silang luar dan inkompatibilitas sendiri (*self incompatibility*) dapat pula diatasi dengan pemanfaatan teknologi haploid.

Tanaman haploid dapat diregenerasikan lewat embryogenesis mikrospora, baik melalui kultur anter mau pun kultur mikrospora. Tanaman haploid tidak memiliki pasangan kromosom yang homolog, sehingga pada saat meiosis berlangsung kromosom-kromosomnya tidak berpasangan-pasangan seperti halnya pada tanaman normal (diploid). Melalui teknik *in vitro* tanaman haploid dapat diregenerasikan secara langsung dari gamet jantan mau pun betina tanpa melalui proses pembuahan. Akan tetapi berbeda dengan tanaman normal (diploid), individu-individu haploid bersifat steril. Apabila komplemen kromosomnya digandakan secara buatan, misalnya menggunakan kolkisin atau oryzalin (Zulkarnain, 2004a; 2004b), maka tanaman tersebut akan menjadi doubled-haploid. Sebagaimana dengan induk haploid yang homozigous, tanaman doubled-haploid juga bersifat homozigous. Bedanya adalah tanaman doubled-haploid bersifat fertil sehingga bisa diperbanyak secara seksual.

Seperti halnya dengan teknologi haploid, keunggulan utama teknik doubled-haploid adalah mampu menghasilkan galur murni dalam kurun waktu

satu generasi, sekali pun berasal dari induk yang heterozigous (Bayliss *et al.*, 2002). Hal ini nyata mempersingkat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan populasi tanaman guna studi genetik atau pun untuk tujuan seleksi, dan varietas tanaman baru akan dapat dilepas beberapa tahun lebih awal bila dibandingkan dengan metoda pemuliaan konvensional.

Produksi tanaman haploid mau pun doubled-haploid telah berhasil dilakukan pada spesies tanaman sereal seperti padi (Lentini *et al.*, 1995; Aryan, 2002), gandum (Touraev *et al.*, 1996) dan barley (Broughton *et al.*, 2002). Teknologi ini juga telah berhasil diterapkan pada tanaman-tanaman pertanian penting lain seperti canola (Lichter, 1982), bunga matahari (Coumans dan Zhong, 1995) dan apel (Höfer *et al.*, 1999).

### HIBRIDISASI SOMATIK VIA TEKNOLOGI PROTOPLAS

Salah satu ciri yang paling menonjol dari sel-sel tanaman adalah terdapatnya dinding sel yang tebal dan relatif keras. Dinding sel ini berfungsi memberikan dukungan mekanis kepada sel-sel dan berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap berbagai kerusakan fisik dan serangan patogen. Diperkirakan dinding sel juga memainkan peranan penting dalam komunikasi seluler.

Namun demikian, keberadaan dinding sel juga adakalanya menimbulkan masalah, yang salah satu di antaranya adalah menghalangi akses langsung ke membran sel sehingga menghambat berbagai upaya manipulasi. Sebagai akibatnya, penelitian mengenai fungsi membran melalui pemanfaatan *probe* molekuler tidak mungkin dilakukan pada sel tanaman.

Manipulasi bioteknologi, seperti fusi sel dengan sel, juga menjadi terhalang akibat adanya dinding sel. Masalah lain yang muncul akibat kehadiran dinding sel adalah sulitnya mendapatkan sel-sel tunggal. Hal ini dikarenakan komponen penyusun dinding sel dan polimer-polimer secara efektif merekatkan sel yang satu dengan sel yang lain, sehingga sulit dipisahkan. Oleh karenanya, kloning atau seleksi sel tunggal terhadap tipe-tipe sel yang spesifik pada tanaman sulit dilakukan.

Pada tahun 1960, E.C. Cocking membuat terobosan penting dalam teknologi protoplas. Dari penelitiannya ditemukan bahwa enzim-enzim penghancur selulosa mampu melarutkan dinding sel sehingga didapatkan protoplas yang sekalipun mudah pecah namun memiliki viabilitas yang tinggi. Sejak keberhasilan isolasi protoplas ini,

teknik isolasi menggunakan enzim maju pesat. Pada tahun 1960-an, dengan menggunakan komposisi nutrisi yang tepat, protoplas berhasil diinduksi untuk membelah diri. Penelitian di bidang ini mencapai puncaknya pada tahun 1972, yakni dengan keberhasilan meregenerasikan tanaman lengkap (Carlson *et al.*, 1972). Temuan ini memiliki arti yang sangat penting bagi bioteknologi tanaman, karena terbukti bahwa spesies tanaman dengan karakteristik yang “lebih baik dan sesuai keinginan” pada prinsipnya dapat diproduksi dari satu protoplas setelah melalui proses seleksi dan manipulasi yang sesuai.

Dengan demikian, protoplas nampaknya menawarkan materi eksperimen yang ideal untuk berbagai penelitian biologi dan bioteknologi sel tanaman. Selama lebih dari 30 tahun penelitian terhadap protoplas telah menuntun kita kepada suatu pandangan realistis mengenai kelebihan dan kekurangan protoplas. Sejumlah kemajuan yang cukup berarti telah dicapai, sementara beberapa bidang yang awalnya cukup menjanjikan, hingga kini masih tetap menyimpan tanda tanya. Namun demikian, kebanyakan pakar sepakat bahwa protoplas memainkan peranan penting dalam investigasi biologi sel-sel tanaman, serta bermanfaat dalam bioteknologi dan pemuliaan tanaman.

#### **Manfaat teknologi protoplas**

Beberapa manfaat teknologi protoplas adalah sebagai berikut:

Dua atau lebih protoplas dapat berdifusi dan menghasilkan hibrid sel (*cybrid*) yang selanjutnya diinduksi menjadi hibrid tanaman. Meskipun fenomena ini telah sering dijumpai, namun pada sejumlah spesies fusi protoplas sangat sulit dilakukan atau bahkan mustahil dilakukan. Dalam kondisi di mana hibrid tidak dapat diperoleh melalui persilangan konvensional, maka fusi sel-sel somatik merupakan jalan keluar yang dapat ditempuh.

Setelah dinding sel dibuang, protoplas mampu menelan benda-benda asing ke dalam sitoplasma melalui proses yang mirip dengan *endocytosis* (seperti halnya pada amuba). Dalam skala eksperimen, fenomena ini telah dimanfaatkan dan sejumlah kemajuan telah dicapai, seperti mengintroduksi inti, kloroplas, mitokondria, DNA, plasmid, bakteri, virus dan lain sebagainya ke dalam protoplas suatu jenis tanaman tertentu.

Protoplas yang dikulturkan dengan segera meregenerasikan dinding sel yang baru, sehingga terbuka peluang untuk mempelajari biosintesis dan deposisi dinding sel.

#### **Manfaat fusi protoplas dan hibridisasi somatik**

Hibridisasi somatik membuka peluang untuk menciptakan hibrid tanaman yang tidak mungkin diperoleh melalui persilangan biasa (sebagai akibat adanya halangan taksonomi atau seksual). Sebagai contoh adalah hibridisasi somatik antara *Solanum tuberosum* (tanaman yang membentuk umbi, namun kurang resisten terhadap serangan penyakit) dengan *Solanum brevidens* (tanaman tidak membentuk umbi, namun tahan terhadap serangan penyakit). Dikarenakan adanya inkompatibilitas seksual, hibridisasi antara kedua tanaman ini secara *in vivo* mustahil dilakukan.

Namun demikian, penting untuk dicatat bahwa meskipun secara teoritis kita dapat menghasilkan hibrida-hibrida somatik dari spesies-spesies yang tidak memiliki hubungan kekerabatan dan tidak kompatibel satu sama lain melalui fusi protoplas, bentuk hibridisasi ini sedapat mungkin dihindari karena hasil yang diperoleh biasanya tidak stabil. Hibridisasi somatik dapat digunakan sebagai teknologi alternatif pengganti perlakuan kolkisin untuk mendapatkan tanaman tetraploid.

#### **Potensi fusi protoplas secara umum**

Teknologi fusi protoplas berpotensi memperbaiki sifat-sifat genetik dari tanaman-tanaman yang memiliki arti penting secara ekonomi. Akan tetapi hal ini tidaklah berarti bahwa fusi protoplas akan menggantikan teknik pemuliaan secara konvensional, namun lebih tepat bila dikatakan sebagai pelengkap program pemuliaan tanaman. Hambatan yang utama adalah sulitnya meregenerasikan produk fusi dan seringkali tanaman yang dihasilkan memiliki tingkat fertilitas yang rendah.

Fusi protoplas memiliki potensi penerapan yang besar dalam pemuliaan tanaman. Akan tetapi hibridisasi somatik sangat bermanfaat bila diterapkan untuk mengatasi inkompatibilitas seksual. Beberapa tipe inkompatibilitas tertentu dapat diatasi dengan cara lain secara lebih cepat. Misalnya beberapa hasil persilangan secara seksual mengalami gugur embrio (*embryo abortion*) sebelum menghasilkan biji fertil yang matang. Masalah ini dapat diatasi dengan teknik penyelamatan embrio (*embryo rescue*).

Isolasi dan fusi protoplas akan mendapat tempat bilamana kita tertarik pada kultur sel dan memanfaatkan produk dari sel-sel tersebut untuk bidang farmasi, atau menghasilkan produk yang berkaitan dengan obat-obatan atau bahan makanan. Dalam situasi seperti ini, regenerasi tanaman hasil fusi tidaklah menjadi target utama. Misalnya pada fusi protoplas *Euphorbia millii* (yang memproduksi zat pewarna, antosianin) dengan

protoplas *Coptis japonica* (yang memproduksi senyawa farmasi, berberin), menghasilkan sel-sel yang mampu memproduksi kedua senyawa tersebut, yang selanjutnya ditumbuhkan secara komersial di dalam bioreaktor. Selain itu protoplas dapat dimanfaatkan dalam transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium* atau melalui elektroporasi atau melalui injeksi mikro.

Dewasa ini fusi protoplas dan manipulasi gen merupakan keahlian yang saling melengkapi. Akan tetapi implementasinya yang efektif masih menantikan pemahaman kita yang lebih mendalam mengenai teknik-teknik beserta sifat-sifat yang ingin dimanipulasi.

### SELEKSI KERAGAMAN ALAMI DI DALAM KULTUR

Konsep awal mikropropagasi adalah bahwa semua tanaman yang diregenerasikan dari jaringan somatik secara genetik akan identik dengan tanaman donor dan tidak ada keragaman yang muncul. Oleh karenanya, bilamana terjadi keragaman di antara tanaman yang diregenerasikan biasanya disebut sebagai “pengaruh kultur jaringan” atau “pengaruh zat pengatur tumbuh”. Larkin dan Scowcroft (1981) mengemukakan istilah “keragaman somaklonal” untuk menjelaskan keragaman fenotipe yang timbul dari proses mikropropagasi.

Keragaman somaklonal memiliki potensi sebagai sumber keragaman untuk pemuliaan tanaman semusim yang diperbanyak secara aseksual, misalnya tanaman pisang. Keragaman somaklonal dapat muncul sebagai akibat-akibat fisiologis (misalnya tanaman terlalu lama dihadapkan pada 2,4-D), faktor biokimia atau bahkan oleh faktor genetik tanaman. Faktor-faktor biokimia atau genetik tanaman yang menyebabkan keragaman somaklonal dapat diekspresikan oleh keragaman genetik di dalam populasi sel (sifat polisomatik) pada eksplan yang dikulturkan. Oleh karenanya, bila tanaman diregenerasikan dari populasi sel yang demikian, akan terdapat dua atau lebih varian di antara tanaman-tanaman yang diregenerasikan (Jayasankar, 2000). Juga, *in vitro* dapat menyebabkan terjadinya perubahan status metilasi pada sitosin di dalam DNA genom, sehingga menimbulkan keragaman epigenetik pada tanaman-tanaman yang diregenerasikan.

Contoh keberhasilan awal seleksi keragaman dari kultur sel adalah isolasi galur-galur sel pengakumulasi triptopan pada wortel dan tembakau pada tahun 1972, serta regenerasi tanaman yang

resisten terhadap streptomisin (SR1) dari kultur kalus tembakau pada tahun 1973 (Dix, 1994; Jayasankar, 2000). Galur tembakau SR1 merupakan temuan pertama dari galur hasil seleksi *in vitro* yang memiliki fenotipe resistensi terhadap streptomisin yang dapat diturunkan melalui perbanyakan secara seksual (Maliga *et al.*, 1973). Sifat resistensi tersebut disebabkan oleh substitusi berbasis tunggal pada gen 16SrRNA pada DNA kloroplas pada tanaman varian (anak).

Seleksi varian pada kultur sel dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan, yaitu:

Seleksi positif: dapat dilakukan dengan memperlakukan populasi sel di dalam kultur (sebaiknya kultur suspensi sel atau kultur protoplas) dengan dosis subletal dari racun atau metabolit tertentu. Sel-sel yang tumbuh normal dipilih, sementara sel-sel tipe liar (*wild type*) tumbuhnya tidak normal akan tertekan pada kondisi ini.

Seleksi negatif: dilakukan dengan menggunakan agen-agen penekan seleksi (*counter selective*) guna membunuh sel-sel tipe liar dan membiarkan pertumbuhan sel-sel resisten atau auksotrop. Seleksi terhadap sel-sel fotoautotrop dari kultur kalus atau kultur sel yang heterotrop dengan mengeluarkan sukrosa dari dalam medium kultur dapat dikelompokkan ke dalam kategori ini.

Strategi seleksi yang lain termasuk secara visual (berdasarkan perbedaan pada pigmentasi atau tipe pertumbuhan - kalus remah v.s. kalus kompak), atau kepekaan terhadap suhu pada tanaman anak, dan strategi untuk menseleksi galur-galur tembakau yang resisten terhadap penyakit virus.

### MUTAGENESIS *IN VITRO*

Eksresi “mutagenesis *in vitro*” telah dimanfaatkan dalam beberapa bidang, seperti kultur jaringan dan biologi molekuler. Adapun yang dimaksud dengan mutagenesis *in vitro* adalah induksi mutasi pada kultur sel secara *in vitro* dengan memanfaatkan mutagen kimiawi atau pun fisika, dilanjutkan dengan pemeliharaan sel-sel mutan dan/atau regenerasi tanaman mutan. Sementara itu, yang dimaksud dengan biologi molekuler adalah induksi mutasi pada gen-gen yang diisolasi dan reintroduksi gen-gen yang telah mengalami mutasi tersebut ke dalam suatu sistem ekspresi (dalam hal ini adalah tanaman). Dengan menggunakan strategi ini para pakar biologi molekuler dapat mempelajari domain fungsi dari gen. Sebagai contoh, dengan menggunakan mutagenesis *in vitro* para pakar telah membuktikan bahwa ETR1, yaitu

sejenis protein pengikat etilen pada *Arabidopsis*, mengikat hormon etilen dari udara (Rodriguez *et al.*, 1999).

Di alam, mutasi berlangsung dengan laju yang sangat rendah, yaitu kira-kira 1 di antara 10 juta sel di dalam kultur jaringan. Oleh karenanya, untuk mengisolasi mutan yang dengan sifat yang dikehendaki, akan lebih efisien bila laju mutasi yang tinggi terlebih dahulu diinduksi dengan menggunakan mutagen kimiawi maupun fisika. Mutasi buatan (sebagaimana halnya dengan mutasi yang terjadi secara alamiah) sangat besar manfaatnya bagi pemuliaan tanaman, baik secara langsung untuk memperbaiki sifat-sifat tertentu atau pun secara tidak langsung untuk pemuliaan tanaman (Negrutiu, 1990). Sel-sel telah membentuk satu set protein kompleks untuk mengimbangi kerusakan DNA. Sel-sel tersebut dapat memperbaiki dan memelihara integritas DNA, sehingga membuat mutasi alami jarang terjadi. Oleh karenanya, prinsip mutagenesis *in vitro* adalah membuat rancangan untuk menginduksi lesi (kerusakan) DNA di dalam populasi sel tertentu secara *in vitro* dan membiarkan sel-sel tersebut membelah dan memperbanyak diri dengan cepat sehingga mekanisme pemulihannya hanya menimbulkan kesalahan yang kecil pada sekuens nukleotida DNA. Sebagai hasilnya, populasi sel terpilih akan mengalami mutasi pada gen-gen yang spesifik, dan bila tanaman berhasil diregenerasikan dari sel-sel seperti itu akan diperoleh galur tanaman mutan.

Salah satu pemanfaatan pendekatan ini adalah seleksi mutan yang resisten. Seleksi mutan resisten didasarkan pada prinsip seleksi *survivor* (sel yang tahan) di dalam populasi sel yang besar yang diberi perlakuan mutagen atau racun (terhadap apa tanaman menjadi resisten). Perlakuan mutagen akan menginduksi mutasi acak di dalam genom, yang salah satu di antaranya kemungkinan adalah resistensi terhadap racun yang juga terdapat di dalam medium seleksi. Dengan mengkulturkan sel-sel yang mengalami mutasi, akan diperoleh tanaman-tanaman yang resisten terhadap racun atau patogen yang memproduksi racun tersebut.

Pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, isolasi *sports* (yaitu mutan yang terdapat secara alamiah) dan menjadikannya sebagai varietas baru adalah metoda yang telah terbukti berhasil. Cara ini merupakan satu-satunya metoda untuk mendapatkan varietas tanaman unggul pada spesies yang diperbanyak secara vegetatif, seperti mawar, apel, kentang, dan lain-lain. Diperkirakan sebanyak 35% dari 14.450 jenis mawar, 25% apel dan 45% kentang yang diusahakan di Amerika berasal dari

*sports* (Donnini dan Sonnino, 1998). Aplikasi mutagenesis *in vitro* memiliki potensi yang besar untuk meningkatkan ketersediaan keragaman genetik pada tahun-tahun mendatang. Menjelang tahun 2000 lebih dari 2.200 varietas tanaman mutan (kebanyakan tanaman hias) telah dilepas di seluruh dunia (Statistik FAO/IAEA), termasuk 175 spesies tanaman pertanian dengan varietas mutan hasil induksi (Maluszynski *et al.*, 2000).

Mutagen dapat menimbulkan berbagai bentuk kerusakan DNA, seperti kehilangan atau pun duplikasi nukleotida, atau penyusunan ulang (inversi, translokasi) segmen DNA di dalam kromosom. Kehilangan atau substitusi berbasis pasangan (misalnya tiga basis *codon* di dalam satu gen) tidak akan menimbulkan mutasi sehingga tidak akan merubah fenotipe tanaman.

## PEMULIAAN MOLEKULER

“Pemuliaan Molekuler” adalah istilah umum yang digunakan untuk menggambarkan pengembangan dan aplikasi teknologi genetika molekuler dalam mengintroduksi sifat-sifat baru yang dikehendaki dalam program pemuliaan tanaman (Karp *et al.*, 1998).

Sebelum abad ke-19, seleksi dan pemuliaan tanaman merupakan proses yang berjalan secara pasif. Pada mulanya pemuliaan tanaman hanya berdasarkan seleksi alam. Pada akhir abad ke-19, mulai dilakukan persilangan buatan untuk mendapatkan tanaman dengan sifat-sifat yang diinginkan. Setelah temuan Mendel pada awal tahun 1900-an, program pemuliaan tanaman mulai berjalan secara aktif. Kebanyakan aplikasi dari teori Mendel ini merupakan program yang memakan waktu yang lama, yang dapat mencapai dua belas siklus persilangan. Ini merupakan proses seleksi yang menghabiskan waktu beberapa tahun sebelum varietas dan hibrid baru dilepas. Pada tahun 1960-an, dengan dilepasnya beberapa varietas unggul tanaman sereal, yang merupakan basis dari “revolusi hijau”, para pakar pemuliaan tanaman mulai menyadari betapa besarnya potensi hibridisasi. Tidak diragukan lagi, hal ini telah memberikan kontribusi yang sangat besar dalam upaya memenuhi kekurangan pangan dunia.

Prinsip dasar dari pemuliaan tanaman adalah introduksi gen-gen pembawa sifat yang dikehendaki, yang berasal dari kerabat jauh dari spesies liar, ke dalam kromosom tanaman pertanian. Meskipun tidak selangsung teknik rekayasa genetik modern, bentuk pemuliaan selektif ini juga merupakan upaya memanipulasi



sifat-sifat genetik tanaman pertanian. Pada tahun 1980-an, metoda transfer gen yang dimediasi oleh *Agrobacterium* untuk mendapatkan tanaman transgenik telah semakin sempurna. Isolasi gen-gen penting yang memiliki nilai agronomis dan transformasi kultivar dengan gen-gen baru menghasilkan varietas-varietas tanaman transgenik yang lebih baik (terkenal dengan sebutan "genetically modified organism" atau GMO), yang hingga kini masih menjadi bahan perdebatan.

Teknologi penanda molekuler (*molecular marker*) sangat memacu perkembangan pemuliaan tanaman. Sumber gen-gen yang akan dijadikan sebagai bahan untuk perbaikan mutu tanaman tidak lagi menjadi faktor pembatas. Dengan peralatan modern, gen-gen dapat diintroduksi ke dalam tanaman dari organisme apapun. Dengan dikombinasikan dengan teknik biologi molekuler untuk kloning gen, kemampuan mengidentifikasi gen-gen yang membawa sifat tertentu (seperti ketahanan terhadap hama dan penyakit) telah membuka dimensi baru bagi pemuliaan tanaman.

## PENUTUP

Sejumlah teknologi canggih kini telah hadir untuk memacu perkembangan pemuliaan tanaman, yang tujuan akhirnya adalah mempercepat proses penciptaan kultivar atau hibrid baru yang memiliki sifat-sifat unggul sesuai keinginan, terutama pada tanaman pangan serealia.

Teknologi haploid menawarkan produksi tanaman dengan berbagai keunggulan, seperti resistensi terhadap hama dan penyakit serta toleransi terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, melalui induksi regenerasi tanaman haploid dan doubled-haploid. Teknologi protoplas menawarkan peluang untuk melakukan hibridisasi, tidak hanya intra spesies tetapi juga antar spesies di dalam satu genus atau bahkan antar spesies dari genera yang berbeda, pada tingkat organisasi makhluk hidup yang paling sederhana yaitu sel. Hal ini dimungkinkan berkat tersedianya teknologi eliminasi dinding sel sehingga membuka peluang bagi berkembangnya teknologi fusi protoplas dengan pesat. Melalui mutagenesis *in vitro*, seleksi massa tidak lagi dilakukan terhadap populasi tanaman di lapang atau di rumah kaca (*in vivo*), tetapi dapat dilakukan pada tingkat populasi sel di dalam kultur *in vitro*. Sementara itu, pemuliaan molekuler bahkan lebih terfokus lagi, yaitu menseleksi sifat-sifat unggul yang dikehendaki langsung pada populasi gen yang membawa sifat-sifat tersebut. Kesemua teknologi pemuliaan yang

ditawarkan ini tujuannya tidak lain adalah menciptakan tanaman-tanaman unggul, baik dari segi kuantitas maupun kualitas, dalam tempo yang sesingkat-singkatnya guna memenuhi kebutuhan hidup manusia yang kian bertambah.

Di samping tujuan dan misi mulia yang diembannya, bioteknologi juga menyisakan sejumlah persoalan, terutama yang menyangkut etika ilmiah, keseimbangan alam dan penyalahgunaan teknologi. Salah satu produk bioteknologi yang kini masih menjadi topik perdebatan panjang adalah apa yang dinamakan "genetically modified organism" atau dikenal dengan GMO. Akan tetapi, terlepas dari pro dan kontra terhadap bioteknologi, yang jelas nampak adalah kemajuan teknologi berkat akal dan fikiran manusia adalah sesuatu yang tidak dapat dihindarkan dan munculnya teknologi-teknologi baru hanya terbentur pada masalah waktu saja. Sedikit-banyak, melalui pemanfaatannya di dalam pemuliaan tanaman, bioteknologi telah mampu mengubah hidup manusia ke arah yang lebih baik, meskipun persoalan yang timbul tidak boleh diabaikan begitu saja.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aryan, A. P. 2002. Production of double haploids in rice: anther vs. microspore culture. Prosiding The Importance of Plant Tissue Culture and Biotechnology in Plant Sciences di Armidale, University of New England Press. pp. 201-208.
- Bayliss, K. L., J. M. Wroth dan W. A. Cowling. 2002. Production of multicellular microspores of *Lupinus* species: first step toward haploid lupin embryos. Prosiding The Importance of Plant Tissue Culture and Biotechnology in Plant Sciences di Armidale, University of New England Press. pp. 145-157.
- Borlaug, N. E. 2002. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 38: 221-228.
- Broughton, S., M. Beeck, L.-A. McFawn, L. Liu dan I. Watson. 2002. Wheat and barley double haploid production in Western Australia. *Doubled Haploids Australian Newsletter* 9: 1-4.
- Carlson, P. S., H. H. Smith dan R. D. Dearing. 1972. Parasexual interspecific plant hybridization. *Proceedings of National Academy of Science, USA* 69: 2292-2294.
- Coumans, M. dan D. Zhong. 1995. Doubled haploid sunflower (*Helianthus annuus*) plant

- production by androgenesis: fact or artifact? Part 2. *In vitro* isolated microspore culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 41: 203-209.
- Dix, P. J. [ed.] 1994. Isolation and characterization of mutant cell lines. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Donnini, P. dan A. Sonnino [eds.]. 1998. Induced Mutation in Plant Breeding: Current Status and Future Outlook. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Höfer, M., A. Touraev dan E. Heberle-Bors. 1999. Induction of embryogenesis from isolated apple microspores. *Plant Cell Reports* 18: 1012-1017.
- Jayasankar, S. [ed.] 2000. Variation in Tissue Culture. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Karp, A., P. G. Isaac dan D. Ingram. 1998. Molecular Tools for Screening Biodiversity. Chapman and Hall, New York.
- Larkin, P. J. dan W. R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation - A novel source of variability from cell cultures of plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 60: 197-214.
- Lentini, Z., P. Reyes, C. P. Martínez dan W. M. Roca. 1995. Androgenesis of highly recalcitrant rice genotypes with maltose and silver nitrate. *Plant Science* 161: 677-683.
- Lichter, R. 1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 105: 427-434.
- Maliga, P., A. Breznovitis dan L. Marton. 1973. Streptomycin-resistant plants from callus cultures of haploid tobacco. *Nature: New Biology* 244: 29-30.
- Maluszynski, M., K. Nichterlein, L. v. Zanten dan B. S. Ahloowalia. 2000. Officially released mutant varieties - the Food and Agriculture Organization (FAO)/International Atomic Energy Agency (IAEA) Database. *Mutation Breeding Review* 12: 1-84.
- Negrutiu, I. [ed.] 1990. *In Vitro* Mutagenesis. VCH Publishers, Weinheim, Germany.
- Rodriguez, F. I., J. J. Escj, A. E. Hall, B. M. Binder, G. E. Schaller dan A. B. Bleecker. 1999. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science* 283: 996-998.
- Taji, A., P. Kumar dan P. Lakshmanan. 2002. *In Vitro* Plant Breeding. Haworth Press, Inc., New York.
- Touraev, A., A. Indrianto, I. Wratschko dan O. Vicente. 1996. Efficient microspore embryogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by starvation at high temperature. *Sexual Plant Reproduction* 9: 209-215.
- Zulkarnain. 2004a. Comparison of diploid *Swainsona formosa* and their tetraploid relatives obtained from oryzalin treatment. *Hayati* 11: 6-10.
- Zulkarnain. 2004b. The production of tetraploid *Swainsona formosa* by colchicine mutagenesis. *Zuriat* 15: 60-64.