LAPORAN TAHUNAN

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

2016







KATA PENGANTAR

Berbagai tantangan yang dihadapi pertanian di Indonesia tidak akan dapat diatasi hanya dengan pendekatan teknologi konvensional. Kendala-kendala yang selama ini sulit atau bahkan mustahil dipecahkan secara konvensional dapat diatasi dengan pendekatan bioteknologi. Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan bioteknologi pertanian memiliki peran yang sangat signifikan dalam memberikan solusi untuk menghadapi tantangan pembangunan pertanian di masa depan. Penerapan bioteknologi dalam bidang pertanian di Indonesia diharapkan mampu meningkatkan produktivitas, stabilitas produksi dan mutu produk pertanian, mengurangi biaya produksi, serta menciptakan produk dan sarana produksi yang ramah lingkungan. Dengan memanfaatkan bioteknologi, kegiatan pemuliaan dapat dipercepat dan lebih terarah dalam perakitan varietas/klon/ras/bangsa komoditas pertanian yang unggul. Sebagai institusi yang memiliki mandat untuk melaksanakan kegiatan penelitian bioteknologi dan sumber daya genetik (SDG) pertanian, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) perlu berperan aktif dalam memberikan kontribusi terhadap pencapaian tujuan tersebut.

Laporan tahunan ini memberikan informasi capaian kegiatan penelitian dan pengembangan bioteknologi dan sumber daya genetik pertanian. Semua kegiatan penelitian besifat multi years, ada kegiatan lanjutan dari Renstra tahun 2015-2019. Beberapa kegiatan sudah berada di terminal akhir seperti produk feromon *Plutella xylostella* dan *Crocidolomia binnotallis*. Atau mendekati terminal akhir untuk dilepas menjadi varietas pada tahun 2016 yaitu galur cabai tahan virus dan kedelai produktivitas tinggi. Tetapi ada juga yang masih perlu rangkaian panjang untuk merealisasikan target *output*nya. Untuk kegiatan perakitan galur unggul melalui pendekatan mutasi dan marka molekuler diperkirakan akan mulai menghasilkan *output* signifikan berupa varietas unggul pada tahun 2016 hingga 2019. Bahkan dengan proses *breeding* yang sudah dilakukan secara kontinyu, BB Biogen akan mampu menghasilkan VUB setiap tahunnya.

Kami sadar bahwa laporan ini masih banyak kekurangan, untuk itu segala masukan dan saran akan sangat bermanfaat dalam penyempurnaan laporan ini.

DAFTAR ISI

Uraian	Halaman
Kata Pengantar	i
Daftar Isi	ii
Daftar Tabel	iii
Daftar Gambar	iv
OUTPUT AKSESI	
Konservasi, Rejuvenasi, Karakterisasi, dan Dokumentasi Sumber Daya Genetik Pertanian	1
Pengkayaan Dan Karakterisasi Fenotipik Dan Genotipik Sumber Daya Genetik Pertanian	15
OUTPUT GALUR	
Pembentukan Galur Unggul Padi Melalui Aplikasi Marka Molekuler	23
Pembentukan GMO Komoditas Pertanian Toleran Cekaman Biotik Dan Abiotik	40
Pembentukan Galur Unggul Komoditas Pertanian Melalui Mutasi, Variasi Somaklonal, Dan Kultur Antera	60
OUTPUT TEKNOLOGI	
Analisis Genom Dan Pemetaan Genetik Komoditas Pertanian Strategis	75
Bioprospeksi Senyawa Bioaktif Untuk Peningkatan Produktivitas Komoditas Pertanian	93
Aplikasi Teknologi <i>In Vitro</i> Untuk Peningkatan Kualitas Dan Perbanyakan Tanaman Komoditas Penting Pertanian	104

DAFTAR TABEL

No	Uraian	Halamar
1.	Hasil identifikasi koleksi dan konfirmasi data serta pembuatan seed reference	2
2.	Hasil monitoring daya tumbuh benih padi	3
3.	Hasil uji kualitas benih (UDK dan deteksi patogen benih) benih produksi tahun 2016	3
4.	Gambaran hasil rejuvenasi beberapa komoditas di bank gen selama tahun 2015	4
5.	Catatan SDG baru yang masuk bank gen dari tahun 2012 – 2016	4
6.	Status dokumentasi data SDG pertanian tahun 2016	8
7.	Perlakuan media terbaik sebagai media pertumbuhan minimal untuk <i>D. composita</i> dan <i>D. bulbifera</i>	11
8.	Perlakuan media terbaik untuk inisiasi perakaran tunas <i>in vitro</i> untuk <i>D. composita</i> dan <i>D. bulbifera</i>	12
9.	Hasil karakterisasi morfo-agronomi sejumlah aksesi SDGP Bank Gen BB Biogen	16
10.	Hasil kegiatan evaluasi ketahanan SDG terhadap cekaman biotik dan evaluasi mutu fungsional	17
11.	Hasil seleksi galur-galur padi dengan metode silang balik	18
12.	Jumlah galur/tanaman F ₄ asal persilangan ganda yang diperoleh dari penggaluran 3 populasi silang ganda	19
13.	Analisis data agronomi galur BC₃F₂ terpilih	24
14.	Seleksi virulensi wereng batang cokelat (WBC) pada varietas penyeleksi Mudgo (<i>Bph1</i>) dan ASD7 (<i>bph2</i>)	29
15.	Hasil pengamatan beberapa karakter agronomi penting pada lima rumpun terpilih populasi BC_6F_1 asal persilangan Pelita I/1 dengan Rathu Heenati.	32
16.	Respons galur-galur tomat generasi F_5 -IC pada pengujian ketahanan terhadap TYLCV dan CMV di LUT Balitsa	41
17	Karakter agronomis transforman (T ₃) padi Nipponbare stadia vegetatif, sistem padi hidroponik, dengan dosis pemupukan setengah (0.25 mmol L-1 Ammonium nitrat) dan normal (0.5 mmol L-1 Ammonium nitrat)	44
18	Hasil seleksi eksplan dengan media seleksi mengandung higromisin	45
19	Tanaman transgenik Nipponbare generasi T ₁ dengan satu kopi gen dan karakter fenotipik setelah cekaman kekeringan	47

20	Hasil transformasi <i>immature</i> embrio Nipponbare dengan 5 konstruk pCAM1300-kandidat promotor gen <i>NADP-gus</i> , pCAM1300- <i>pr35-gus</i> , dan pCAM1300- <i>prOsAnt-gus</i> .	51
21	Kemampuan berkecambah dari 5 genotipe padi pada re-validasi pengujian dengan perlakuan dan tanpa perlakuan cekaman kondisi anaerob di rumah kaca	53
22	Rata-rata hasil (t/ha) galur mutan kedelai di 8 lokasi dibanding varietas cek.	63
23	Kisaran komponen hasil dan hasil 83 galur DH₀	66
24	Karakter komponen hasil cabai mutan tahan virus belang (ChiVMV) Pacet, Cianjur, MK. 2016	72
25	Mutasi titik pada beberapa lokus berdasarkan gen target	73
26	QTL untuk karakter umur, tinggi tanaman, dan komponen hasil kedelai yang diperoleh pada penelitian ini berdasarkan data fenotipe lapang tahun 2015 di KP Cibalagung, Bogor, dari populasi RIL B3462 x B3293.	81
27	Hasil persilangan interspesifik <i>Jatropha</i> spp. yang berasal dari biji dan telah ditanam di polibag	83
28	SNP yang signifikan berasosiasi dengan karakter petumbuhan berdasarkan analisis asosiasi dengan data molekuler marka SNAP yang diobservasi pada 138 ekor sapi PO dengan program Tassel	92
29	Hasil pengukuran aktivitas kitinase isolat <i>B. firmus</i> E65	97
30	Pertumbuhan tunas batang atas jeruk keprok yang diregenerasikan pada 6 minggu setelah penyambungan secara <i>in vitro</i> .	105

DAFTAR GAMBAR

No	Uraian	Halaman
1	Penataan koleksi jangka pendek	2
2	Skoring penutupan tanah pada 56 HST	5
3	Contoh aksesi-aksesi pilihan petani di Citayam	6
4	Aneka ubi potensial koleksi bank gen BB Biogen KP Cikeumeuh, 2016	7
5	Contoh konservasi <i>in vitro</i> ubi-ubian di Lab. Konservasi <i>in vitro</i> BB Biogen	8
6	Tampilan salah satu halaman pada situs web bank gen	10
7	Planlet-planlet yang tumbuh di media tanam	11
8	Aklimatisasi <i>Dioscorea bulbifera</i> L. aksesi Gembolo di rumah kaca	12
9	Penampilan biakan pisang Barangan yang berasal dari eksplan potongan aksis jantung yang ditanam pada media yang mengandung 2,4-D (mg/l) dan PVP (mg/l)	13
10	Penampilan embrio somatik yang tumbuh pada media yang mengandung BA dan air kelapa	14
11	Dendrogram 192 aksesi ubi jalar berdasarkan 18 marka <i>SSR</i>	21
12	Hasil analisis molekuler beberapa galur BC₁F₅Code x <i>qTSN4</i>	24
13	Hasil analisis molekuler beberapa galur BC_1F_5 Persilangan Code × $qTSN4$ dan $qDTH8$	24
14	Kondisi pertanaman galur-galur padi BC_1F_5 , BC_2F_4 , BC_3F_3 persilangan Code x <i>qTSN4</i> dan Code x <i>qDTH8</i> , serta galur-galur BC_2F_7 Code x Nipponbare dan BC_2F_7 Ciherang x Nipponbare di lapangan	25
15	Histogram potensi hasil galur-galur Ciherang-HDB dibandingkan dengan tetua Ciherang dan varietas lain	26
16	Keragaan respons ketahanan galur-galur uji di lapang gogo Taman Bogo Lampung umur 82 hari pada IR64 yang puso oleh serangan blas daun.	27
17	Keragaan tipe genotipe beberapa galur uji yang dianalisis menggunakan marka STS terkait gen <i>Pita403</i> , <i>Pia1</i> , <i>Pii3</i> dan <i>Pikp3</i> untuk seleksi <i>foreground</i> .	28
18	Pola preferensi inang oleh nimfa dan imago empat biotipe tentatif terhadap varietas diferensial TN1, Mudgo, ASD7, dan Rathu Heenathi	30
19	Keragaan tipe genotipe beberapa galur uji yang dianalisis menggunakan marka STS terkait gen <i>Pita403</i> , <i>Pia</i> 1, <i>Pii</i> 3 dan <i>Pikp3</i> untuk seleksi <i>foreground</i>	33
20	Penampilan tanaman BC ₃ F ₂ Situ Bagendit- <i>Pup1</i> + <i>Alt</i> setelah diuji dalam larutan Yoshida 65 ppm Al dan 0,5 ppm P	34
21	Contoh hasil amplifikasi tanaman BC ₃ F ₂ menggunakan marka molekuler.	35
22	Dendrogram keragaman genetik galur-galur uji berdasarkan keragaman genotipe.	37
23	Persentase alel Ciherang (<i>recovery ratio</i>) pada populasi BC ₅ F ₆ hasil persilangan Ciherang dan Pandan Wangi	39
24	Profil buah muda dan tua tanaman tomat generasi F ₅ -IC terpilih	42

25	Analisis molekuler dan keragaan tanaman transforman T ₃ Padi Nipponbare	43
26	Hasil PCR Planlet transforman Atlantic mengandung	46
27	konstruksi RNAi dengan primer gen <i>hptII</i> . Hasil gus assay pada daun dan akar padi hasil transformasi <i>immature</i> embrio dengan menggunakan konstruk pCAM1300int-prN4-gus, pCAM1300int-prN5-gus, dan pCAM1300int-pr35S-gus	52
28 29	Keragaan kalus dan analisis PCR transforman Perubahan urutan asam amino pada gen <i>GA20ox-2</i> dari	55 57
30	mutan padi K15 Penampilan galur padi mutan CRISPR/Cas9-OsGA20ox-2 no. K15 dibandingkan dengan kontrol Kitaake	58
31	Analisis molekuler galur mutan kedelai	64
32	Pertumbuhan tanaman mutan sorgum di KP Balitserealia, Maros	67
33	Pengujian ketahanan penyakit Foc pada tanaman hasil somaklonal	71
34	Keragaan fenotipe galur-galur segregan uji dari 3 genotipe padi	77
35	Hasil pemetaan GWAS gen <i>IRT</i> dengan set marka SNP 384-2014 dan peranannya dalam strategi I mekanisme toleransi	78
36	tanaman terhadap cekaman keracunan Fe Hasil analisis marka molekuler tanaman F_1 menggunakan marka SSR RM1625	78
37	Peta QTL karakter umur berbunga, umur masak, tinggi tanaman, dan komponen hasil berdasarkan data keragaan fenotipe 192 progeni dan tetua dari populasi RIL B3462 x B3293 di KP Cibalagung, Bogor	81
38	Tahap perkembangan embrio zigotik pisang hasil persilangan intespesifik antara <i>M. acuminata</i> ssp. <i>microcarpa</i> dengan Calcuta-4	84
39	SNP berdasarkan resekuensing genom cabai dan aplikasi mass array-nya.	85
40	Grafik evaluasi toleran keracunan aluminium dianalisis menggunakan program Qgene.	87
41	Analisis molekuler tiga galur terseleksi dan pemetaan QTL BC ₃ F ₃ .	89
42	Uji lapang feromon pada hama target tanaman tebu	94
43	Isolat bakteri kitinolitik dan aktivitas kitinase isolat TBK secara kualitatif	96
44	Viabilitas dan pertumbuhan isolat terpilih	100
45	Analisis kromatografi lapis tipis	102
46	Keragaman morfologi daun dan stomata populasi STG jeruk keprok yang diregenerasikan dari sel-sel endosperma	106
47	Kalus embriogenik mangga madu	107
48	Visualisasi embrio somatik mangga	108





OUTPUT 1340 AKSESI







Prambanan 54

Racing

Prambanan 28

KONSERVASI, REJUVENASI, KARAKTERISASI, DAN DOKUMENTASI SUMBER DAYA GENETIK PERTANIAN

Konservasi, rejuvenasi, karakterisasi dan dokumentasi sumber daya genetik pertanian (SDGP) adalah kegiatan rutin untuk memelihara, melestarikan, dan menggali potensi dasar dari SDGP yang dikoleksi secara ex-situ. SDGP tersebut mengandung gengen yang diturunkan dan dapat dimanfaatkan dalam pembentukan varietas unggul baru atau untuk kegunaan lainnya sehingga harus dilestarikan agar selalu siap tersedia. Pelestarian SDGP menjadi penting terutama dalam mendukung penelitian dan komersialisasi, serta sebagai referensi identitas dan sumber informasi akan potensi kegunaannya. SDGP koleksi yang sebagian besar berupa tanaman pangan ini, dikoleksi dalam fasilitas penyimpanan benih/bank gen benih, dikonservasi di lapang, dan dikonservasi secara *in vitro*. Agar pengelolaan SDGP secara *ex situ* dapat berlangsung secara efektif dan efisien, diperlukan upaya perbaikan pengelolaan/manajemen bank gen benih secara terus menerus. Begitu pula dengan SDGP-SDGP yang tidak dapat dikonservasi di dalam bank gen benih juga harus senantiasa ditanam di lapang atau dikonservasi secara in vitro. Pada tahun 2016 dalam rangka mendukung kegiatan ini, juga dilakukan upaya pencarian metode konservasi yaitu inisiasi dan multiplikasi tunas *in vitro* Dioscorea composita dan Dioscorea bulbifera serta penyimpanan melalui metode pertumbuhan minimal, juga pengembangan metode pertumbuhan minimal dan kriopreservasi pisang. Pada akhirnya SDGP yang dikoleksi ini tidak hanya dilestarikan keberadaannya tetapi juga didokumentasikan dalam satu sistem database yang diharapkan segera menjadi "breeding station" penyedia informasi "real time" status program pemuliaan dan informasi karakter-karakter plasma nutfah Badan Litbang Pertanian.

1. Manajemen bank gen benih tanaman pertanian

a. Penataan koleksi plasma nutfah di bank gen

Pada tahun 2016 penataan koleksi dilaksanakan untuk SDG padi, jagung, kacang hijau, dan gandum. Tahapan kegiatan meliputi identifikasi koleksi dan konfirmasi data, penataan koleksi, dan pembuatan *seed reference*. Dari kegiatan identifikasi koleksi dan konfirmasi data, ditemukan adanya perbedaan informasi antara jumlah aksesi di dalam database dengan kondisi riil di ruang penyimpanan (Tabel 1). Ditemukan pula adanya duplikasi tahun rejuvenasi untuk nomor aksesi yang sama maupun duplikasi nomor aksesi yang sama. Semestinya, koleksi aktif/jangka pendek hanya berasal dari satu tahun

produksi benih (tahun rejuvenasi terbaru) sehingga akan memudahkan dalam penataan dan pengelolaan ketika aksesi tersebut diperlukan.

Tabel 1. Hasil identifikasi koleksi dan konfirmasi data serta pembuatan *seed reference*.

Parameter yang diamati	Padi	Jagung	Kacang hijau	Gandum
Informasi di database (tahun 2015)	4.116	921	915	83
Aksesi hilang	1.436	12	6	3
Duplikasi	250	-	-	-
Koleksi baru (belum tercatat di database)	364	388	149	-
Jumlah aksesi yang tersedia di tempat penyimpanan	3.294	1.297	1.058	80
Progress pembuatan seed reference	2.661	1.191	551	80

Pada kegiatan penataan koleksi aktif SDG padi, benih padi produksi tahun terbaru untuk setiap nomor aksesi disimpan dalam kantong aluminium foil. Selanjutnya beberapa nomor aksesi SDG padi ini disimpan ke dalam boks penyimpanan dengan tidak melampaui standar volume penyimpanan. Pada SDG kacang hijau, benih juga disimpan dalam kantong aluminium foil dan pada setiap boks penyimpanan berisi 10 nomor aksesi. Pada SDG jagung dan gandum, benih disimpan dalam botol plastik dan untuk setiap boks penyimpanan berisi 7 aksesi dengan tahun produksi benih terbaru. Duplikat benih jagung di tahun yang lebih lama disimpan ke dalam boks terpisah untuk secara bertahap nantinya dieliminasi berdasarkan hasil uji daya kecambah (UDK) benih. Rencana ke depannya, semua koleksi aktif SDG akan disimpan ke dalam wadah botol untuk memudahkan pengelolaan (Gambar 1).





Gambar 1. Penataan koleksi jangka pendek. A = kantong aluminium, B = botol penyimpan.

b. Monitoring, penataan, dan pengelolaan fasilitas pendukung konservasi

Pada tahun 2016 telah dibuat empat draft panduan pelaksanaan (SOP) terkait kegiatan konservasi, yaitu akuisisi koleksi, pengeringan benih, uji viabilitas benih, dan

monitoring viabilitas benih. Draft panduan tersebut merupakan saduran dari metode pelaksanaan baku dalam buku penanganan benih di Bank Gen yang telah diterbitkan oleh Bioversity Internasional dengan sedikit modifikasi. Draft dibuat dalam bentuk narasi dan bentuk bagan skematik.

Monitoring dan uji kualitas benih

Monitoring kualitas benih yaitu UDK dilakukan pada SDG padi sebanyak 590 aksesi yang merupakan produksi tahun 2001–2005 dan tahun 2006–2010. Hasil monitoring daya tumbuh menunjukkan bahwa daya tumbuh benih semakin menurun seiring dengan lama waktu penyimpanan (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil monitoring daya tumbuh benih padi.

Tahun produksi -	Jum	lah aksesi dengan hasi	I UDK
	UDK 0%	UDK <30%	UDK >30%
2001-2005 (190 aksesi)	112	30	48
2006-2010 (400 aksesi)	83	98	223
Total	195	128	271

Uji kualitas benih yang meliputi UDK, deteksi serangan hama benih, dan deteksi serangan penyakit benih dilakukan pada benih hasil produksi tahun 2015 masing-masing sebanyak 400 nomor aksesi. Hasil uji kualitas benih menunjukkan sebagian besar aksesi memiliki daya tumbuh yang bagus (>85%) dan bebas dari serangan patogen benih sehingga layak untuk disimpan (Tabel 3). Untuk aksesi-aksesi yang memiliki daya tumbuh rendah serta terserang patogen benih diprioritaskan untuk direjuvenasi ulang pada tahun berikutnya.

Tabel 3. Hasil uji kualitas benih (UDK dan deteksi patogen benih) benih produksi tahun 2016.

	Hasil l	JDK (jml ak	sesi)	Serangan	Hasil de	eteksi p	enyakit l	enih
Komoditas	0-30%	30-85%	>85%	hama benih	Seran bakteri	_	Seran jamur	
				(%)	blotter	PDA	<i>blotte</i> r	PDA
Padi (200 aksesi)	2	19	179	1,61	3,3	99	5,6	99
Kacang tanah	1	1	98	0	0,2	32,3	0	82
(100 aksesi)								
Kacang hijau	0	14	86	0,2	-	-	-	-
(100 aksesi)								

d. Rejuvenasi benih plasma nutfah tanaman pertanian

Telah diperoleh benih baru dari rejuvenasi padi, jagung, gandum, aneka serealia potensial, kedelai, kacang tanah, dan aneka kacang potensial. Jumlah benih yang dihasilkan oleh setiap aksesi dari masing-masing komoditas bervariasi yang dipengaruhi

oleh genotipe masing-masing komoditas, ketersediaan bibit awal, dan faktor lingkungan disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Gambaran hasil rejuvenasi beberapa komoditas di bank gen selama tahun 2016.

Komoditas	Jumlah aksesi yang direjuvenasi	Jumlah aksesi yang terpanen	Kisaran bobot benih yang diperoleh (g)
Padi	404	277	-
Jagung (galur inbrida)	20	20	130-1600
Gandum	83	80	-
Hanjeli	12	12	155-702
Jewawut	9	9	64-266
Wijen	6	6	63-243
Kedelai	200	199	27,4-1.276,6
Kacang tanah	200	200	539-1.356
Kacang tunggak	130	130	-
Kacang gude	13	0	-
Koro benguk	9	9	-

e. Akuisisi dan akses benih

Pada tahun 2016 dilakukan pencatatan terhadap semua benih yang masuk yang belum mendapatkan nomor registrasi. Benih-benih ini diterima sejak tahun 2012–2016. Jumlah dan komposisi benih yang diterima ditampilkan pada Tabel 5. Aksesi yang masuk tersebut memiliki kelengkapan data yang bervariasi, tetapi sebagian besar masih sangat minim. Kelengkapan data paspor yang merupakan prasyarat tahap pertama belum semua terpenuhi. Selain itu juga dilakukan pembuatan set sampel MOS (*Most Original Sample*), tetapi tahapan lain untuk proses akuisisi belum dilakukan karena keterbatasan tenaga dan biaya, misalnya tahapan pengecekan dan pencarian kelengkapan data, serta uji homogenisasi dan perbanyakan benih di lapang atau rumah kaca.

Tabel 5. Catatan SDG baru yang masuk bank gen dari tahun 2012–2016.

Berdasarkan tahun penerimaan (jml aksesi)		Berdasarkan jenis komoditas (jml aksesi)		
2012	188	Padi	913	
2013	188	Jagung	8	
2014	11	Serealia potensial	37	
2015	77	Aneka kacang	11	
2016	521	Aneka ubi	10	
		lainnya	6	
Total	985		985	

Adapun untuk kegiatan akses benih, total sebanyak 2.315 aksesi koleksi bank gen diakses oleh pengguna baik dari intern manajemen bank gen (1.260 aksesi), lingkup BB Biogen non intern manajemen bank gen (1.034 aksesi) dan luar BB Biogen (21 aksesi). Permintaan benih dilayani dalam jumlah tertentu untuk tujuan penelitian dan

pengembangan. Tidak semua permintaan benih dapat dilayani karena ketersediaan benih yang terbatas atau tidak layak didistribusikan karena kualitasnya rendah. Pelayanan permintaan benih kadangkala tertunda karena terbatasnya tenaga pelaksana.

2. Konservasi dan rejuvenasi plasma nutfah ubi-ubian di lapangan dan secara in vitro

a. Konservasi, rejuvenasi, karakterisasi plasma nutfah ubi jalar di lapangan

Pada tahun 2016 telah dikoleksi sebanyak 1.650 aksesi, yang terdiri dari 817 aksesi ditanam di KP Pacet, 750 aksesi ditanam di KP Citayam, dan satu set koleksi inti ditanam di pot di KP Cikeumeuh. Untuk pertanaman KP Pacet, observasi utama adalah menghitung kemampuan menutup tanah (*ground covering*) pada 56 HST dengan skor 3, 5, 7, dan 9 (Gambar 2). Delapan aksesi menunjukkan kemampuan menutup tanah yang baik (skor 5, 75% menutup tanah), yaitu pada nomor lapang 1, 4, 83, 85, 156, 234, 624, 641, dan 669.



Gambar 2. Skoring penutupan tanah pada 56 HST. A = skor 3, menutup <50%, B = skor 5, menutup 50-74%, C = skor 7, menutup 75-90%, d = skor 9 (menutup >90%).

Untuk pertanaman KP Citayam, selain dilakukan observasi kemampuan tanaman dalam menutup tanah, juga dilakukan pengamatan serangan penyakit kudis (*Elsinoe batatas*), pengamatan komponen produksi ubi jalar, dan pemilihan aksesi ubi jalar sesuai preferensi petani. Berdasarkan preferensi petani diperoleh 74 aksesi ubi jalar yang memiliki keseragaman ukuran dan bentuk umbi yang menarik dan mulus, jumlah umbi per tanaman yang relatif banyak dan bobot umbi yang relatif tinggi (Gambar 3).



Gambar 3. Contoh aksesi-aksesi pilihan petani di Citayam.

b. Konservasi, rejuvenasi, karakterisasi plasma nutfah ubi kayu di lapangan

Plasma nutfah ubi kayu yang dikonservasi sekaligus direjuvenasi di KP Citayam pada tahun 2016 berjumlah 799 aksesi, yang terdiri dari 259 aksesi kelompok ubi kayu umur panen 8 bulan dan 540 aksesi kelompok umur panen 9 bulan. Observasi tanaman diutamakan pada pengamatan karakter produksi/indeks panen dan deteriorasi umbi pasca panen. Informasi mengenai deteriorisasi ini penting terutama untuk mengetahui aksesi yang memiliki daya simpan baik, tidak mudah rusak selama proses pemanenan. Pada kelompok umur panen 8 bulan, ada delapan aksesi (No. 2, 8, 22, 31, 39, 42, 73, dan 367) yang mempunyai kualitas deteriorasi umbi yang rendah (tahan busuk pasca panen) dengan kisaran bobot umbi yang sedang dan tinggi (>847 g). Pada kelompok umur panen 9 bulan, hanya ada satu aksesi (No. 189) yang mempunyai kualitas deteriorasi umbi yang rendah (tahan busuk pasca panen) dengan kisaran bobot umbi yang juga rendah (<454 g).

c. Konservasi, rejuvenasi, karakterisasi plasma nutfah talas dan belitung di lapangan

Sehubungan dengan pemindahan koleksi plasma nutfah talas dari KP Pacet ke KP Cikemeuh pada awal tahun 2016, jumlah aksesi yang dipanen pada kategori umur tanaman 6 bulan lebih sedikit dibandingkan panen tahun sebelumnya sebanyak 78 aksesi. Hal tersebut diduga karena tanaman masih beradaptasi dengan lingkungan baru dari yang semula di dataran tinggi. Rata-rata bobot umbi talas pada saat panen umur 6 bulan dari 21 nomor aksesi adalah 331,7 gram dengan bobot umbi minimum 100 gram dan bobot umbi maksimum yaitu 616,7 gram. Kisaran bobot umbi terbesar diperoleh pada nomor aksesi C0176 (Talas Ma'ran) dan kisaran bobot umbi terkecil diperoleh pada nomor aksesi C0036 (Talas Bentul). Pengamatan terhadap monitoring

hama dan penyakit ditemukan sebagian besar tanaman terserang penyakit yang diduga adalah TLB (*taro leaf blight*) dengan gejala bintik-bintik cokelatgelap atau bintik-bintik cokelat muda pada permukaan daun bagian atas dan mengeluarkan lendir.

d. Konservasi, rejuvenasi, karakterisasi plasma nutfah ubi potensial lainnya di lapangan Jumlah koleksi ubi potensial yang direjuvenasi pada tahun 2016 adalah 50 aksesi ubi kelapa, 25 aksesi gembili, 25 aksesi gadung, 3 aksesi suweg, 1 aksesi iles-iles, 3 aksesi kentang hitam, 65 aksesi ganyong, dan 33 aksesi patat (Gambar 4). Beberapa permasalahan muncul selama pertanaman, di antaranya penanganan tanaman liar/gulma

yang agak terlambat, naungan yang perlu segera diganti, dan penggantian patok/label



Gambar 4. Aneka ubi potensial koleksi bank gen BB Biogen KP Cikeumeuh, 2016.

e. Konservasi plasma nutfah ubi jalar, ubi kayu, dan talas secara in vitro

Telah dilakukan sub kultur pada 700 aksesi ubi-ubian, yang terdiri dari ubi jalar, ubi kayu, dan talas (Gambar 5). Kondisi biakan kurang vigor, media habis, media/biakan terkontaminasi jamur/bakteri. Media untuk subkultur adalah MS + manitol 40 g/l untuk

ubi jalar dan talas serta media MS untuk ubi kayu. Jangka waktu subkultur ubi jalar dan talas sampai 14 bulan, sedangkan ubi kayu sampai 10 bulan. Sampai saat ini belum ditemukan media yang cocok untuk konservasi ubi kayu. Hal ini dapat dilihat dari penurunan daya tumbuh, vigor, dan daya hidup ubi kayu bila disimpan cukup lama secara *in vitro*.





Gambar 5. Contoh konservasi *in vitro* ubi-ubian di Lab. Konservasi *in vitro* BB Biogen.

3. Pengelolaan dan pengembangan database fenotipik SDG pertanian

Telah dilakukan kegiatan pembaharuan data inventori terhadap beberapa komoditas koleksi bank gen yang beberapa di antaranya mengalami perubahan jumlah aksesi dan stok benih di tempat penyimpanan. Selain itu juga dilakukan dokumentasi keragaman morfologi dari SDGP dalam bentuk foto dan penambahan data evaluasi kadar gula dan tanin pada sorgum (Tabel 6). Status koleksi ini telah disusun ke dalam bentuk katalog koleksi (data paspor) yang bisa diakses secara *online* di situs web BB Biogen (*www.biogen.litbang.pertanian.go.id*).

Tabel 6. Status dokumentasi data SDG pertanian tahun 2016.

No.	Komoditas	Jumlah koleksi (aksesi)	Banyaknya karakter yang telah dikarakterisasi	Foto keragaman morfologi
<u>Sere</u>	<u>alia</u>			
1.	Padi (<i>Oryza sativa</i>)	4.116	40 karakter	Belum ada
2.	Padi liar (<i>Oryza</i> spp.)	94	12 karakter	Belum ada
3.	Gandum (<i>Triticum</i> aestivum)	83	14 karakter	Belum ada
4.	Jagung (<i>Zea mays</i>)	1.279	24 karakter	Morfologi biji 500 aksesi
5.	Sorgum (<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench.)	255	21karakter	Morfologi biji dan malai 255 aksesi
6.	Hanjeli (<i>Coix lacyma-jobi</i>)	12	10 karakter	Morfologi biji 12 aksesi
7.	Jewawut (<i>Setaria itallica</i> [L.] P. Beauvois)	9	10 karakter	Morfologi biji 9 aksesi
8.	Wijen (Sesamum indicum)	6	10 karakter	Morfologi biji 6 aksesi

		<u>acangan</u>			
9.		delai (<i>Glycine max</i>)	888	20 karakter	Morfologi biji 476 aksesi
10.	Kacang tanah (<i>Arachis</i> hypogea)		821	17 karakter	Morfologi biji
11.		cang hijau (<i>Vigna</i> <i>diata</i>)	1.058	21 karakter	Morfologi biji
12.	Kad	cang-kacangan minor:			
	1.	Kacang Bogor (<i>Vigna</i> suterranea)	69	8 karakter	Morfologi biji 9 aksesi
	2.	Kacang tunggak (<i>Vigna</i> sinensis)	139	18 karakter	Morfologi biji 130 aksesi
	3.	Kacang gude (<i>Cajanus</i> <i>cajan</i>)	13	6 karakter	Morfologi biji 13 aksesi
	4.	Kacang komak (<i>Lablab</i> purpureus)	17	7 karakter	Morfologi biji 11 aksesi
	5.	Kacang koro benguk (<i>Mucuna pruriens</i>)	9	Belum dikarakterisasi	Morfologi biji 9 aksesi
	6.	Kacang koro pedang (<i>Canavalia ensiformis</i>)	7	10 karakter	Morfologi biji 7 aksesi
	7.	Kecipir (<i>Psophocarpus</i> tetragonolobus)	88	Belum dikarakterisasi	Belum ada
	8.	Kacang nasi (<i>Vigna</i> <i>umbellata</i>)	46	Belum dikarakterisasi	Belum ada
Ubi-ι	<u>ıbiar</u>	<u>]</u>			
13.		i kayu (<i>Mannihot</i> culenta)	556	24 karakter	Morfologi daun pucuk dan daun tua 556 aksesi
14.	Ubi	i jalar (<i>Ipomoea batatas</i>)	1.364	31 karakter	Morfologi daun dan umbi 45 aksesi; Morfologi batan dan daun 1.236 aksesi
15.	Tal	as (<i>Colocasiaesculenta</i>)	245	45 karakter	Morfologi daun dan umbi 239 aksesi
16.	<u>Ub</u>	i-ubian minor:			
	1.	Belitung (<i>Xanthossoma</i> sp.)	126	34 karakter	Morfologi daun dan umbi 118 aksesi
	2.	hispida)	14	Belum dikarakterisasi	Belum ada
	3.	Garut / patat (<i>Maranthaarundinaceae</i>)	34	28 karakter	Belum ada
	4.	Ganyong (Canna edulis)	63	14 karakter	Belum ada
	5.	Gembili (<i>Dioscorea</i> esculenta)	17	27 karakter	Belum ada
	6.	Ubi kelapa (<i>Dioscorea</i> <i>alata</i>)	20	Belum dikarakterisasi	Belum ada
	7.	campanulatus)	2	Belum dikarakterisasi	Belum ada
17.	me	rong (<i>Solanum</i> <i>elongena</i>) dan kerabat mya	233	10 karakter	Belum ada

Sum	Sumber daya genetik mikroba pertanian (1.404 records)				
1.	Bakteri	1.259			
2.	Fungi	98			
3.	Virus	48			

Selain pembaharuan data koleksi, pengembangan sistem database juga dilakukan untuk lebih meningkatkan kemudahan dan efektivitas pengelolaan data. Beberapa pengembangan fitur database yang telah dilakukan meliputi a) pembuatan sistem database inventori SDG yang dikoleksi di bank gen, yang diintegrasikan dengan sistem barcoding. Sistem database disusun dalam bentuk web-based berbasis PHP-MySQL, b) pembuatan situs web bank gen yang menampilkan profil bank gen beserta data koleksi SDG yang bisa diakses pengguna secara *online*, yang dibangun dengan menggunakan Content Management System (CMS) Wordpress 4.6, dengan mengintegrasikan pluginxCRUD v.1.6.26 untuk menampilkan data koleksi SDG (http://www.biogen.litbang.pertanian.-go.id/plasmanutfah) (Gambar 6).





Gambar 6. Tampilan salah satu halaman pada situs web bank gen.

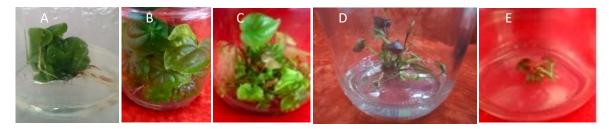
4. Inisiasi dan multiplikasi tunas *in vitro Dioscorea composita* L. dan *Dioscorea bulbifera* L. dan penyimpanan melalui metode pertumbuhan minimal

Sebelum mendapatkan perlakuan pertumbuhan minimal, kedua spesies *Dioscorea* diperbanyak terlebih dahulu dalam rangka memenuhi jumlah ulangan dalam percobaan. Sebanyak 7 komposisi media penghambat pertumbuhan digunakan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan *D. bulbifera* (aksesi Gembolo dan Tomboroso) setelah disimpan selama 3, 6, dan 9 bulan serta pada *D. composita* setelah disimpan

selama 3 bulan. Hasil perlakuan terbaik untuk pembentukan planlet pada setiap spesies dan umur penyimpanan ditunjukkan oleh Tabel 7 dan Gambar 7.

Tabel 7. Perlakuan media terbaik sebagai media pertumbuhan minimal untuk *D. composita* dan *D. Bulbifera*.

Umur nonvimnanan	D. composita	D. bulbifera		
Umur penyimpanan	D. composita	Aksesi Gembolo	Aksesi Tomboroso	
3 bulan	paklobutrazol 3 mg/l	paklobutrazol 1 mg/l	paklobutrazol 1 mg/l	
6 bulan	-	paklobutrazol 3 mg/l atau 5 mg/l	paklobutrazol 1 mg/l	
9 bulan	-	manitol 3%	manitol 3%	



Gambar 7. Planlet-planlet yang tumbuh di media tanam. A = *D. Composita* umur 3 bulan (paklobutrazol 3 mg/l), B = *D. bulbifera* aksesi Gembolo umur 3 bulan (paklobutrazol 3 mg/l), C = *D. bulbifera* aksesi Gembolo umur 9 bulan (manitol 3%), D = *D. bulbifera* aksesi Tomboroso umur 6 bulan (paklobutrazol 1 mg/l), E = *D. bulbifera* aksesi Tomboroso umur 9 bulan (manitol 3%).

Pada kegiatan inisiasi perakaran untuk kedua spesies Dioscorea, hampir semua biakan telah membentuk akar pada umur penyimpanan 1–2 bulan, sehingga tidak perlu masuk ke media inisiasi akar. Hasil perlakuan terbaik untuk inisiasi perakaran tunas *in vitro* pada setiap spesies dan umur penyimpanan ditunjukkan oleh Tabel 7 dan Gambar 7. Adapun kegiatan aklimatisasi planlet pada *Dioscorea bulbifera* L. aksesi Gembolo dan Tomboroso dilaksanakan di rumah kaca setelah penyimpanan selama 6 bulan karena jumlah biakan terbatas. Hasilnya pada aksesi Gembolo menunjukkan perlakuan kontrol paling mudah diaklimatisasi, dan dua perlakuan manitol (3% dan 5%) tidak berhasil diaklimatisasi (Gambar 8), sedangkan pada aksesi Tomboroso semua perlakuan manitol tidak dapat tumbuh.

Tabel 8. Perlakuan media terbaik untuk inisiasi perakaran tunas *in vitro* untuk *D. composita* dan *D. Bulbifera*.

	D	D. bulbifera		
Umur penyimpanan	D. composita	Aksesi Gembolo	Aksesi Tomboroso	
3 bulan	Kontrol (MS) Manitol 5% Paklobutrazol 3 mg/l Paklobutrazol 5 mg/l	Paklobutrazol 1 mg/l	Paklobutrazol 1 mg/l	
6 bulan	-	Paklobutrazol 1 mg/l	Paklobutrazol 1 mg/l Paklobutrazol 5 mg/l	
9 bulan	-	Paklobutrazol 1 mg/l Paklobutrazol 3 mg/l Paklobutrazol 5 mg/l	Paklobutrazol 3 mg/l Paklobutrazol 5 mg/l	



Gambar 8. Aklimatisasi *Dioscorea bulbifera* L. aksesi Gembolo di rumah kaca.

5. Optimasi metode pertumbuhan minimal dan kriopreservasi pisang

Pada kegiatan evaluasi metode pertumbuhan minimal pisang, sebanyak 10 kombinasi perlakuan media penghambat pertumbuhan ABA dan manitol diperlakukan pada 3 jenis pisang, yaitu pisang Barangan, pisang Lampung, dan pisang Kepok Kuning. Pada pertumbuhan awal (6–8 bulan penyimpanan) penambahan manitol 2% dalam media menyebabkan penghambatan pertumbuhan biakan pisang Barangan, baik pertumbuhan tunas maupun akar, sedangkan pada pisang Lampung dan Kepok Kuning penggunaan ABA 1 mg/l menyebabkan penghambatan pertumbuhan tunas. Dari ketiga varietas yang diuji, hanya Kepok kuning yang mengalami multiplikasi tunas pada media penyimpanan, biakannya juga lebih banyak dari pisang lainnya. Kelayuan daun paling banyak dijumpai pada biakan pisang Lampung, begitupun dengan pembentukan kalus yang hanya terjadi pada biakan pisang ini. Secara keseluruhan, penggunaan manitol memang memperlambat pertumbuhan tetapi juga menurunkan vigoritas planlet, sehingga tidak disarankan penggunaan media ini lebih lanjut untuk media pertumbuhan minimal tanaman pisang.

Untuk menentukan perlakuan yang terbaik maka perlu diperhitungkan jumlah atau persentase biakan yang hidup pada akhir pengamatan. Hasilnya mengindikasikan bahwa perlakuan kontrol lebih sesuai untuk penyimpanan biakan pisang Barangan, ABA 0,25 mg/l untuk pisang Lampung, dan ABA 0,75 mg/l untuk pisang Kepok Kuning. Berdasarkan media terbaik tersebut maka masa simpan pisang Barangan adalah 19 bulan, sedangkan pisang Lampung dan Kepok Kuning adalah 14 bulan. Untuk memastikan kemampuan tumbuh planlet setelah masa simpan tertentu maka biakan dipulihkan ke media regenerasi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh biakan pisang tersebut mampu tumbuh normal.

Pada kegiatan induksi kalus embriogenik, hasil percobaan menunjukkan bahwa respon yang paling pesat diperoleh dari eksplan yang diberi perlakuan 2,4-D 3 mg/l. Pada awal pengamatan, peningkatan taraf PVP sebaliknya bahkan menekan pertumbuhan, yang ditunjukkan dengan bobot kalus yang semakin turun. Kombinasi perlakuan 2,4-D 3 mg/l dan PVP 500 mg/l menghasilkan persentase kalus tertinggi, namun bobot biakan tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan 2,4-D 3 mg/l dan PVP 100 mg/l. Secara visual, biakan yang berasal dari perlakuan tersebut memiliki kalus dengan pertumbuhan yang pesat (Gambar 9).



Gambar 9. Penampilan biakan pisang Barangan yang berasal dari eksplan potongan aksis jantung yang ditanam pada media yang mengandung 2,4-D (mg/l) dan PVP (mg/l). A = 2,4-D1P100, B = 2,4-D1P300, C = 2,4-D1P500.

Pada kegiatan regenerasi embrio somatik, hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa dan BA dapat memproliferasi kalus embriogenik. Peningkatan taraf BA maupun air kelapa tidak menyebabkan perbedaan nilai bobot basah total kalus yang nyata pada umur biakan 4 dan 6 bulan. Namun demikian, bobot embrio somatik yang terbentuk dipengaruhi oleh kombinasi perlakuan tersebut. Bobot embrio somatik tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan BA 2 mg/l dan air kelapa 30% atau kombinasi perlakuan BA 6 mg/l dan air kelapa 10% yang hampir sama dengan perlakuan pembandingnya atau kontrol. Berdasarkan peubah jumlah embrio somatik yang terbentuk, kombinasi perlakuan BA 2 mg/l dan air kelapa 30% menghasilkan embrio yang

paling banyak, yaitu sekitar 13 embrio/eksplan. Demikian pula, bobot embrio somatik yang tertinggi diperoleh dari perlakuan tersebut, selain kombinasi perlakuan BA 6 mg/l dan air kelapa 10% (Gambar 10).



Gambar 10. Penampilan embrio somatik yang tumbuh pada media yang mengandung BA dan air kelapa. A = BA 2 mg/l + air kelapa 10%, B = BA 2 mg/l + air kelapa 20%, C = BA 2 mg/l + air kelapa 30%.

Kegiatan kriopreservasi meristem pisang dengan teknik vitrifikasi diawali dengan penyediaan materi atau sumber eksplan yang berlimpah. Tunas *in vitro* pisang Rajakinalun diperbanyak pada media MS dengan penambahan BA 10 μ M dan IAA 1 μ M. Tunas-tunas yang terbentuk telah disubkultur pada media MS dengan penambahan arang aktif 0,5 g/l. Setelah masa inkubasi 2 minggu, eksplan berupa meristem diisolasi di bawah mikroskop dan selanjutnya diprakultur pada media MS dengan penambahan sukrosa 0,4 M, di-*loading* dengan larutan LS (media MS cair yang mengandung gliserol 2 M dan sukrosa 0,4 M), didehidrasi dengan larutan PVS2 (MS cair yang mengandung gliserol 30%, DMSO 15%, etilen glikol 15%, dan sukrosa 0,4 M), lalu dibekukan di N₂ cair dan dilelehkan serta dipulihkan dan diregenerasikan.

PENGKAYAAN DAN KARAKTERISASI FENOTIPIK DAN GENOTIPIK SUMBER DAYA GENETIK PERTANIAN

Plasma nutfah merupakan sumber keragaman genetik yang perlu dilestarikan dan dimanfaatkan semaksimal mungkin terutama bagi kemajuan pemuliaan. Plasma nutfah yang tersedia perlu dikarakterisasi baik fenotipik maupun genotipiknya, dan dievaluasi mutu fungsionalnya dan ketahanan/toleransinya terhadap cekaman biotik dan abiotik untuk memperoleh sumber-sumber gen dari sifat-sifat tanaman yang dapat mendukung kegiatan perbaikan varietas. Dari sumber-sumber gen ini, maka dilakukan kegiatan hibridisasi dan pengkayaan untuk memperoleh galur-galur unggul yang dapat menjadi cikal bakal varietas baru. Pada tahun 2016 telah dilakukan kegiatan karakterisasi, evaluasi serta pengkayaan pada sejumlah aksesi sumber daya genetik pertanian (SDGP) koleksi Bank Gen BB Biogen sebagai perwujudan pengelolaan SDGP yang komprehensif dan terintegrasi.

1. Karakterisasi morfo-agronomi sumber daya genetik tanaman pangan

Karakterisasi morfo-agronomi telah dilakukan pada sejumlah SDG jagung, kedelai edamame, kedelai introduksi, kacang tanah, dan kacang potensial meliputi kacang bogor, kacang nasi, dan kecipir (Tabel 9). Dari kegiatan karakterisasi morfo-agronomi penting ini, diperoleh beberapa SDG potensial, yaitu 1) Jagung lokal Pena Muti Kikis (berbiji agak besar), Jagung Jawa (hasil cukup tinggi), Taming (ASI/anthesis silking interval pendek), Pena Mas (berumur genjah), Jagung Delima (jumlah biji/tongkol terbanyak), Pena Tasa (jumlah daun hijau saat panen terbanyak), 2) Edamame B.4142 dan AGS 4448 (polong muda rebus yang cukup manis), B.4255 dan B.4252 (potensi hasil >500 g biji/6 m²), 3) Kedelai introduksi PI 593647, PI 534647, PI 534646, dan PI 591429 (potensi hasil >40 polong/tan), 4) Kacang tanah aksesi Brudul dan Leuweung kolot (hasil >800 g polong/1,8 m²), 5) Kacang nasi aksesi NTT 1 dan 2 (umur genjah), aksesi NTT 27 (potensi hasil tinggi), 6) Kacang bogor aksesi Lokal Sukabumi-1 (umur genjah dengan bobot 86,5 g/100 biji dan hasil 1.340 g/petak), dan 7) Kecipir Lokal Sidoarjo Batang 38 (umur genjah), Lokal Sidoarjo Batang 25, 13 dan 8 (bobot 100 biji >30 g).

Tabel 9. Hasil karakterisasi morfo-agronomi sejumlah aksesi SDGP Bank Gen BB Biogen

Komoditas	Jumlah aksesi yang dikarakterisasi	Jumlah karakter yang diamati	Rincian karakter yang diamati
Jagung	50	15	Jumlah daun saat berbunga, luas daun saat pembungaan, umur berbunga jantan, umur berbunga betina, ASI (<i>anthesis silking interval</i>), tinggi tanaman, panjang tongkol, diameter tongkol, jumlah baris, jumlah biji per tongkol, tinggi keberadaan tongkol, bobot 200 biji, jumlah daun saat panen, umur masak, bobot biji per 60 tanaman
Kedelai edamame	52	12	Umur berbunga, umur masak, umur panen polong muda, skor kerebahan, tinggi tanaman, jumlah buku, bobot biji per tanaman, jumlah cabang, jumlah polong total per tanaman, bobot 100 biji, rasa polong rebus, bobot per petak 6 m²
Kedelai introduksi	80	14	Warna hipokotil, warna bunga, warna biji, warna bulu, tipe tumbuh tanaman, umur berbunga, umur masak, skor kerebahan, tinggi tanaman, jumlah cabang, jumlah buku, jumlah polong total per tanaman, bobot biji per tanaman, bobot biji per petak
Kacang tanah	60	10	Tinggi tanaman, jumlah cabang, umur berbunga, jumlah polong isi, jumlah polong hampa, bobot polong per tanaman, bobot polong per petak 1,8 m², warna kulit biji, warna bunga, warna ginofor
Kacang nasi	46	10	Umur berbunga, umur masak, tinggi tanaman, jumlah polong isi, jumlah polong hampa, bobot biji per petak 5 m², warna bunga, warna polong, jumlah cabang, jumlah klaster
Kacang bogor	68	8	Umur berbunga, umur masak, tinggi tanaman, jumlah cabang, jumlah polong, bobot 100 butir, bobot biji per petak, warna bunga
Kecipir	69	7	Umur berbunga, umur masak, panjang polong, bobot 100 biji, panjang daun, lebar daun, diameter polong

2. Evaluasi ketahanan SDG terhadap cekaman biotik dan evaluasi mutu fungsional

Evaluasi ketahanan SDG koleksi BB Biogen pada tahun 2016 dilaksanakan pada beberapa cekaman biotik yaitu ketahanan padi terhadap wereng batang coklat, blas daun, blas leher, HDB strain III, IV, VIII; ketahanan jagung terhadap hama lalat bibit dan penyakit bulai; serta ketahanan kedelai dan kacang hijau terhadap hama penggerek polong. Sedangkan evaluasi mutu fungsional dilaksanakan untuk ubi kayu (kandungan pati) dan padi (kandungan antosianin) (Tabel 10).

Tabel 10. Hasil kegiatan evaluasi ketahanan SDG terhadap cekaman biotik dan evaluasi mutu fungsional

Komoditas	Jenis cekaman biotik/mutu fungsional	Jumlah SDG yang dievaluasi	Jumlah SDG tahan	Nama aksesi
Padi	Ketahanan terhadap wereng batang coklat (<i>N.</i> <i>Lugens</i>)	100	9	Cempu Buluku, Tenuran, Sri Gunung, Jelukuk Bulu Putih, Ampak panjang, Pare bakti, Pare Lomber, Padi Putih, Mukos
Jagung	Ketahanan terhadap hama lalat bibit (<i>Atherigona</i> <i>exigua</i>)	100	13	Bengkaung, L. Repok Daya, L. Montung Angak, Pena Buto, Pena Nais, Pena Teme, Pena Peto, Pena Mutin Song, Watar Kakuta, Watar Dau, Watar Ndawa, Watar Kaka, BC 10 MS 15
Kedelai	Ketahanan terhadap hama penggerek polong (<i>Etiella</i> zinckenella)	100	12	868 x 4179/30/1/0/0/0, C.79276-B-130-5, 1682/1248, Pop x 2 Zwart No. 20., F 62 – 3977, No. 73 – SP – Kn, Kedelai Susu, Kedelai Hijau, Lokal Hitam, Kedelai Kepet, Kedelai Godeg, Lokal Bima Hijau
Kacang hijau	Ketahanan terhadap hama penggerek polong (<i>Maruca testulalis</i>)	100	8	No. 1461. No. 73-S, VC.4443A, MLG – 169, MLG – 178, MLG – 237 – M, MLG – 248, MLG – 251, MLG – 266
Padi	Ketahanan terhadap penyakit blas daun (<i>Pyricularia grisea</i>)	100	10	SS Down, S2Y2/4/F5/3R x RE-7, B.57C-Md-10-2, Kn.1b-361-Blk-13-6, Kn.1b-361-8-6-9-4-7, IR.5868, IR.5, MRC 172-9, B.981d-Si-28-2, PB.24
Padi	Ketahanan terhadap penyakit blas leher (<i>Pyricularia grisea</i>)	100	51	Reg. 10221, Berong, Gajih, Gondil, Gombal, Gadis, Gembolo, Deli, Jawan, Lenggong Genuk, Buruna, YHS I, Pandan Wangi, B.57C-Md-10-2, Ketan Nangka, Padi Merah, Kn.1b-361-8-6-9-4-7, Pulut Merah, IR.5, IR.2035-290-3-3, IR.2035-353-2, Lokcan, Kapas, PB.24, Salak, Pulut Merah, Omas, Ceko, Kali, Kempapak Embao b, Padi Melayu, Padi Merah, Muli, Sirapat, Padi Dorit A, Pimpok, Delon A, Pulut Hitam, Pulut Sanik, Tempunok, Suruk, Ibu, Pelita Kawin, Pulut Pejaju, Ketumbar Bunga, P.Pang, Mayas, Putih, Jeura Aweuh, Manai, Pinang Bunga
Padi	Ketahanan terhadap penyakit HDB strain III	100	2	Siraja Bunga, RD 19
Padi	Ketahanan terhadap penyakit HDB strain IV	100	5	100C/108, Ribon, Siraja Bunga, Pulut Air, Seronang b
Padi	Ketahanan terhadap penyakit HDB strain VIII	100	2	Segon Darat, RD 19
Jagung	Ketahanan terhadap penyakit bulai (<i>Perenosclerospora</i> <i>maydis</i>)	100	16	J.Tinggi, Koasa, Turida, L.Labohan Lombok, L.5029, L.5050, L.5039, L.5051, L.5049, ARC.103-55-Pop 2, ARC.103-3-5-1-2xb3, ARC.178-1-3-1- 1-4-1-1-xb3, ARC.178-1-4-11-1-5-3-

				1-xb3, ARC.178-1-4-1-1-5-2-1-xb3, ARC.83-2-3-1-1-2-xb3, Jawa Mina
Ubi kayu	Kandungan pati	50	1	Ubi Roti
Padi	Kandungan antosianin	30	2	Aen Mektan, Melik

3. Pemanfaatan sumber daya genetik padi, kedelai, dan jagung melalui hibridisasi dan kultur antera

a. Pengkayaan SDG padi tahan HDB, blas, dan mutu baik melalui persilangan padi budidaya dengan padi liar (Genom AA) dan kultur antera

Pengkayaan SDG padi untuk memperoleh galur yang tahan HDB, blas dan memiliki mutu gizi baik dilakukan dengan cara persilangan metode silang balik dengan padi liar genom AA dan dibantu homogenisasi turunannya dengan kultur antera. Hasil seleksi galur yang diperoleh ditunjukkan oleh Tabel 11.

Tabel 11. Hasil seleksi galur-galur padi dengan metode silang balik

No Persilangan Jumlah galur terseleksi 1			
2	No		Jumlah galur terseleksi
3 Ciherang ⁵ /Oryza rufipogon (100211) 4 Ciherang ⁴ /Oryza rufipogon (100211) 5 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 6 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 7 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 8 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 1 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 9 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 1 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 2 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (100211) 2 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (100211) 2 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (100211) 3 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 4 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 5 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP 13//ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/Inpari 13² 4 Melik/Inpari 13² 5 Melik²/Inpari 13² 6 Melik²/Inpari 13² 7 Melik²/Fat	1	Inpari 10 ⁵ / <i>Oryza glaberrima</i> (100156)	32
4 Ciherang ⁴ /Oryza rufipogon (100211) 5 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 6 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 7 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 8 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 9 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 10 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 21 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 22 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (100211) 23 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 24 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 25 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 26 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 27 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 28 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 21 Aen Metan/INP 13//Ciherang 22 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 23 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 24 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 25 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 26 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 27 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 28 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 21 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 22 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 23 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 24 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 25 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 26 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 27 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 28 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 21 Inpari 13 ⁴ /O. ru	2	Inpari 10 ⁴ / <i>Oryza glaberrima</i> (100156)	4
4 Ciherang ⁴ /Oryza rufipogon (100211) 5 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 6 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 7 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 8 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 9 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211) 10 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 21 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 22 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (100211) 23 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 24 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 25 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 26 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 27 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 28 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 21 Aen Metan/INP 13//Ciherang 22 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 23 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 24 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 25 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 26 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 27 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 28 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 21 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 22 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 23 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 24 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 25 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 26 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 27 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 28 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 20 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 21 Inpari 13 ⁴ /O. ru	3	Ciherang ⁵ / Oryza rufipogon (100211)	18
6	4	Ciherang ⁴ / Oryza rufipogon (100211)	2
6	5	Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon (100211)	18
7 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 8 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 1 1 9 Inpari 13 ⁵ /O. rufipogon 105491) 30 10 Situ Bagendit ⁵ /O. rufipogon (100211) 23 11 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 20 12 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (105491) 9 13 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 3 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 5 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 7 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP 13//ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 22 Melik²/INP 13 23 Melik/INP13² 24 Melik/Inpari 13² 25 Melik²/Inpari13 26 Melik²/Fat 27 Melik²/Fat 28	6	Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211)	21
9	7	Situ Bagendit ⁵ / <i>O. rufipogon</i> (100211)	18
9	8	Situ Bagendit ⁴ / <i>O. rufipogon</i> (100211)	1
11 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 20 12 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (105491) 9 13 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 3 14 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 2 15 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 16 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 17 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP13 ² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik ² /Fat 46 21 Melik/Fat ² 58 22 Melik/INP13 9 23 Melik/Inpari 13 ² 5 24 Melik/Inpari 13 ² 6 25 Melik/Fat ² 4 26 Melik/Fat ² 4 27 Melik ² /Fat 2	9	Inpari 13 ⁵ / <i>O. rufipogon</i> 105491)	30
12 Ciherang ⁵ /O. rufipogon (105491) 13 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 14 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 15 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 16 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 17 Aen Metan/INP 13//melik 18 Aen Metan/INP 13//melik 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 Melik²/Fat 20 Melik²/Fat 21 Melik/Fat² 22 Melik²/INP 13 23 Melik/INP13² 24 Melik/Inpari 13² 25 Melik²/Inpari13 26 Melik²/Fat 27 Melik²/Fat 28 Melik²/Fat 29 Melik²/Fat 20 Melik²/Fat 21 Melik²/Fat 22 Melik²/Fat	10	Situ Bagendit ⁵ / <i>O. rufipogon</i> (100211)	23
13 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211) 14 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211) 15 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 16 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 17 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP13 ² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 Melik/INP13² 5 Melik/Inpari 13² 6 Melik²/Inpari13 2 Melik²/Inpari13 2 Melik²/Fat 2 Melik²/Fat 3 Melik²/Fat 4 Melik²/Inpari13	11	Situ Bagendit ⁴ / <i>O. rufipogon</i> (100211)	20
15 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 16 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 17 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP13 ² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	12	Ciherang ⁵ /O. rufipogon (105491)	9
15 Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (105491) 7 16 Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (105491) 29 17 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP13 ² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	13	Inpari 13 ⁴ /O. rufipogon (100211)	3
15 Inpari 13 ⁴ / O. rufipogon (105491) 7 16 Situ Bagendit ⁴ / O. rufipogon (105491) 29 17 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP13 ² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	14	Situ Bagendit ⁴ /O. rufipogon (100211)	2
17 Aen Metan/INP 13//melik 73 18 Aen Metan/INP13² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	15		7
18 Aen Metan/INP13² 7 19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	16	Situ Bagendit ⁴ / <i>O. rufipogon</i> (105491)	29
19 Aen Metan /INP 13//Ciherang 10 20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	17	Aen Metan/INP 13//melik	73
20 Melik²/Fat 46 21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	18	Aen Metan/INP13 ²	7
21 Melik/Fat² 58 22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	19	Aen Metan /INP 13//Ciherang	10
22 Melik²/INP 13 9 23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	20	Melik ² /Fat	46
23 Melik/INP13² 5 24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	21	Melik/Fat ²	58
24 Melik/Inpari 13² 6 25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	22	Melik ² /INP 13	9
25 Melik²/Inpari13 2 26 Melik/Fat² 4 27 Melik²/Fat 2	23	Melik/INP13 ²	5
26 Melik/Fat ² 4 27 Melik ² /Fat 2	24	Melik/Inpari 13 ²	6
27 Melik ² /Fat 2	25	Melik ² /Inpari13	2
	26	Melik/Fat ²	4
Jumlah Galur 459	27	Melik ² /Fat	2
		Jumlah Galur	459

b. Pengkayaan SDG kedelai biji besar dan produktivitas tinggi

Kegiatan seleksi populasi generasi F_5 silang tunggal menghasilkan 89 galur yang berasal dari 3 populasi (F_8 .kcxkjpg) x Grobogan, F_5 (F_8 .kcxkjpg) x Wilis, Ked.CinaxWilis, Ked.CinaxGrobogan). Telah diidentifikasi 28 galur F_6 dengan penampilan agronomis dan hasil biji lebih tinggi daripada 3 varietas pembanding (F_8 Ked.Cina x Ked.Jepang, Wilis dan

Grobogan), serta lebih tinggi atau sebanding dengan varietas cek Ked. Cina. Keragaman bobot biji/tanaman pada 89 galur yang diseleksi cukup tinggi, ini tercermin dari kisaran bobot hasilnya (9,4 – 33,4 g/tan), sementara 4 varietas cek memiliki bobot hasil/tanaman 20,2-23,7 g/tan. Sebanyak 9 galur memiliki bobot hasil/tanaman >25 g/tanaman, jauh melebihi keempat varietas cek. Adapun hasil seleksi dan penggaluran 3 populasi silang ganda telah diperoleh sebanyak 10 galur F_4 silang ganda yang memberi harapan untuk diseleksi lebih lanjut. Total galur yang diperoleh dari 3 populasi silang ganda ini sebanyak 108 galur (Tabel 12).

Tabel 12. Jumlah galur/tanaman F₄ asal persilangan ganda yang diperoleh dari penggaluran 3 populasi silang ganda

Populasi silang ganda	Jumlah tanaman/galur
F ₃ :(F8.kcxkjpg-bp)xGrob//K/cinaxWilis	7
F₃:F783-A-BpxWilis//Ke.CinaxGrob	63
F₃:F783-A-BpxWilis//Ke.CinaxTgms	38
Jumlah galur	108

c. Pengkayaan SDG jagung melalui pembentukan galur Inbrida jagung adaptif kondisi kering dan input rendah

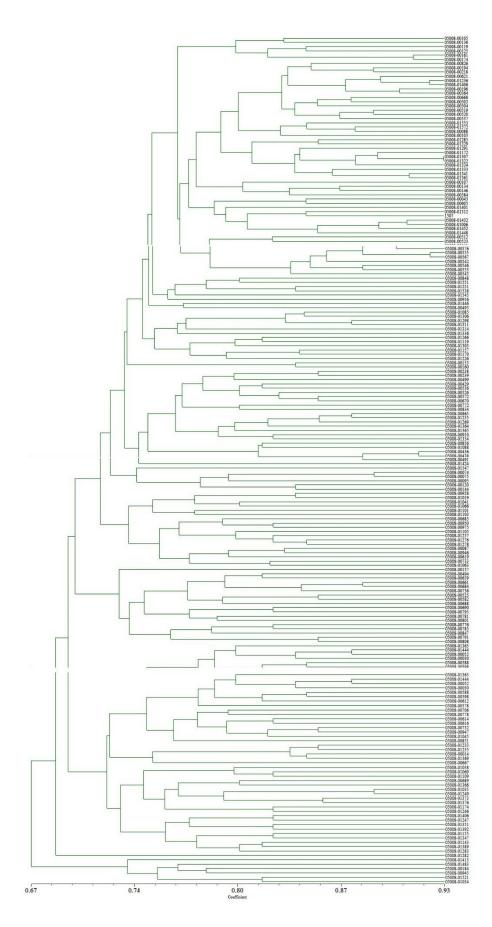
Pada MT I dari hasil pengujian 200 galur yang memiliki daya tembus akar baik di lapang, menghasilkan biji 1–38 gram/tanaman. Dari 200 galur ini dipilih 60 galur terbaik yang memiliki bobot biji terbanyak (22,2–38,0 gram). Pada MT II, 60 galur terpilih ini diuji pada 3 taraf pemupukan di lahan petani Brebes. Secara visual tidak terdapat perbedaan yang nyata pada umur berbunga di antara perlakuan yang diuji. Dari data bobot kering 5 tanaman diperoleh 72–119 gram pada perlakuan tanpa pemupukan, 86–143 gram pada perlakuan pemupukan ½ rekomendasi, dan 90-149 gram pada perlakuan pemupukan rekomendasi. Berdasarkan bobot tanaman pada pemupukan ½ rekomendasi, diperoleh 10 galur terbaik, yaitu inbrida 23-4-10-2-18-9, 23-4-10-2-18-8, 7-2-2-3-2-2, 23-4-10-2-18-7, 29-8-1-3-6-6, 7-2-2-3-11-4, 23-4-10-2-9-8, 7-2-2-3-9-7, 22-9-5-4-7-10, dan 29-8-1-3-23-4.

4. Karakterisasi molekuler SDG ubi jalar lokal

Sebanyak 384 aksesi ubi jalar dari 1364 total koleksi ubi jalar BB Biogen telah dipilih untuk dianalisis molekuler menggunakan marka *simple sequence repeat* (SSR) dan 22 karakter fenotipik. Dasar pertimbangan pemilihan aksesi ini adalah aksesi-aksesi yang memiliki tingkat kemiripan tinggi serta representasi aksesi-aksesi dalam grup/kluster yang berbeda. Sebanyak 192 aksesi di antaranya telah dianalisis di tahun 2015 dan sisanya di tahun 2016. Sebanyak 18 primer *SSR* yang digunakan memperlihatkan polimorfisme antar aksesi.

Keragaman genetik yang cukup tinggi terdeteksi dari 192 aksesi ubi jalar yang dianalisis. Sebanyak 143 alel dengan rataan jumlah alel 7,9 alel per primer dan kisaran antara 4 - 13 alel per lokus diidentifikasi dalam koleksi aksesi tersebut. Rata-rata frekuensi alel utama adalah 30% dengan nilai tertinggi 73% (IBSSR 02). Rata-rata nilai diversitas gen adalah 0,81 dan nilai tertinggi ditunjukkan oleh primer IBSSR 19. Nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) yang merefleksikan tinggi rendahnya polimorfisme berkisar dari 0,44 (IBSSR 02) sampai 0,91 (IBSSR 19 dan IBSSR 21). Heterozigositas ditemukan dalam koleksi dan berkisar antara 0,06 (IBSSR 22) hingga 0.73 (IBSSR 15) dengan rata-rata 0,40.

Analisis filogeni 192 aksesi ubi jalar berhasil memisahkan menjadi dua kelompok utama kekerabatan pada koefisien kesamaan 0,684. Kelompok pertama terdiri atas 186 aksesi yang kemudian terbagi menjadi beberapa sub-klaster sedangkan kelompok kedua terdiri atas 6 aksesi. Pengelompokan aksesi lebih berdasarkan latar belakang genetiknya. Pengelompokkan ini sangat penting sebagai tambahan informasi dalam pengelolaan plasma nutfah ubi jalar BB Biogen dan pemilihan tetua persilangan. Pada pemilihan tetua biasanya dipilih individu-indivividu yang memiliki hubungan kekerabatan yang jauh sehingga proses *inbreeding* tidak terjadi (Gambar 11).



Gambar 11. Dendrogram 192 aksesi ubi jalar berdasarkan 18 marka SSR.

OUTPUT 19 GALUR





PEMBENTUKAN GALUR UNGGUL PADI MELALUI APLIKASI MARKA MOLEKULER

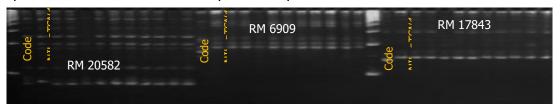
Pemanfaatan marka molekuler dalam membantu seleksi materi genetik diharapkan dapat mempercepat proses perakitan varietas unggul baru. Aplikasi marka molekuler dalam pemuliaan tanaman padi merupakan pendekatan yang sangat efisien dalam mengatasi beberapa kelemahan dalam pemuliaan konvensional. Di samping sebagai alat bantu seleksi, marka molekuler bermanfaat untuk mengidentifikasi patogen maupun hama atau biotipe/populasi yang sedang berkembang di lapang. Salah satu strategi yang digunakan dalam perakitan varietas tanaman menggunakan bantuan marka molekuler adalah *Marker-Assisted Backcrossing* (MABc). Strategi ini menggunakan marka untuk menyeleksi tanaman yang membawa gen yang diinginkan (*foreground selection*) dan latar belakang genetik dari tetua yang diperbaiki sifatnya (*background selection*). Dalam penelitian ini, karakter-karakter penting yang menjadi target dalam perakitan galur unggul padi berbasis marka molekuler antara lain adalah potensi hasil, ketahanan tanaman terhadap cekaman abiotik, toleransi terhadap cekaman abiotik dan peningkatan kualitas padi (aroma). Marka molekuler juga diaplikasikan untuk kegiatan identifikasi biotipe WBC yang secara fenotipe sangat sulit dilakukan.

1. Seleksi galur-galur persilangan Code/ qTSN4 dan Code/ qDTH8, serta galur-galur persilangan Code/Nipponbare dan Ciherang/Nipponbare

Sejumlah galur padi harapan yang memiliki potensi hasil tinggi dengan latar belakang genetik varietas Code (Code/*qTSN4* dan Code/*qDTH8*) pada populasi BC₁F₅, BC₂F₄, BC₃F₃, serta galur-galur padi harapan (BC₂F₇) yang dikembangkan dari dua set persilangan (Code/Nipponbare, Ciherang/Nipponbare) telah diuji di tiga lokasi percobaan (Muara, Sukamandi dan Cianjur). Pengujian daya hasil pendahuluan dari galur-galur yang ditanam di Muara merupakan galur-galur pada tahun sebelumnya sudah diperbanyak dan terobervasi daya hasilnya di KP Sukamandi dan dari Rumah Kaca BB Biogen pada tahun sebelumnya.

Hasil observasi daya hasil di KP Muara, Bogor, menunjukkan bahwa sebanyak 52 galur telah terseleksi sebagai galur padi harapan dengan potensi hasil tinggi. Daya hasil tetua pembandingnya, Code dan IR64-NILs-*qTSN4*, masing-masing adalah 6 ton/ha, sedangkan galur-galur turunannya memiliki kisaran daya hasil ubinan sebesar 6,7–8,0 ton/ha. Dengan demikian, penggabungan lokus pengendali QTL-hasil yang berasal dari tetua donornya mampu meningkatkan potensi hasil varietas Code menjadi lebih tinggi. Hal yang cukup menonjol dari penampilan galur-galur terseleksi tersebut adalah percepatan dari umur berbunga.

Keberadaan gen yang berhubungan dengan karakter hasil pada populasi tanaman yang terseleksi menunjukkan daya hasil tinggi dikonfirmasi secara molekuler menggunakan marka *foreground*. Pada penelitian ini material genetik tanaman yang berasal dari semua galur yang ditanam di lapang KP Muara, Bogor, diambil daunnya. DNA dari masing-masing galur diisolasi dan dianalisis menggunakan marka-marka terkait dengan karakter yang menjadi target dalam pengembangan populasi persilangan. Contoh hasil amplifikasi marka-marka terkait dapat dilihat pada Gambar 12 dan 13.



Gambar 12. Hasil analisis molekuler beberapa galur BC₁F₅ Code x *qTSN4*.



Gambar 13. Hasil analisis molekuler beberapa galur BC_1F_5 Persilangan Code × qTSN4 dan qDTH8.

Beberapa galur menunjukkan memiliki alel yang bukan ABB. Galur-galur tersebut tidak digunakan lagi dalam kegiatan pertanaman berikutnya. Pada pengujian UDHP di dua lokasi yang telah ditentukan (Cianjur dan KP. Sukamandi), keberadaan lokus yang menjadi karakter target pada galur-galur padi harapan tersebut juga dianalisis secara molekuler menggunakan 7 primer yang terkait dengan lokus *Xa7*, *Hd2*, *qTSN4*, dan *qDTH8*. Kondisi pertanaman di lokasi Cianjur dan KP Sukamandi dapat dilihat dalam Gambar 14.

Hasil analisis molekuler menunjukkan bahwa semua galur terpilih yang ditanam di dua lokasi percobaan, Cianjur dan KP Sukamandi membawa alel-alel homozigot terhadap karakter yang menjadi target dari marka yang digunakan (lokus *Xa7*, *Hd2*, *qTSN4*, dan *qDTH8*). Hal ini menunjukkan bahwa galur-galur padi harapan yang terseleksi pada UDHP sudah seragam. Keseragaman galur-galur terpilih berdasarkan analisis molekuler tersebut juga sesuai dengan keseragaman galur-galur tersebut berdasarkan pengamatan keragaan atau penampilan fenotipe di lapang.



Gambar 14. Kondisi pertanaman galur-galur padi BC_1F_5 , BC_2F_4 , BC_3F_3 persilangan Code x *qTSN4* dan Code x *qDTH8*, serta galur-galur BC_2F_7 Code x Nipponbare dan BC_2F_7 Ciherang x Nipponbare di lapangan. A = KP Sukamandi, B = Cianjur.

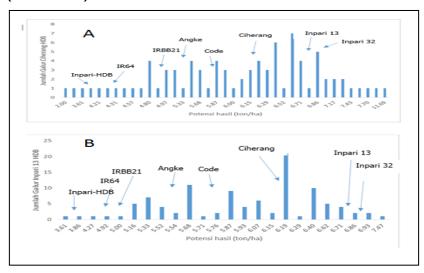
2. Perakitan galur padi unggul tahan HDB multigenik dengan mantuan marka molekuler

Evaluasi ketahanan, analisis molekuler, dan keragaan agronomis dilakukan pada galur BC₃F₂. Pengamatan panjang serangan dilakukan untuk tiap fase yang diujikan. Pada tetua Code yang membawa kombinasi gen ketahanan *Xa4* dan *Xa7* menunjukkan respons tahan pada kedua fase, sedangkan tetua donor Angke yang membawa kombinasi gen ketahanan *Xa4* dan *xa5* menunjukkan respons tahan pada kedua fase, dan tetua galur IRBB21 yang membawa gen ketahanan tunggal *Xa21* menunjukkan respon agak tahan pada fase bibit dan tahan pada fase dewasa. Tetua Ciherang menunjukkan respons agak tahan pada fase bibit dan peka pada fase dewasa. Tetua Inpari 13 menunjukkan respons peka pada fase bibit dan agak tahan pada fase dewasa. Pada tanaman BC₃F₂ Inpari 13 diperoleh individu tahan sebanyak 82% pada fase bibit dan 89% pada fase dewasa. Pada tanaman BC₃F₂ Ciherang diperoleh individu tahan sebanyak 97% pada fase bibit dan 93,5% pada fase dewasa dan tidak terdapat individu yang peka pada fase bibit.

Analisis molekuler dilakukan pada BC₃F₂ Ciherang sebanyak 736 individu dan pada BC₃F₂ Inpari 13 sebanyak 731 individu. Berdasarkan analisis *foreground* dengan tiga gen ketahanan (*xa5, Xa7,* dan *Xa21*) pada BC₃F₂ Ciherang diperoleh 8 individu terpilih atau sebesar 1,1%, yaitu C2.86, C2.117, C4.1, C5.37, C5.63, C7.9, C7.26, dan C7.28; pada galur BC₃F₂ Inpari 13 diperoleh 10 individu terpilih (1,4%) yaitu A1.30, A1.51, A3.11, A4.2, A4.26, A4.27, A4.35, A4.52, A4.71, dan A12.18. Galur-galur tersebut telah dikonfirmasi secara fenotipe termasuk dalam skor tahan. Selanjutnya individu ini terpilih sebagai individu yang dilanjutkan pada pembentukan BC₃F₃ di Kuningan.

Lokasi yang digunakan untuk pertanaman galur-galur piramida Ciherang dan Inpari 13 berada di KP Kuningan, Jawa Barat, dengan luasan sekitar 2.500 m². Benih padi galur piramida telah dipersiapkan sebanyak 174 galur (77 galur Ciherang-HDB dan 96 galur Inpari 13-HDB) dan 8 kontrol (Code, Angke, IRBB21, Ciherang, Inpari 13, IR64, Inpari HDB dan Inpari 32). Berdasarkan pengamatan serangan Hawar Daun Bakteri pada galurgalur Ciherang-HDB dan Inpari 13-HDB terlihat seluruh tanaman dalam fase bibit maupun dewasa memiliki skor 0 (tidak mengalami serangan) sedangkan Ciherang adalah skor 3 (Agak Tahan) dan Inpari 13 adalah skor 5 (Agak Rentan).

Karakter agronomi pada rata-rata galur-galur BC₁F₃, BC₂F₄ dan BC₃F₃ Ciherang di KP Kuningan tidak berbeda nyata dengan tetua Ciherang. Hal ini mengindikasikan bahwa latar belakang genetik untuk tetua penerima Ciherang diduga masih terpelihara terutama dalam karakter genotipe yang mengendalikan sifat-sifat agronomi terutama terkait hasil panen sehingga potensi produktivitas hasil yang besar pada Ciherang tetap terpelihara dengan baik (Gambar 15).



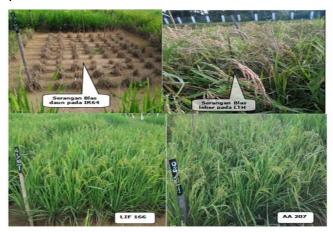
Gambar 15. Histogram potensi hasil galur-galur. A = Ciherang-HDB dibanding dengan tetua Ciherang dan varietas lain, B = Inpari 13-HDB dibandingkan dengan tetua Inpari 13 dan varietas lain.

Karakter agronomi pada galur-galur BC₁F₃, BC₂F₄ dan BC₃F₃ Inpari 13 berbeda nyata pada jumlah gabah isi dan jumlah gabah hampa dengan jumlah gabah hampa lebih sedikit dibandingkan tetua Inpari 13 sedangkan tidak berbeda nyata pada karakter tinggi tanaman, jumlah malai, panjang malai, bobot gabah isi dan bobot total benih namun galur-galur piramida tersebut memberikan nilai yang lebih tinggi.

3. Perakitan galur unggul padi yahan penyakit blas (*Pyricularia oryzae*) berdasarkan seleksi berbasis marka molekuler

Evaluasi tingkat ketahanan blas dilakukan di rumah kaca BB Padi Muara untuk menyeleksi populasi uji BC₃F₄ dengan menggunakan 6 ras dan 1 isolat yang mampu membedakan respons ketahanan kedua tetua, Situ Patenggang dan IRBL. Empat galur tahan dengan ke tujuh ras atau isolat, dan enam galur tahan terhadap 6 ras. Tiga galur tahan terhadap 5 ras, lima galur tahan terhadap 4 ras, dan 2 galur tahan terhadap 3 ras. IRBLi-F5 tahan terhadap 3 ras 133, 173 dan 001, IRBLkp-k60 tahan terhadap ras 133, 033, 173, dan IRBLa-A tahan terhadap isolat STP. Situ Patenggang sebagai tetua pemulih tahan terhadap 3 ras, sedangkan tetua donor IRBLta2-Re hanya tahan terhadap ras 133.

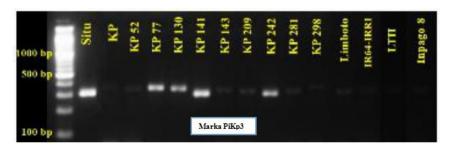
Hasil uji di pengamatan di KP Taman Bogo, Lampung menunjukkan bahwa ketahanan galur-galur uji terhadap serangan patogen blas (inokulum alami Lampung) skornya antara 1–2 dan pada varietas kontrol skornya bervariasi antara 1–5. Dari total 20 galur dan 16 varietas kontrol, beberapa tanaman kontrol menunjukkan skor 4–5 (bersifat peka), yaitu: IRBLtaRe, IRBla-A, IR64, Kencana Bali, Situ Bagendit, Inpari Blas, Inpari 10. Varietas kontrol IR64 umur 90 HST sudah mati, yang menunjukkan bahwa serangan blas di lokasi pengujian Taman Bogo lampung sangat maksimal. Situ Patenggang, Inpago 4 dan 6, Limboto, dan Batutegi menunjukkan skor 1 (T) dan dihasilkan 18 galur dengan skor 1 (T) serta tiga galur memiliki skor 2 (MT). Keragaan respons ketahanan galur-galur uji di lapang seperti pada Gambar 16.



Gambar 16. Keragaan respons ketahanan galur-galur uji di lapang gogo Taman Bogo Lampung umur 82 hari pada IR64 yang puso oleh serangan blas daun.

Seleksi *foreground* dilakukan dengan menganalisis pola genotipe galur-galur uji menggunakan marka STS terkait gen target, yaitu *Pii, Pita, Pikp*, dan *Pia,* dengan tujuan untuk menyeleksi galur-galur tahan yang memiliki pola genotipe sesuai dengan tipe tetua donor (varietas monogenik, IRBL). Sebanyak 18 galur menunjukkan 95% telah homozigot

dengan tetua IRBL. Masih ada 8 galur yang memiliki tipe genotipe heterozigot pada populasi Situ Patenggang × IRBLi dan Situ Patenggang × IRBLkp. Dua belas galur sudah menunjukkan homozigot dengan tetua donor IRBL berdasarkan gen spesifik terkait blas yaitu TA-17, TA-22,LIF-24, LIF-141, LIF-166, LIF-170, LIF-197, KP-52, KP-130, KP-298, AA-207 dan AA-253.



Gambar 17. Keragaan tipe genotipe beberapa galur uji yang dianalisis menggunakan marka STS terkait gen *Pita* 403, *Pia1*, *Pii3*, dan *Pikp*3 untuk seleksi *foreground*.

Sebanyak 18 galur unggul dengan skor serangan blas 1 (T) baik di lapang dan rumah kaca, tinggi tanaman, jumlah anakan, umur berbunga dengan hasil rata-rata umur panen berkisar 75–91 HST, gabah isi, produksi bobot 1000 butir dan pengukuran gabah hampa, telah mewarisi sifat fenotipe dari tetua pemulih Situ Patenggang. Ke-18 galur terpilih dengan urutan potensi lebih unggul yaitu LIF-8, LIF-175, AA-207, LIF-170, LIF-141, LIF-24, LIF-197, KP-130, TA-17, LIF-166, KP-143, KP-242, KP-281, AA-253, TA-22, KP-52, KP-77, dan KP-209.

Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa mutu fisik beras pada 2 galur TA, 6 galur LIF di kelas III dan 1 galur di kelas IV, pada galur KP terdapat 4 galur di kelas III, 3 galur di kelas IV, dan 1 galur di kelas V, dan pada galur AA terdapat 1 galur di kelas III dan 1 galur di kelas V. Sedangkan tetua Situ Patenggang berada pada kelas IV. Sebanyak 15 galur harapan bersifat pulen,4 galur bersifat sedang, sedangkan tetua Situ Patenggang bersifat pulen.

Analisis keragaan genotipe menggunakan set marka 384 SNP-chip-2014 (sebagai marka *background*) juga dilakukan untuk menseleksi galur-galur yang memiliki tipe genotipe sesuai dengan tetua Situ Patenggang. Secara garis besar pola genotipe, lebih dari 50% dari galur-galur uji telah sesuai dengan tetua Situ Patenggang. Persentase kesesuaian dengan tetua pemulih yang mencapai 100% pada galur galur uji dari keempat populasi terletak di kromosom 1 (marka <u>TBGI000841</u>) dan kromosom 4 (TBG1212947). Persentase kesesuaian dengan tetua pemulih pada set galur-galur uji pada kromosom 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 bervariasi yaitu mencapai 95,2% sampai 100% pada 4

populasi. Pada analisis asosiasi menunjukkan bahwa pada marka *SNP* ini memiliki asosiasi yang bersifat signifikan (p-value $\leq 0,05$).

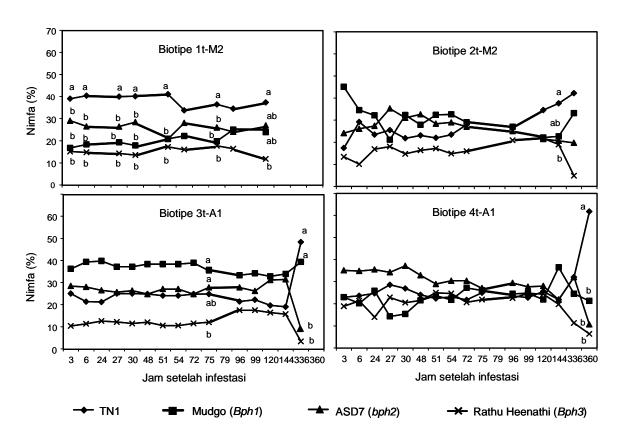
4. Identifikasi struktur populasi wereng batang cokelat berdasarkan marka SSR

Beberapa populasi wereng batang cokelat (WBC) dengan kategori virulensi telah diseleksi beberapa kali (Tabel 14). Konfirmasi virulensi biotipe tentatif menggunakan metode skrining massal menunjukkan bahwa biotipe 4t-A1 memiliki virulensi seperti biotipe 4, yakni virulen terhadap TN1, Mudgo, dan ASD7, sedangkan ketiga populasi biotipe tentatif lainnya memiliki virulensi seperti biotipe 4 atau lebih ganas dari biotipe 4. Pola preferensi inang nimfa imago keempat biotipe tentatif terlihat bervariasi antar waktu pengamatan (Gambar 18). Pola preferensi inang tersebut mengindikasikan bahwa hanya biotipe 1t-M2 yang memiliki karakter virulensi seperti biotipe 1, yakni hanya menyukai TN1 pada hampir semua waktu pengamatan. Pengujian virulensi menggunakan metode ketiga, yakni pemeliharaan nimfa pada bibit empat varietas diferensial selama 15 hari, memperlihatkan tidak ada perbedaan berat kering yang nyata antar imago tiap kelompok biotipe tentatif. Diduga metode evaluasi ini kurang dapat membedakan variasi virulensi WBC. Hasil pengujian virulensi yang saling bertentangan antar ketiga metode menunjukkan adanya variasi virulensi individual yang lebar dalam tiap kelompok biotipe tentatif.

Tabel 14 Seleksi virulensi wereng batang cokelat (WBC) pada varietas penyeleksi Mudgo (*Bph1*) dan ASD7 (*bph2*).

Tahap	Populasi WBC yang		Varietas	Avirulen	Virulen	Intermediate
seleksi	diseleksi	n	penyeleksi	(embun madu <10 mg)	(embun madu >20 mg)	(10 mg≤embun
T	Populasi lapang (S1)	285	Mudgo (<i>Bph1</i>)	146 (51%) ^a	92 (32%) ^b	madu≤20 mg) 47 (17%)
				-	` ,	• •
II	Campuran biotipe 1	163	ASD7 (<i>bph2</i>)	107 (66%) ^c	35 (22%) ^d	21 (13%)
	tentatif (t) dan biotipe 3t Campuran biotipe 2t dan biotipe 4t	148	Mudgo (<i>Bph1</i>)	109 (74%) ^e	15 (10) ^f	24 (16%)
III	Biotipe 1t	31	Mudgo	24 (77%) ^g	4 (13%)	3 (10%)
	Biotipe 2t	38	Mudgo	19 (50%)	8 (21%) ^h	11 (29%)
	Biotipe 3t	53	ASD7	25 (47%)	21 (40%) ⁱ	7 (13%)
	Biotipe 4t	108	ASD7	83 (77%)	16 (15%) ^j	9 (8%)
IV	Biotipe 1t-M1	63	Mudgo	53 (84%) ^k	5 (8%)	5 (8%)
	Biotipe 2t-M1	61	Mudgo	41 (67%) ^l	14 (23%)	6 (01%)

^acampuran biotipe 1t dan 3t; ^bcampuran biotipe 2t dan 4t; ^cbiotipe 1t; ^dbiotipe 3t; ^ebiotipe 2t; ^fbiotipe 4t; ^gbiotipe 1t hasil seleksi ke-1 pada Mudgo (=biotipe 1t-M1); ^hbiotipe 2t hasil seleksi ke-1 pada Mudgo (=biotipe 2t-M1); ^jbiotipe 3t hasil seleksi ke-1 pada ASD7 (=biotipe 3t-A1); ^jbiotipe 4t hasil seleksi ke-1 pada ASD7 (=biotipe 4t-A1); ^kbiotipe 1t hasil seleksi ke-2 pada Mudgo (=biotipe 1t-M2); ^hbiotipe 2t hasil seleksi ke-2 pada Mudgo (=biotipe 2t-M2).



Gambar 18. Pola preferensi inang oleh nimfa dan imago empat biotipe tentatif terhadap varietas diferensial TN1, Mudgo, ASD7, dan Rathu Heenathi.

Dari set 37 marka SSR yang dikembangkan pada TA 2013–2015, enam diantaranya tidak konsisten mengamplifikasi DNA keempat biotipe tentatif sehingga diganti dengan 6 marka SSR polimorfik lainnya. Skrining 72 primer SRAP mendapatkan 24 marka polimorfik. Jumlah total alel pada keempat biotipe tentatif berkisar dari 25–30. Jumlah alel total dan nilai *polymorphic information content* (PIC) pada keempat biotipe tidak berbeda nyata, sedangkan heterosigositas yang teramati (H_o) pada biotipe 2t-M2 adalah yang paling rendah dibandingkan pada ketiga biotipe tentatif lainnya (*P*<0,05).

Pada plot PCoA seluruh individu biotipe 1t-M2 mengelompok terpisah dari ketiga biotipe tentatif lainnya. Pengelompokan biotipe 1t-M2 mendukung hasil pengujian preferensi inang, dimana populasi ini nyata lebih menyukai TN1 dibandingkan dengan varietas diferensial lainnya. Tersebarnya individu-individu biotipe 2t-M2, 3t-A1, dan 4t-A1 dalam plot PcoA mungkin konsisten dengan keragaman virulensi antar individu yang lebih tinggi dalam ketiga populasi dibandingkan dengan keragaman virulensi antar individu yang terdapat pada biotipe 1t-M2.

5. Pembentukan galur-galur induk (Near-Isogenic lines) padi tahan wereng batang cokelat berbasis marka gen *Bph*

Analisis SSR pada populasi BC_5F_1 asal persilangan Pelita I/1 dengan Rathu Heenati diperoleh 64 tanaman heterozigot untuk alel RM589 dan alel RM190 dari 204 sampel yang dianalisis. Dari 64 tanaman heterozigot tersebut terpilih 33 sampel tanaman yang disilang balik ke Pelita I/1 dan menghasilkan benih BC_6F_1 sejumlah 3.164 butir. Sedangkan analisis SSR pada populasi BC_6F_1 asal persilangan yang sama diperoleh 169 sampel tanaman heterozigot untuk kedua alel dari 452 sampel tanaman yang dianalisis. Dari 169 tanaman heterozigot tersebut terpilih 25 sampel tanaman yang disilang-sendiri (*selfing*). Dari 25 sampel tanaman yang diselfing tersebut terpilih 5 tanaman berpenampilan terbaik dan menghasilkan benih BC_6F_2 sejumlah 11.794 butir.

Analisis SSR pada populasi BC_5F_1 asal persilangan Pelita I/1 dengan Swarnalata diperoleh 45 tanaman heterozigot untuk alel RM5742, RM6997 dan RM16994 dari 157 sampel yang dianalisis. Dari 45 tanaman heterozigot tersebut terpilih 25 sampel tanaman yang disilang balik ke Pelita I/1 dan menghasilkan benih BC_6F_1 sejumlah 4.332 butir. Sedangkan analisis SSR pada populasi BC_6F_1 asal persilangan yang sama diperoleh 94 sampel tanaman heterozigot untuk ketiga alel dari 300 sampel tanaman yang dianalisis. Dari 94 tanaman heterozigot tersebut terpilih 24 sampel tanaman yang disilang-sendiri. Dari 24 sampel tanaman yang disilang-sendiri tersebut terpilih 5 tanaman berpenampilan terbaik dan menghasilkan benih BC_6F_2 sejumlah 17.679 butir.

Hasil pengamatan terhadap beberapa karakter agronomi antara lain umur berbunga, panjang malai, jumlah biji isi, jumlah biji hampa dan total jumlah malai terhadap lima individu terpilih dari populasi BC_6F_1 asal persilangan Pelita I/1 dengan Rathu Heenati menunjukkan bahwa umur berbunga relatif lebih pendek dari tetuanya yaitu Pelita I/1. Untuk jumlah biji isi relatif lebih tinggi dibanding tetuanya sedangkan untuk jumlah malai masih lebih rendah dari tetuanya (Tabel 15). Jumlah biji tertinggi terdapat pada sampel PRA-84 dan akan diteruskan untuk ditanam menghasilkan benih BC_6F_3 .

Tabel 15. Hasil pengamatan beberapa karakter agronomi penting pada lima rumpun terpilih populasi BC_6F_1 asal persilangan Pelita I/1 dengan Rathu Heenati.

No	Nomor Lapang	Nomor Galur	Rerata panjang malai	Rerata jumlah biji isi	Rerata jumlah biji hampa	Jumlah malai	Umur berbunga (hari)
1	PRA-81	BC ₆ F ₁ P/R 28- 30-2-24-28-81	30,2	205	27,7	16	95
2	PRA-84	BC ₆ F ₁ P/R 28- 30-2-24-28-84	29,7	228	23	20	92
3	PRC-7	BC ₆ F ₁ P/R 30- 64-13-26-21-7	29,4	224,7	27	16	95
4	PRE-36	BC ₆ F ₁ P/R 28- 30-2-33-5-36	29,4	185,3	28,7	17	98
5	PRF-4	BC ₆ F ₁ P/R 28- 30-2-11-2-4	30,1	224,7	15,7	20	89
6	Pelita I/1		29,15	185,8	24,3	27	101-113

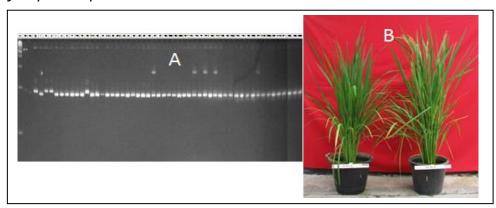
Hasil pengamatan terhadap beberapa karakter agronomi terhadap lima individu terpilih dari populasi BC_6F_1 asal persilangan Pelita I/1 dengan Swarnalata menunjukkan bahwa umur berbunga dan jumlah malai relatif sama dengan tetuanya yaitu Pelita I/1, sedangkan untuk jumlah biji isi rata-rata lebih tinggi dibanding tetuanya. Jumlah biji tertinggi terdapat pada sampel PSD-8 dan akan diteruskan untuk ditanam menghasilkan benih BC_6F_3 . Karakter kehampaan populasi BC_6F_1 asal silangan Pelita I/1 Rathu Heenati lebih tinggi dibandingkan dengan populasi BC_6F_1 asal silangan Pelita I/1 dengan Swarnalata. Hal ini disebabkan tetua Rathu Heenati mempunyai karakter kehampaan lebih tinggi dibanding tetua Swarnalata.

6. Perakitan galur padi introgresi unggul tahan WBC berbasis MABC

Observasi Daya Hasil (ODH) dilakukan terhadap 315 galur BC₃F₄ yang membawa gen *Bph6* dengan latar belakang genetik Ciherang yang tinggi dengan varietas pembanding Ciherang dan Inpari13 yang ditanam setiap 15 galur uji. Dari data agronomi yang diamati terhadap galur-galur uji, *phenotypic acceptabilty* digunakan sebagai kriteria awal untuk pemilihan galur dan terpilih 80 galur yang memiliki penampilan yang baik terutama dari segi keseragaman tanaman, keserempakan pembungaan, dan keragaan visual. Selanjutnya, galur diseleksi berdasarkan hasil gabah kering per petak dan terpilih 35 galur yang memiliki hasil per petak terbaik berdasarkan hasil plot ulangan Ciherang yang memiliki nilai terkecil (1.791 g/petak) untuk uji daya hasil pendahuluan. Dari tabel

tersebut secara umum terlihat kisaran galur-galur terpilih melingkupi nilai Ciherang dan Inpari13 sehingga diharapkan terdapat galur-galur yang memiliki sifat-sifat yang menyamai Ciherang sebagai tetua yang diperbaiki sifat ketahanannya terhadap wereng batang cokelat.

Konfirmasi galur pembawa gen *Bph6* dilakukan terhadap 35 galur terpilih dengan menggunakan marka RM5472 dan RM16994 (Gambar 19A). Dari hasil analisis DNA dengan kedua marka tersebut terlihat hampir seluruh galur memiliki alel gen *Bph6* dari Swarnalata dan hanya tiga galur yang menunjukkan alel Ciherang, yaitu nomor 1a (BC₃F₄-17-95a), 3 (BC₃F₄-5t-100), dan 20 (BC₃F₄-5t-106). Galur-galur terpilih tersebut digunakan untuk uji daya hasil pendahuluan.



Gambar 19. Analisis molekuler dan keragaan tanaman galur terpilih. A = konfirmasi galur pembawa gen Bph6 menggunakan marka RM5472, B = tanaman CS BC_3F_3 dan PR BC_5F_1 bahan persilangan untuk membentuk F_1 "

Pembentukan tanaman "F₁" dilakukan dengan menyilangkan BC₃F₃ hasil persilangan Ciherang dengan Swarnalata yang membawa alel gen *Bph6* dan BC₅F₁ hasil persilangan Pelita I-1 dengan Rathu Heenati yang membawa alel gen *Bph3*. Tanaman BC₃F₃ pembawa alel gen *Bph6* merupakan tanaman homizigot untuk gen tersebut sehingga tidak perlu dilakukan konfirmasi menggunakan marka molekuler. Tanaman BC₅F₁ pembawa alel gen *Bph3* bersifat heterozigot dari persilangan sebelumnya sehingga perlu dilakukan konfirmasi menggunakan marka molekuler untuk mengidentifikasi individu-individu tanaman yang membawa alel gen tahan *Bph3* dari Rathu Heenati. Konfirmasi dilakukan dengan menggunakan dua marka pengapit gen tersebut, yaitu RM589 dan RM190. Individu-individu tanaman yang membawa alel gen *Bph3* dipilih untuk bahan persilangan dapat dilihat pada Gambar 19B.

Benih F_1 ditanam untuk disilang-balikkan dengan Ciherang membentuk benih BC_1F_1 . Konfirmasi dengan marka molekuler dilakukan untuk mengidentifikasi tanaman F_1 yang membawa alel gen *Bph3* dan *Bph6*. Konfirmasi untuk alel gen *Bph3* menggunakan marka pengapit RM589 dan RM190 sedangkan untuk alel gen *Bph6* menggunakan marka pengapit RM16994 dan RM5742. Dari hasil persilangan 15 Tanaman F_1 dengan Ciherang dihasilkan benih BC_1F_1 sebanyak 506 bulir.

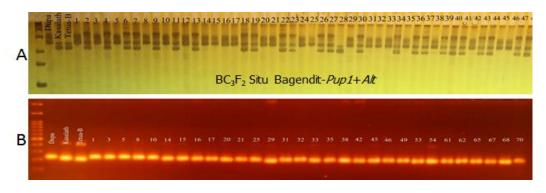
7. MAS padi efisien fosfor (*Pup1*) dan toleran Aluminium (*Alt*) : seleksi rumah kaca dan lapang galur-galur hasil persilangan

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih-benih BC_3F_2 yang mengandung lokus Pup1 dan lokus Alt (BC_3F_2 Dodokan-Pup1+Alt, BC_3F_2 Situ Bagendit-Pup1+Alt, BC_3F_2 Batur-Pup1+Alt). Seleksi tanaman BC_3F_2 ini dimaksudkan untuk menyaring tanaman berdasarkan penampilan akar di larutan Yoshida. Akar-akar yang panjang dipilih untuk ditanam di ember. Larutan hara Yoshida yang digunakan adalah larutan hara dengan konsentrasi final Al^{3+} sebesar 60 ppm, sedangkan konsentrasi P (PO_4^{2-}) yang digunakan sebesar 0,5 ppm (normalnya 10 ppm). Penampilan galur-galur Pup1+Alt hasil uji larutan hara Yoshida dapat dilihat dalam Gambar 20.



Gambar 20. Penampilan tanaman BC₃F₂ Situ Bagendit-*Pup1+Alt* setelah diuji dalam larutan Yoshida 65 ppm Al dan 0,5 ppm P

Materi yang dipakai pada percobaan ini adalah tanaman BC₃F₂ tiga populasi persilangan hasil seleksi menggunakan larutan hara Yoshida. Tanaman yang telah berumur dua minggu setelah dipindah ke dalam ember diambil daunnya untuk diisolasi DNAnya. Marka *foreground* yang digunakan adalah marka yang merujuk pada lokus *Alt* pada kromosom 1. Marka tersebut adalah RM12031 dan RM1361. Contoh hasil seleksi foreground dapat dilihat dalam Gambar 21A untuk *Alt* dan Gambar 21B untuk *Pup1*. Individu yang terpilih adalah yang memiliki pita homozigot untuk marka *foreground Alt* dan memiliki jumlah anakan total tertinggi. Masing-masing populasi diambil tiga puluh tanaman terbaik untuk dibiarkan menyerbuk sendiri sampai diperoleh benih BC₃F₃.



Gambar 21. Contoh hasil amplifikasi tanaman BC_3F_2 menggunakan marka molekuler. A = marka foreground Alt (RM12031), B = marka foreground untuk Pup1 (K46-2). Tetua-A = Dodokan, tetua-B = Situ Bagendit, dan tetua-C = Batur

Analisis *background* ini menggunakan materi masing-masing tiga puluh galur BC₃F₂ yang telah terpilih berdasarkan analisis menggunakan marka *foreground* dan berdasar jumlah anakan terbanyak. Berdasarkan hasil analisis *foreground* untuk galur BC₃F₂ Dodokan-*Pup1+Alt* hanya bisa diperoleh 25 dari 140 tanaman (17,86%), untuk galur BC₃F₂ Situ Bagendit-*Pup1+Alt* diperoleh 47 dari 140 tanaman (31,33%), untuk galur BC₃F₂ Batur-*Pup1+Alt* diperoleh 18 dari 139 tanaman (12,95%). Sedikitnya tanaman yang terpilih menunjukkan pada kondisi homozigot untuk kedua marka pada lokus *Alt* lebih sulit diperoleh dibanding dengan kondisi heterozigot. Tanaman inilah yang digunakan untuk analisis *background*.

8. Perakitan galur unggul toleran keracunan Fe berdasarkan seleksi berbasis marka molekuler

Pada analisis persentase butir merah, terlihat bahwa seluruh galur turunan IR42 dan IR64 telah memenuhi standar mutu I (maksimal 0%). Berdasarka mutu fisik dan giling, 35 galur memiliki rerata yang nilainya cenderung mendekati nilai pada kontrol tetua dan beberapa karakter cenderung memiliki nilai standar deviasi kecil. Dari 35 galur terpilih yang toleran cekaman keracunan Fe dan 6 varietas kontrol tetua mendominasi pada mutu IV sesuai standar mutu fisik beras dan giling berdasarkan SNI No. 01-6128-1999. Hasil karakterisasi mutu tanak dari 35 galur memiliki rerata yang nilainya cenderung mendekati nilai pada kontrol tetua dan beberapa karakter cenderung memiliki nilai standar deviasi kecil. Semakin tinggi kadar amilosa maka semakin panjang lelehan gelnya dan kadar proteinnya tinggi sehingga tekstur nasinya pera dan sebaliknya.

Berdasarkan kadar amilosa dan tekstur nasi, galur-galur toleran cekaman Fe turunan tetua Inpara 3 memiliki tekstur nasi pulen dan pera. Delapan galur memiliki kadar amilosa dan tekstur nasi pera, sama dengan kontrol tetua inpara 3 yaitu galur no: 94 (B13988E-KA-20-a), 96 (B13988E-KA-40), 97 (B13988E-KA-41), 105 (B13134-4-MR-1-

KA-1-c), 106 (B11377F-M-34-2), 73 (B14357E-KA-27), 83 (B13925E-KA-1-a) 64 (B14354E-KA-4). Enam galur yang lain memiliki kadar amilosa yang lebih rendah dari varietas Inpara 3 dan tekstur nasi pulen, yaitu galur nomor 2 (B14299E-KA-50-a), 27 (B14315E-KA-1), 29 (B14315E-KA-14), 68 (B14354E-KA-8-a), 26 (B14311E-KA-34-b) dan 107 (IR70213-10-CPA-2-UBN-B-1-1-3).

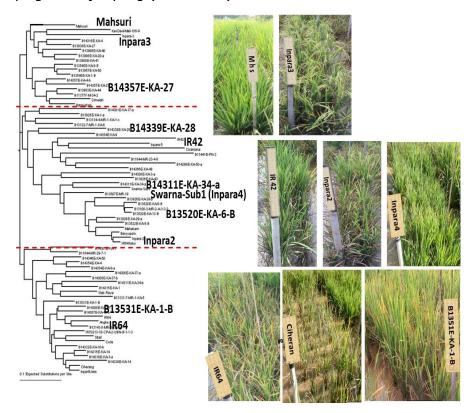
Dari 5 galur hasil persilangan dengan salah satu tetuanya, Ciherang terdapat 3 galur : 86 (B13926E-KA-29), 87 (B13926E-KA-29), 109 (B13507E-MR-19) yang memiliki tekstur nasi pulen dengan kadar amilosa rendah. Empat galur turunan Inpara 2 hanya 1 galur yang mengikuti tetua yaitu G-14 dengan tekstur nasi pulen. Semua galur turunan tetua IR42, yaitu galur nomor : 37 (B14332E-KA-10), 53 (B14339E-KA-14), 56 (B14339E-KA-28) memiliki tekstur nasi yang sama dengan tetua yaitu pera dengan kadar amilosa tinggi. Sedangkan semua galur turunan tetua IR64, yaitu galur nomor : 115 (B13522E-KA-5-B) dan 116 (B13531E-KA-1-B) memiliki tekstur nasi yang sama dengan tetuanya yaitu pulen.

Marka STS terkait gen untuk uji foreground (*OsIRT1, OsIRT2* dan *OsNAS.*) yang didesain secara stabil bersifat polimorfis pada varietas toleran dan peka. Terdapat variasi tipe genotipe berdasarkan polimorfismenya antara genotipe varietas tahan dan peka. Pada lokus *OsIRT1.2* terdeteksi tipe genotipe sesuai varietas tahan Mahsuri yang lebih dominan dibanding tipe genotipe sesuai varietas peka, IR64. Sedangkan pada lokus *OsNAS1*, tipe Mahsuri lebih dominan dibanding pada lokus *OsNAS2*.

Hasil analisis asosiasi menunjukkan bahwa marka *Os-FRO2* berasosiasi dengan parameter utama karakter toleran keracunan Fe, yaitu bronzing, baik pada pengamatan saat stadia tanaman 4 MST maupun 8 MST dan karakter panjang akar. Gen *FRO* (*Fe*³⁺ *chelate reductase*) adalah gen yang berperan dalam regulasi penyerapan Fe²⁺ melalui pembebasan proton oleh akar sehingga terjadi reduksi ion Fe³⁺menjadi Fe²⁺sehingga dapat terserap tanaman. Dua marka yang lain, yaitu *Os-IRT2* dan *Os-NAS2* berasosiasi dengan karakter jumlah anakan total, anakan produktif dan jumlah gabah isi/malai (*Os-IRT2*) serta umur berbunga (*Os-NAS2*).

Disamping marka STS, dikembangkan juga marka SNAP yang didesain berdasarkan marka SNP (set 384-SNP, 2014) dimana signifikan dengan karakter toleran keracunan Fe, berdasar hasil penelitian sebelumnya. Analisis genotyping menggunakan marka FeSNAP dilakukan pada set sampel nomor genotipe yang sama dengan sampel yang digunakan untuk anlisis phenotyping dan genotyping menggunakan marka SNP. Tujuannya disamping untuk analisis *background* genetik dari galur-galur uji juga untuk mendapatkan marka *based gen*e sebagai bagian dari set marka *foreground*. Keragaman genotipe yang

diperoleh dari analisis ini selanjutnya digunakan untuk analisis asosiasi dengan data fenotiping hasil uji lapang (Gambar 22).



Gambar 22. Dendrogram keragaman genetik galur-galur uji berdasarkan keragaman genotipe.

Beberapa marka SNAP bersifat signifikan terhadap karakter agronomi tertentu hasil karakterisasi baik di lahan rawa dengan cekaman kadar Fe yang tinggi maupun di lahan rawa normal. FeSNP38 dan FeSNAP40 berasosiasi dengan bobot akar dari galur-galur yang dikarakterisasi baik di lahan rawa dengan kadar Fe tinggi. Beberapa marka diidentifikasi signifikan terkait dengan karakter: mutu fisik gabah, mutu fisik beras, mutu tanak beras dan organoleptik, yang tersebar di kromosom 1, 3, 4, 6, 7, 11 dan 12. Keempat tipe marka (STS, SSR, Indel dan SNP) yang digunakan, STS menunjukkan marka yang lebih banyak berasosiasi dengan trait pada empat karakter mutu beras, kemudian diikuti dengan SSR dan Indel. Gen-gen dari marka STS, SSR, dan Indel yang signifikan berasosiasi dengan karakter mutu beras diantaranya: *SS1*, *SssIIa*, *SBE1*, *GPA*, *S3cI*, *PUL*, *AgIuF*, *MADb*, dan *HPb*.

9. Aplikasi marka berbasis gen untuk pengembangan galur padi aromatik pengembangan galur padi merah aromatik

Pada kegiatan pengembangan galur-galur padi merah yang membawa karakter aromatik, analisis molekuler untuk mendeteksi galur-galur heterozigot yang membawa alel aromatik yang berasal dari tetua Mentik Wangi telah selesai dilakukan. Sebanyak 67

galur dari 128 galur BC₁F₁-Cendana/Mentik Wangi telah diperoleh membawa alel aromatik yang berasal dari donor Mentik Wangi. Introgresi karakter aromatik pada populasi tersebut ditunjukkan oleh pola pita DNA heterozigot saat diamplifikasi menggunakan primer spesifik terhadap karakter aroma, yaitu primer Badburry (primer BADH2).

Uji Daya Hasil Pendahuluan (UDHP) dilakukan terhadap 17 galur padi aromatik generasi BC₅F₆ yang terdiri dari delapan galur BC5F₆ dari persilangan antara Ciherang dan Pandan Wangi dan sebanyak sembilan galur dari persilangan antara Ciherang dan Mentik Wangi. Pada kegiatan UDHP di lahan percobaan Subang, sebanyak enam galur padi aromatik telah terseleksi sebagai galur unggul yang potensial dievaluasi lebih lanjut pada pengujian daya hasil lanjutan (UDHL) dan uji multi lokasi (UML). Dari enam galur yang terseleksi, tiga (3) dari masing-masing kombinasi persilangan (CP-1, CP-2, dan CP-8 merupakan turunan Ciherang/Pandan Wangi//Ciherang dan CM-2, CM-3, dan CM-5 merupakan turunan Ciherang/Mentik Wangi//Ciherang). Keenam galur tersebut diseleksi sebagai galur unggul Ciherang aromatik berdasarkan jumlah anakan per rumpun, panjang malai, hasil gabah, bobot 1000 butir, hari berbunga, dan umur panen .

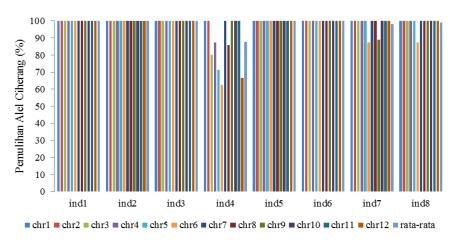
Survei primer dilakukan untuk menentukan primer-primer yang dapat membedakan kedua tetua persilangan atau lebih dikenal sebagai primer yang bersifat polimorfik pada kedua tetua. Primer polimorfik yang diperoleh digunakan dalam analisis latar belakang genetik (*background genetic analysis*) galur-galur padi BC₅F₆ yang telah terseleksi membawa gen aromatik. Sebanyak 121 primer yang digunakan pada penelitian ini, sebanyak 68 primer (56,19%) polimorfik terhadap Ciherang dan Pandan Wangi. Sedangkan antara Ciherang dan Mentik Wangi, jumlah primer polimorfik yang diperoleh jauh lebih kecil, yaitu sebanyak 11 primer (9,09%). Rendahnya jumah primer polimorfik yang dihasilkan diantara tetua persilangan pada pada populasi Ciherang-Pandan Wangi dibandingkan dengan tetua dari populasi Ciherang-Mentik Wangi mengindikasikan hubungan genetik antara Ciherang dan Mentik Wangi lebih dekat dibanding dengan hubungan genetik antara Ciherang dan Pandan Wangi.

Seleksi latar belakang genetik untuk menghitung persentase pengembalian genom tetua *recurrent* (Ciherang) pada galur-galur BC₅F₆ telah dilakukan dengan analisis PCR. Pada populasi BC₅F₆-Ciherang/Pandan Wangi (CP), sebanyak 68 primer polimorfik, sedangkan pada populasi BC₅F₆-Ciherang/Mentik Wangi (CM), hanya sebanyak 11 primer polimorfik yang berhasil digunakan untuk mengidentifikasi persentase *genome recovery* dari Ciherang pada galur-galur yang terseleksi.

Berdasarkan ukuran pita DNA menunjukkan adanya galur-galur BC₅F₆ yang membawa alel Ciherang pada segmen kromosomnya.Persentase pemulihan genom

(genome recovery) tetua recurrent sangat penting untuk analisis seleksi background. Sebanyak 58 primer polimorfik yang tersebar mewakili seluruh kromosom padi digunakan untuk mengamplifikasi delapan individu galur BC₅F₆ populasi Ciherang-Pandan Wangi.

Persentase pemulihan genom alel Ciherang terhadap galur BC_5F_6 populasi Ciherang-Pandan Wangi mencapai 99% pada semua individu kecuali individu nomor 4, 7, dan 8. Namun, individu-individu tersebut masih memiliki nilai rata-rata persentase pemulihan genom yang cukup tinggi yaitu 87,82%, 98,03%, dan 98,96% (Gambar 23). Selanjutnya seleksi *background* tetua pemulih pada galur BC_5F_6 populasi Ciherang-Mentik Wangi dengan menggunakan 11 primer polimorfik. Rata-rata persentase pemulihan genom tiap sembilan individu galur BC_5F_6 populasi Ciherang-Mentik Wangi menjadi seragam sebesar 83,33%.



Gambar 23. Persentase alel Ciherang (*recovery ratio*) pada populasi BC₅F₆ hasil persilangan Ciherang dan Pandan Wangi.

PEMBENTUKAN GMO KOMODITAS PERTANIAN TOLERAN CEKAMAN BIOTIK DAN ABIOTIK

Seiring dengan peningkatan jumlah penduduk dalam rangka pemenuhan kebutuhan akan pangan maka produksi komoditas pertanian seperti seperti padi, kentang, jeruk, dan tebu secara nasional perlu ditingkatkan dan distabilkan untuk menjamin ketahanan pangan. Namun demikian, usaha untuk meningkatkan produksi komoditas-komoditas tersebut secara nasional masih menghadapi banyak kendala diantaranya adalah kendala biotik dan abiotik. Adanya perubahan iklim global menambah kekhawatiran dan tantangan ke depan di dalam peningkatan produktivitas tanaman pangan secara berkelanjutan. Di masa mendatang, perubahan iklim global secara ekstrim kemungkinan masih akan terus terjadi dan mengingat bahwa iklim adalah faktor eksternal yang mempengaruhi sistem metabolisme dan fisiologi tanaman maka perubahan iklim global tersebut akan berdampak buruk terhadap keberlanjutan pembangunan pertanian. Oleh karena itu, diperlukan langkah-langkah antisipatif dan strategik untuk menghadapinya.Dengan pendekatan rekayasa genetik, usaha pengembangan varietas tanaman toleran cekaman biotik dan abiotik sangat mungkin untuk dilakukan. Hal ini dapat dilakukan dengan memanfaatkan gen-gen yang bertanggung jawab terhadap karakter-karakter tersebut dan mengintroduksikannya ke tanaman target sehingga diperoleh tanaman-tanaman yang toleran terhadap cekaman biotik atau abiotik.

Efikasi ketahanan terhadap TYLCV dan CMV di LUT dan analisis molekuler galur-galur tomat hasil persilangan ganda yang berlatar genetik CL6046 Generasi F₅-IC

Efikasi ketahanan terhadap Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) dan Cucumber Mosaic Virus (CMV) dilakukan di LUT. Empat galur dikategorikan sebagai tahan terhadap kedua virus (intensitas penyakit di bawah 10%), yaitu F₅-IC-CL-34-2-2-C1-78, F₅-IC-CL-34-2-9-E2-2, dan F₅-IC-CL-34-2-9-E2-46. Keempat galur mempunyai nilai insiden dan intensitas penyakit di bawah rata-rata yang sebesar 10,68% dan 9,32%. Galur F₅-IC-CL-34-2-2-C1-78 tidak berbeda nyata dengan tetua tahan FLA456, sementara galur F₅-IC-CL-34-2-4-D1-46 dan F₅-IC-CL-34-2-9-E1-29 masing-masing menunjukkan respons agak rentan dan agak tahan. Galur F₅-IC-CL-34-2-4-D1-46 mempunyai nilai insiden dan intensitas penyakit yang paling tinggi. Tetua CL6046 dikategorikan agak tahan dan kontrol CL5915-93D4-1-0-3 yang merupakan cek peka TYLCV juga menunjukkan respon agak tahan (Tabel 27).

Tabel 16. Respons galur-galur tomat generasi F₅-IC pada pengujian ketahanan terhadap TYLCV dan CMV di LUT Balitsa.

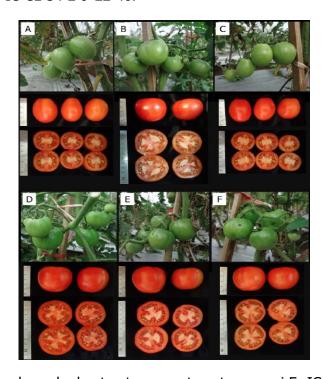
	Jun	nlah	Insiden	penyakit*	Inten	sitas	Vatagori	Positi	f PCR
Varietas/Galur	tana	man (%		%) penyakit		t* (%) Kategori ketahana		(%)	
	T	U	Т	U	T	U	Ketananan	Т	U
F5-IC-CL-34-2-2-C1-78	59	60	3,45 bc	0,00 c	2,59 bc	0,00 c	Tahan	23,0	58,0
F5-IC-CL-34-2-2-C2-3	54	57	7,48 bc	1,85 bc	6,77 bc	1,54 c	Tahan	38,0	63,0
F5-IC-CL-34-2-4-D1-46	58	60	35,00 a	15,92 abc	30,93 a	13,41 abc	Agak rentan	33,0	30,0
F5-IC-CL-34-2-9-E1-29	59	60	26,70 ab	14,17 abc	24,75 ab	11,39 abc	Agak tahan	30,0	60,0
F5-IC-CL-34-2-9-E2-2	53	59	6,89 bc	1,67 bc	5,57 bc	1,39 c	Tahan	50,0	45,0
F5-IC-CL-34-2-9-E2-46	59	58	7,56 bc	1,79 bc	7,56 bc	1,79 c	Tahan	25,0	35,0
FLA456	47	53	3,24 bc	0,00 c	2,88 bc	0,00 c	Tahan		
R8-110-11/ CMV-A	60	60	20,14 abc	18,49 abc	16,37 abc	15,26 abc	Agak tahan		
CL6046	60	60	15,10 abc	10,83 abc	12,61 abc	10,14 abc	Agak tahan		
CL5915-93D4-1-0-3	59	58	10,23 bc	12,93 abc	8,81 abc	12,69 abc	Agak tahan		
Rata-rata	57	58	13,58	7,77	11,88	6,76		33,2	48,5

Angka-angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf 5%.T = treated (inokulasi), U = untreated (noninokulasi). *Nilai kumulatif gejala tunggal dan gejala ganda.

Selain virus, turunnya hujan yang cukup intensif menyebabkan adanya serangan penyakit jamur hawar/busuk daun *Phytopthora* dan layu *Fusarium*. Kedua jamur terutama menginfeksi tetua FLA456 yang tahan virus dengan jumlah tanaman terserang dan mati terbanyak sebesar 23,66% (inokulasi) dan 6,60% (non inokulasi), sedangkan pada galurgalur uji hanya sebesar 0–0,86%. Pencegahan penyebaran penyakit dilakukan dengan melakukan aplikasi fungisida kontak dan sistemik, memangkas daun dan batang yang menunjukkan gejala, serta menjaga kebersihan lahan LUT.

Dari analisis hasil pengamatan (DMRT pada taraf 5%), diketahui bahwa penampilan agronomis generasi F₅-IC cukup beragam. Tinggi tanaman, umur berbunga, dan jumlah buah per tandan rata-rata masing-masing adalah 94,34 cm, 59,02 hari, dan 5,04 buah. Sementara itu, jumlah buah per tanaman, bobot buah (produksi), diameter buah, dan jumlah lokul buah rata-rata masing-masing adalah 18,80 buah, 856,91 g, 45,04 mm, dan 2,85 buah. Data warna buah muda, warna buah tua, juga bentuk buah dan ujung buah ditampilkan pada Gambar 24. Terdapat tanaman uji dalam galur yang sama yang masih menunjukkan profil buah yang beragam seperti pada galur F₅-IC-CL-34-2-2-C1-78 dan F₅-IC-CL-34-2-2-C2-3, namun beberapa galur telah mempunyai profil buah dominan seperti pada galur F₅-IC-CL-34-2-9-E2-2 dan F₅-IC-CL-34-2-9-E2-46. Sebagian besar buah yang dihasilkan berwarna oranye dan merah, seperti tetua R8-110-11/CMV-A dan CL6046, juga terdapat buah yang berwarna kuning seperti tetua FLA456.

Berdasarkan karakteristik buah, terdapat dua galur yang memiliki karakteristik yang lebih baik daripada galur lainnya, yaitu galur F_5 -IC-CL-34-2-9-E1-29 dan F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-2. Akan tetapi galur F_5 -IC-CL-34-2-9-E1-29 dikategorikan sebagai agak tahan terhadap kedua virus sehingga tidak dipilih untuk dilanjutkan pada kegiatan berikutnya. Sementara itu, meskipun galur F_5 -IC-CL-34-2-2-C1-78 memiliki potensi hasil yang tinggi, bentuk buahnya masih beragam dan karakter warna yang dimilikinya untuk saat ini kurang diminati oleh konsumen, sedangkan galur F_5 -IC-CL-34-2-2-C2-3 memiliki bentuk buah yang kurang diminati, daya simpan buah singkat (cepat menjadi lembek/lunak), dan daging buah tipis. Dua galur yang dapat dilanjutkan pengujiannya adalah galur F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-2 dan F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-46.



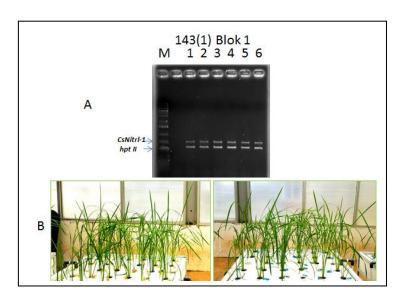
Gambar 24. Profil buah muda dan tua tanaman tomat generasi F₅-IC terpilih.

A = F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-2-T2E6, B = F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-2-T2E11, C = F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-2-T2E14, D = F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-46-T2F15, E = F_5 -IC-CL-34-2-9-E2-46-T2F20.

2. Perakitan padi mengandung gen *CsNitrl-1* dengan sifat efisien penggunaan nitrogen

Hasil amplifikasi DNA tanaman trnasforman T_3 padi Nipponbare yang mengandung gen *CSNitrl-1* dan gen *hptII* menunjukkan bahwa tanaman transforman T_3 padi Nipponbare belum homozygot karena dari sampel DNA menghasil amplifikasi DNA tanaman transforman T_3 padi Nipponbare ada beberapa tanaman transforman T_3 padi Nipponbare yang tidak mengandung gen *CsNitrl-1* dan *hptII*.

Hasil amplifikasi DNA tanaman transforman T₃ padi Nipponbare, nomor galur 3(1), 142(1) dan 143 (2) menghasilkan amplikon berukuran 725 pasang basa untuk gen *CsNitrl-1* dan 553 pasang basa untuk gen *hptII*. Nomor galur 3(9) merupakan nomor galur Null adalah tanaman transforman T₃ padi Nipponbare yang ditransformasi menggunakan *A. tumefaciens* yang membawa gen *CsNitrl-1* dan *hptII* namun negatif PCR mengandung gen *CsNitrl-1* dan *hptII*, yang digunakan untuk kontrol negatif (Gambar 25A).



Gambar 25. Analisis molekuler dan keragaan tanaman transforman T₃ Padi Nipponbare. A = amplifikasi Gen *CsNitrl-1* dan *hpt* dengan metode PCR, 1–6 =sampel No 143(1) positif PCR gen *CsNitrl-1* dan *hpt II*, B = perbandingan penampilan tanaman transforman pada stadia vegetatif pada sistem padi sawah dengan dosis setengah (0.25 mmol L-1 Amonium nitrat) (kiri) dan dosis pemupukan normal (0.5 mmol L-1 Amonium nitrat) (kanan).

Pengujian fenotipik tanaman transforman T₃ padi Nipponbare di rumah kaca dilakukan dengan sistem pertanaman padi gogo, sawah, dan hidroponik yang diberi perlakuan dosis pemupukan nitrogen setengah N (1/2N) dan normal (1N). Sistem padi sawah dengan dosis pemupukan urea setengah (1/2N) menunjukkan bahwa nomor galur 143(2) memiliki tinggi tanaman (cm) dan jumlah anakan yang paling tinggi dibandingkan dengan dosis pemupukan normal (1N) serta dibandingkan dengan nomor galur uji yang lainnya. Pada perlakuan dosis pemupukan setengah (0,25 mmol L-1 Ammonium nitrat) menunjukkan bahwa nomor galur 143(2) memiliki tinggi tanaman dan jumlah anakan lebih tinggi daripada dosis pemupukan normal (0,5 mmol L-1 Ammonium nitrat) dan dibandingkan nomor galur uji yang lainnya (Gambar 25B).

Tabel 17. Karakter agronomis transforman (T₃) padi Nipponbare stadia vegetatif, sistem padi hidroponik, dengan dosis pemupukan setengah (0.25 mmol L-1 Ammonium nitrat) dan normal (0.5 mmol L-1 Ammonium nitrat).

Nomor galur	Tinggi tanaman	Jumlah anakan	warna daun	Jumlah daun
Dosis setengah				
3(1)	41,00	-	-	4,00
3(9)	65,17	1,75	3,00	8,92
143(1)	71,17	2,33	3,00	10,17
143(2)	71,17	2,33	3,00	10,17
Dosis normal				
NP WT	66,46	2,00	3,00	9,33
3(1)	32,25	-	-	4,00
3(9)	62,58	2,25	3,00	7,75
143(1)	68,33	1,83	3,00	9,33
143(2)	70,75	2,17	3,00	10,50
NP WT	69,00	2,00	3,00	9,83

3. Kentang tahan hawar daun *Phytoptora infestans* melalui teknologi RNAi

Hasil verifikasi plasmid yang mengandung konstruksi RNAi dilakukan melalui isolasi DNA dan analisis PCR menggunakan primer 35s dan Tnos. Plasmid yang ditransfer ke dalam *A. tumefaciens* LBA4404 masih utuh terbukti adanya 2 pita DNA yang salah satunya sebagai DNA sirkuler plasmid. Analisis PCR untuk mendeteksi apakah gen atau fragmen DNA target yang telah disisipkan ke dalam T-DNA plasmid pCambia1300 tersebut juga masih utuh. Kedua unsur tersebut (promotor 35s dan terminator Tnos) berperan penting dalam transkripsi DNA menjadi mRNA yang akan digunakan untuk membungkam gen target pada *P. infestans* dan diduga gen tersebut mengendalikan ekspresi protein *elicitin* dari *P. infestans*. Berdasarkan hasil PCR diperoleh fragmen 35s berukuran 500 bp dan Tnos berukuran 250 bp, menunjukkan bahwa fragmen konstruksi RNAi masih berada di dalam T-DNA yang terdapat di dalam plasmid pCambia1300. Dengan demikian, plasmid yang mengandung konstruksi RNAi tersebut masih memenuhi syarat untuk digunakan transformasi ke eksplan tanaman kentang guna mendapatkan kentang tahan *P. infestans* yang *durable*.

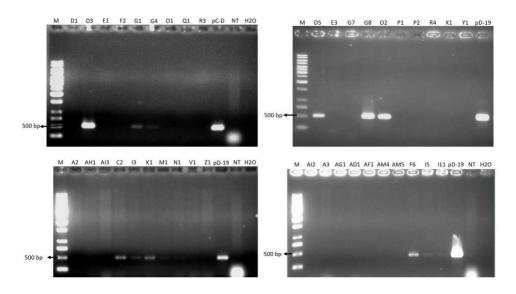
Transformasi konstruksi RNAi dilakukan melalui bantuan *A. tumefaciens* LBA4404 ke dalam T-DNA plasmid pCambia1300. Hasil transformasi konstruksi *RNAi* ke dalam eksplan kentang sampai saat ini telah diperoleh beberapa planlet transforman yang masih lolos dalam media tanam yang mengandung higromisin dan pada tahap perakaran dengan media yang mengandung higromisin. Eksplan transforman yang masih tahan hidup pada media yang mengandung higromisin diduga mengandung gen *hptII* (Tabel 18).

Tabel 18. Hasil seleksi eksplan dengan media seleksi mengandung higromisin.

Eksplan	Eksplan yang ditransformasi	Seleksi (Higromisin 100) Media Regenerasi	Tunas (Higromisin 50) Media perakaran
Atlantic (daun)	204	1 (0,005%)	1
Granola (daun)	66	-	-
Granola (internod)	733	-	-
Atlantic (internode)	569	282 (49,61%)	167
Analisis PCR			
Atlantic	39 tunas	14 positif PCR	Primer gen <i>hptII</i>

Hasil transformasi kentang Granola dengan 733 eksplan batang dan 66 eksplan daun menggunakan konstruksi RNAi belum diperoleh satu eksplan yang tahan seleksi higromisin. Hasil transformasi pada kentang Atlantic dengan 569 eksplan batang dan 204 eksplan daun diperoleh 282 eksplan batang (49,61%) dan 1 eksplan daun (0,005%) tahan pada media seleksi yang mengandung higromisin 100 mg. Transforman Atlantic yang lolos seleksi higromisin diperoleh 167 tunas yang telah dipindahkan pada media perakaran mengandung higromisin 50 mg.

Dari total 39 planlet yang dianalisis PCR, diperoleh 14 planlet positif mengandung fragmen gen *hptII* sebagai penentu bahwa transforman tersebut tahan hidup pada media mengandung higromisin (Gambar 26). Keberadaan gen *hptII* pada genom transforman yang tahan hidup pada media seleksi yang mengandung higromisin dapat digunakan sebagai indikasi bahwa transforman tersebut juga mengandung konstruksi RNAi. Hasil analisis PCR menunjukkan bahwa 14 planlet transforman mengandung gen *hptII*, sedangkan gen tersebut berada pada ujung LB dari T-DNA yang berarti bahwa konstruksi RNAi juga menyisip pada genom tanaman karena berada pada sisi RB T-DNA plasmid pCambia1300.



Gambar 26. Hasil PCR Planlet transforman Atlantic mengandung konstruksi RNAi dengan primer gen *hptII*. M = 1 Kb DNA *Ladder*, pD-19 = plasmid pCambia1300 mengandung konstruksi RNAi, NT = Atlantic non transforman, H_2O = Air.

4. Validasi fungsi gen kandidat pada tanaman padi transgenik untuk toleran kekeringan

Sebanyak 216 tanaman dianalisis PCR menggunakan primer spesifik gen target *OsDREB1A*. Sebanyak 154 tanaman (71,3%) positif mengandung gen *OsDREB1A* yang ditunjukkan dengan produk PCR berukuran 651 bp, namun tidak pada kontrol non transgenik. Hal ini menunjukkan bahwa gen *OsDREB1A* masih stabil terintegrasi pada generasi T₁.

Analisis jumlah kopi transgen dengan *Southern Blot* dilakukan pada tanaman transgenik Nipponbare T₁ yang mengandung gen *OsDREB1A* menggunakan probe gen *hpt*. Kriteria pemilihan tanaman adalah yang memiliki skor 3 dengan daya tumbuh kembali berkisar dari 60–92,3%, kecuali galur Nip. *OsDREB1A* 16 dan Nip. *OsDREB1A* 9 dengan skor 5. Dua puluh enam tanaman padi transgenik Nipponbare *OsDREB1A* generasi T₁ menghasilkan jumlah kopi gen antara 1 sampai 2. Sebanyak 16 tanaman mengandung 1 kopi gen, dan 3 tanaman mengandung 2 kopi gen. Tanaman transgenik Nipponbare generasi T₁ dengan skor 3 dan 5 yang positif mengandung gen *OsDREB1A* sebanyak 154 tanaman diamati fenotipiknya di rumah kaca. Data karakter fenotipik hanya ditampilkan untuk 16 tanaman transgenik Nipponbare *OsDREB1A* yang mengandung 1 kopi sisipan gen (Tabel 19).

Tabel 19. Tanaman transgenik Nipponbare generasi T₁ dengan satu kopi gen dan karakter fenotipik setelah cekaman kekeringan.

Nomor tanaman	Tanaman	Jumlah malai	Panjang malai (cm)	Tinggi tanaman (cm)	Panjang akar (cm)	Jumlah gabah isi	Bobot gabah (g)
3.9	Nip. OsDREB1A 3.9	28	13,71	53,5	11,5	438	8,84
3.10	Nip. OsDREB1A 3.10	19	13,29	61	14	930	18,15
4.2	Nip. OsDREB1A 4.2	25	12,89	54,5	16,5	440	9
4.6	Nip. OsDREB1A 4.6	31	12,44	51,8	14	360	7,59
4.11	Nip. OsDREB1A 4.11	15	14,97	51	12,5	478	9,78
7.13	Nip. OsDREB1A 7.13	33	13,52	63,5	14	403	8
8.1	Nip. OsDREB1A 8.1	33	13,98	60,6	13,5	342	6,68
8.6	Nip. OsDREB1A 8.6	23	13,46	54,2	22,5	231	4,39
8.15	Nip. OsDREB1A 8.15	37	13,56	64	15,8	635	13,56
10.15	Nip. OsDREB1A 11.15	19	13,31	50,5	19,2	234	9,7
13.12	Nip. OsDREB1A 17.12	28	13,77	52,2	12	589	12,26
15.9	Nip. <i>OsDREB1A</i> 19.9	27	13,80	58	14,5	520	10,12
16.14	Nip. OsDREB1A 20.14	28	12,49	49,7	14	415	6,71
17.2	Nip. OsDREB1A 21.2	33	13,51	56,6	11	381	7,27
18.2	Nip. OsDREB1A 28.2	32	13,07	58	9,5	533	10,54
19.1	Nip. OsDREB1A 33.1	16	15,06	52,5	14,5	289	8,44
Rata-rata		26,69	13,55	55,73	14,31	451,13	8,25
Nipponbare	e <i>wild type</i>	19,5	13,32	60,55	14,2	229	4,42

Tanaman transgenik *Arabidopsis* yang mengekspresikan gen *OsDREB1A* menunjukkan sedikit penghambatan pertumbuhan setelah ditanam dalam pot. Overekspresi gen yang responsif terhadap cekaman yaitu gen *SNAC1* secara nyata meningkatkan toleransi terhadap kekeringan pada padi transgenik Nipponbare dengan pembentukan biji 22–34% lebih tinggi dibandingkan kontrol pada kondisi cekaman kekeringan yang bobot di lapang dan tidak menunjukkan perubahan fenotipik. Tanaman transgenik tersebut secara nyata juga menunjukkan toleransi terhadap kekeringan dan salinitas pada fase vegetati.

Tanaman padi transgenik varietas Nakdong konstitutif yang secara mengekspresikan gen CBF3/DREB1A (CBF3) dan ABF3 menunjukkan toleran terhadap kekeringan dan salinitas di rumah kaca dan tidak menyebabkan perubahan fenotipik tanaman. Tanaman padi transgenik Kita-ake dan Nipponbare dengan over-ekspresi gen OSDREB1 atau DREB1 meningkatkan toleransi terhadap cekaman kekeringan, salinitas dan suhu rendah seperti halnya transgenik Arabidopsis dengan over-ekspresi OsDREB1 atau DREB1 dan menunjukkan penghambatan pertumbuhan dalam kondisi normal. Analisis RT-PCR untuk mengetahui ekspresi gen dilakukan pada 5 tanaman Nipponbare OsDREB1A, yaitu Nip. OsDREB1A 4.11, Nip. OsDREB1A 8.15, Nip. OsDREB1A 17.12, Nip. OsDREB1A 21.2, dan Nip. OsDREB1A 28.2. Saat ini sedang dilakukan analisis PCR menggunakan cDNA dengan primer spesifik Actin dan OsDREB1A.

Validasi fungsi gen pada tanaman padi transgenik *OsPPCK* generasi T₂ telah dilakukan untuk melengkapi validasi generasi T₁ tahun sebelumnya. Sebanyak 234 tanaman dari 47 galur diuji kekeringan di rumah kaca dan menunjukkan respon yang bervariasi untuk skor daun mengering. Evaluasi padi transgenik Nipponbare *OsPPCK* generasi T₂ terhadap uji kekeringan menghasilkan 10 tanaman (4,3%) dengan skor 3 (agak toleran), 62 tanaman (26,5%) dengan skor 5 (moderat), 93 tanaman (39,7%) dengan skor 7 (agak peka) dan 69 tanaman (29,5%) dengan skor 9 (peka). Dari 234 tanaman yang diuji terdapat 10 tanaman dengan skor 3 (agak toleran) dan 62 tanaman dengan skor 5 (moderat). Sepuluh tanaman dengan skor 3 tersebut menunjukkan lebih toleran terhadap kekeringan dibandingkan kontrol peka Nipponbare *wild type* (skor 8) maupun kontrol toleran Cabaccu (skor 8,8) dan Salumpikit (skor 4,6). Enam puluh dua (62) tanaman dengan skor 5 juga menunjukkan lebih toleran dibandingkan kontrol peka Nipponbare *wild type* (skor 8) maupun kontrol toleran Cabaccu (skor 8,8).

Pengujian kekeringan di rumah kaca menghasilkan 169 (72,2%) tanaman yang mampu tumbuh kembali atau mengalami *recovery* setelah perlakuan cekaman kekeringan dengan persentase daya tumbuh kembali rata-rata sebesar 48,11% (moderat). Validasi fungsi gen *OsPPCK* dilakukan menggunakan primer spesifik gen target *OsPPCK*. Sebanyak 93 tanaman (55,03%) mengandung gen *OsPPCK* yang ditunjukkan dengan produk PCR berukuran 1400 bp.

Sembilan puluh tiga tanaman dari 39 galur telah diamati tinggi tanaman dan panjang akarnya setelah pengujian kekeringan. Tinggi tanaman Nipponbare *OsPPCK* generasi T₂ berkisar dari 18,1 sampai 66,5 cm. Satu tanaman mempunyai kisaran tinggi 18–20 cm, 9 tanaman >20–30 cm, 14 tanaman >30–40 cm, dan 69 tanaman pada kisaran 40-66,5 cm yang sebagian besar melebihi Nipponbare *wild type* (40,03 cm). Panjang akar tanaman Nipponbare *OsPPCK* generasi T2 berkisar dari 6,2 sampai 23,1 cm, dengan rata-rata 14,43 cm. Enam tanaman mempunyai kisaran panjang akar 6,2–10 cm, 54 tanaman >10–15 cm, 26 tanaman >15–20 cm, dan 7 tanaman >20–23,1 cm, sedangkan Nipponbare *wild type* 11,47 cm. Aktivitas dan tingkat transkripsi PPCK (*Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase*) seperti PPCK1 dan PPCK2 pada tanaman padi transgenik meningkat setelah perlakuan kekeringan. Tanaman transgenik mempunyai bobot kering lebih tinggi dibandingkan kontrol *wild type* setelah perlakuan 15% PEG-6000 selama 16 hari.

5. Transformasi konstruk promotor spesifik akar dan gen *ALaAT* untuk pembentukan padi Nipponbare efisiensi dalam penggunaan pupuk nitrogen (N)

a. Konstruksi gen *AlaAT* ke vektor ekspresi tanaman

Penyisipan promotor *OsAnt-1* ke vektor ekspresi pCAM1300-*ubi-tNos* dilakukan dengan cara mengganti bagian promotor dari vektor pCAM1300-*ubi-tNos*, yaitu promotor *ubiquitin*, dengan promotor *OsAnt-1*. Fragmen promotor *OsAnt-1* didapatkan dengan cara memotong pGEM–T easy dengan enzim *Bam*HI dan *Hin*dIII. Fragmen *OsAnt-1* kemudian diligasikan pada vektor pCAM1300-*ubi-tNos* yang telah dihilangkan bagian promotor ubiquitinnya. Hasil ini dilanjutkan dengan transformasi ke *E.coli* DH5a dan verifikasi hasil.

Penyisipan gen AlaAT ke vektor ekspresi pCAM1300int-OsAnt1-tNos dilakukan dengan cara menyisipkan fragmen gen HvAlaAT (Barley) dan CsAlaAT (Mentimun) serta fragmen gen gus (untuk kontrol) ke dalam plasmid vektor pCAM1300-pOsAnt1-tNos. Fragmen gen AlaAT dan gus kemudian disisipkan dalam pCAM1300-pOsAnt1-tNos. Verifikasi hasil ligasi antara pCAM1300-pOsAnt1-tNos dan gen qus yang dilakukan dengan menggunakan enzim restriksi *Bam*HI dan *KpnI* akan menghasilkan 2 potongan fragmen yaitu pCAM1300-pOsAnt1-tNos yang berukuran sekitar 12.000 bp dan fragmen gen gus yang berukuran 2.000 bp. Koloni hasil ligasi no. 2 positif mengandung pCAM1300pOsAnt1-qus. Verifikasi hasil ligasi antara pCAM1300-pOsAnt1-tNos dengan gen HvAlaAT atau CsAlaAT dilakukan dengan menggunakan enzim restriksi dan kedua konstruk yaitu pCAM1300-pOsAnt1-HvAlaAT dan pCAM1300-pOsAnt1-CsAlaAT menunjukkan hasil pemotongan yang benar, artinya koloni bakteri yang diuji membawa plasmid rekombinan. Hasil sekuensing konstruk HvAlaAT menunjukkan bahwa sekuen gen HvAlaAT yang diisolasi dan dikonstruk indentik dengan sekuen rujukan. Sedangkan sekuensing gen CSAlaAT yang diisolasi dan dikonstruk menunjukan adanya perbedaan dua basa dibandingkan dengan sekuen rujukan.

Kalus yang lolos seleksi di media dengan penambahan agen seleksi higromisin 30 mg/L yaitu sebanyak 61,5–74,2% dan ditransfer ke media pre-regenerasi. Setelah kurang lebih 10 hari, 23–45,7% kalus-kalus tersebut mulai membentuk spot-spot hijau yang mengindikasikan kalus tersebut bersifat embriogenik. Hasil regenerasi pada media perakaran, diperoleh lini/galur independen sebanyak 40 (konstruk pCAM1300-*HvAlaAT*) dan 30 (konstruk pCAM1300-*CsAlaAT*). Hasil analisis PCR dengan primer gen target menunjukkan bahwa 18 planlet positif mengandung *HvAlaAT* dan 12 planlet mengandung *CsAlaAT*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya pita DNA (amplikon) yang sama dengan kontrol plasmid yaitu berkurang 157 bp.

b. Konstruksi dan Transformasi vektor ekspresi yang mengandung promotor spesifik akar dengan reporter GUS ke tanaman padi Niponbare

Telah berhasil diperoleh 4 konstruk gen *gus* yang dikendalikan oleh kandidat promotor gen *NADP* di vektor ekspresi pCAM1300-*tNOS*. Gen *gus* dirakit dengan menyambungkan dengan kandidat promotor gen *NADP* terdelesi dengan ukuran 2.000 (F4), 1500 (F3), 1.000 (F2), 500 (F1) bp serta disambungkan dengan promotor konstitutif 35S-CaMV.

Hasil pemotongan vektor pCAM1300int-35S-*CaMV-gus-tNOS* menghasilkan 2 fragmen dengan ukuran 12.000 bp sebagai fragmen pCAM1300int-gus-tNOS pCAMBIA 1300 dan 500 bp fragmen promotor *35S-CaMV*. Hasil pemotongan masing-masing plasmid menghasilkan fragmen plasmid pTOPO (4.000 bp) dan fragmen promotor gen *NADP* terdelesi (500 bp, 1.000 bp, 1.500 bp, dan 2.000 bp).

Telah berhasil diperoleh konstruksi vektor ekspresi pCAM1300-*gus-tNOS* yang mengandung kandidat promotor gen *NADP* dengan ukuran 3.000. Fragmen promotor berdasarkan DNA padi Awan Kuning dengan ukuran 3.000 bp diisolasi, dipurifikasi, diligasikan dengan plasmid kloning pTOPO dan ditransformasikan ke dalam *E.coli* kompeten. Plasmid kloning pTOPO yang sudah diverifikasi benar mengandung insert fragmen promotor gen *NADP*, kemudian dipotong dan fragmen 3.000 bp yang merupakan promotor gen, diisolasi dari gel agarose, dipurifikasi, dan diligasikan dengan vektor ekspresi pCAM1300-*p35SCaMV-gus-tNOS* yang telah sebelumnya dipotong dengan enzim restriksi *AvrII-Bam*HI, untuk mengeluarkan promotor *35SCaMV* untuk digantikan dengan fragmen promotor gen *NADP*. Hasil ligasi kemudian ditransformasikan ke dalam E.coli kompeten. Plasmid pCAMBIA rekombinan kemudian diisolasi dari koloni tunggal hasil transformasi dan diverifikasi menggunakan enzim restriksi *Hin*dIII dan *Bam*HI. Hasil pemotongan tersebut menghasilkan fragmen dengan ukuran 12.000 bp yang merupakan ukuran plasmid pCAM1300-*gus-tNOS*, dan potongan promotor gen *NADP* yang terpotong menjadi 2 bagian yaitu ukuran 2.650 bp dan 350 bp.

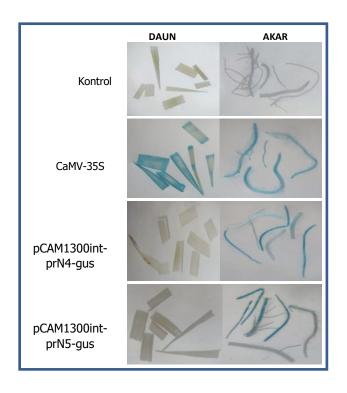
Transformasi *immature* embrio varietas Nipponbare dilakukan dengan bantuan *Agrobacterium tumefaciens* yang mengandung 5 macam konstruk pCAM1300int-kandidat promotor gen *NADP-gus*, pCAMBIA1300-*p35S-gus*, dan pCAM1300-*prOsAnt-gus* (Tabel 20).

Tabel 20. Hasil transformasi *immature* embrio Nipponbare dengan 5 konstruk pCAM1300-kandidat promotor gen *NADP-gus*, pCAM1300-*pr35-gus*, dan pCAM1300-*prOsAnt-gus*.

No.	Konstruk	Jumlah IE yang ditransfor -masi	Jumlah kalus yang di seleksi	Jumlah kalus yang lolos seleksi (%)	Jumlah kalus yang membentuk spot hijau (%)	Jumlah lini/ galur indepen- dent*)
1.	pCAM1300int-prN1-gus	108	312	224 (71,8)	104 (33,3)	34
2.	pCAM1300int-prN2-gus	144	489	426 (87,1)	205 (41,9)	26
3.	pCAM1300int-prN3-gus	125	80	18 (22,5)	Blm ada	Blm ada
4.	pCAM1300int-prN4-gus	144	392	154 (39,3)	66 (16,8)	15
5.	pCAM1300int-prN5-gus	140	391	156 (39,9)	145 (37,1)	26
6.	pCAM1300int-pr35S-gus	120	245	167 (68,2)	39 (15,3)	14
7.	pCAM1300int-prOsAnt-gus	130	118	68 (57,6)	21 (17,8)	11

^{*)} Kegiatan masih berlangsung

Pengujian ekspresi gen *gus* sementara baru dilakukan pada 3 planlet hasil transformasi menggunakan konstruk pCAM1300int-prN4-*gus*, pCAM1300int-prN5-*gus*, dan pCAM1300int-pr35S-*gus*. Semua planlet padi Nipponbare yang ditransformasi menggunakan konstruk pCAM1300int-pr35S-*gus* menunjukkan ekspresi gen *gus* baik pada organ daun maupun akar. Sementara itu pada semua planlet padi Nipponbare yang ditransformasi dengan konstruk pCAM1300int-prN4-*gus* dan pCAM1300int-prN5-*gus*, ekspresi gen *gus* hanya ditemukan pada organ akar saja, sedangkan pada organ daun tidak terlihat adanya ekspresi dari gen *gus*. Hal ini berarti promotor prN4 dan prN5 dapat mengendalikan ekspresi gen *gus* secara spesifik di organ akar pada planlet hasil transformasi (Gambar 27).



Gambar 27. Hasil gus assay pada daun dan akar padi hasil transformasi *immature* embrio dengan menggunakan konstruk pCAM1300int-prN4-gus, pCAM1300int-prN5-gus, dan pCAM1300int-pr35S-gus. Organ yang positif mengekspresikan gen *gus* dapat menampilkan warna biru setelah direndam dengan larutan X-Gluc (β -glucoronidase).

6. Profil transkriptomik padi rawa toleran cekaman kondisi anaerob dan identifikasi gen melalui teknologi RNA-*sequencing*

Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk pengembangan padi toleran kondisi anaerob pada saat perkecambahan dan tahap awal pertumbuhan adalah dengan melakukan skrining material genetik berupa aksesi-aksesi padi lokal rawa. Hasil skrining 136 aksesi padi lokal rawa menunjukkan adanya kemampuan berkecambah yang berbeda pada perlakuan kondisi anaerob di antara aksesi. Delapan aksesi padi menunjukkan kemampuan berkecambah di atas 50%. Padi Ciherang dan Margasari (padi rawa) mempunyai kemampuan berkecambah masing-masing 30 dan 20%, sementara padi Siam Arjuna (padi rawa) sekitar 80%. Selain itu, hampir semua aksesi-aksesi padi lokal rawa menunjukkan kemampuan berkecambah 100% ketika ditumbuhkan pada kondisi perkecambahan yang normal.

Berdasarkan pengelompokan skrining 136 aksesi padi lokal rawa menghasilkan 6 aksesi padi lokal rawa yang toleran (termasuk padi Siam Arjuna) dan 1 aksesi sangat toleran terhadap perlakuan cekaman kondisi anaerob. Aksesi-aksesi padi yang terpilih selanjutnya diuji kembali dengan perlakuan anaerob dengan jumlah 25 benih per aksesi.

Hasil validasi menunjukkan bahwa terdapat fenomena yang menarik dimana terjadi perubahan kategori toleransi dari semua aksesi. Enam aksesi yang sebelumnya menunjukkan kategori toleran (Selumbung, Lakatan Merah, Lembu Sawah, Banih Kuning, Randah Pala dan Siam Arjuna) berubah menjadi kategori sangat tidak toleran (Lembu Sawah), tidak toleran (Randah Pala, Siam Arjuna) dan moderat (Selumbung, Lakatan Merah, dan Banih Kuning). Bahkan, satu aksesi yang pada pengujian sebelumnya sangat toleran (Tiga Dara Sawah Beling) berubah menjadi tidak toleran pada pengujian validasi ini.

Persentase perkecambahan dari 10 genotipe padi yang diuji pada kondisi tanpa perlakuan cekaman anaerob menunjukkan perkecambahan yang normal. Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa dua aksesi yang bertindak sebagai kontrol peka (Siam Unus Organik dan Siam Bonai Pendek) mempunyai kategori yang konsisten dimana pada pengujian pertama dan pengujian lanjutan termasuk dalam aksesi yang tidak toleran terhadap cekaman anaerob.

Pengujian lanjutan (re-validasi) dilakukan untuk memastikan aksesi-aksesi yang benar-benar toleran terhadap kondisi anaerob. Padi lokal rawa Banih kuning (PR115) dan Siam Arjuna sangat toleran terhadap kondisi cekaman anaerob (Tabel 21). Untuk identifikasi gen-gen yang berkaitan dengan toleransi terhadap kondisi cekaman anaerob, tiga genotipe padi pada re-validasi (Banih Kuning, Siam Arjuna sebagai genotipe toleran dan Ciherang sebagai genotipe tidak toleran) digunakan sebagai materi untuk isolasi RNA total. Dua asesi yang toleran (Randah Pala dan Siam Arjuna) telah diisolasi total RNAnya, demikian juga untuk kontrol Ciherang.

Tabel 21. Kemampuan berkecambah dari 5 genotipe padi pada re-validasi pengujian dengan perlakuan dan tanpa perlakuan cekaman kondisi anaerob di rumah kaca.

Alcosi	Perlakuan		%	Tanpa	perlakuan	- %
Aksesi	Jml awal	kecambah	90	Jml awal	kecambah	90
PR40	105	20	19.05	105	101	96,19
PR62	105	35	33.33	105	104	99,05
PR115	105	94	89.52	105	103	98,10
SA	105	87	82.86	105	104	99,05
Cih	105	45	42.86	105	102	97,14

BKPR40 = Lakatan Merah, PR62 = Tiga Dara Sawah Beling, PR115 = Banih uning, SA = Siam Arjuna, Cih = Ciherang

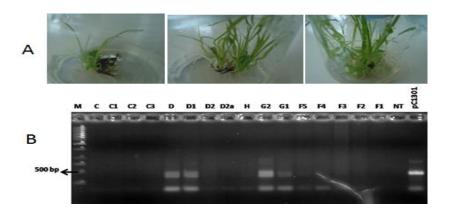
7. Transformasi konstruksi kaset RNAi gen *soluble acid Invertasi* (SAI) dalam vektor Hellsgate untuk penundaan penurunan rendemen tebu

Silencing untuk gen SAI dilakukan dengan menggunakan pendekatan sistem gateaway yaitu dengan memanfaatkan enzim klonase untuk mentransfer fragmen gen SAI dari vector donor ke vector recipient. Konstruk RNAi dengan fragmen gen SAI sudah dimasukkan ke dalam donor vektor pCR8 dan vektor recipient, pHellsgate sudah berhasil diisolasi. Fragmen gen SAI ini sudah berhasil dipindahkan ke vektor pHellsgate. Terlihat pada sampel no. 1 dan 2, keduanya memiliki ukuran fragmen (sekitar 1.470 bp) yang berbeda dengan fragmen pada pHellsgate original yang belum dimasuki fragmen gen SAI (1.610 bp). Perbedaan ini menunjukkan masuknya fragmen gen SAI ke dalam pHellsgate. Isolasi plasmid sudah dilakukan dan berhasil memperoleh plasmid pCambia 1300 yang diharapkan.

Selanjutnya, studi pendahuluan dilakukan untuk mengetahui pengaruh perendaman kalus dalam larutan bakteri terhadap daya regenerasi kalus. Pada empat minggu setelah perlakuan, beberapa kalus dapat beregenerasi membentuk tunas, sedang kalus yang lain ada yang mulai membentuk calon-calon tunas dan ada pula yang menghitam. Semakin lama waktu perendaman kalus dalam larutan bakteri, maka kalus yang beregenerasi semakin sedikit.Dari hasil tersebut, maka teknik regenerasi kalus setelah kokultivasi dengan *A. tumefaciens* LBA4404 sudah dikuasai.

Kalus tebu hasil transformasi genetik, mulai beregenerasi membentuk tunas pada umur 4 minggu setelah dipindahkan pada media regenerasi yang mengandung kanamisin sebagai marka penyeleksi. Penghambatan regenerasi tunas mulai terlihat pada penggunaan kanamisin 50 mg/l. Setelah beberapa kali subkultur, semua kalus yang ditanam pada media yang mengandung antibiotik kanamisin dari berbagai konsentrasi menunjukan kalus tidak berkembang dan berwarna hitam dan sebaliknya pada kontrol tanpa kanamisin. Konsentrasi kanamisin 50 mg/l akan digunakan sebagai agen penyeleksi dalam proses seleksi transforman. Transformasi dengan eksplan kalus, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi higromisin dari 10 mg/l menjadi 15 mg/l menyebabkan penurunan laju pertumbuhan tunas hasil regenerasi kalus asal varietas Bululawang, bahkan pada media mengandung higromisin 15 mg/l, kalus menjadi mencoklat dan mati. Pada kalus asal Bululawang, higromisin 10 mg/l merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat digunakan. Namun peningkatan konsentrasi higromisin dari 10 menjadi 15 mg/l belum menghambat regenerasi kalus PSJK 922 dan membentuk tunas walaupun pertumbuhannya mulai terhambat. Oleh karena itu harus dicoba penggunaan konsentrasi higromisin yang lebih tinggi.

Kalus yang telah ditransformasi dengan *A. tumefaciens* memberikan respons yang berbeda-beda. Kalus putatif transforman yang berasal dari varietas PSJK 922 dapat beregenerasi lebih baik dibandingkan dengan Bululawang. Sebagian besar kalus PSJK 922 dapat membentuk tunas pada media yang mengandung higromisin 20 mg/l (Gambar 28A). Sebaliknya, sekitar 25% kalus Bululawang dapat beregenerasi membentuk tunas dan daun, akan tetapi hanya ada beberapa tunas yang bertahan hidup. Sebanyak 16 transforman hasil regenerasi di PCR gen penyandi kanamisin resistensinya dengan primer 35S. Kontol positif dan negatif sesuai harapan, dan diperoleh 4 kalus yang mempunyai amplikon sebesar 500bp yang nyata (D1, D2, G2, G1) yang diharapkan sebagai transforman yang membawa gen penyeleksi dari plasmid pC1301 (Gambar 28B).



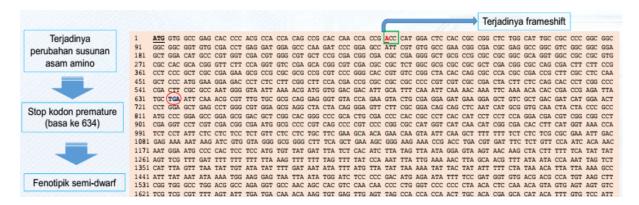
Gambar 28. Keragaan kalus dan analisis PCR transforman. A = biakan hasil regenerasi kalus dari varietas PSJK 922, B = hasil analisis transforman tebu yang mengandung gen penyandi higromisin resisten dengan primer 35S. M = marka 1 kb; C, C1, C2, C3, D, D1, D2, D2a, H, G2, G1, F5, F4, F2, F1 = transforman dengan *pCambia*1301, NT = DNA kontrol negatif, pC1301 = kontrol positif plasmid *pCambia* 1301.

8. Introduksi konstruk Crispr-CAS9/Gen *GA20 OX-2* ke padi dan identifikasi mutan-mutan padi melalui analisis molekuler dan sekuensing

Transformasi menggunakan konstruk CRISPR/Cas9-gRNA GA20 ox-2 telah menghasilkan sejumlah planlet baik dari padi kultivar Kitaake maupun Nipponbare. Namun demikian, pada percobaan ini, kalus-kalus dari padi cv. Kitaake lebih responsif dibanding dengan kalus-kalus yang berasal dari padi cv. Nipponbare. Introduksi konstruk CRISPR/Cas9-gRNA GA20 ox-2 menghasilkan sejumlah *event* generasi T₀ yang telah berhasil diaklimatisasi di rumah kaca. Dari sejumlah *event* planlet yang dihasilkan, hanya beberapa *event* yang digunakan untuk genotiping mutan-mutan CRISPR/Cas9-gRNA GA20 ox-2.

Untuk mengidentifikasi terjadinya mutasi pada daerah target gen GA20ox-2 maka dilakukan analisis sekuensing pada daerah target tersebut. Hasil sekuensing fragmen DNA hasil PCR dari 12 galur tanaman putatif mutan CRISPR/Cas9-gRNA GA20 ox-2 menunjukkan bahwa telah terjadi mutasi pada daerah target dari gen GA20ox-2 pada galur-galur padi tersebut (kecuali pada galur K21 dan N24) (Gambar 29). Dari hasil analisis sekuensing juga terlihat adanya variasi kejadian mutasi dari sampel-sampel padi, diantaranya terdapat mutasi delesi dan insersi. Dari 10 galur tanaman padi yang mengalami mutasi, 8 diantaranya adalah mengalami mutasi delesi dimana sebanyak 44 basa terdelesi dari sekuen asli gen OsGA200x-2. Terdapat satu event padi yang mengalami mutasi insersi dimana galur tersebut mempunyai 2 basa tambahan pada daerah target (event no. K15). Satu event teridentifikasi mengalami mutasi delesi namun delesi basa yang terjadi belum diketahui berapa jumlahnya (event no. 23). Dari hasil analisis sekuensing juga diperoleh informasi bahwa mutasi yang terjadi ada yang bersifat homo-dialelik/homozigot (kedua alel mengalami mutasi yang sama) atau heteroalelik/heterozigot. Terdapat 7 event yang mutasinya bersifat homo-alelik yaitu event K14, K15, K19, K22, K25, K29 dan N31. Sementara itu, terdapat 3 event merupakan mutan yang bersifat heterozigot yaitu K6, K23 dan K27. Mutasi yang terjadi pada galur-galur padi mutan didominasi oleh mutasi delesi 44 bp.

Analisis sekuen lebih lanjut menunjukkan bahwa mutasi yang terjadi pada salah satu *event* menyebabkan terjadinya frameshift dan memunculkan adanya stop kodon premature. Mutasi insersi 2 basa pada galur padi mutan K15 menyebabkan gen *OsGA20ox-2* mengalami perubahan susunan basa dan pada akhirnya merubah susunan amino gen tersebut. Perubahan asam amino diawali pada urutan asam amino no. 16 dan selanjutnya memunculkan adanya stop kodon prematur pada urutan asam amino no. 212 (urutan basa ke 634). Selanjutnya, galur mutan padi dengan mutasi *frameshift* ini perlu dilakukan pengujian fenotipik untuk melihat apakah ada perubahan fenotipik akibat mutasi tersebut.



Gambar 29. Perubahan urutan asam amino pada gen GA200x-2 dari mutan padi K15.

Mutasi delesi pada gen *GA20ox-2* dapat menciptakan kodon stop prematur, yang menyebabkan penurunan jumlah GA20, dan menyebabkan postur tanaman padi menjadi pendek. Introduksi gen *GA20ox-2* dari padi tipe liar dapat memulihkan fenotipe postur pendek. Postur tanaman yang pendek ini memiliki efek pleiotropik pada jumlah anakan yang banyak, arsitektur daun yang tegak sehingga mampu menangkap energi cahaya lebih banyak, indeks panen yang lebih tinggi, dan tanaman lebih responsif pada pemupukan nitrogen, sehingga produktivitas tanaman meningkat secara nyata. Untuk melihat fenotipik dari termutasinya gen *GA20ox-2* dari galur-galur padi selanjutnya benih padi mutan generasi T₁ ditanam di rumah kaca. Setelah mencapai fase generatif, galur-galur mutan CRISPR/Cas9-OsGA20ox-2 padi Kitaake dan Nipponbare diamati karakter tinggi tanaman dan jumlah anakan menunjukkan bahwa galur-galur mutan memiliki tinggi tanaman dan jumlah anakan yang lebih rendah dibandingkan dengan tetuanya. Yang menarik dari hasil penelitian ini adalah mutan padi no. K15+ mempunyai tinggi tanaman yang jauh lebih pendek dari tetua namun mempunyai jumlah anakan yang tidak berbeda jauh

Penampilan tanaman mutan CRISPR/Cas9-OsGA20ox-2 cv. Kitaake no. K15+ terlihat lebih pendek dengan malai yang lebih tegak (*erect*) dan panjang malai yang lebih pendek dibandingkan dengan tetua tipe liarnya (Gambar 30). Meskipun telah terjadi perubahan fenotipe seperti yang diinginkan, namun efek pleiotropik belum terlihat pada postur pendek padi mutan K15+ tersebut. Hal ini kemungkinan didasari pada postur padi Kitaake tipe liar yang memang mempunyai postur tanaman yang pendek (tidak tergolong padi yang tinggi) sehingga mutasi pada gen *GA20ox-2* yang terjadi belum cukup untuk memunculkan efek pleiotropik.



Gambar 30. Penampilan galur padi mutan CRISPR/Cas9-OsGA20ox-2 no. K15 dibandingkan dengan kontrol Kitaake. Galur padi mutan memiliki postur tinggi tanaman dan panjang malai yang lebih pendek dibandingkan dengan kontrol Kitaake.

Pengajuan pengkajian keamanan lingkungan kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan terhadap penyakit hawar daun (*Phytophthora infestan*s)

Dossier keamanan lingkungan tanaman kentang PRG tahan penyakit hawar daun *P. infestans* telah selesai disusun. Dossier terdiri dari 671 halaman, meliputi:

- A. Informasi Tanaman PRG
- B. Informasi Sifat Genetik
- C. Keamanan Lingkungan
- D. Komunikasi Risiko Lingkungan
- E. Rencana Pengelolaan dan Pemantauan Tanaman PRG dan 23 lampiran pendukung, vaitu:
 - 1. Analisis integrasi dan segregasi gen ketahanan terhadap hawar daun pada progeni F₁ hasil silangan tanaman kentang transgenik dengan non transgenik
 - 2. Pemanfaatan gen *RB* dalam pengembangan tanaman kentang tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*)
 - 3. Genetic stability analysis of *RB* gene in genetically modified potato lines tolerant to *Phytophthora infestans*
 - 4. *Material Transfer Agreement* (Agreement No.05-0414)
 - 5. Efikasi gen *RB* pada tanaman kentang transgenik Katahdin SP904 dan SP951 terhadap empat isolat *Phytophthora infestans* dari Jawa Barat
 - 6. Laporan evaluasi ketahanan galur-galur hasil silangan kentang Atlantic atau Granola dengan kentang produk rekayasa genetik (PRG) Katahdin SP951 terhadap penyakit busuk daun *Phytophthora infestans*
 - 7. ABSPII technical report of confined field trial of late blight resistant (LBR) potato activities in Indonesia (November 2006–June 2007)

- 8. Resistance evaluation on populations of crosses between transgenic potato Katahdin *RB* and non transgenic Atlantic and Granola to late blight (*Phytophthora infestans*) in Confined Field Trial
- 9. Pengujian ketahanan klon-klon hasil silangan tanaman kentang transgenik dengan non transgenik terhadap penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* di lapangan uji terbatas
- 10. Klon-klon kentang transgenik hasil silangan terseleksi tahan terhadap penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* tanpa penyemprotan fungisida di empat lapangan uji terbatas
- 11. Costs and benefits of transgenic late blight resistant potatoes in Indonesia
- 12. Kajian pendahuluan: perpindahan gen dari tanaman kentang transgenik Katahdin RB ke tanaman kentang non transgenik
- 13. Resume Pengkajian Keamanan Pangan Kentang Produk Rekayasa Genetik (PRG) Katahdin *event* SP951 dan hasil silangannya
- 14. Laporan studi analisis komposisi dan nutrisi kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*)
- 15. Laporan studi analisis toksisitas oral akut kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*)
- 16. Laporan studi analisis bioinformatik protein RB terhadap protein toksin
- 17. Laporan studi alergenisitas kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*)
- 18. Technical report of molecular analysis studies of late blight resistant (LBR) potato in India
- 19. Laporan studi analisis molekuler kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*)
- 20. Laporan studi dampak penanaman klon-klon kentang terseleksi hasil silangan antara varietas Granola atau Atlantic dengan Katahdin produk rekayasa genetik SP951 yang tahan terhadap penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*) terhadap organisme non-target khususnya mikroba tanah (bakteri pelarut P dan penambat N₂, dan jamur) serta hama dan penyakit lainnya
- 21. Effects of late blight resistant potato containing *RB* gene on the soil microbes, pests and plant diseases
- 22. Surat ijin Tim Teknis Keamanan Hayati dan Keamanan Pangan (TTKHKP) tentang penelitian kentang PRG Katahdin *event* SP904 dan Katahdin *event* SP951 di Lapangan Uji Terbatas (LUT)
- 23. Sosialisasi kentang PRG

Status pengajuan pengkajian keamanan lingkungan galur-galur kentang Produk Rekayasa Genetik (PRG) tahan terhadap penyakit hawar daun (Phytophthora infestans)

Permohonan pengkajian keamanan lingkungan tanaman kentang PRG tahan penyakit hawar daun *P. infestans* secara tertulis sudah disampaikan ke Badan Litbang Pertanian untuk diteruskan ke Menteri Pertanian. Dokumen permohonan pengkajian telah lengkap, dan oleh Menteri Pertanian diteruskan ke Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan agar menugaskan KKH untuk melakukan pengkajian keamanan lingkungan tanaman kentang PRG, selanjutnya KKH menugasi TTKH untuk melakukan kajian teknis keamanan lingkungan. Rapat TTKH telah dilakukan pada tanggal 17–18 November 2016 di BB Biogen.

Beberapa masukan diantaranya adalah kentang PRG yang diajukan untuk keamanan lingkungan. Telah disepakati bahwa hanya kentang PRG Katahdin SP951 saja yang diajukan untuk pengkajian keamanan lingkungan. Hal ini sesuai dengan prinsip "one event one approval" sehingga apabila tanaman PRG Katahdin event SP951 telah memperoleh ketetapan aman lingkungan maka galur-galur hasil silangan juga mendapat aman lingkungan. Data-data LUT yang disajikan di dalam dossier tidak perlu semua data LUT tetapi hanya yang terkait dengan pengujian keamanan lingkungan, yaitu LUT Lembang (2012), Pangalengan (2012), Garut (2012) dan Pangalengan (2013). Selain itu, perlu ditambah dengan referensi untuk mendukung jawaban pertanyaan. Jawaban didalam dossier diusahakan ringkas dan jelas, sedangkan untuk detilnya dapat dilihat di dalam lampiran. Saat ini sedang dikerjakan revisi dossier keamanan lingkungan sesuai dengan saran atau masukan dari TTKH dan akan dibahas kembali pada pertemuan TTKH selanjutnya.

PEMBENTUKAN GALUR UNGGUL KOMODITAS PERTANIAN MELALUI MUTASI, VARIASI SOMAKLONAL, DAN KULTUR ANTERA

Kedelai, padi, sorgum, gandum, pisang dan cabai merupakan komoditas pangan dan hortikultura yang memiliki nilai strategis dan ekonomis penting yang perlu mendapat perhatian. Program pemuliaan untuk perbaikan varietas kedelai umur genjah, toleran kekeringan, dan berdaya hasil tinggi perlu dilakukan. Pada padi, ketidakstabilan dan rendahnya produktivitas padi di lahan sawah tadah hujan merupakan masalah yang harus diatasi. Varietas padi yang relatif toleran kekeringan dengan umur genjah, mempunyai peluang yang besar untuk ditanam pada daerah beriklim kering dengan periode hujan singkat perlu dikembangkan. Pengembangan tanaman sorgum dalam skala luas tentunya memerlukan varietas yang mempunyai karakter agronomi unggul, seperti kandungan tanin rendah, batang pendek, dan jumlah anakan banyak serta produksi tinggi.

Penggunaan teknik mutasi dalam pemuliaan tanaman mempunyai peluang keberhasilan yang cukup besar serta membutuhkan waktu yang relatif singkat. Peningkatan keragaman genetik plasma nutfah tanaman melalui persilangan dan mutasi benih dan kalus embriogenik sangat diperlukan. Induksi mutasi dengan mutagen (kimia atau fisik) telah terbukti memberikan kontribusi penting pada perbaikan tanaman di dunia, termasuk karakter genjah, ketahanan terhadap hama dan penyakit serta peningkatan produksi. Kultur *in vitro* yang dikombinasi dengan induksi mutasi diperlukan untuk membantu mengembangkan galur pisang tahan terhadap penyakit layu fusarium dan cabai tahan penyakit virus ChiVMV dan virus kuning keriting. Peningkatan produsi komoditas-komoditas ini dapat membantu memecahkan masalah ketahanan pangan di Indonesia.

1. Pembentukan galur mutan kedelai berumur genjah melalui mutasi

Evaluasi dan seleksi galur M_5 asal iradiasi kalus embriogenik dilakukan di KP Muara, Bogor. Kisaran umur berbunga pada populasi tidak bervariasi luas, kisaran umur berbunga pada mutan Baluran (MBal 430 dan Mbal 431) antara 29–35 hari setelah tanam (HST). Beberapa galur berbunga lebih cepat dari Baluran dan 11 mutan MC11 masak lebih cepat dari tetuanya. Keragaman tinggi tanaman pada mutan juga tidak luas. Banyaknya polong isi pada galur mutan MC11 (50–70 biji/tanaman), meningkat 2 kali dibanding tetuanya, Baluran dan Grobogan. Sembilan galur mutan MC11 menghasilkan bobot lebih tinggi dibanding tetuanya (\geq 70 g). Hasil biji per plot pada 4 galur mutan asal Baluran lebih tinggi dibanding tetuanya dan Grobogan yaitu \geq 390 g. Pada mutan C11, semua galur menghasilkan bobot per plot lebih tinggi dibandingkan tetuanya. Seleksi di KP Muara

menghasilkan empat galur mutan asal Baluran dan delapan galur mutan asal C11 dengan bobot biji/petak melebihi varietas cek (asal).

Uji daya hasil pendahuluan di KP Citayam, Bogor, menunjukkan bahwa umur berbunga dan umur panen tujuh galur mutan yang lebih awal (76 hari), dari pada tetuanya Baluran. Satu galur mutan C11 masak lebih awal (85 HST) daripada tetuanya (87 HST). Beberapa galur mutan Baluran tampak tumbuh lebih tinggi. Jumlah polong isi pada putative mutan Baluran menghasilkan 28 galur yang meningkat ≥28%, pada galur mutan tersebut jumlah polong terbanyak 58,7 buah, naik 67%. Ada variasi ukuran biji pada mutan asal Baluran dan galur mutan C11. Peningkatan produksi diidentifikasi pada galur mutan dan menunjukkan produktivitasnya sudah stabil.

Uji daya hasil pendahuluan di KP Muara menunjukkan bahwa umur panen 9 galur mutan Baluran masak lebih awal (74 hari) daripada tetuanya (76,3 hari), namun tidak pada mutan C11. Tinggi tanaman pada beberapa galur mutan Baluran tampak lebih tinggi dibanding tetuanya dan sebaliknya beberapa galur mutan C11 tampak lebih pendek dibanding tetuanya. Rata-rata produksi polong isi pada galur mutan asal Baluran di bawah tetua dan galur mutan asal C11 diperoleh empat galur mutan yang menghasilkan polong isi lebih tinggi dengan kisaran 26–29 polong/tanaman. Rataan bobot biji/100 butir pada galur mutan asal Baluran menunjukkan peningkatan dan menurun pada galur mutan C11 dibandingkan tetuanya. Sebelas galur mutan menghasilkan bobot sampel yang lebih tinggi (93,4–118,2 g) dibandingkan dengan Baluran dan Grobogan. Bobot sampel semua galur mutan asal C11 juga lebih tinggi dibanding tetuanya dengan kisaran 105,2–122,3 g. Pada galur mutan asal C11 menghasilkan dua galur yang hasilnya lebih tinggi dengan kisaran 903–943 g daripada tetuanya. Secara keseluruhan, uji daya hasil pendahuluan di KP Muara dan Citayam berdasarkan data hasil biji/petak, telah diidentifikasi 25 galur mutan asal Baluran dan asal C11 terbaik untuk diuji daya hasilnya lebih lanjut.

Uji daya hasil lanjutan 20 galur mutan kedelai asal iradiasi biji galur F₈ bersama 5 varietas pembanding telah dilakukan di 4 lokasi di Jawa Barat. Di antara keempat lokasi rata-rata hasil tertinggi dicapai di Cibatok (3,075 t/ha), dan diikuti oleh Muara dan Plumbon (2,922 dan 2,773 t/ha). Di Cibatok dan Plumbon lahannya adalah tegalan, sementara di Muara dan Kuningan adalah lahan sawah namun tidak selalu dijadikan sawah. Galur yang diuji di Muara, Kuningan, dan Plumbon terdapat pengaruh yang nyata terhadap hasil biji, sedangkan tidak nyata di Cibatok.

Di Muara, enam galur memiliki hasil nyata lebih tinggi dari ke lima varietas cek. Di Cibatok hasil tertinggi pada galur Ped M6-A1-488-1 (3,978 t/ha), di Kuningan adalah galur no 5 (Ped M6-A1-420-3), dan beberapa galur nyata lebih tinggi dibanding kelima varietas

pembanding. Di Plumbon hasil tertinggi dicapai oleh galur no 15 (Bulk-M6-A-33), dan bersama 6 galur lainnya berbeda nyata dengan varietas cek Grobogan dan Anjasmoro. Hasil biji dari rata-rata keempat lokasi pengujian menunjukkan bahwa hasil tertinggi diperoleh pada galur no 7 (3,213 t/ha). Berdasarkan hasil biji pada masing lokasi, rata-rata hasil pada 4 lokasi, penampilan karakter agronomisnya di lapang, persentase hasil dibanding varietas cek, dan data sifat agronomisnya, maka telah dipilih 11 galur kedelai terbaik (dengan sebutan Biosoy1 sampai Biosoy11) untuk diteruskan pengujian ke tingkat uji adaptasi (UML) pada MT II 2016.

Uji multilokasi galur kedelai asal iradiasi benih F₈ untuk umur genjah-sedang produktivitas tinggi dilakukan di 10 lokasi yaitu di Jawa Barat (Muara, Cibatok, Pusakanagara, Kuningan, di provinsi DIY (Bantul dan Wonosari), dan di Jawa Timur (Kendal Payak, Pasuruan dan Lamongan) dan NTB (Lombok Barat). Analisis data UML di 8 lokasi pengujian (Bantul, Kunigan, Muara Musim I, Kendal Payak dan Lombok Barat-NTB) menunjukkan galur Biosoy-8 memiliki hasil tertinggi (2,716 t/ha), diikuti oleh galur Biosoy-11 (2,643 t/ha) (Tabel 22). Biosoy-8 dan Biosoy-11 memiliki peluang besar untuk dilepas sebagai varietas unggul baru kedelai berbiji besar dengan produktivitas tinggi.

Tabel 22. Rata-rata hasil (t/ha) galur mutan kedelai di 8 lokasi dibanding varietas cek.

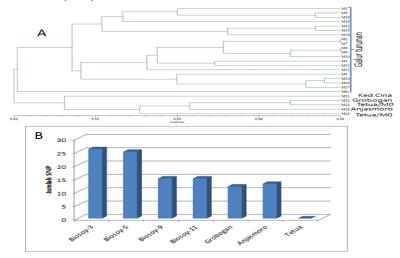
Galur	Rata-rata 8 lok (t/ha)	Hasil vs Grobogan (%)	Hasil vs Anjasmoro (%)	Hasil vs Mo- Bio (%)
Biosoy-1	2,417	6,42	3,24	11,74
Biosoy-2	2,405	5,89	2,72	11,17
Biosoy-3	2,561	12,78	9,41	18,41
Biosoy-4	2,588	13,96	10,55	19,65
Biosoy-5	2,528	11,33	7,99	16,88
Biosoy-6	2,550	12,31	8,95	17,92
Biosoy-7	2,483	9,32	6,05	14,78
Biosoy-8	2,716	19,62	16,04	25,60
Biosoy-9	2,367	4,21	1,09	9,42
Biosoy-10	2,579	13,58	10,18	19,25
Biosoy-11	2,643	16,37	12,89	22,18
Mo-Bio	2,163			
Ked Cina	1,938			
Grobogan	2,271			
Anjasmoro	2,341			

Sebanyak masing-masing 4 galur (galur no. 3, 4, 5, dan 8) diidentifikasi paling tahan terhadap hama pengisap polong kepik hijau (*R. linearis* L.) dan hama penggerek polong (*E. zinckenella*). Pada pengamatan 3 minggu dan 4 minggu setelah inokulasi,

diperoleh sebanyak 14 galur bereaksi tahan (T) dan Anjasmoro (cek 4) bereaksi agak tahan (AT) terhadap penyakit karat.

Karakterisasi molekuler galur mutan dilakukan menggunakan pendekatan sekuensing dan PCR dengan marka SSR dan SNAP. Sebanyak 14 marka SSR digunakan untuk genotiping 25 galur mutan/genotipe kedelai. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa 25 galur/varietas kedelai memisah menjadi dua klaster utama pada koefisien 0,82 (Gambar 31A). Klaster I terdiri atas 20 galur mutan sedangkan klaster II terdiri atas galur tetua (M23 dan M249 dan varietas yang dilepas sebagai kontrol. Semua galur-galur mutan berbeda sekali secara genetik dibanding dengan tetua maupun varietas kontrol yang sudah dilepas. Sebanyak 9 marka SSR dipilih untuk diidentifikasi pola motif SSR-nya hanya pada tetua. Berdasarkan ukuran alel tiap mutan, perbedaan secara kasar antara mutan dengan tetuanya dapat diduga apakah ada mutasi atau tidak.

Sebanyak 10 pasang primer SNAP dirancang untuk mendeteksi SNP kedelai pada galur mutan. SNP terkait gen-gen penting di kedelai tersebut dieksplorasi di database genome Balitbangtan (www.genom.litbang.pertanian.go.id), misalnya auxin response factor, dan sistem pertahanan (seperti Peroxidase, Chitinase class I dan Myb-like DNA-binding domain). Pada 8 marka SNAP (kecuali marka monomorfis), secara spesifik galurgalur mutan tertentu, baik sebagian besar ataupun minoritas, diidentifikasi telah mengalami mutasi titik yang berbeda dengan tetuanya. Berdasarkan SNP dari 8 gen ini, profil sidik jari DNA untuk identitas sebagian besar galur mutan sudah dapat ditentukan dan diperlukan dalam pelepasan varietas.



Gambar 31. Analisis molekuler galur mutan kedelai. A = dendrogam 25 genotipe yang merupakan galur mutan dan varietas kedelai berdasarkan 14 marka SSR (1–20: galur mutan kedelai), B = perbedaan jumlah variasi SNP pada gen-gen 7 gen terpilih antara tetua, varietas kontrol, dan galur turunannya yang diuji UML 2016.

Identifikasi mutasi pada galur-galur mutan terpilih dibandingkan dengan tetua (M24) didukung pada level genetik melalui resekuensing gen-gen penting di kedelai. Dari empat gen dari Cooper, 2 gen dari PGKPI (www.genom.litbang.pertanian.go.id), dan 5 gen dari NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov), ternyata hanya 9 primer yang bisa mengamplifikasi DNA genom, kemudian dilanjutkan sekuensing. Dua sekuen gen parsial (<a href="https://www.genom/lovare.gen

2. Pembentukan galur padi dihaploid toleran kekeringan melalui kultur antera

Berdasarkan Uji Daya Hasil Pendahuluan (UDHP) di KP Cikeumeuh, keragaan galur mutan padi IR64 yang ditanam dengan sistem gogo menunjukkan adanya perbedaan fenotipik antar galur. Karakter tinggi tanaman, anakan produktif, dan panjang malai galur-galur mutan IR64 berbeda dengan pembandingnya (IR64 dan Inpago 10). Tinggi tanaman pada galur-galur mutan IR64 nyata lebih tinggi (112,56–150 cm) dibandingkan tetua asalnya IR64 (96,33 cm), namun jumlah anakan produktif galur-galur mutan lebih sedikit IR64. Sebanyak 16 galur mutan memiliki malai lebih panjang dibanding dengan IR64 (24,25 cm), yaitu berkisar 24,36-28,22 cm. Jumlah gabah isi dan jumlah gabah total galur mutan juga lebih banyak daripada tetuanya. Persentase pengisian biji galurgalur mutan IR64 lebih baik dibanding dengan Inpago 10, kecuali galur E-34. Bobot 1.000 butir galur-galur mutan berkisar 21-32,5 gram, sedangkan bobot gabah bernas per rumpun berkisar 19,29-33,69 gram. Potensi hasil galur-galur mutan yang dihitung berdasarkan jumlah rumpun yang dipanen per plot berkisar 5,40-7,45 t/ha. Sebanyak 7 galur mutan dengan potensi hasilnya >10% dibandingkan tetuanya IR64 (6,01 t/ha), yaitu E-5, E-16, E-19, E-33, E-37, E-043, dan E-48. Dua galur mutan (E-16 dan E-37) mempunyai potensi hasil >5% dibandingkan varietas padi gogo Inpago 10 (6,97 t/ha).

Perbanyakan benih DH_0 yang dilakukan di rumah kaca dimaksudkan untuk memperoleh benih yang cukup bagi keperluan pengujian selanjutnya. Galur DH_0 yang diperbanyak sebanyak 83 galur berasal dari hasil kultur antera 6 individu F_1 . Karakter

agronomi seperti umur panen, tinggi tanaman, jumlah anakan produktif menunjukkan kisaran yang lebar. Hal serupa juga dijumpai pada karakter komponen hasilnya (Tabel 23). Perbanyakan galur DH_0 mendapatkan 32 galur DH potensial dengan bobot per rumpun >30 g yang akan diuji lanjut toleransinya terhadap cekaman kekeringan menggunakan uji cepat. Hasil benih yang diperoleh dari kegiatan ini berkisar antara 21-187 gram.

Tabel 23. Kisaran komponen hasil dan hasil 83 galur DH₀.

Kode Populasi	Galur	GBI (btr)	% GBI	B1000 (g)	B/RPN (g)
DR1	5	132-157	75-84	19,4-24,0	18,84-30,02
DR2	29	87-195	63-92	21,2-28,5	10,60-43,53
DR3	14	111-212	68-90	19,0-26,9	21,30-44,62
DR4	12	102-170	58-94	20,1-25,0	8,51-41,70
DR5	11	122-227	61-83	15,9-27,9	6,88-43,68
DR6	12	131-229	75-90	21,4-28,0	12,44-62,48

DR1 = Inpari 18/B12825E-TB-1-25//Limboto; DR2 = Inpari 18/IR87705-14-11-B-SKI-12//Limboto; DR3 = Inpari 18/IR83140-B-11-B//Limboto; DR4 = Inpari 22/IR87705-14-11-B-SKI-12//Limboto; DR5 = Inpari 22/IR83140-B-11-B//Limboto; DR6 = Inpari 8/B12825E-TB-1-25//Limboto. GBI = gabah isi; B1000 = bobot 1000 butir gabah bernas; B/RPN = bobot gabah bernas per rumpun

Pada uji cepat galur DH₀ untuk toleran cekaman kekeringan, vigor benih yang diuji >85%. Panjang akar dan plumula turun akibat perlakuan PEG 6000 25%. Penurunan panjang akar berkisar antara 17−77%, dan sebanyak 14 galur yang mengalami penurunan panjang akar relatif ≤55%. Perlakuan PEG 6000 25% tampak lebih mempengaruhi pertumbuhan plumula. Penurunan panjang plumula mencapai >90% dan tidak berbeda antara galur dengan varietas pembanding peka (IR20) dan toleran (Salumpikit). Bobot kering akar dan plumula menurun akibat perlakuan PEG 6000 25%. Penurunan bobot kering plumula berkisar 86−97%. Terdapat 13 galur yang penurunan bobot akarnya <75%. Oleh karena itu, tampak bobot kering kecambah yang diperlakukan PEG 6000 25% juga menurun.

Laju pertumbuhan kecambah dapat ditinjau dari rasio bobot kering akar terhadap bobot kering plumula maupun dari rasio bobot kering kecambah normal terhadap jumlah kecambah normal. Laju pertumbuhan 10 galur DH lebih rendah dibandingkan IR 20, dan 4 galur DH lebih baik dari Salumpikit. Namun, jika ditinjau dari jumlah kecambah normal dan bobot keringnya, terdapat 18 galur DH yang laju pertumbuhannya lebih baik dibandingkan IR20. Berdasarkan observasi daya hasil, umur panen galur-galur DH1 berkisar 103–120 HSS, jadi semua galur uji masih termasuk kategori berumur genjah.

3. Seleksi galur mutan Super I generasi M₂ dan M₃ dan galur mutan Numbu generasi M₄ dan M₅ yang menghasilkan brik gula ≥14%

Seleksi galur mutan M_2 dilakukan di Bogor dan Balitseralia, Maros. Hasil seleksi di Bogor menunjukkan bahwa tanaman M_2 Super I tampak bervariasi pada tinggi tanaman, diameter batang, dan panjang malai. Tinggi tanaman pada galur mutan asal iradiasi dengan dosis 50 dan 60 Gy berkisar antara 3–3,5 m, dan terhambat pada 70 Gy. Tinggi tanaman dengan 70 Gy berkisar antara 2–2,5 m. Kandungan gula di dalam batang pada galur mutan pada 50 Gy berkisar antara 8,6–15,3%, dan pada 70 Gy berkisar 3,6–17,6%. Sebanyak 26 galur mutan memiliki kandungan brik diatas 14% atau meningkat 40–70% dibanding tetuanya (Numbu). Variasi ditemukan pada panjang malai, bobot malai basah, maupun malai kering. Beberapa galur mutan menghasilkan malai yang lebih panjang dan bobotnya lebih tinggi dibandingkan tetuanya.

Seleksi galur mutan M₂ Super I di KP Balitserealia, Maros, menunjukkan bahwa tanaman yang tumbuh hanya 50% karena lahan yang tersedia mempunyai pH rendah (pH 3,5). Tanaman yang dapat beradaptasi pada lahan tersebut menghasilkan tanaman yang tinggi (Gambar 32). Tanaman asal galur mutan pada 70 Gy terhambat pertumbuhannya, hal tersebut juga terjadi pada pertanaman di Bogor. Namun, bila dilihat dari penampilan malai yang dihasilkan tidak menunjukkan adanya perubahan. Penampilan malai pada dosis yang berbeda tidak menunjukkan adanya perbedaan.



Gambar 32. Pertumbuhan tanaman mutan sorgum di KP Balitserealia, Maros. Malai yang sudah masak penuh dan contoh malai dari dosis yang berbeda.

Seleksi galur mutan M_3 Super I dilakukan di KP Cikeumeuh, Bogor, di mana curah hujan sangat tinggi, sehingga menyebabkan serangan belalang dan semut, serta cendawan berwarna hitam. Kisaran brik gula sangat rendah pada semua galur mutan asal radiasi dengan dosis 50, 60 dan 70 Gy (2,5-9%), dikarenakan curah hujan tinggi, dan

menurun tajam dibanding dengan galur-galur M₁. Komponen hasil galur mutan khususnya bobot malai basah dan kering lebih tinggi dibanding tetuanya.

Observasi hasil galur mutan M₄ Numbu di Bogor menunjukkan variasi pada tinggi tanaman, diameter batang, dan brik gula. Sebagian mutan memiliki tinggi tanaman melebihi tetua dengan kisaran antara 228–320 cm. Kisaran diameter batang antara 1,5–2 cm dan pada tetuanya 1,8 cm. Kandungan brik gula sebagian galur mutan M₄ melebihi tetuanya dan dibandingkan populasi awal yaitu putatif mutan M₃ menunjukkan beberapa galur tetap stabil namun ada yang menurun. Galur mutan yang stabil dapat menghasilkan gula brik tinggi di atas 14%. Sebanyak 13 putatif mutan M₄ menghasilkan brik gula 13,7–17%. Berdasarkan uji 11 genotipe sorgum manis, Watar Hammu Putih memiliki brik gula sebesar 12,33%, sedangkan 15021A sebesar 12,67%, lebih tinggi dibanding Numbu maupun Selayar. Standar deviasi panjang malai tidak lebar variasinya, namun variasi cukup besar pada bobot malai basah dan bobot malai kering, menunjukkan adanya putatif mutan yang hasilnya lebih tinggi dibanding tetua.

Uji daya hasil galur pendahuluan galur mutan M_5 varietas Numbu di Bogor menunjukkan kandungan brik gula pada galur mutan M_5 tampak stabil, dan menghasilkan 20 galur dengan kandungan brik gula $\geq 15\%$. Gula brik galur mutan M_5 lebih tinggi yaitu berkisar antara 8-11,5%, daripada tetuanya Numbu (7,6%) dan tetua Super I (8,1%). Produksi bobot malai kering pada mutan meningkat sebesar 10% pada 15 galur mutan, dengan kisaran 34,4-40,9 g/malai.

Hasil uji daya hasil di Maros menunjukkan sebagian galur M_5 lebih tinggi dari tetuanya, seperti pada diamater batang sehingga lebih kokoh, jumlah dan panjang malainya. Delapan galur mutan memiliki panjang malai nyata lebih tinggi (21,9–23,7 cm) dibanding daripada pada Numbu dan Super I. Sebanyak 4 galur mutan menghasilkan malai lebih banyak dibanding tetuanya dengan kisaran 110-126,4 g Numbu dan Super 1.

4. Perakitan tanaman pisang tahan fusarium melalui keragaman somaklonal dan seleksi in vitro

Sebanyak 26 galur (36 tanaman) pisang Ambon Kuning MV_4 telah diuji di KP Aripan, Balitbu Solok dan 18 galur MV_5 di KP Pasirkuda, PKHT-IPB, Bogor terkait ketahanan terhadap fusarium dan produktivitas. Hasil uji di KP Aripan, diperoleh 9 galur yang dapat bertahan hidup sampai masa produksi, 7 galur di antaranya sudah dipanen, sedangkan uji di KP Pasirkuda, Bogor diperoleh 16 galur yang sehat dan berproduksi. Produktivitas galur-galur yang diuji di KP Aripan, dilihat dari semua parameter yang diamati (bobot buah per tandan, jumlah sisir per tandan, rata-rata bobot buah per sisir, dan rata-rata jumlah buah per sisir) lebih rendah dibanding dengan produktivitas galur yang sama yang

dihasilkan di KP Pasirkuda, Bogor. Produktivitas yang lebih rendah di KP Aripan diduga antara lain disebabkan periode kemarau yang lebih panjang, tekanan biotik dari organisme pengganggu yang lebih besar, dan pemeliharaan tanaman yang belum maksimal.

Di KP Pasirkuda, Bogor, terdapat 16 galur tumbuh sehat dan berproduksi. Buah dari galur-galur somaklon mempunyai bentuk dan rasa normal sedangkan ukuran bobot buah bervariasi. Galur-galur somaklon (kecuali galur B8P3) mempunyai umur panen buah lebih pendek (85–97 hari) dibanding kontrol, Ambon kuning non somaklonal (108 hari). Produksi buah galur somaklon (kecuali B4P3) mempunyai bobot yang lebih besar (20,86–30,60 kg) dibandingkan kontrol. Tiga belas dari 16 galur somaklon mempunyai bobot yang lebih besar (2,61–3,40 kg) dibanding dengan kontrol. Jumlah buah per sisir, semua galur somaklon (kecuali B1P3) lebih banyak (15,1–17,5) dibanding dengan kontrol. Sebanyak delapan galur somaklon mempunyai jumlah sisir per tandan yang lebih banyak (9–10 sisir) dibanding tanaman kontrol dan delapan galur somaklon lainnya sama dengan kontrol. Karakter tinggi tanaman, lingkar batang, jumlah anakan, dan jumlah galur somaklon bervariasi. Secara umum tinggi tanaman galur somaklon pada saat produksi lebih tinggi (antara 287–372 cm) dibanding kontrol kecuali B8P2, demikian juga pada lingkar batangnya. Sebagian galur juga menunjukkan jumlah anakan dan jumlah daun lebih tinggi daripada kontrol.

Pengujian ketahanan galur-galur somaklon pisang Ambon Kuning di KP. Pasirkuda telah dilakukan sebanyak empat generasi (MV₁, MV₂, MV₄ dan MV₅) dan menunjukkan konsistensi dapat bertahan hidup sampai masa berproduksi. Sebanyak 25 nomor galur dapat tumbuh dan berproduksi selama pengujian sampai MV₅. Dari 25 nomor tersebut, enam galur konsisten bertahan tumbuh dan berproduksi pada keempat generasi yang diuji (B1P3, B1P4, B5P1, B5P2, B6P4, dan B8P3).

Dari keenam galur yang bertahan hidup dan berproduksi pada pengujian di KP Aripan terdapat tiga galur (B1P3, B1P4, dan B5P1) yang stabil tumbuh sehat dan berproduksi selama empat kali pengujian di KP Pasirkuda. Sementara itu, dua galur tumbuh sehat sampai masa produksi pada tiga kali pengujian dan galur B9P1 pada dua kali pengujian. Di lain pihak, terdapat tiga galur (B5P2, B6P4, dan B8P3) yang stabil pada pengujian di KP Pasirkuda tetapi terserang pada pengujian di KP Aripan, Solok.

Perbanyakan *in vitro* telah dilakukan pada galur pisang Ambon Kuning terseleksi dengan menggunakan anakan yang tumbuh pada potongan bonggol berumur 2–3 minggu sebagai sumber eksplan. Proses perbanyakan disesuaikan dengan ketersediaan sumber eksplan dari lapangan. Total 6 galur terseleksi dimultiplikasi termasuk galur

somaklon MV_5 . Eksplan pada umur 2 minggu setelah tanam menunjukkan adanya respons pertumbuhan, akan tetapi belum menunjukkan adanya multiplikasi.

Uji ketahanan galur somaklon pisang Barangan dan Cavendish terhadap penyakit layu fusarium hasil seleksi *in vitro* dilakukan di rumah kaca dan pengujiannya di lahan endemik. Sebanyak 870 plantlet pisang Barangan hasil induksi mutasi menggunakan mutagen etylmethane sulfonate (EMS) dan hasil seleksi in vitro menggunakan asam fusarat (FA) berhasil diaklimatisasi di rumah kaca (Gambar 33A). Benih tanaman hasil aklimatisasi tersebut telah diuji ketahanannya terhadap penyakit layu fusarium menggunakan larutan spora Foc strain tropikal ras 4 pada densitas 10^6-10^7 . Penilaian tingkat gejala serangan Foc dilakukan secara kualitatif (ringan, sedang, dan berat) dengan melihat jumlah daun yang terserang (Gambar 33B). Sampai dengan umur 10 hari setelah inokulasi, persentase gejala serangan penyakit terbesar berada pada tingkat sedang yaitu antara 22,9-65,8%. Jumlah tanaman yang sehat bervariasi antara 3,7-28,6%, sedangkan tanaman yang mati (2%) hanya terjadi pada tanaman yang berasal dari perlakuan perendaman EMS 0.1% selama 1 jam (T_4) . Tanaman yang berasal dari tanpa perlakuan induksi mutasi (T₀) menunjukkan gejala serangan berat terbesar (39,2%). Sebagian besar tanaman dari semua perlakuan mengalami gejala serangan penyakit pada pada tingkat sedang sampai kematian pada 40 hari setelah diinokulasi.

Berdasarkan konsentrasi agen seleksi (FA), agen seleksi FA 60 ppm menunjukkan persentase tanaman yang mati yang terendah (35,7%) dibanding perlakuan lainnya. Secara umum peningkatan perlakuan konsentrasi agen seleksi cenderung menunjukkan jumlah tanaman dengan tingkat serangan yang lebih rendah. Akan tetapi tidak menunjukkan adanya perbedaan dengan tanaman hasil perbanyakan *in vitro* tanpa perlakuan induksi mutasi dan seleksi.

Sebanyak 841 plantlet pisang Cavendish yang berasal dari perlakuan induksi menggunakan mutagen EMS berhasil diaklimatisasi. Gejala penyakit dengan tingkat serangan sedang pada hari ke-10 pada semua perlakuan induksi mutasi sudah mencapai (34–55,9%), sedangkan tanpa induksi mutasi dan seleksi mencapai 70%. Sampai dengan umur 40 hari tanaman yang berasal dari perlakuan T₅ menunjukkan tingkat ketahanan yang paling tinggi. Perlakuan agen seleksi menggunakan asam fusarat 60 ppm menunjukkan persentase kematian, gejala serangan berat dan sedang terendah dibanding perlakuan lainnya. Persentase kematian terbanyak (40%) diperoleh dari tanaman yang berasal dari biakan tanpa seleksi.

Hasil uji lapang ketahanan penyakit Foc dilakukan di lokasi endemik. Total 182 tanaman pisang Barangan dari 18 perlakuan induksi dan mutasi di rumah kaca diuji di KP

Pasirkuda, Bogor, dan 50 tanaman diuji di KP Aripan, Balitbu, Solok. Pengujian di KP Pasirkuda untuk jenis Cavendish hanya ditanam sebanyak 18 tanaman, dan 249 tanaman jenis Cavendish ditanam di KP Citayam, Bogor. Tanaman galur pisang Barangan di lapangan sampai dengan umur empat bulan umumnya menunjukkan pertumbuhan yang baik. Namun, gejala penyakit layu sudah kelihatan dan meluas. Semua tanaman jenis Barangan (baik hasil perlakuan induksi mutasi dan seleksi maupun tanpa perlakuan) sudah terserang penyakit pada 8 umur bulan. Tingkat serangan mencapai 50–100% dan sebanyak 178 dari 194 tanaman yang diuji. Hanya sebanyak 16 nomor tanaman dari 9 galur masih bertahan dan beberapa diantaranya sudah menunjukkan produksi buahnya.



Gambar 33. Pengujian ketahanan penyakit Foc pada tanaman hasil somaklonal. A = tingkat serangan penyakit layu setelah diinokulasi dengan larutan spora Foc pada pengujian di rumah kaca (a = tanaman sehat, b = serangan ringan, c dan d = serangan sedang, e dan f = serangan berat), B = benih tanaman hasil seleksi *in vitro* yang telah diaklimatisasi (a = sebelum diinokulasi Foc, b = sesudah diinokulasi Foc).

Galur-galur Cavendish di KP Pasirkuda umumnya menunjukkan pertumbuhan yang baik. Sampai dengan umur delapan bulan setelah tanam, gejala serangan penyakit layu pada galur somaklon Cavendish terlihat lebih rendah dibanding pada jenis Barangan. Tinggi tanaman somaklon Cavendish antara 116–175 cm, lebih rendah dibanding galur tanpa perlakuan (219 cm) demikian juga lingkar batang lebih besar (68 cm) dibanding galur yang berasal dari perlakuan (41–65 cm). Jumlah anakan bervariasi antara 1–6

anakan. Sementara itu, pertanaman Cavendish di KP Citayam sampai 6 bulan HST menunjukkan pertumbuhan yang baik tanpa adanya gejala serangan penyakit.

5. Seleksi lanjutan cabai merah toleran ChiVMV dan pengembangan VUB cabai toleran virus kuning keriting melalui pendekatan pemuliaan mutasi

Penampilan fenotipik semua galur terlihat umumnya hampir sama, namun demikian secara visual tanaman uji mutan dapat dibedakan dengan tanaman 3 tanaman kontrol (Chiko, Tanjung 2, Gelora). Pertumbuhan tanaman cabai diamati terhadap tinggi tanaman, lebar kanopi tinggi dichotomus, jumlah buah pertanaman, bobot per buah lebih tinggi daripada kontrol dengan nilai masing-masing dari kelima mutan adalah 61,35–65,75 cm, 59,39–70,14 cm, 28–45 cm, 147–164 buah, dan 6,5–6,8 g. Diperkirakan produksinya dapat mencapai 19,99–21,94 t/ha dan persentase peningkatan produksi dibanding Gelora sebagai tanaman asalnya adalah 13,9–25,9% (Tabel 24). Bentuk fenotifik tanaman yaitu bentuk cabang *erect*, tinggi batang utama sekitar 28–45 cm, warna batang hijau-ungu, bentuk daun ovate warna kelopak bunga putih, posisi bunga pendant, jumlah kelopak bunga 5 (lima) buah, jumlah bunga per ketiak satu. Hal ini mungkin disebabkan asalnya dari satu induk yang dimutasi dengan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*).

Tabel 24. Karakter komponen hasil cabai mutan tahan virus belang (ChiVMV) Pacet, Cianjur, MK. 2016

Nomor Galur	Panjang buah (cm)	Panjang tangkai buah cm)	Diameter buah (cm)	Ketebalan daging buah (mm)	Jumlah buah per tanaman	Bobot buah per tanaman (gram)	Kenaikan provitas dibanding tetua (%)
M238.2	12,28 b	4,31 bc	2,21 a	270 bc	137,0 с	1.739,6 a	- 9,1
M353.1	12,01 b	4,00 cd	1,30 a	2,40 c	150,5 bc	1.937,0 a	1,3
M517.2	12,27 b	3,96 cd	1,39 a	3,33 ab	188,75 ab	2.423,6 a	26,7
M801.1	12,85 a	4,54 abc	1,43 a	2,87 abc	139,13 c	2.316,4 a	21,1
M113.3	11,21 c	5,09 a	2,35 a	3,53 a	197,25 a	2.294,0 a	19,9
Gelora	11,97 b	4,68 ab	1,32 a	2,80 abc	124,13 c	1.912,7 a	-
Chiko	11,83 b	3,61 d	1,73 a	2,17 c	166,13 abc	2.318,4 a	-
Tanjung 2	10,27 d	3,90 cd	1,85 a	2,23 c	147,5 bc	2.342,3 a	-
KK (%)	9,48	11,53	7,84	15,23	25.6	25,28	

Huruf yang sama di belakang angka dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Galur-galur mutan dikategorikan tahan terhadap ChiVMV, hal ini terlihat dari nilai absorbansi DAS ELISA-nya yaitu berada pada kisaran 0,124–0,184 nm, dibanding dengan varietas Chiko, Tanjung 2, dan Gelora. Pada pengamatan 30–56 hari setelah tanam pada semua galur tanaman tidak terlihat adanya serangan virus mosaik khususnya virus belang urat daun (*ChiVMV*) baik secara tunggal atau gabung dengan virus lain seperti virus Y kentang (PVY), virus mosaik (CMV), virus mosaik tembakau atau tomat (TMV atau ToMV)

dan virus Etch tembakau (TEV). Namun, genotipe kontrol (Tanjung-2) menunjukkan insiden gejala mosaik sekitar 14% dan intensitas gejala 4,5%. Galur tanaman cabai di lapangan beberapa terlihat terinfeksi virus kuning keriting pada umur 37 hari setelah tanam tetapi belum merata. Tiga kandidat varietas M5.517, M5.113 dan M5.801 mempunyai kandungan kapsaisin lebih tinggi dari tanaman pembandingnya Tanjung-2 dan Gelora, berturut-turut 2.600,96, 2.421,12, dan 1.661,46 ppm. Kadar kapsaisin ini akan menjadi salah satu ciri keunggulan lain dari kandidat varietas yang diusulkan.

Analisis filogeni menunjukkan bahwa 11 genotipe cabai memisah menjadi dua klaster utama, klaster I terdiri atas 5 galur mutan sedangkan klaster IIterdiri atas 5 galur lainnya bersama dengan tetua. Varietas tetua terlihat dekat dengan galur G. Bila kesepuluh galur mutan cabai tersebut dibandingkan terhadap kontrolnya tetuanya (K), maka terdapat galur mutan yang memiliki nilai koefisien kesamaan genetik paling besar (galur B, G, H, dan I) yaitu sebesar 0,731 (73%). Galur-galur tersebut dengan karakter agronomi unggul dan tahan virus memiliki potensi untuk dilepas sebagai varietas baru yang didukung oleh perbedaan secara genetik dengan tetuanya.

Dua marka, CaSSR246 dan CaSSR2.2 menunjukkan hanya satu motif SSR pada tetua mutan yaitu masing-masing 'AC' dengan 7 *repeat* dan 'TTTG' berjumlah 3 *repeat*. CaSSR1.2 menghasilkan tipe motif 4 motif SSR. Repeat motif terbanyak (10) dihasilkan oleh Agi55 dengan tipe AGA. Variasi motif SSR pada tetua ini sangat penting untuk menduga perbedaan pada level sekuen nukleotida pada galur mutan

Identifikasi SNP menggunakan mass array iPLEX genotyping diketahui empat ID SNP menunjukkan monoformise pada mutan dan identik dengan tetua. Empat ID SNP yang lain memberikan variasi pada semua galur. Sebagian besar mutasi terjadi dari tetua ke galur mutan J untuk ke-4 ID SNP yaitu T/G (CaSNP1.1), G/A (CaSNP1.3), T/G (CASNP2.1) dan C/CA (CaSNP11.2). Berdasarkan SNP ini terlihat pola mutasi yang cenderung disebabkan oleh mutagen EMS yaitu alkilasi mis-pairing basa guanin (G) dengan timin (T), perubahan basa GC ke A/T.

Tabel 25. Mutasi titik pada beberapa lokus berdasarkan gen target

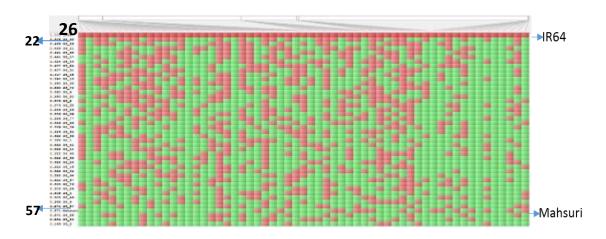
No.	Deskripsi gen	Gen target			Mutas	si (SNP)	
1.	Capsicum annuum CaSNP-Pvr		Posisi	467	537	627	630
	kultivar Jalapeno- <i>Meukaryotic translation</i> <i>initiation factor 4E (Pvr1)</i>		M238.2	Т	Α	Α	Т
			M353.1	Т	Α	Α	Т
			M517.2	Т	G	Α	Т
			M801.1	Т	G	Α	Т
			M113.3	G	Α	G	С

			Gelora	Т	G	Α	Т
2.	Capsicum annuum	CaSNP-Pin	Posisi	32	137		
	pin-II type proteinase inhibitor 3 (PI-3)		M238.2	Α	Т		
			M353.1	Α	Т		
			M517.2	Α	Т		
			M801.1	G	Т		
			M113.3	Α	Т		
			Gelora	Α	Α		
3.	Promoter regulated by light, temperature, wound and capsaicin	CaSNP- Wcsc	Conserved				
4.	Capsicum annuum capsaicin synthase (csy1) gene, complete cds	CaSNP-Csc	Conserved				

Analisis sekuensing gen terkait ketahanan terhadap virus dan sistem defense (eukaryotic Capsicum annuum-translation initiation factor 4E (Pvr1) dan Capsicum annuum pin-II type proteinase inhibitor 3 (PI-3)) menunjukkan variasi tertinggi pada galur-galur mutan. Total 35 SNP diidentifikasi untuk kedua gen tersebut (Tabel 25). Galur E dan J memiliki situs SNP terbanyak (9 SNP) dan terendah pada galur G (satu SNP). Perubahan basa pada 2 gen ini juga dapat membuktikan merupakan hasil EMS seperti yang ditunjukkan sebagian besar adalah dari G/C ke A/T. Hanya beberapa yang merupakan variasi lain yang juga dapat menjadi efek dari mutasi.



TEKNOLOGI

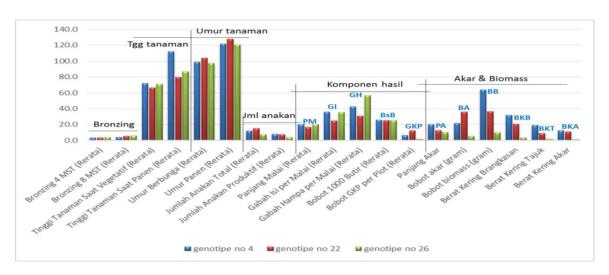


ANALISIS GENOM DAN PEMETAAN GENETIK KOMODITAS PERTANIAN STRATEGIS

Komoditas pertanian strategis nasional yang menentukan ketahanan dan kedaulatan pangan nasional Indonesia diantaranya meliputi padi, kedelai, cabai, kentang, pisang, jarak pagar, kakao, dan sapi. Pemanfaatan teknologi analisis genom dan pemetaan genetik merupakan salah satu terobosan dalam percepatan program pemuliaan tanaman dan ternak khususnya komoditas strategis tersebut. Dengan sekuensing genom, gen-gen pengendali karakter-karakter penting tanaman dan ternak dapat dipetakan dan dengan dukungan pemetaan molekuler terkait karakter target akan semakin mempercepat Pemuliaan berbasis marka DNA program pemuliaan. meningkatkan efisiensi, akurasi/presisi, efektivitas sistem seleksi dan memperpendek siklus pemuliaan karena seleksi berbasis marka DNA tidak dipengaruhi lingkungan dan dapat dilakukan pada stadia awal pertumbuhan.

1. Pemetaan genetik sifat toleransi keracunan Fe melalui pendekatan asosiasi mapping (GWAS/ Genome Wide Association Mapping)

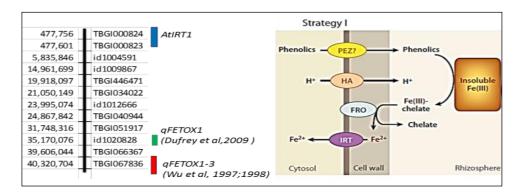
Evaluasi fenotipe galur-galur segregan (nomor 4, 22, dan 26) dilakukan pada lahan dengan cekaman dan tanpa keracunan Fe. Perbedaan sifat kimia tanah ditemukan pada kedua kondisi lahan tersebut. Lahan rawa keracunan Fe bersifat paling asam (pH 5,4) dan nilai KTK lebih rendah dibandingkan dengan rawa normal dan lahan sawah. Tingkat keasaman/pH tanah sangat terkait dengan kandungan unsur hara makro dan mikro tanah. Keragaan populasi tanaman ketiga galur uji berbeda pada cekaman Fe dan sebaliknya pada tanpa cekaman Fe. Tingkat toleransi terhadap keracunan Fe menunjukkan nomor 4 masih bersegregasi untuk karakter bronzing dan karakter agronominya, dan nomor 26 juga untuk karakter *bronzing-*nya (4 MST dan 8 MST). Galurgalur segregan di lahan rawa normal lebih cepat dipanen dibandingkan di lahan dengan cekaman Fe. Sedangkan pada lahan tanpa cekaman Fe, variasi terutama hanya pada tinggi tanaman dan total jumlah gabah isi (GI). Pada lahan tercekam keracunan Fe, galur segregan nomor 4, 22, dan 26 memiliki keragaman pada karakter komponen hasil, yaitu tinggi tanaman, jumlah anakan total, gabah isi (GI), gabah hampa (GH) dan gabah kering panen (GKP), karakter akar dan biomas (panjang akar [PA], bobot akar [BA], bobot brangkasan [BB], bobot kering brangkasan [BKB], bobot kering tajuk [BKT] dan bobot kering akar [BKA]), seperti ditampilkan pada Gambar 34.



Gambar 34. Keragaan fenotipe galur-galur segregan uji dari 3 genotipe padi.

Profil genotipe masing-masing galur uji dibedakan sebagai 2 tipe profil genotipe yang berbeda, yaitu tipe IR64 (berwarna merah semua) dan Mahsuri (berwarna dominan hijau). Sedangkan individu no. 38 dari galur no. 4 ini memiliki kemiripan dengan IR64, sedangkan individu no. 58 memiliki kemiripan dengan Mahsuri. Individu no. 20 dari galur no. 22, memiliki kedekatan dengan IR64, dan individu galur no. 2 mirip dengan Mahsuri. Untuk galur uji no. 26, individu galur yang memiliki kedekatan dengan IR64 adalah no. 22, dan galur no. 57 mirip dengan Mahsuri. Hasil ini dapat menjadi dasar pemilihan genotipe paling mirip dengan varietas kontrol toleran, Mahsuri.

Sebanyak 10 dari 45 marka SNAP terkait gen-gen toleran keracunan Fe menunjukkan polimorfisme pada kontrol peka, IR64 dan kontrol toleran, Mahsuri. Marka polimorfis ini merupakan kandidat marka seleksi (MAS). Hasil analisis asosiasi karakter bronzing dan marka SNP (set marka 384-SNP-2015) pada 96 individu 3 galur segregasi (nomor 4, 22, dan 26) diperoleh marka-marka SNP signifikan menandai karakter *bronzing* pada populasi yang masih bersegregasi nomor 4 dan 26. Marka SNP tersebut terkait dengan gen *AtIRT1*, *AtNAS1*, dan *OsIRT1*, yang tersebar di kromosom 1, 5, 6, dan 11. Hasil ini sekaligus sebagai bagian dari validasi tingkat signifikansi dari marka-marka SNP hasil penelitian sebelumnya yaitu menggunakan set 384-SNP 2014. Di antara marka SNP yang tervalidasi adalah marka SNP yang terpetakan di kromosom 1, yaitu marka SNP yang terkait dengan gen *AtIRT1* ini tervalidasi sesuai dengan penelitian sebelumnya. Hasil pemetaan GWAS menggunakan set marka SNP 384-2014 terdapat beberapa marka SNP signifikan yang terpetakan pada posisi 477.756–477.601 bp dari kromosom 1 (Gambar 35).

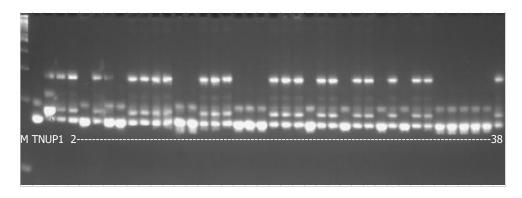


Gambar 35. Hasil pemetaan GWAS gen *IRT* dengan set marka SNP 384-2014 dan peranannya dalam strategi I mekanisme toleransi tanaman terhadap cekaman keracunan Fe.

Telah dianalisis genotiping menggunakan marka SNAP pada 2 dari 3 individu galur segregasi, yaitu galur nomor 4 dan galur nomor 26. Terpilih 3 marka SNAP, yaitu: SNAP Fe 11, SNAP Fe 38, dan SNAP Fe 42, yang berpotensi sebagai marka penyeleksi parameter *bronzing* dengan tingkat *co-segregasi* kurang lebih sebesar 42%. Pengembangan marka SNAP sebagai marka penyeleksi karakter toleransi terhadap cekaman keracunan Fe masih perlu validasi lebih lanjut pada populasi yang berbeda.

2. Pemetaan genetik ketahanan terhadap wereng batang cokelat (WBC)

Aksesi Untup Rajab untuk sumber gen ketahanan WBC, yaitu populasi WBC S1 dari Bekasi dan populasi WBC X1 dari Sulawesi, telah disilangkan dengan TN1 dan menghasilkan benih F₁ yang digunakan untuk pengembangan populasi pemetaan haploid ganda. Media yang digunakan untuk induksi kalus, media regenerasi kalus, dan media perakaran. Tanaman dikonfirmasi sebagai hasil persilangan antara kedua tetua tersebut menggunakan marka RM16253 dimana tanaman yang berstatus heterozigot (memiliki dua pita DNA dari masing-masing tetua) sebagai tanaman F₁ (Gambar 36).



Gambar 36. Hasil analisis marka molekuler tanaman F_1 menggunakan marka SSR RM16253. Tanaman F_1 memiliki dua pita DNA dari alel TN1 dan Untup Rajab. M = 100 bp DNA Ladder, TN = TN1, UP = Untup Rajab, 1–38 = tanaman F_1 .

Populasi tanaman dari kultur antera F₁ hasil persilangan varietas TN1 dengan Untup Rajab telah dihasilkan sebanyak 126 tanaman hijau terdiri dari 88 tanaman fertil, 5 tanaman semi fertil, 15 tanaman steril, dan 18 tanaman pada masa pembungaan dan pengisian biji. Tanaman steril diduga merupakan tanaman haploid yang memang tidak dapat menghasilkan biji. Persentase tingkat pembentukan tanaman hijau untuk kultur antera tanaman F₁ hasil persilangan varietas TN1 dengan Untup Rajab relatif tergolong rendah, yaitu sebesar 0,25%. Hal ini diduga sebagai pengaruh dari latar belakang genetik tetua yang dapat memberikan respons berbeda terhadap media kultur antera secara keseluruhan.

3. Pengembangan marka SNP dan pemetaan genetik toleran keracunan Al dan komponen hasil pada kedelai

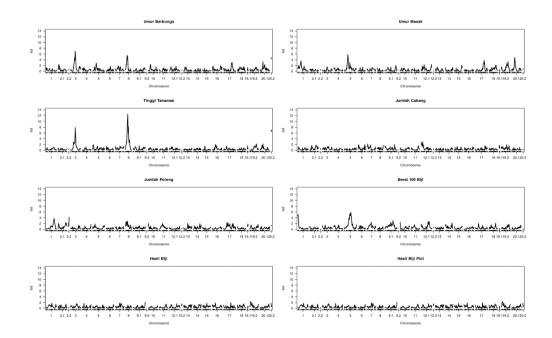
Marka SNP yang berasosiasi dengan masing-masing karakter telah diidentifikasi, yang selanjutnya dikembangkan lebih lanjut untuk mendapatkan marka yang dapat diaplikasikan untuk MAS dengan menggunakan teknik molekuler sederhana. QTL dengan tingkat kepercayaan tertinggi (QTL dengan skor LOD tertinggi) adalah QTL karakter tinggi tanaman. Dikaitkan dengan introgresi karakter juvenil panjang untuk meningkatkan produktivitas kedelai di iklim tropis ternyata tinggi tanaman sangat berpengaruh terhadap produktivitas dimana varietas dengan umur berbunga 40–60 HST dan umur panen 140–160 HST adalah tanaman yang tinggi dengan kisaran tinggi tanaman 70–110 cm. Tersedianya marka molekuler untuk karakter tinggi tanaman dan karakter komponen hasil lainnya (jumlah polong/tan, hasil biji/tan, dan bobot 100 biji) diharapkan akan mengakselerasi program pemuliaan kedelai nasional.

Keragaan fenotipe 210 progeni populasi RIL B3462 × B3293 telah diperoleh dari hasil uji lapang di Cigudeg (Kabupaten Bogor, Jabar) dan KP Taman Bogo (Lampung). Profil fenotipe pada kedua lokasi tersebut umumnya menyebar normal mengindikasikan karakter kuantitatif dan keragaan fenotipe komponen hasil yang sangat luas. Beberapa progeni ditemukan transgresif dengan keragaan superior dibandingkan dengan kedua tetuanya pada komponen hasil tertentu. Data komponen hasil 288 aksesi kedelai juga telah diperoleh dari hasil uji lapang KP Muara (Bogor, Jabar) dan hasil uji di Kampung Cijeray (Kabupaten Bogor, Jabar), yang menunjukkan sebaran normal dan mengindikasikan karakter kuantitatif.

Uji verifikasi SNP berdasarkan variasi di genom lima varietas kedelai (Davros, Tambora, Grobogan, Malabar, dan B3293) telah dilakukan menggunakan resekuensing dengan metode Sanger. Varian SNP dipilih pada polimorfisme antara lima varietas tersebut dengan genom rujukan William 82. Sebanyak 20 primer SNP *flanking* telah

didesain dan mewakili tiap kromosom kedelai. Total 17 dari 20 SNP yang diuji (87%) adalah *true* SNP seperti yang diharapkan. Selain SNP target, ternyata ditemukan 45 SNP non target yang dapat memperkaya sumber marka molekuler. SNP non target terbanyak ditemukan pada kromosom 16. Namun SNP non target ini masih perlu diverifikasi lagi. Sebanyak 34 SNP tambahan diverifikasi,sehingga total 54 SNP telah diverifikasi dengan validitas cukup tinggi (93,3%) dari SNP target total.

Profil genotipe 188 progeni populasi RIL B3462 \times B3293 beserta tetuanya dengan BARCSoy6K SNP chip telah diperoleh. Data segregasi SNP umumnya bersegregasi 1:1 dan sebagian kecil progeni masih heterozigot dimana menunjukkan *skewed segregation* (segregasi yang menyimpang jauh dari hipotesis nol [*null hypothesis*] bahwa progeni bersegregasi 1:1). Peta genetik telah dikonstruksi menggunakan 1.940 marka SNP (31%) pada 159 progeni populasi B3462 \times B3293 yang data segregasinya memenuhi syarat untuk pemetaan genetik, khususnya data fenotipe populasi hasil uji di KP Cibalagung, Bogor. Lokasi fisik dari 1 940 marka SNP polimorfik yang dapat dipetakan pada populasi RIL B3462 \times B3293 berhasil diidentifikasi. Peta gen/QTL kedelai berhasil dibuat untuk karakter umur berbunga (skor LOD = 3,16–6,83), umur panen (LOD = 3,50–5,34), tinggi tanaman (LOD = 3,32–13,08), jumlah polong/tan (LOD = 3,06–3,94), hasil biji/tan (LOD = 4,29), dan bobot 100 biji (3,85–5,76), seperti ditampilkan pada Gambar 37 dan Tabel 26.



Gambar 37. Peta QTL karakter umur berbunga, umur masak, tinggi tanaman, dan komponen hasil berdasarkan data keragaan fenotipe 192 progeni dan tetua dari populasi RIL B3462 x B3293 di KP Cibalagung, Bogor.

Tabel 26. QTL untuk karakter umur, tinggi tanaman, dan komponen hasil kedelai yang diperoleh pada penelitian ini berdasarkan data fenotipe lapang tahun 2015 di KP Cibalagung, Bogor, dari populasi RIL B3462 x B3293.

QTL untuk karakter	Kromosom	Marka SNP yang paling signifikan dengan QTL (<i>QTL peak</i>)	Posisi QTL (cM)	Skor LOD*)
	LG 04	Gm16_31491620_C_T	28,90	5,40
Umur berbunga	LG 08	Gm09_38927073_A_G	102,60	3,66
(HST)	LG 10	Gm11_11450492_A_G	86,60	6,83
	LG 13	Gm13_35909612_G_A	133,90	3,16
	LG 01	Gm01_4120447_C_T	49,80	4,17
Umur masak	LG 08	Gm09_38927073_A_G	102,60	4,60
(HST)	LG 13	Gm13_36261107_T_G	136,20	5,34
	LG 20	Gm08_12055669_A_G	101,60	3,50
	LG 04	Gm16_29720274_A_G	35,80	13,08
Tinggi tanaman (cm)	LG 10	Gm11_11450492_A_G	86,60	9,27
	LG 20	Gm08_12309919_A_G	98,90	3,32
Jumlah polong/tan _	LG 01	cL.1.loc128	128,00	3,94
Jaman polong/tan	LG 06	Gm06_6488212_A_C	146,00	3,06
Berat 100 biji	LG 01	Gm01_402061_A_C	1,04	5,76
(g)	LG 13	Gm13_27302662_C_T	89,36	6,87

	LG 16	cL.16.loc38	38,00	3,85
Hasil biji/tan	LG 12	cL.12.loc29	29,00	4,29

^{*)}LOD = *log of odd* dengan nilai minimal (*cut-off value*) 3,0 digunakan pada studi ini. Nilai LOD = 3,0 berarti bahwa 1000 kali besar kemungkinannya bahwa QTL tersebut benar adanya pada area genom tersebut (*1000 times most likely a QTL exist in the genomic region*).

4. Pembentukan populasi persilangan jarak pagar, kakao, dan pisang untuk analisis genomik

Jarak pagar

Kegiatan *selfing*, persilangan intraspefisik dan interspesifik masih dilakukan pada jatropha. *Selfing* yang dilakukan pada beberapa aksesi *J. curcas* yaitu dari Majene, Asembagus, Pulau Bacan, dan Thailand, menghasilkan 1.146 buah dan 3.175 biji buah. Sebagai tambahan informasi, *J. curcas*, *J. podagrica*, dan *J. gossypifolia* tidak selalu membentuk embrio ketika di-*selfing*, sedangkan *Baliospermum solanifolium* selalu memiliki embrio. Embrio *J. curcas* hanya dijumpai dari biji yang berukuran kecil.

Persilangan interspesifik juga dilakukan dengan menggunakan *J. curcas* sebagai tetua betinanya, sedangkan tetua jantannya adalah *J. podagrica, J. multifida,* dan persilangan intraspesifik dengan sesama *J. curcas* yang berasal dari lokasi yang berbeda. Hasil persilangan *J. Curcas* x *J. Podagrica,* di mana *J. podagrica* sebagai tetua jantan, dapat menghasilkan biji, sedangkan persilangan resiproknya (*J. podagrica* x *J. curcas*) selalu mengalami keguguran. Sebanyak total 18 biji hasil persilangan interspesifik telah dikecambahkan di polybag (Tabel 27). Beberapa faktor pembatas keberhasilan persilangan meliputi tingginya curah hujan, rasio yang rendah antara bunga betina dan jantan, dan viabilitas polen. *J. podagrica* memiliki tingkat viabilitas polen yang lebih rendah rendah (kurang dari 70%) daripada *J. curcas* (mencapai 80%). Masa bunga mekar dari *J. podagrica* juga lebih pendek (10–12 hari) daripada *J. curcas* (12–14 hari).

Persilangan interspesifik seringkali bersifat inkompatibel sehingga mengakibatkan inti endosperma tidak mampu berkembang sempurna dan perkembangan embrio zigotik terhambat. Untuk mencegah gugurnya embrio maka dilakukan *embryo rescue* dengan media tumbuh yang berfungsi sebagai endosperma sintetik. Media yang paling optimal untuk *embryo rescue* jatropa adalah media MS dengan penambahan BA 3 mg/l dan sukrosa dengan taraf 3%. Daya hidup tertinggi, respon penggembungan terendah, persentase pembentukan kalus, dan skoring kalus cukup rendah dari eksplan yang diberi perlakuan kombinasi perlakuan tersebut.

Tabel 27. Hasil persilangan interspesifik *Jatropha* spp. yang berasal dari biji dan telah ditanam di polibag.

	aranam ar penbagi	
No	Persilangan	Jumlah tanaman
1	J. curcas (Thailand) x J. podagrica	1
2	J. podagrica (Thailand) x J. curcas (Majene)	3
3	J. curcas IP3-3M x J. multifida	1
4	J. curcas IP3-3M x J. curcas (Majene)	1
5	J. curcas (Majene) x J. curcas IP3-3M	7
6	J. curcas (Majene) x J. podagrica (Thailand)	5
	Jumlah total tanaman	18

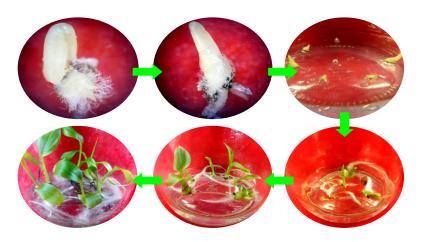
Kakao

Populasi hibrida F₁ antar klon kakao (DR 1 x Sca 12) hasil persilangan tahun 2014 menunjukkan pertumbuhan yang cukup baik hingga triwulan kedua tahun 2016, meskipun sebagian kecil individu mengalami kematian, yaitu dari 43 tanaman tersisa menjadi 39 tanaman. Kematian tanaman diduga disebabkan serangan hama/penyakit yang tidak berhasil dikendalikan dengan pestisida, dan curah hujan yang tinggi sehingga memacu pertumbuhan gulma. Untuk menghemat tenaga dan biaya, pembersihan gulma secara mekanis lebih diintensifkan pada area di sekitar tanaman kakao sehingga membentuk piringan yang dikenal dengan bobokor. Berdasarkan nilai koefisien keragaman (KK), terdapat variasi antar individu untuk kedua karakter pertumbuhan dengan kategori rendah (0–25%) hingga agak rendah (25–50%).

Populasi hibrida F₁ antar klon kakao (DR 1 x Sca 12) hasil persilangan tahun 2014 hingga saat ini masih dalam fase benih dalam polibag. Pertumbuhan benih pada umumnya tumbuh optimal, namun ada gejala serangan penyakit hawar daun *Phytophtora palmivora* pada beberapa individu. Pada awalnya, jumlah total populasi mencapai 188 tanaman, tetapi hingga triwulan kedua tahun 2016 jumlahnya berkurang hingga menyisakan 177 tanaman (94,15%). Oleh karena serangan *P. palmivora* dapat terjadi pada semua fase pertumbuhan dan seluruh organ tanaman, maka diperlukan seleksi secara dini untuk sifat ketahanan terhadap serangan patogen tersebut sejak tanaman masih di pembenihan.

Pisang

Sebanyak 117 individu tanaman populasi F₁ hasil persilangan antara *M. acuminata* ssp. microcarpa dan Calcuta-4 telah ditanam. Hasil ini merupakan gabungan dari 50 benih hasil perkecambahan biji yang saat ini berumur 5 bulan dan sebanyak 70 benih berumur 3 bulan dari hasil *embryo rescue*. Namun, 2 tanaman mengalami kematian pada perkecambahan dan 1 tanaman dari hasil *embryo rescue*. Tahapan perkembangan embrio zigotik hasil persilangan interspesifik tersebut ditampilkan ada Gambar 38.



Gambar 38. Tahap perkembangan embrio zigotik pisang hasil persilangan intespesifik antara *M. acuminata* ssp. *microcarpa* dengan Calcuta-4. Embrio yang didahului dengan pertumbuhan radikula, munculnya rambut akar dan akar serabut, diikuti dengan pertumbuhan plumula, elongasi tunas, dan pembentukan planlet yang siap diaklimatisasi.

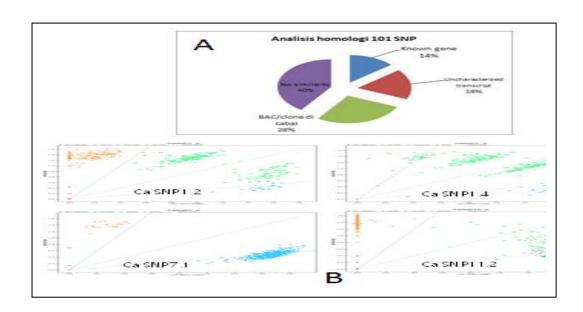
5. Pengembangan marka molekuler dan pemetaan QTL ketahanan penyakit antraknosa pada cabai dan ketahanan penyakit virus pada kentang

Pengembangan marka molekuler pada cabai (*Capsicum annuum*) terkait ketahanan terhadap penyakit antraknosa dilakukan melalui analisis genom. Tetua persilangan (Kencana dan 0207) dan *bulk* progeni peka serta *bulk* progeni tahan terhadap antraknosa disekuen genomnya melalui *paired-end resequencing*. Total basa Kencana dan 0207 masing-masing 9.387.821.730 bp dan 10.112.316.344 bp, sedangkan pada *bulk* progeni peka (9.416.988.510 bp) dan *bulk* progeni tahan (9.320.495.332 bp) hampir sama panjangnya. Setelah *trimming*, total pasang bacaan tetua 0207 (50.060.972 bp) lebih panjang daripada Kencana (46.474.365 bp). Jumlah pasang bacaan yang berhasil disejajarkan dengan baik masing-masing 9.761.584 bp untuk Kencana, 10.648.506 bp untuk 0207, 9.819.517 bp untuk progeni peka, dan 9.724.888 bp untuk progeni tahan.

Penjajaran total 4 sekuen genom (2 tetua dan 2 *bulk* progeni) menghasilkan sekitar 1.048.576 SNP. Sebanyak 101 SNP homozigot konsisten pada tetua dan *bulk* progeni

tahan dibanding dengan tetua dan progeni peka terhadap antraknosa telah diidentifikasi. Sebagian besar fragmen yang mengandung SNP (40%) menunjukkan tidak ada kesamaan dengan di database genom publik (www.ncbi.nlm.nih.gov), 18% merupakan transkrip/gen yang belum dikarakterisasi dan hanya 14% diketahui deskripsi gennya (Gambar 39A).

Sebanyak 10 SNP dari total 101 SNP didesain primernya untuk analisis *mass array* dan 9 SNP lolos validasi untuk analisis klaster dalam *mass array iPLEX genotyping* pada progeni F₂ dan F₃. Primer SNP tersebut berhasil mengidentifikasi heterozigositas dan homozigositas progeni merujuk ke tetuanya. Misalnya, empat SNP menghasilkan 3 klaster dengan alel heterozigot yang menunjukkan proporsi seimbang pada populasi (CaSNP1.1, 1.2 dan 2.1), dan penyebaran dalam populasi namun alel tertentu yang tinggi dalam populasi spesifik (CaSNP11.2). *Screen shoot* dari plot klaster beberapa ID SNP ditampilkan pada Gambar 39B. Analisis awal asosiasi *single marker* dengan populasi F₂ menunjukkan belum ditemukan marka SNP yang berasosiasi nyata dengan karakter ketahanan terhadap antraknosa (p<5%).



Gambar 39. SNP berdasarkan resekuensing genom cabai dan aplikasi *mass array*-nya. A = pengelompokan anotasi gen dari total 101 SNP yang menunjukkan konsistensi pola alel pada tetua dan *bulk* progeni peka dan tahan, B = contoh *screen shoot* dari *cluster plot* yang dihasilkan primer SNP yang diobservasi pada populasi F₂ dan F₃ cabai hasil persilangan Kencana dan 0207 pada *MassArray iPLEX genotyping* dengan *time-of-flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS).

Sebanyak 5 primer terkait antraknosa hasil laporan sebelumnya digunakan untuk kegiatan genotiping genotipe-genotipe cabai termasuk tetua persilangan (Kencana dan 0207). Empat primer (IndelAntr, CaES0032, OP-E18 dan OP-DO56) berhasil menunjukkan

keragaman genetik 27 genotipe cabai, termasuk tetua persilangan (Kencana dan 0207). Primer OP-DO56 mengindikasikan bahwa sebanyak 23,3% individu F_2 mengikuti pola pita Kencana sedangkan 43,3% mengikuti pola pita 0207. Primer OP-E18 menunjukkan 5,05% individu F_2 mengikuti pola pita kedua tetua. Tahap awal analisis, primer RAPD OP-E18, berasosiasi nyata dengan data lesio cabai (p <0.05).

Evaluasi morfologi dan ketahanan terhadap antraknosa pada 120 galur cabai generasi F_3 (Kencana \times 0207) menunjukkan variasi dan telah diidentifikasi galur-galur dengan karakter unggul. Karakter agronomi meliputi tinggi dan diameter batang, panjang daun, tinggi tanaman, tinggi percabangan pertama, panjang nodus, panjang daun, lebar daun, dan panjang tangkai daun. Perbedaan nyata antar galur ditemukan pada karakter tinggi tanaman, tinggi percabangan pertama, dan panjang nodus. Penurunan produksi yang terjadi pada individu individu F_3 ini terjadi menyeluruh pada seluruh genotipe dibanding dengan individu F_2 . Hal ini disebabkan perbedaan periode panen buah yang menjadi hanya 5 kali serta teknik budi daya yang berbeda.

Pengamatan ketahanan terhadap antraknosa dilakukan sampai 7 HSI untuk menunggu munculnya lesion/luka. Minimal dua galur secara konsisten menunjukkan kestabilan performa hasil dan ketahanan terhadap penyakit antraknosa (nomor 44 dan 135) yang superior (diameter lesio <5,5 mm) dan produksi tinggi. Kegiatan di tahun tersebut juga menunjukkan sepuluh genotipe masuk ke dalam kriteria tahan (diameter lesio 5,6–9 mm), yakni nomor 30, 53, 48, 127, 51, 41, 134, 66, 148, dan 54. Genotipe dengan kategori sangat tahan memiliki produksi buah (jumlah dan bobot buah per tanaman) lebih tinggi dari rata-rata (jumlah: 97,29, bobot: 299,74 g). Jadi, minimal 10 galur telah diseleksi untuk dilakukan uji daya hasil pendahuluan (UDHP) yang akan dilakukan pada tahun 2017.

Kentang

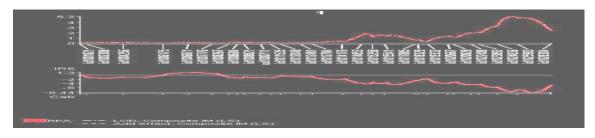
Karakter morfologi klonal kentang hasil persilangan Granola dan Atlantic yang diamati pada fase vegetatif menunjukkan variasi seperti warna batang hijau 40%, batang berbentuk bulat 55%, 68 klon memiliki vigor sangat bagus, dan 56 tanaman tidak berbunga. Berdasarkan karakter morfologi umbi yaitu warna kulit umbi, warna daging umbi, dan bentuk umbi, diketahui mayoritas warna kulit umbi kuning (98,3%), warna daging krem (81,1%) dan sisanya sama dengan tetua jantan Atlantic (13,9%) dan tetua betina Granola (5%). Sebagian besar bentuk umbi oval (96,7%). Berdasarkan vigor pertumbuhan, karakter morfologi bunga, batang, dan umbi pada klonal kentang hasil persilangan Granola dan Atlantic telah diseleksi minimal 60 nomor klon dan selanjutnya akan dikarakterisasi lebih lanjut untuk ketahanan terhadap virus PLRV dan keragaan

karakter agronomi. Pemeliharaan klonal secara *in vitro* rutin dilakukan menggunakan media MS + Manitol atau 1/2 MS. Total 128 nomor dikulturkan dalam 6 ulangan dan saat ini umur planlet sekitar 2–3 bulan.

6. Pemetaan genetik toleransi keracunan aluminium pada padi

Total 100 benih F_1 hasil persilangan IR64 x Cabacu telah diperoleh menggunakan metode persilangan konvensional. Hasil analisis marka menggunakan primer RM19, RM21, dan RM201 menunjukkan bahwa tanaman padi IR64 dan Cabacu sesuai dengan genomik masing-masing. Dari enam tanaman IR64 dikonfirmasi bahwa semuanya benar dan dari 12 tanaman padi Cabacu semuanya benar dan tanaman tersebut digunakan untuk persilangan.

Sebelum digunakan untuk persilangan, tanaman F_1 turunan persilangan IR64 dan Cabacu dianalisis menggunakan marka molekuler, di mana tanaman yang memiliki pola alel dengan kedua tetuanya digunakan untuk penelitian selanjutnya, yakni untuk pembentukan benih BC_1F_1 persilangan IR64/Cabacu//IR64. Sebanyak 48 tanaman F_1 yang mengandung alel dari kedua tetuanya setelah dianalisis menggunakan marka molekuler kemudian digunakan untuk penelitian selanjutnya. Analisis keterpautan antara data genotipe marka dan data fenotipe mengidentifikasi QTL mayor toleransi keracunan aluminium pada kromosom 1 dengan efek fenotipe, di mana Cabacu menyumbang alel yang menguntungkan (Gambar 40).



Gambar 40. Grafik evaluasi toleran keracunan aluminium dianalisis menggunakan program Qgene.

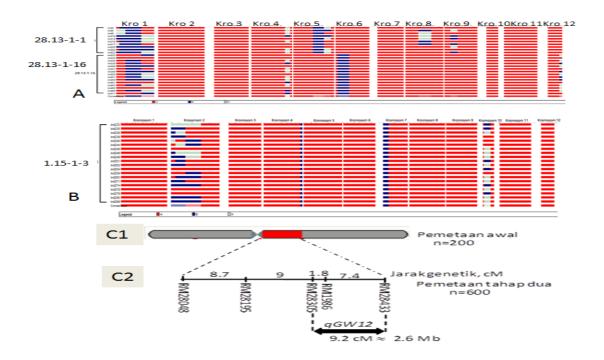
7. Pemetaan pemetaan genetik karakter komponen hasil tanaman padi

Berdasarkan seleksi terhadap 44 galur BC₃F₃ Ciherang x galur B11143D menggunakan penanda SSR yang polimorfik (*foreground* dan *background selection*), telah dipilih individu BC₃F₃ yang memiliki segmen tetua donor (B11143D) pada kromosom target dan memiliki alel homozigot Ciherang pada sebagian besar/seluruh kromosom non target (*background* genetik). Hasil seleksi terhadap dua galur BC₃F₃ yang mewakili kromosom 1 dan satu galur yang mewakili kromosom 2 dapat dilihat pada Gambar 41A dan 41B. Dua galur yang mewakili kromosom 1 adalah 28.13-1-1 dan 28.13-1-16, dan

satu galur yang mewakili kromosom 2 adalah 1.15-1-3. Sebanyak lima penanda SSR untuk seleksi *foreground* pada kromosom 1 dan enam penanda SSR untuk kromosom 2. Penanda SSR yang digunakan untuk seleksi *background* berbeda-beda berdasarkan segmen heterozigot yang terdapat pada masing-masing genom galur dari hasil analisis sebelumnya. Untuk seleksi *background* genom pada galur 28.13-1-1 digunakan marka RM244, RM163, RM18877, RM223 dan RM296, pada galur 28.13-1-16 digunakan marka RM244, RM225, RM28195 dan RM1986, serta pada galur 1.15-1-3 digunakan RM280, RM244, RM481 dan RM1108.

Hasil seleksi *foreground* dan *background* memperlihatkan bahwa introgresi segmen donor pada kromosom target 1 terbagi menjadi 3 bagian yaitu bagian depan, tengah, dan akhir. Sebagian besar latar belakang genom telah kembali ke Ciherang, walaupun masih ada pengotor segmen donor di kromosom 5, 6, 8, dan 9, serta sedikit di kromosom 4 dan 12. Introgresi segmen donor pada kromosom target 2 terbagi menjadi bagian depan dan tengah. Sebagian besar latar belakang genom telah kembali ke Ciherang, hanya sedikit pengotor segmen donor di kromosom 4, 7, dan 10. Namun, tidak diperoleh galur yang memiliki introgresi segmen donor pada ujung akhir kromosom 2. Tiap bagian dari kromosom target telah tercakupi oleh tiga sampai 4 individu, kecuali pada ujung akhir kromosom 2 yang tidak tercakupi karena sudah kembali ke Ciherang. Berdasarkan hasil seleksi *foreground* dan *background* telah diperoleh 30 individu BC₃F₃ yang merupakan galur-galur padi CSSL untuk kromosom target 1 sampai 8 dan 12.

Pengamatan agronomis terkait potensi hasil telah dilakukan terhadap 240 individu BC₃F₃ hasil seleksi *foreground* dan *background* yang mewakili kromosom target 1 sampai 8. Terdapat 27 individu BC₃F₃ yang memiliki bobot gabah total lebih besar dibandingkan dengan tetua, enam individu dengan bobot gabah total terbesar. Enam individu tersebut terdiri dari 4 individu yang mewakili kromosom 1, 1 individu yang mewakili kromosom 4, dan 1 individu yang mewakili kromosom 5. Bobot gabah total yang besar diduga dipengaruhi oleh karakter potensi hasil yaitu jumlah anakan produktif, jumlah gabah per malai, dan bobot 100 butir. Hasil analisis molekuler enam individu BC₃F₃ yang memiliki bobot gabah total terbesar menunjukkan bahwa empat individu yang mewakili kromosom 1 menunjukkan posisi introgresi donor yang berbeda-beda dengan latar belakang genom yang beragam. Segmen introgresi donor pada kromosom 1 diduga lebih berperan pada peningkatan bobot gabah total dibandingkan dengan segmen introgresi donor yang terdapat pada kromosom 2, 3 dan 4, dan perlu dikonfirmasi pada penelitian selanjutnya.



Gambar 41. Analisis molekuler tiga galur terseleksi dan pemetaan QTL BC $_3$ F $_3$. A = hasil seleksi *foreground* dan *background* berupa grafik genotipe pada BC $_3$ F $_3$ 28.13.1-1 dan 28.13-1-16 untuk kromosom target 1, B = galur BC $_3$ F $_3$ 1.15-1-3 untuk kromosom target 2 berdasarkan penanda SSR. Kotak berwarna merah menunjukkan segmen alel Ciherang, kotak berwarna biru adalah segmen alel B11143D, dan kotak berwarna abu-abu adalah segmen alel heterozigot. C (1+2) = pemetaan QTL bobot 100 butir di kromosom 12 (*qGW12*), C1 = pemetaan awal *qGW12* menggunakan galur BC $_3$ F $_3$ Ciherang x galur B11143D, C2 = pemetaan kedua *qGW12* menggunakan galur BC $_3$ F $_3$ Ciherang x galur B11143D. Kotak yang berwarna merah adalah introgresi

Pada pemetaan awal digunakan 200 individu BC₃F₂ turunan dari 1 individu BC₃F₁ terpilih yang memiliki segmen heterozigot pada keseluruhan bagian dari kromosom 12 dan hampir seluruh *background* genomnya (kromosom 1 sampai 11) telah kembali ke Ciherang. Dari hasil pemetaan awal telah didapatkan lokasi QTL untuk bobot 100 butir pada wilayah 26,9 cM di lengan panjang kromosom 12 (Gambar 41C1). Pada pemetaan kedua digunakan 600 individu BC₃F₃ turunan dari 1 individu BC₃F₂ yang terpilih sebelumnya. Dari hasil pemetaan kedua telah diperoleh wilayah QTL untuk bobot 100 butir yang dipersempit (9,2 cM atau setara dengan 2,6 Mbp) di lengan panjang kromosom 12 (Gambar 41C2). Penanda molekuler yang membatasi wilayah QTL ini yaitu RM38305 dan RM28433 dapat dimanfaatkan oleh pemulia padi untuk melakukan seleksi dengan bantuan molekuler untuk perbaikan sifat bobot 100 butir. Dari 600 individu BC₃F₃ yang digunakan dalam pemetaan tahap kedua, terpilih 2 individu yaitu BC₃F₃-9 dan BC₃F₃-1200 dengan hasil gabah lebih tinggi dari kedua tetua dan kedua individu tersebut merupakan galur harapan yang potensial untuk diuji potensi hasilnya di lapang. Delapan individu

galur BC₃F₃ tersebut merupakan galur-galur padi potensial (galur harapan dengan produktivitas tinggi) melebihi tetua pemulihnya dan akan diuji potensi hasilnya melalui uji daya hasil pendahuluan (UDHP) di lapang yang akan dilakukan pada tahun 2017.

8. Pengembangan marka SNP dengan teknik molekuler sederhana dan pemetaan karakter terkait sifat pertumbuhan pada sapi Peranakan Ongole (PO)

Pengembangan marka molekuler terkait dengan sifat pertumbuhan sapi PO dilakukan berdasarkan profil pertumbuhan dan informasi genotiping anak sapi PO. Total 138 ekor sapi (63 ekor jantan dan 75 ekor betina) kelahiran sejak bulan Juni 2015 sampai Februari 2016 yang diidentifikasi untuk dikarakterisasi fenotipe terkait pertumbuhannya meliputi bobot lahir dan bobot badan (BB) secara berkala, dan ukuran tubuh saat lahir untuk tinggi badan (TB), panjang badan (PB), tinggi pundak dan lingkar dada (LD). Berdasarkan jenis kelamin dan bobot lahir maupun karakter pertumbuhan pada pengukuran pertama menunjukkan variasi diantara ekor sapi. Bobot lahir dan ukuran tubuh pedet jantan sedikit lebih tinggi dibandingkan pedet betina. Bobot lahir jantan dan betina masing-masing 26,0 kg dan 24,3 kg, sehingga penggabungan kedua jenis kelamin menghasilkan bobot lahir diantaranya yaitu 25,3 kg. Hasil yang sama diperoleh untuk ukuran-ukuran tubuh. Bobot dan ukuran tubuh selaras dengan pertambahan umur sapi PO, mulai dari umur 30 hari sampai 240 hari atau dari umur 1-6 bulan. Secara umum, bobot badan sapi PO jantan secara nyata lebih berat dibandingkan sapi PO betina. Akan tetapi ukuran tubuh sapi PO jantan dan betina hampir sama pada umur yang sama. Sifat pertumbuhan dideskripsikan mulai dari anak lahir sampai umur 240 hari atas dasar penampilan fenotipe terstandar untuk umur per interval satu bulan. Variasi sifat pertumbuhan total sapi tersebut digunakan sebagai dasar pemilihan 96 ekor sapi referensi berdasarkan pertumbuhan cepat dan lambat untuk pengembangan marka molekuler.

Total 138 ekor anak sapi PO sudah diekstraksi DNA-nya dengan kemurnian berkisar antara 1,6 sampai 2,2, dan memenuhi syarat untuk analisis PCR maupun iScan *array*. Identifikasi varian menghasilkan 59 SNP yang merujuk pada gen yang *overlap* dengan peta variasi pada *Bos taurus*. Beberapa SNP diketahui sebagai gen-gen terkait dengan sistem *defense*/ketahanan, biogenesis, *housekeeping gene*, protein yang belum terkarakterisasi, dan lainnya. Lokasi SNP tersebut khususnya pada kromosom 3,4,5,7,13,17, dan 18. Sebagai contoh di kromsosom 3, di posisi 36.163.190–36.338.393 bp menunjukkan posisi yang *overlap* dengan wilayah ARSBFGL-NGS-66946 yang mengandung fragmen 2 gen (CSF1 dan GSTM3).

Sebanyak 6 SNP pada daerah koding di dalam genom sapi telah didesain primer SNP-*flanking*nya untuk diverifikasi pada 2 individu sapi (15/33 dan 15/93) dan menunjukkan kevalidan di atas 90%. Hasil verifikasi dengan resekuensing menunjukkan bahwa sapi 15/33 dan 15/93 yang memiliki pertumbuhan berbeda menunjukkan polimorfisme pada beberapa lokus di samping adanya kesamaan alel. Pada lokus Hapmap46397-BTA-105989, BTB-01238565, dan ARS-BFGL-NGS-118051, kedua ekor memiliki persamaan alel yaitu masing-masing A, T, dan G namun berbeda (C/T) dengan primer BvSNP7.5 pada lokus ARS-BFGL-NGS-58779. Pola alel pada kedua ekor berdasarkan resekuensing sekuen pengapit SNP tersebut mendukung data pertumbuhan sapi tersebut.

Sebanyak 59 SNP yang diidentiifikasi telah didesain primer *single nucleotide amplified polymorphism* (SNAP)-nya baik untuk alel referensi maupun alternatenya. Sebanyak 19 primer SNP khusus alel referensi disintesis oligonya dan 16 primer teramplifikasi dengan baik. 16 primer SNAP tersebut menunjukkan validitas saat diverifikasi pada 2 individu (15/33 dan 15/93). Analisis filogenetik menunjukkan bahwa ke-138 ekor sapi PO mengelompok menjadi 2 klaster utama (I dan II) pada koefisien kesamaan genetik 0,52. Sebagian besar sapi mengelompok pada klaster I. Hasil dendrogram menunjukkan bahwa pengelompokan sapi tidak berdasarkan pada jenis kelamin, namun lebih pada latar belakang genetik dengan jenis alel spesifik tertentu. Ada kecenderungan beberapa alel dominan baik di jantan maupun betina tergantung lokus SNP. Berdasarkan data frekuensi SNP, semakin meyakinkan bahwa alel tertentu dominan atau minor pada populasi jantan dan betina. Sebagai contoh, alel T sebanyak 60,87% dan 39,13% adalah alel A pada BvSNAP4.2, sedangkan alel T juga mayor (81,88%) dan sisanya alel C di BvSNAP25.5.

Total terdapat 10 marka SNAP (BvSNAP4.2, BvSNAP4.3, BvSNAP4.4, BvSNAP4.6, BvSNAP4.8, BvSNAP5.1, BvSNAP7.1, BvSNAP18.8, BvSNAP25.3, dan BvSNAP25.4) untuk mendeteksi SNP yang berasosiasi dengan karakter pertumbuhan sapi PO. Hampir semua marka memiliki asosiasi dengan beberapa karakter pertumbuhan.

Berdasarkan analisis asosiasi antara SNP dengan bobot badan saat lahir dan karakter pertumbuhan lainnya, diketahui bahwa ada satu marka SNAP (BvSNAP4.4) berasosiasi nyata dengan bobot badan lahir dan selama pertumbuhan umur sapi termasuk umur sapih. Berdasarkan pengamatan minimal 4 kali kejadian asosiasi tiap karakter, maka diidentifikasi sebanyak 10 marka SNAP (BvSNAP4.2, BvSNAP4.3, BvSNAP4.4, BvSNAP4.6, BvSNAP4.8, BvSNAP5.1, BvSNAP7.1, BvSNAP18.8, BvSNAP25.3, dan BvSNAP25.4) yang berasosiasi nyata dengan beberapa parameter pertumbuhan sapi (Tabel 28). Secara

umum marka SNAP tersebut memiliki kecenderungan multipel asosiasi dengan beberapa karakter. Sejumlah marka SNAP untuk mendeteksi SNP ini yang nyata berasosiasi dengan sifat pertumbuhan merupakan indikasi bagus sebagai tahap untuk mengembangkan marka untuk MAS dalam seleksi sapi PO terkait pertumbuhan.

Tabel 28. SNP yang signifikan berasosiasi dengan karakter petumbuhan berdasarkan analisis asosiasi dengan data molekuler marka SNAP yang diobservasi pada 138 ekor sapi PO dengan program Tassel.

Na	Mayles CNAD		k	Karakter pertum	buhan	
No	Marka SNAP	Bobot badan	Lingkar dada	Panjang badan	Tinggi bahu	Tinggi dada
1	BvSNAP4.2	√	√	√	-	-
2	BvSNAP4.2L	-	-	-	-	-
3	BvSNAP4.3	√	√	√	-	√
4	BvSNAP4.4	√	-	-	-	-
5	BvSNAP4.6	√	√	-	-	-
6	BvSNAP4.8	√	√	√	-	√
7	BvSNAP5.1	√	√	-	√	√
8	BvSNAP7.1	√	√	-	√	√
9	BvSNAP7.5	-	-	-	-	-
10	BvSNAP7.6	-	-	-	-	-
11	BvSNAP13.8	-	-	-	-	-
12	BvSNAP17.2	-	-	-	-	-
13	BvSNAP18.8	_	√	-	-	-
14	BvSNAP25.3	-	√	-	√	√
15	BvSNAP25.4	-	-	-	√	

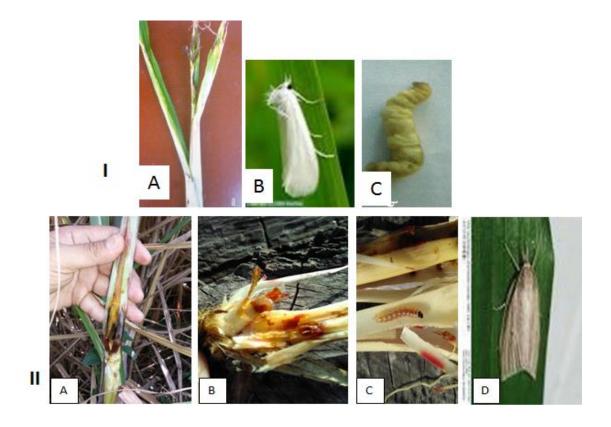
 $[\]sqrt{\ }$ = asosiasi nyata pada level 1–5% minimal 4 kali pada beberapa umur pengamatan pertumbuhan, - = tidak ada asosiasi.

BIOPROSPEKSI SENYAWA BIOAKTIF UNTUK PENINGKATAN PRODUKTIVITAS KOMODITAS PERTANIAN

Di bidang pertanian, bioprospeksi dapat digunakan sebagai alternatif strategis pemanfaatan sumber daya tanaman yang mempunyai sifat-sifat unggul, sehingga dapat meningkatkan produksi, baik kuantitas maupun kualitasnya. Untuk program pengendalian serangga hama yang bersifat ramah lingkungan, kajian bioprospeksi juga dapat memanfaatkan senyawa bioaktif yang bersifat repelan atau antraktan. Potensi bioprospeksi juga dimiliki oleh SDG mikroba. Seks feromon adalah salah satu kajian bioprospeksi yang sangat penting dalam pengelolaan serangga hama yang ramah lingkungan. Pengendalian yang biasa dilakukan dengan aplikasi insektisida akan dapat diminimalkan dengan pemanfaatan feromon. Upaya penurunan residu pestisida dalam produk maupun lingkungan dapat dilakukan dengan pendekatan teknologi yang lebih ramah lingkungan, seperti penggunaan bioinsektisida dan pemanfaatan mikroba pendegradasi residu pestisida. Dalam konsep imunitas, kemampuan tanaman mengatasi serangan OPT sangat tergantung pada vigoritasnya. Dalam hal ini, keberadaan bakteri endofitik berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, seperti mencegah perkembangan penyakit tanaman dengan mensintesis senyawa metabolit antifungi dan bakteri patogen. Di samping itu, peluang untuk melakukan eksplorasi, inventarisasi, pengembangan, dan komersialisasi terbentang luas karena keanekaragaman hayati di Indonesia melimpah. Potensi dan peluang ini harus dikelola dengan baik dan terencana, serta terarah untuk menghindari peluang pencurian oleh negara lain, yang selanjutnya dapat menjadi pesaing produk yang sama meskipun sumber plasma nutfahnya dari Indonesia.

1. Bioprospeksi senyawa bioaktif untuk pengendalian serangga hama Scirpophaga exerptalis dan Chilo sacchariphagus

Penggerek pucuk tebu (*Scirpophaga excerptalis*) dapat dikenali dengan melihat imago yang berwarna putih bersih bertengger pada ujung daun tebu, terutama pada tanaman muda di pagi hari (Gambar 42-IA), gejala pucuk tebu terserang (Gambar 42-IB), dan larva *S. excerptalis* (Gambar 42-IC). Di Perusahaan Gula Subang dan Penataran Jengkol, Kediri, formulasi feromon no SE dan SF memberikan hasil tangkapan yang paling tinggi terhadap imago penggerek tebu, *S. excerptalis*. Formulasi SF dengan ratio senyawa aktif Z-11-16 Aldehid : E-11-16 Aldehid yaitu 10 : 90, sedangkan formulasi SE dengan bahan aktif yang sama dengan rasio 30 : 70.



Gambar 42. Uji lapang feromon pada hama target tanaman tebu. I = penggerek pucuk tebu, *Scirpophaga excerptalis*, A = Gejala serangan, B = imago, dan C = larva. II = Penggerek batang tebu, *C. Sacchariphagus*, A dan B = gejala kerusakan, C = larva, dan D = imago.

Uji daya tarik feromon terhadap penggerek batang tebu, *C. sacchariphagus* di PN Subang (Gambar 42-II), menunjukkan bahwa formulasi no CC memberikan hasil tangkapan yang paling tinggi. Formulasi CC dengan rasio senyawa aktif Z-13-18 Asetat: Z-13-18 Alkohol, yaitu 70: 30. Sedangkan di di PTPN X, Kediri, Jawa Timur, formulasi no CB, memberikan hasil tangkapan yang paling tinggi terhadap *C. sacchariphagus*. Formulasi CB dengan rasio senyawa aktif Z-13-18 Asetat: Z-13-18 Alkohol, yaitu 90: 10. Hal ini menunjukkan sedikit berbeda dengan hasil di PN Subang, namun rationya sangat dekat. Diperkirakan rasio yang baik ada dikisaran hasil tersebut.

Uji lapangan daya tarik/pikat feromon sintetik terhadap penggerek pucuk tebu pada berbagai tingkat juantitas juga dilakukan di daerah pertanaman tebu yang sama pada blok pertanaman yang berbeda. Pada uji lapangan di PG Subang (Jawa Barat), jumlah imago *S. excerptalis* yang tertangkap paling banyak pada formulasi kode SN, dengan kuantitas 1500 μg per karet septa, dan jumlah tangkapan terbanyak kedua pada formulasi dengan kode SM dengan kuantitas 1000 μg per karet septa. Di Puslit Gula Kediri (Jawa Timur), tangkapan tertinggi diperoleh pada formulasi kode SL dengan kuantitas 500 μg

per karet septa. Pada saat pengujian di Puslit Gula Kediri, populasi serangga hama relatif sangat rendah, sehingga evaluasi kelihatan kurang jelas. Dari hasil di kedua lokasi tersebut, PG Subang dan Puslit Gula Kediri, kuantitas formula feromon sintetik yang memberikan hasil relatif paling tinggi adalah formulasi dengan kuantitas antara 500–1500 µg per karet septa. Untuk pengembangan selanjutnya, agar lebih efisien, perlu fokus pada kuantitas dengan 1000–1500 µg per karet septa untuk penggerek pucuk tebu *S. excerptalis*. Jadi, formulasi dengan komponen aktif Z-11–heksa desenil aldehid dan E-11-heksa desenil aldehid bersifat atraktif terhadap *S. excerptalis* pada rasio 10 : 90 dengan kuantitas 250–1500 µg per karet septa.

Pada uji lapangan di PG Subang, jumlah imago penggerek batang tebu *C. sacchariphagus* yang tertangkap paling banyak mencapai 29 ekor pada formulasi kode CN, dengan kuantitas 1500 μg per karet septa. Jumlah tangkapan pada pada formulasi lainnya relatif lebih rendah. Sedangkan pada pengujian di Puslit Gula Kediri, hasil juga berbeda, tangkapan tertinggi diperoleh pada formulasi kode SL dengan kuantitas 500 μg per karet septa. Bahkan pada formulasi dengan kuantitas dengan kode CN tidak ada imago yang tertangkap. Pada saat pengujian di Puslit Gula Kediri, populasi serangga hama relatif sangat rendah, mungkin ini disebabkan karena pada saat pengujian curah hujan relatif tinggi dan frekuensi hujan tinggi, yang menyebabkan populasi imago rendah, sehingga menyebabkan sulitnya melakukan evaluasi terhadap daya tarik formulasi feromon. Dengan demikian, formulasi dengan komponen aktif Z-13-oktadesenil asetat dan Z-13-oktadesenil bersifat atraktif terhadap *C. Sacchariphagus* pada rasio 70–90 : 30–10 dengan kuantitas 500–1500 μg per karet septa.

2. Optimasi formulasi kitosan antifungi untuk pengendalian penyakit antraknosa pada mangga, pepaya, dan cabai

a. Percobaan I

Isolasi bakteri dari tanaman cabai dan tomat dari daerah Lembang telah dihasilkan beberapa isolat baru bakteri untuk diuji produksi kitinolitiknya. Isolat kitinolitik tersebut menunjukkan morfologi koloni yang berlainan (bergerigi, buat kering, bulat kuning, bulat putih). Isolat bakteri kitinolitik diskrining secara kualitatif berdasarkan diameter zona bening untuk menentukan indeks kitinolitiknya. Uji kuantitatif menunjukkan beberapa isolate memiliki aktivitas kitinase tinggi, seperti RB (44,96 ppm), KB (20,92 ppm), TBG (19,38 ppm), dan TBK (18,81 ppm). Luas zona bening merefleksikan aktivitas kitinolitik yang tinggi, sehingga isolat TBK dipilih untuk memproduksi enzim kitinase. Hasil aktivitas enzim kitinase secara kualitatif ditunjukkan pada (Gambar 43). Indeks kitinolitik isolat TBK sebesar 1,213±0,084. Bakteri kitinolitik yang mempunyai indeks kitinolitik yang tinggi

selanjutnya digunakan untuk proses pembuatan kitosan berbobot molekul rendah (KBMR). Larutan KBMR ini didapatkan dari kitosan berbobot molekul tinggi yang diberikan larutan enzim kitinase dari isolat bakteri baru. Larutan KBMR dibuat dengan konsentrasi tertentu.



Gambar 43. Isolat bakteri kitinolitik dan aktivitas kitinase isolat TBK secara kualitatif.

Bakteri kitinolitik TBK diinkubasi menggunakan media kitin untuk dipanen ekstrak kasar enzim kitinasenya. Karena enzim kasar ini memiliki aktivitas rendah, maka ditingkatkan kemurniannya dengan penambahan larutan *phosphate buffer saline* (PBS). Pemurnian parsial enzim kasar dilakukan menggunakan larutan amonium sulfat 70% dan dilanjutkan dialisis. Enzim kitinase dengan aktivitas tinggi digunakan untuk mendegradasi kitosan. Pembuatan nano partikel digunakan perbandingan antara KBMR dengan NaTPP yaitu KBMR: NaTPP (5:2) dan digunakan untuk pengujian aktivitas formula terhadap jamur *Colletotrichum spp.* secara *in vitro* dan *in vivo*.

Jamur *C. gloeosporioides* yang digunakan merupakan jamur yang diisolasi dari buah cabai merah yang telah busuk. Setelah melakukan analisis secara mikroskopik untuk mengetahui jenis spora pada jamur, jamur *Colletotrichum spp.* mempunyai bentuk spora silindris dengan panjang 7–14 µm dan lebar 3–5 µm. Uji *in vitro* dilakukan dengan membiakkan jamur *Collectotrichum* sp. terlebih dahulu di media PDA, kemudian pada larutan KBMR: NaTPP dengan rasio 5:2. Daya hambat isolat jamur *C. gloeosporioides* bervariasi dengan selang antara 41,5–66,8%. Media yang dikondisikan sama seperti organisme hidup menunjukkan bahwa K-TPP dapat menghambat aktivitas jamur *Colletotrichum spp*.

Uji *in vivo* dilakukan dengan 3 perlakuan *in vivo* pada buah pepaya yaitu kontrol positif (tanpa kitosan), perlakuan kitosan tanpa inokulasi jamur (uji masa simpan), dan perlakuan kitosan dengan inokulasi jamur *Colletotrichum sp.*. K-TPP dapat menghambat penyakit antraknosa pada buah pepaya dengan persen daya hambat sebesar 57,00%.

Buah pepaya yang hanya dilapisi dengan K-TPP menunjukkan daya simpan selama 14 hari.

Analisis struktur dengan Spektroskopi FT-IR menunjukkan bahwa kitosan yang digunakan tidak murni karena masih terdapat gugus karbinol (C=O), seperti ditunjukkan pada bilangan gelombang 1.725/cm. Ukuran partikel K-TPP yang diukur dengan *Particle Size Analyzer* (PSA), memperlihatkan bahwa ukuran K-TPP sebesar 23,89 nm dengan intensitas 43,70%. Indeks polidispersitas sebesar 0,726 dan nilai potensial zeta sebesar 5,32 mV. Nilai indeks polidispersitas menunjukkan distribusi partikel KBMR.

b. Percobaan II

B. firmus E65 termasuk bakteri kitinolitik yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni, dengan indeks kitinolitik sebesar 0,23. Aktivitas kitinase diuji dengan mengukur N-asetil glukosamin (GlcNAc) sebagai produk hidrolisis kitin oleh kitinase. Peningkatan kemurnian enzim dari *B. firmus* E65 ditunjukkan setelah parsial pemurnian dengan amonium sulfat dengan aktivitas spesifik 0,8238 U/mg dan kemurnian enzim meningkat 1,8 kali (Tabel 29).

Tabel 29. Hasil pengukuran aktivitas kitinase isolat *B. firmus* E65.

Sampel enzim isolat E65	Volume kitinase (mL)	Aktivitas enzim kitinase (U/mL)	Kadar protein kitinase (mg/mL)	Total aktivitas kitinase (U)	Protein total (mg)	Aktivitas spesifik (U/mg)	Hasil (%)	Tingkat kemurnian (kali)
Ekstrak kasar E65	200	0,0541	0,1216	11,2	24,32	0,4449	100	1
Purifikasi (NH4)2SO4	5	0,0795	0,0965	0,3975	0,4825	0,8238	46,95	1,8347

Berdasarkan kurva yang didapatkan dengan memplot Konsentrasi (C) dan Viskositas (η_{red}) terlihat semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula viskositasnya. Identifikasi jamur untuk memastikan akurasi identitas isolat C. gloeosporioides (koleksi stok BB Biogen), dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis, meliputi bentuk dan warna koloni jamur. Pengamatan dilakukan setelah jamur berumur 10 hari. Pertumbuhan normal C. gloeosporioides pada medium PDA membentuk miselium yang jarang dan menyebar secara konsentris. Setelah beberapa hari akan terbentuk aservulus yang berwarna abuabu kehitaman.

Pemberian K-TPP dengan berbagai rasio ditujukan untuk mengetahui kitosan dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides.* Rasio KBMR:NaTPP diketahui menjadi parameter penting untuk pembentukan KBMR:NaTPP nanopartikel, karena mempengaruhi NaTPP dan efisiensi silang kitosan. Perlakuan kontrol menunjukkan luas

koloni paling tinggi dengan rata-rata yaitu 63,585 cm² dan yang paling rendah adalah pada formula KBMR:NaTPP (3:1) dengan rata-rata yaitu 9,0798 cm². Berdasarkan perhitungan, formula rasio 3:1 memiliki daya hambat tertinggi yaitu sebesar 85,73% terhadap pertumbuhan *C. gloeosporioides*.

Uji daya hambat nano kitosan terhadap *C. gloesporioides* secara *in vivo* dilakukan pada buah mangga jenis manalagi. Pada hari ke sebelas pengamatan hanya dilakukan dengan melihat kondisi buah mangga secara kasat mata, karena buah yang sudah busuk dan ditumbuhi jamur. Meskipun demikian, formula rasio KBMR:NaTPP 3:1 memiliki hasil yang terbaik dimana buah mangga belum sepenuhnya busuk dan tidak ditumbuhi jamur seluruhnya. Rasio tersebut paling efektif untuk menekan pertumbuhan patogen.

Hasil uji *in vivo* sejalan dengan hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa rasio terbaik pada kitosan termodifikasi NaTPP dengan KMBR (KBMR:NaTPP) adalah 3:1 untuk menekan pertumbuhan jamur *C. gloesporioides* dengan daya hambat 91,36%. Ada pengaruh yang signifikan antara formula rasio KBMR:NaTPP terhadap daya hambat pertumbuhan *C. gloesporioides*. Berdasarkan hasil uji daya hambat nano kitosan terhadap jamur *C. gloeosporioides* secara *in vitro* dan *in vivo* didapatkan formula dengan rasio volume larutan KBMR:NaTPP yang terbaik yaitu 3:1. Formula KBMR:NaTPP (3:1) tersebut memiliki ukuran nano kitosan sebesar 228,74 nm.

3. Formulasi bakteri pendegradasi residu insektisida

Bakteri pendegradasi insektisida diisolasi dari sampel tanah asal lahan pertanian kol, padi, tomat, dan kentang menggunakan media NMS yang mengandung 100 ppm pestisida organofosfat, karbamat, dan piretroit sintetik. Seleksi awal menghasilkan 48 isolat (19 isolat pendegradasi organofosfat, 23 isolat pendegradasi karbamat, dan 6 isolat pendegradasi piretroit sintetik) yang tidak menimbulkan reaksi hipersensitif respon pada tanaman tembakau serta bersifat non hemolitik. Diantara 48 isolat tersebut, 6 isolat tumbuh cepat pada media NMS cair yang mengandung pestisida organofosfat, 6 isolat tumbuh dengan cepat pada media NMS cair yang mengandung pestisida karbamat, dan hanya 1 isolat yang tumbuh cepat pada media NMS cair yang mengandung pestisida piretroit sintetik. Kemampuan degradasi organofosfat tertinggi ditunjukkan oleh isolat CN 44 dan CN 26 sedangkan pada karbamat tertinggi ditunjukkan oleh isolat B83 dan B54. Isolat S53 dan S9 merupakan dua isolat yang memiliki kemampuan degradasi piretroit sintetik tertinggi.

Uji kompatibilitas *in vitro* keenam isolat terpilih tersebut menunjukkan adanya reaksi inkompatibilitas (antagonisme) antara isolat CN44 dengan CN26, antara CN 26 dengan B83, antara B84 dengan B54, dan antara isolat S53 dengan B83, dan B54. Hasil pengujian

ini penting sebagai dasar pertimbangan dalam mengombinasikan isolat-isolat tersebut dalam suatu formula agen bioremediasi. Selanjutnya, isolat CN44, B83, dan S9 dipilih untuk diidentifikasi dan dikarakterisasi (deteksi gen-gen yang diduga berperan dalam aktivitas degradasi insektisida), dikombinasikan, dan diuji kemampuan degradasi insektisidanya secara *in vitro* (dalam media NMS cair) dan pada percobaan rumah kaca.

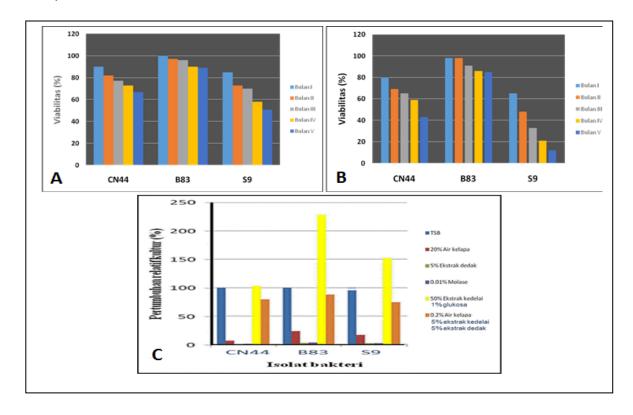
Hasil analisis sekuen gen penyandi 16S rRNA, menunjukkan bahwa isolat CN26 memiliki kemiripan 99% dengan *Comamonas terrigena* LT2. *Comamonas terrigena* mampu menghasilkan enzim organofosforus hidrolase yang berfungsi mendegradasi senyawa organofosfat menjadi 4-bromo-2klorofenol. Isolat CN 44 memiliki kemiripan 79% dengan *Pseudomonas* sp. sxdyx. Isolat B83 mirip dengan *Bacillus thuringiensis* strain MYBT 18246 dengan homologi 100%. Isolat S9 menunjukkan kemiripan dengan *Bossea eneae*.

Aktivitas degradasi organofosfat, karbamat, dan piretroit sintetik dari 4 kombinasi isolat terpilih diuji pada media NMS. Kombinasi isolat CN44, B83, dan S9 menunjukkan rata-rata aktivitas degradasi asefat dan karbamat tertinggi. Sedangkan rata-rata aktivitas degradasi karbamat dan sipermetrin tertinggi dihasilkan oleh kombinasi isolat B83 dan S9. Secara umum, kombinasi ketiga isolat tersebut menunjukkan aktivitas degradasi insektisida di atas 70% kecuali pada degradasi dimetoat.

Uji kemampuan untuk menurunkan residu insektisida dalam umbi bawang menunjukkan bahwa aplikasi ketiga isolat tersebut, baik secara terpisah atau kombinasi, mampu menurunkan residu insektisida dari golongan organofosfat dan piretroit sintetik. Bahkan aplikasi isolat isolat CN44, S9, dan kombinasi CN44, B83, dan S9 menyebabkan tidak ada lagi sipermetrin yang terdeteksi pada umbi bawang. Rata-rata penurunan residu terkecil adalah untuk residu bifentrin.

Penghitungan populasi masing-masing isolat bakteri yang diformulasikan dengan gambut (Gambar 44A) dan kaolin (Gambar 44B) sebagai bahan pembawa menunjukkan bahwa populasi isolat B83 hanya turun ≤15% setelah 5 bulan penyimpanan pada suhu ±20°C. Sedangkan isolat CN44 mengalami penyusutan populasi ±35% setelah penyimpanan tersebut. Penurunan populasi tertinggi terjadi pada isolat S9 mendekati 50%. Penurunan populasi B83 pada formulasi dengan kaolin tidak jauh berbeda dengan formulasi menggunakan gambut. Sebaliknya, penurunan populasi CN44 dan S9 menjadi lebih besar pada formulasi menggunakan kaolin. Hal ini menunjukkan bahwa gambut merupakan bahan pembawa yang sesuai untuk CN44, B83, dan S9 karena lebih baik kemampuannya dalam mempertahankan viabilitas ketiga bakteri tersebut. Berbeda dengan CN44 dan S9, viabilitas B83 tidak terlalu terpengaruh walaupun diformulasikan

dengan kaolin. Hal ini diantaranya disebabkan karena B83 termasuk dalam genus Bacillus yang memiliki struktur endospora sehingga sangat tahan terhadap berbagai cekaman fisik maupun kimia.



Gambar 44. Viabilitas dan pertumbuhan isolat terpilih. A = viabilitas isolat terpilih pada bahan pembawa gambut, B = viabilitas isolat terpilih pada bahan pembawa kaolin, C = pertumbuhan kultur tiga isolat bakteri pendegradasi insektisida terpilih pada beberapa media alternatif dan TSB.

Isolat bakteri terpilih selanjutnya diuji pertumbuhannya pada beberapa media komersil dan media alternatif. Tahap optimasi media ini bertujuan untuk mengetahui media terbaik untuk membiakkan bakteri secara cepat dan ekonomis. Percobaan menggunakan media komersil menunjukkan bahwa TSB merupakan media terbaik untuk mengkulturkan isolat-isolat bakteri terpilih dibandingkan dengan NB dan LB. Berdasarkan hasil tersebut, selanjutnya TSB digunakan sebagai media komersil pembanding untuk beberapa media alternatif yang dibuat dari air kelapa 20%, ekstrak dedak 5%, molase 0,01%, ekstrak kedelai 50% + glukosa 1%, serta media campuran dengan komposisi air kelapa 0,2%, ekstrak dedak 5%, dan ekstrak kedelai 5%. Di antara kelima media alternatif tersebut, ekstrak kedelai + glukosa 1% merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan ketiga isolat bakteri dan bahkan lebih baik dari TSB sebagai media pembanding (Gambar 44C). Diduga hal ini dikarenakan komponen media TSB dan ekstrak

kedelai yang hampir sama. Selain itu, penambahan glukosa 1% menyediakan sumber karbon sederhana yang relatif lebih disukai dan mudah dimetabolisme oleh kebanyakan sel bakteri. Jadi, pertumbuhan ketiga isolat isolat CN 44, CN26, B83, dan B54 pada media alternatif yang terbuat dari ekstrak kedelai 50% + glukosa 1% lebih baik dibandingkan dengan pertumbuhannya pada media komersil pembanding TSB, sehingga dapat digunakan untuk perbanyakan bakteri tersebut.

4. Formulasi dan karakterisasi bakteri endofitik peningkat vigor tanaman terinfeksi virus dan bakteri

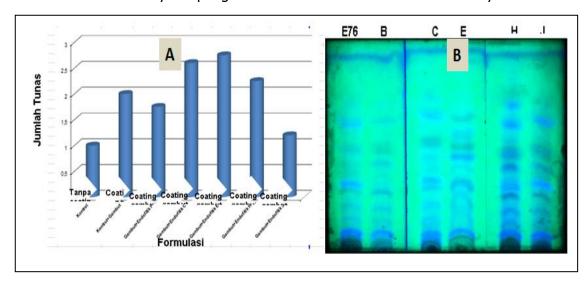
Pengamatan visual bakteri endofitik terhadap serangan virus dilakukan pada tanaman yang diuji. Bakteri endofitik C selain dapat menginduksi vigor tanaman juga menginduksi ketahanan tanaman terhadap serangan virus kuning. Bakteri A hampir semua perlakuan terinfeksi, tetapi serangannya bervariasi, demikian pula bakteri B dan D pada perlakuan masing-masing 5 dan 15%. Untuk Bakteri C sebesar 5, 10, 15% dan D5 sebesar 10% tidak memperlihatkan tanaman terinfeksi. Karena pengamatan visual, jadi apakah tanaman yang tidak terinfeksi benar-benar tidak ada virusnya, atau karena adanya senyawa lain yang berperan perlu diverifikasi.

Formulasi telah dikembangkan menggunakan kaolin dalam bentuk tepung dan dalam bentuk butiran. Berdasarkan formulasi tepung maupun butiran, viabilitas bakteri terlihat rendah, dan memasuki masa simpan minggu ke-2 mengalami penurunan hingga 50% dan terus mengalami penurunan di minggu berikutnya. Viabilitas sel bakteri dipengaruhi oleh medium pembawanya, karena itu dikembangkan formulasi lain dalam media tanah gambut.

Perlakuan formulasi gambut dengan metode *coating* pada umbi kentang memperlihatkan respons yang bervariasi berdasarkan waktu munculnya tunas dan banyaknya tunas. Formulasi yang sesuai dari 5 formula yang dicobakan adalah formula gambut + Endofitik C, formula gambut + Endofitik E, dan formula gambut + Endofitik H. Tunas yang dihasilkan rata2 sebanyak 3–4 per umbi. Terbukti, formulasi mikroba endofitik menggunakan tanah gambut mampu mempertahankan viabilitas mikroba cukup lama dan dapat diaplikasikan sebagai bahan *coating* untuk benih kentang.

Terkait teknik aplikasi, formulasi difokuskan untuk mendapatkan ekstrak dari fitohormon menggunakan kromatografi lapis tipis. Bakteri endofitik (isolat C) ditumbuhkan dalam media LB saja, dan di LB dengan triptofan. Berdasarkan analisis KLT, biakan yang ditumbuhkan pada media LB menghasilkan GA dan Zeatin, sedangkan biakan yang ditumbuhkan di LB dg penambahan Triptofan menghasilkan GA, IAA, dan Zeatin (Gambar 45A)

Untuk mendapatkan senyawa metabolit dari endofitik yang diduga mengandung senyawa penginduksi ketahanan tanaman, metode yang digunakan adalah biakan bakteri endofitik dibiakan pada media *succinic acid* selama 72 jam. Ekstraksi metabolit dilakukan dengan menggunakan *etyl acetat*. Hasil analisis KLT dari isolat E76, B, C, E, H, dan J ditampilkan pada Gambar 45B. Senyawa metabolit yang dihasilkan dengan metode ini merupakan senyawa yang mengandung SA dan Siderofor. Kemudian dari hasil KLT fitohormon dan KLT senyawa penginduksi ketahanan dibuatkan formulasinya



Gambar 45. Analisis kromatografi lapis tipis. A = IAA, GA, dan Zeatin yang dihasilkan endofitik, B = metabolit endofitik yang menginduksi ketahanan tanaman

Untuk mengetahui formulasi yang paling sesuai dalam memicu pertumbuhan tanaman atau vigor tanaman, digunakan 12 macam formulasi. Formulasi ekstrak mikroba endofitik dititik beratkan terhadap fase pertumbuhan baik vegetatif maupun fase generatif. Formulasi ini belum memperlihatkan hasil yang maksimal karena tidak ada perbedaan signifikan. Walaupun demikian, pada formulasi 4,5,6,7 terjadi respons pada panjang akar dan jumlah buah pertanaman. Secara keseluruhan, 12 formulasi yang diujikan memperlihatkan respons yang lebih baik jika dibanding kontrol dari ke 6 parameter yang diamati, yaitu panjang akar, tinggi tanaman, umur berbunga, dan jumlah buah pertanaman.

Pada aplikasi formulasi ekstrak mikroba endofitik terhadap ketahanan virus Gemini, dengan formulasi 1,3,5,7, dan 11 pada bakteri B, indeks penyakitnya lebih rendah dari tanaman kontrol, sedangkan pada bakteri C, hanya formulasi 5 yang masih mampu menghambat perkembangan penyakit jika dibanding kontrol. Namun demikian, secara keseluruhan respons yang muncul baik pada perlakuan menggunakan bakteri B maupun C dapat menekan indeks penyakit di bawah 10%. Dengan demikian, pemanfaatan metabolit

sekunder yang dihasilkan mikroba endofitik (fitohormon dan penginduksi sistem ketahanan tanaman) dapat menjadi alternatif teknik aplikasi endofitik yang lebih efektif dan dapat mengatasi masalah viabilitas.

APLIKASI TEKNOLOGI *IN VITRO* UNTUK PENINGKATAN KUALITAS DAN PERBANYAKAN TANAMAN KOMODITAS PENTING PERTANIAN

Jeruk dan mangga merupakan komoditas hortikultura yang penting, tetapi menghadapi kendala produksi yang harus segera diatasi. Peningkatan kualitas jeruk lokal harus dilakukan untuk meningkatkan daya saing jeruk. Hal yang sama pada mangga, meskipun produksi nasional mangga sudah surplus tetapi nilai ekspor mangga sangat rendah bahkan ada kecenderungan impor mangga dengan kualitas yang lebih baik daripada mangga lokal. Aplikasi teknik *in vitro* untuk meningkatkan kualitas buah jeruk dan mangga dapat dipilih untuk mempercepat proses pemuliaan. Peningkatan kualitas buah jeruk, terutama untuk sifat tanpa biji, dilakukan dengan kultur endosperma yang dapat meregenerasikan sel-sel triploid menjadi tanaman triploid yang dapat menghasilkan buah tanpa biji. Peningkatan kualitas buah mangga ditujukan untuk mendapatkan performa buah dengan perbandingan biji dan daging buah yang lebih proporsional. Penguasaan sistem regenerasi melalui embriogenesis somatik menjadi faktor penentu keberhasilan diperolehnya genotipe baru mangga yang solid.

1. Percepatan pertumbuhan tunas jeruk keprok yang diregenerasikan dari jaringan endosperma

Percepatan pertumbuhan tunas jeruk keprok dilakukan dengan menyambungkan tunas *in vitro* hasil 2015 secara *in vivo* dengan teknik *shoot tip grafting* di KP Tlekung, Balai Penelitian Jeruk dan Buah Sub tropis, Batu, Jawa Timur. Sampai minggu ke 6 setelah pengkulturan, rata-rata biji yang dikecambahkan pada media dengan penambahan 3 mg/l GA₃, berjumlah lebih dari satu.Hal ini menunjukkan bahwa pada media ini juga berhasil menginisiasi perkecambahan embrio nuselar.

Kecambah *in vitro* JC digunakan sebagai batang bawah dalam *micro grafting* (penyambungan secara *in vitro*) untuk mempercepat pertumbuhan planlet yang diperoleh dari kultur endosperma yang mengalami perlambatan pertumbuhan. Tunas yang sudah tumbuh baik dari hasil penelitian tahun sebelumya langsung disambungkan secara *shoot tip grafting-*, dengan batang bawah jeruk JC umur ±6 bulan (Tabel 30).

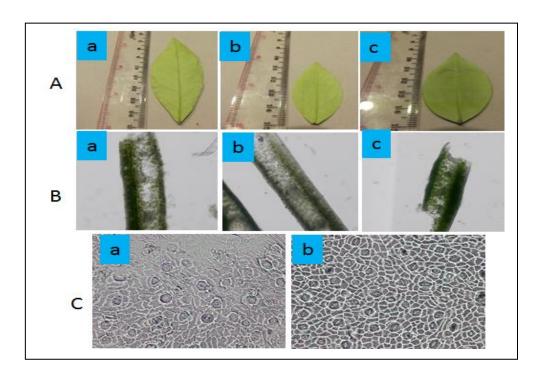
Tabel 30. Pertumbuhan tunas batang atas jeruk keprok yang diregenerasikan pada 6 minggu setelah penyambungan secara *in vitro*.

Rata-rata pertumbuhan	Media perti	umbuhan
ixata-rata pertumbuhan	Cair	Padat
Jumlah daun batang atas	4,1675	4,3325
Jumlah buku batang atas	3,335	3,585
Tinggi tunas batang atas (cm)	4,5475	4,685

Pada penyambungan mikro jeruk keprok yang diregenerasikan dari sel-sel endosperma, peningkatan konsentrasi sukrosa menunjukkan keberhasilan penyambungan mikro lebih dari 80% dan pertumbuhan batang atas meningkat pada penambahan sukrosa mencapai 5%, tetapi cenderung turun pada sukrosa 6%. Percepatan pertumbuhan tunas jeruk keprok dari kultur endosperma juga dilakukan secara *in vivo*, dimana tunas-tunas *in vitro* yang sudah tumbuh sempurna diisolasi kemudian disambungkan dengan batang bawah JC yang berumur ±6 bulan dengan teknik *mini grafting* (*shoot tip grafting*). Tingkat keberhasilan penyambungan tunas jeruk keprok dari kultur endosperma cukup rendah. Pada penyambungan pertama hanya 55,56%, hanya 28,57% pada penyambungan kedua dan meningkat kembali pada penyambungan ketiga.

Evaluasi morfologi dan anatomi dilakukan pada tanaman sambungan yang sudah menunjukkan pertumbuhan yang baik. Pengamatan morfologi meliputi panjang dan lebar daun serta rasionya, sementara pengamatan anatomi dilakukan pada ukuran (panjang dan lebar stomata serta rasionya) dan kerapatan/densitas stomata. Ukuran dan bentuk daun dari populasi *shoot tip grafting* (STG) jeruk keprok yang diregenerasikan dari sel-sel endosperma sangat beragam, mulai dari berbentuk oval, yang ditandai dengan rasio panjang dan lebar daun lebih dari 2. Sementara itu, daun yang hampir membulat memiliki ukuran panjang daun sedikit lebih panjang dibandingkan dengan lebarnya (Gambar 46A).

Pada jeruk siam triploid ketebalan daun sangat ditentukan oleh tingkat ploidinya, peningkatan ploidi akan meningkatkan ketebalan daun pada populasi STG juga pada populasi *top working*-nya. Pada populasi STG jeruk keprok yang diperoleh dari kultur endosperma diperoleh 13 tanaman dengan ketebalan dua kali bahkan lebih dari tanaman asal endosperma (Gambar 46B). Keragaan anatomi populasi STG jeruk keprok ternyata juga beragam (Gambar 46C).



Gambar 46. Keragaman morfologi daun dan stomata populasi STG jeruk keprok yang diregenerasikan dari sel-sel endosperma. A = bentuk daun yang bervariasi (a = daun dengan rasio panjang/lebar >2, b = daun jeruk keprok, c = daun dengan rasio panjang/lebar ± 1), B = tebal daun (a = daun dengan ketebalan daun lebih tebal dari kontrol, b = daun jeruk keprok, c = daun dengan tebal daun sama dengan kontrolnya), C = anatomi stomata (a = GT05 densitas paling jarang, b = MDT 5 densitas paling rapat).

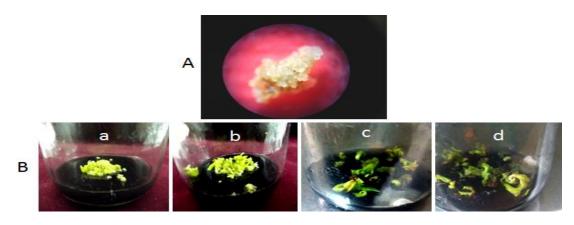
2. Mikropropagasi batang bawah mangga (*Mangifera indica* L) varietas Madu untuk penyediaan batang bawah bermutu

Organogenesis untuk memperbanyak batang bawah umumnya digunakan untuk mempercepat peyediaan batang bawah mangga yang masih lambat, karena menggunakan biji. Hal ini terlihat pada tunas yang diinduksi pembentukan akarnya ternyata mengalami kendala *in vitro recalcitrance*, dimana eksplan tidak memberikan respon pada media *in vitro*. Hampir seluruh eksplan mengalami pencokelatan jaringan yang mulai terlihat sejak minggu ke-3, dan pada minggu ke-4 eksplan mulai mengalami kematian pucuk sehingga eksplan yang masih hijau disubkultur pada media tanpa zat pengatur tumbuh.

Pertambahan bobot kalus mangga Madu selama 10 minggu terjadi pada media yang mengandung auksin, yaitu media dasar $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0,3 mg/l + 2,4D 1 mg/l + AgNO $_3$ 3 mg/l + Arang aktif 0,3%. Subkultur dilakukan berulang kali dan mengganti hormon 2,4D dengan Thidiazuron untuk percepatan pertumbuhan kalus, sehingga jumlah kalus yang

dibutuhkan untuk regenerasi cukup memadai. Formula terdiri dari media dasar $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0,3 mg/l + Thidiazuron 0,3 mg/l + AgNO₃ 3 mg/l + arang aktif 0,3 mg/l merupakan media terbaik untuk melakukan perbanyakan kalus embriogenik yang berasal dari eksplan nuselar (Gambar 47A).

Tahap selanjutnya setelah induksi kalus embriogenik adalah tahap pendewasaan dan perkecambahan embrio (Gambar 47B). Pengaruh ABA terhadap kemampuan pendewasaan embriosomatik dan perkecambahan yang ditumbuhkan pada media dasar ½ MS yang ditambah BA, dan AgNO₃. Pemberian ABA pada konsentrasi 0,5 mg/l dapat meningkatkan persentase kemampuan kalus membentuk embriosomatik dari 38% menjadi 45%, pada media ½ MS + BA 0,3 mg/l, tanpa 2,4D. Kehadiran ABA dalam media yang mengandung 2,4D juga berperan dalam sinkronisasi perkembangan embriosomatik sehingga akan diperoleh keseragaman yang sangat membantu dalam perbanyakan massal. Kesulitan menumbuhkan akar diatasi dengan meningkatkan frukuensi subkultur hampir setiap dua minggu atau 10 hari. Pencarian komposisi auksin dan sitokinin yang optimal perlu diupayakan agar perkecambahan dapat dicapai dengan baik dan selanjutnya diperoleh planlet yang sempurna.



Gambar 47. Kalus embriogenik mangga madu. A = kalus embriogenik dari eksplan nuselar pada media MS + BA 0,3 mg/l + Thidiazuron 0,3 mg/l pada umur 10 minggu setelah inisiasi, B = perkembangan kalus embriogenik mangga madu (a = tahap multiplikasi kalus, b = tahap pendewasaan, cukup seragam dan c dan d = tahap perkecambahan cukup lambat).

3. Peningkatan kualitas mangga (*Mangifera indica*) melalui aplikasi pemuliaan *in vitro*

Pada kegiatan tahun ini, formulasi media kultur untuk mendewasakan populasi mangga menggunakan media dasar yang sama dengan media pembentukan embrio somatik tahun sebelumnya, yaitu MS-50. Namun zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah Absisik asid (ABA) dengan konsentrasi dari 0–2,5 mg/l. Peningkatan rata-rata

jumlah embrio somatik dewasa meningkat secara nyata (BNT 5%) sampai konsentrasi 2,0 mg/l ABA (27 embrio dewasa) dan menurun kembali pada konsentrasi 2,5 mg/l.

Embrio somatik baru yang tumbuh dari bagian radikulata embrio somatik, yang biasa disebut embrio somatik sekunder (Gambar 48A), mempengaruhi proses pendewasaan embrio somatik sekunder. Rata-rata jumlah embrio somatik sekunder yang dihasilkan sangat tergantung kepada konsentrasi ABA yang diberikan. Rata-rata embrio somatic fase globular mulai dari konsentrasi 0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, dan 2,5 mg/l adalah 7, 14, 16, 21, 25, dan 19 fase globular, 2, 3, 4, 5, 12, dan 10 fase jantung, 3, 4, 6, 6, dan 9 fase torpedo.

Selain menggunakan ABA untuk pendewasaan embrio somatik yang dihasilkan juga digunakan senyawa alami air kelapa. Konsentrasi air kelapa yang digunakan adalah 0, 5, 10, 15, dan 20%. Hasil penelitian penambahan air kelapa dalam media MS yang telah mengandung 0,3 mg/l BA diperoleh bahwa penambahan konsentrasi air kelapa sampai 20% memberikan hasil yang lebih baik terhadap banyaknya jumlah total embrio somatik yang dihasilkan dibandingkan media kultur tanpa penambahan air kelapa. Embrio somatik dewasa hasil penambahan air kelapa warnanya berbeda dengan embrio somatik dewasa hasil perlakuan dengan ABA. Warna embrio somatik yang berasal dari perlakuan air kelapa lebih hijau daripada embrio somatik dewasa dari ABA (Gambar 48B). Rata-rata jumlah embrio somatik dewasa yang dihasilkan dalam tiga seri pengkulturan setelah radiasi dan penambahan air kelapa adalah 19 embrio somatik dewasa pada seri 1, 20,2 embrio somatik dewasa pada seri 2, dan 20,7 embrio somatik dewasa pada seri 3.



Gambar 48. Visualisasi embrio somatik mangga. A = embrio somatik sekunder yang terbentuk dari bagian radikula embrio somatik primer yang didewasakan (a dan b), B = embrio somatik dewasa hasil perlakuan air kelapa, umur 4 minggu (a= perlakuan air kelapa dan b= perlakuan ABA).

Untuk meningkatkan keberhasilan perkecambahan embrio somatik mangga garifta, digunakan penambahan kombinasi GA3 konsentrasi 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, dan 3 m/l ditambah air kelapa 15 ml/l. Penambahan air kelapa 15 ml/l yang dikombinasikan dengan GA3 memberikan hasil yang lebih baik terhadap keberhasilan perkecambahan embrio somatik. Embrio somatik dapat berkecambah mulai dari konsentrasi 1,5–3 mg/l GA₃ yang dikombinasikan dengan 15 ml/l air kelapa dengan keberhasilan sebesar 8 - 16% dengan jumlah plantlet 2–4 plantlet.

Formulasi media yang digunakan untuk regenerasi populasi kalus yang telah diradiasi adalah MS50+2 mg/l 2,4-D+0.3 mg/l BA, dengan dosis radiasi 50 Gy untuk LD $_{50}$. Dari tiga seri kegiatan radiasi dan kultur diperoleh bahwa populasi sel baru (kalus) muncul dari bagian kalus yang berwarna cokelat kehitaman akibat efek radiasi sinar gamma. Kalus baru berupa kumpulan embrio somatik muda mulai terlihat pada minggu kedua dan bertambah banyak dengan penambahan air kelapa.



Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Kementerian Pertanian 2016



