



BERITA UTAMA

Kiprah Badan Litbang Pertanian pada Haktekas ke-18

Hari Kebangkitan Teknologi Nasional sudah rutin diperingati tiap tahun, dengan serangkaian acara seminar, pameran, demo, dan lain-lain. Acara yang dikoordinir oleh Kemenristek ini merupakan acara yang memamerkan kepada masyarakat mengenai perkembangan teknologi terkini yang sudah dikuasai oleh anak bangsa. Adalah tanggal 10 Agustus 1995, ketika itu pesawat N-250 yang diproduksi oleh PT IPTN (Industri Pesawat Terbang Nusantara), sekarang menjadi PT Dirgantara Indonesia terbang untuk

pertama kalinya. Pesawat yang diberi nama Gatot Kaca itu terbang dari Bandara Husein Sastranegara, Bandung, menandai kemampuan putra/putri Indonesia yang sudah bisa menguasai teknologi Dirgantara. Kala itu, Menteri Riset dan Teknologi (BJ Habibie) sangat gembira menyaksikan peristiwa bersejarah tersebut. Tanggal 10 Agustus itulah yang diperingati sebagai Hari Kebangkitan Teknologi Nasional atau Haktekas.

Pada tahun 2013 ini, Haktekas tidak tepat diperingati pada tanggal 10 Agustus karena bersamaan dengan hari libur Idul Fitri, namun diadakan mulai tanggal 29 September s.d. 1 Oktober 2013. Bertempat di

pelataran Bioskop Keong Mas, Taman Mini Indonesia Indah, seluruh Badan Litbang Kementerian di Indonesia turut memamerkan hasil-hasil penelitiannya, ditambah swasta, BUMN, Pemda, dan Universitas. Badan Litbang Kementan juga tak ingin kalah bersaing dengan memamerkan hasil-hasil penelitian terbaiknya. Tercatat beberapa penemuan yang bermanfaat bagi masyarakat, seperti mesin tanam padi, varietas unggul padi, varietas baru bunga-bunga, telur ayam KUB, vaksin untuk ternak, dan lain-lain ikut memeriahkan acara ini. Beberapa produk inovasi pascapanen juga sangat disukai masyarakat. BB Biogen sebagai bagian dari Badan

Warta *Biogen*

Penanggung Jawab

Kepala BB Biogen
Karden Mulya

Redaksi

Asmawati Ahmad
Tri Puji Priyatno
Joko Prasetyono
Ida N. Orbani

Alamat Redaksi

Seksi Pendayagunaan Hasil
Penelitian BB Biogen

Jl. Tentara Pelajar 3A
Bogor 16111

Tel. (0251) 8337975, 8339793

Faks. (0251) 8338820

E-mail:

bb_biogen@litbang.deptan.go.id

borif@indo.net.id



Stand Badan Litbang Pertanian

ISSN 0216-9045



9 770216 904515

Litbang Kementan memamerkan video dan publikasi tentang sumber daya genetik, tanaman transgenik, dan Feromon. Informasi tersebut ternyata sangat diminati oleh pengunjung untuk menambah wawasan, atau sebagai bekal peningkatan kemampuan bertaninya. Feromon yang kini banyak diminati oleh petani dipraktekkan dengan melihat video Feromon. Video tersebut bisa

dimiliki oleh petani/kelompok tani yang berminat. Pusat Perpustakaan dan Penyebaran Teknologi Pertanian, di bawah Badan Litbang Pertanian, memfasilitasi pemberian video tersebut secara gratis kepada siapa saja yang menginginkan.

Hakteknas yang dibuka oleh Menteri Riset dan Teknologi, Prof. Dr. Ir. Gusti Muhammad Hatta, ini mengandung banyak makna. Mak-

na untuk memamerkan hasil karya anak bangsa kepada dunia luar, dan makna perlunya sinergisitas antar lembaga penelitian di Indonesia. Dengan bekerja sendiri saja sudah bisa sehebat itu, apalagi kalau seluruh lembaga penelitian tersebut berkolaborasi meneliti sesuatu yang bermanfaat bagi orang banyak. Tentu hasilnya akan lebih hebat lagi.

Redaksi

ARTIKEL

Pernakah anda memperhatikan seorang kasir di supermarket mencatat harga barang ke dalam komputer hanya dengan men-*scan* label bergaris yang ada angka di bawahnya menggunakan *scanner* sederhana dan harganya langsung muncul di layar monitor? Kode-kode seperti itulah yang digunakan supermarket untuk menandai setiap barang. Barang yang telah dilabel dimasukkan dalam database di komputer yang bisa *diupdate* sewaktu-waktu sehingga tidak mungkin tertukar. Cara/teknologi ini membuat kasir lebih mudah dan cepat dalam bekerja tanpa ada kesalahan. Teknologi pelabelan ini dikenal dengan nama barcode.

Barcode ditemukan pada tahun 1949 oleh dua orang Amerika, yaitu Bernard Silver dan Norman Joseph Woodland. Meski barcode telah dipatenkan pada 7 Oktober 1952, tetapi sistem barcode dengan garis linier hitam-putih mulai digunakan secara komersial lima belas tahun kemudian. Dari beberapa sistem barcode yang telah digunakan, hanya *Universal Product Code* (UPC) yang terdiri dari 12 angka yang dipakai oleh banyak industri. Barcode yang digunakan Indonesia

Barcode DNA: Sistem Identifikasi Mutakhir

adalah sistem *European Articles Numbering* (EAN) yang memiliki 13 digit yang terdiri dari 12 angka dan 1 cek digit. Semua produk barcode diatur oleh menteri perdagangan dunia. Setiap negara memiliki kode barcode sendiri sehingga tidak tertukar dengan negara lain.

Pada Gambar 1A terlihat barcode suatu produk makanan dengan nomor kode 8991609119892. Nomor 899 adalah kode barcode untuk Indonesia (kode lain untuk Indonesia adalah 888), nomor 1609 adalah kode perusahaan, sedangkan nomor 11989 untuk kode produk dan nomor 2 untuk validasi atau cek digit. Tebal tipis dan hitam putih garis-garis akan mudah dipindai dengan alat *scanner* untuk memunculkan suatu deretan angka barcode.

Penggunaan barcode sistem linear ini tidak terbatas pada produk yang terdaftar pada kementerian perdagangan saja, tapi setiap orang bisa membuat barcode sendiri untuk keperluan tertentu. Misalnya, barcode untuk produk segar seperti ikan, sayuran, buah-buahan di supermarket. Barcode juga sudah biasa digunakan untuk memberi tanda barang-barang pada penerbangan dan memberi label suatu percobaan.

Barcode DNA dan Aplikasinya

Atas dasar itulah para ilmuwan saat ini tengah memikirkan cara memberi kode suatu organisme hidup dengan sistem barcode seperti barcode pada produk buatan. Pada produk buatan jauh lebih mudah memberi kode angka karena produk tidak akan berubah dan selalu



Gambar 1. Sistem barcode produk jadi dan mahluk hidup (<http://www.google/barcode>).

terdaftar pada instansi yang berwenang. Lain halnya dengan makhluk hidup yang selalu berkembang biak dan terjadi perkawinan, sehingga individu satu akan berbeda dengan individu lainnya walaupun masih berada di dalam satu spesies. Pada manusia, sidik jari tangan dapat digunakan sebagai identifikasi masing-masing orang, karena bersifat unik dan tidak ada sidik jari yang sama antar manusia. Namun, sidik jari ini berlaku apabila manusia tersebut masih hidup. Ketika manusia mati, maka sidik jari tangan akan hilang. Oleh karena itulah sidik jari yang tak pernah hilang sepanjang waktu adalah sidik jari DNA. Asumsi para ilmuwan adalah masing-masing spesies (barangkali nantinya masing-masing individu) sebenarnya memiliki DNA yang unik yang bisa digunakan sebagai penanda seperti barcode. Pada Gambar 1B terlihat ilustrasi barcode kupu-kupu dan burung berupa garis-garis berwarna yang mewakili basa nitrogen (AGTC) dengan urutan tertentu. Tentu saja untuk memindahkan diperlukan alat *scanner* yang lebih canggih dibandingkan alat *scanner* barcode 13 digit angka.

Para ilmuwan yang berkecimpung di dalam ilmu taksonomi telah menyadari perlunya identifikasi suatu makhluk hidup menggunakan DNA. DNA yang dijadikan barcode harus unik untuk setiap spesies. Pemberian barcode ini diharapkan bisa membantu banyak orang secara cepat dan murah untuk mengenal suatu spesies dan seluruh informasi yang terkait dengannya, dan juga akan bisa secara cepat mengenali penemuan jutaan spesies lain yang belum dinamai. Sistem barcode DNA ini diharapkan bisa memonitor perubahan *biodiversity* di dunia.

Penelitian barcode DNA ini merupakan pekerjaan yang kompleks,

dan tidak mungkin dilakukan oleh satu instansi saja. Oleh karena itu pada tahun 2003 dibentuklah *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL). Konsorsium ini mengaglomerasi hasil-hasil penelitian dari anggota dan saling tukar informasi yang terkait dengan kegiatan tersebut. CBOL berpusat di *National Museum of Natural History*, Washington DC, Amerika Serikat. Sampai saat ini CBOL telah beranggotakan sekitar 130 organisasi dari 43 negara. Namun sayang sekali Indonesia tidak masuk sebagai anggota konsorsium, padahal Indonesia termasuk salah satu negara dengan biodiversitas yang kaya.

Bagaimana membuat barcode makhluk hidup? Menurut petunjuk dari CBOL ada empat komponen yang diperlukan di dalam penelitian barcode, yakni:

1. Spesimen: bisa berupa fosil, jaringan beku, benih, dan lain-lain.
2. Laboratorium analisis. Di sini dibutuhkan alat-alat untuk keperluan isolasi DNA, PCR, dan elektroforesis.
3. Database. Database ini berupa data-data yang sudah dikoleksi dan bisa dicocokkan dengan spesimen yang sedang dianalisis. Di sinilah perlunya kerja sama yang erat antara institusi antar negara (di dalam CBOL) untuk tukar informasi, agar diketahui spesimen yang diteliti apakah sudah terdaftar sebagai spesies ataukah belum diketahui spesies apa.
4. Data analisis. Kegiatan ini tentu saja membutuhkan program dan peralatan komputer yang handal. Data molekuler yang telah didapatkan tentu saja harus bisa dicari kesesuaiannya dengan database yang ada secara cepat dan akurat.

Gambar 2 menunjukkan cara pembuatan barcode DNA dan cara aplikasinya di Korea Selatan. Spesimen diekstraksi DNA dan dilakukan PCR dengan primer spesifik. Data yang ada disimpan di dalam pusat bank data dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies yang lain. Indonesia pun bisa meniru model seperti di Korea ini, namun perlu manajemen penelitian yang lebih baik, karena menyangkut banyak institusi. Setiap lembaga yang terkait dengan itu, misal LIPI, Badan Litbang Pertanian, Badan Litbang Kehutanan, dan lain-lain bisa membentuk konsorsium barcode DNA khusus tanaman Indonesia. Namun, sudah seyogyanya Indonesia harus masuk ke dalam CBOL karena informasi tentang barcode DNA akan terbuka lebar di tempat tersebut. Informasi yang sangat penting terkait dengan primer-primer spesifik yang bisa digunakan untuk membuat barcode DNA dapat diperoleh di situ.

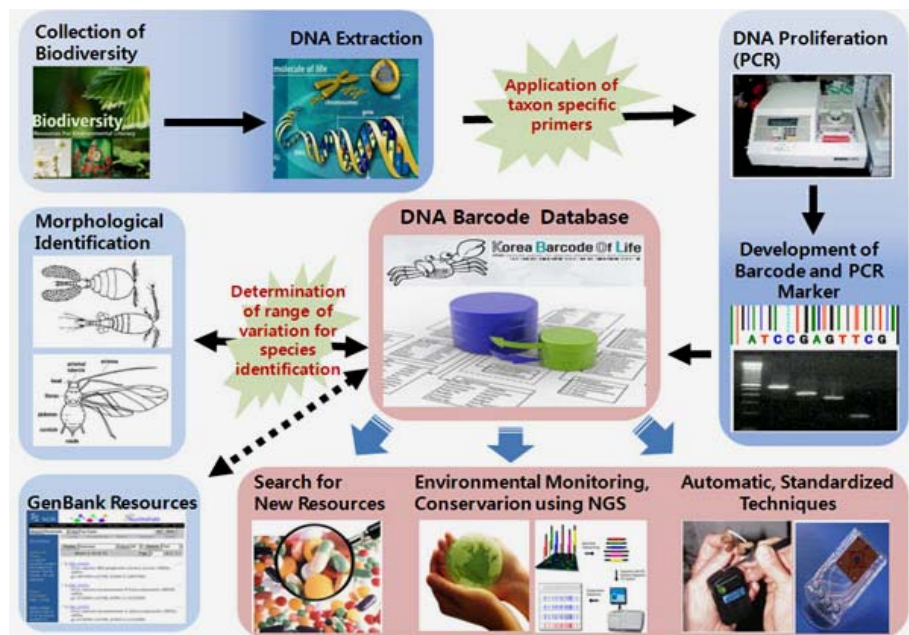
Primer Spesifik Barcode DNA

Peneliti yang berkecimpung di barcode DNA menyadari bahwa diperlukan alat penanda yang sederhana dan bisa membedakan satu spesies dengan spesies yang lain. Pada penelitian DNA harus ada primer yang bisa membedakan secara tegas dan jelas. DNA inti tidak terlalu banyak variasi di antara spesies. Misalkan DNA inti pada manusia berbeda hanya 0,9% dengan DNA simpanse, sedangkan DNA mitokondrianya berbeda 9%. Oleh karena itu penyusunan barcode DNA bukan berasal dari DNA inti, tetapi DNA di luar inti.

Pada hewan, DNA mitokondria dijadikan dasar untuk penyusunan barcode DNA, sedangkan pada tanaman oleh karena jumlah dan variasi sekuens mitokondrianya relatif kecil, maka DNA plastida (kloroplas) dijadikan dasar sebagai bahan

membuat barcode DNA. Pada jamur, gen-gen ribosomal RNA (SSU rRNA) bisa dijadikan dasar pembeda (Stoeckle, 2003). DNA sebagai barcode ini harus memiliki ukuran yang pendek tapi memiliki variasi yang tinggi antarspesies, dan harus bisa mengakomodir 10-100 juta spesies. Pada penelitian lebih detail ternyata tidak seluruh sekuen mitokondria bisa dijadikan alat barcode. Gen *cytochrome c oxidase I* (COI) dapat digunakan sebagai dasar pembeda antar binatang (Hebert *et al.*, 2003). Primer yang digunakan akan menghasilkan produk sebesar 658 bp (LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' dan HCO2198 5'-TAAACTTCAGG-GTGACCAAAAAATCA-3'). Produk PCR inilah yang kemudian disekuensi untuk kemudian dilihat susunan basa nitrogennya. Ternyata antarspesies pada hewan bisa dibedakan dari perbedaan urutan basanya. Apabila empat basa digunakan sebagai dasar maka kemungkinan jumlah spesies yang bisa dibedakan sekitar 4^{658} atau tidak terhingga. Peluang untuk membuat barcode DNA pada hewan sangat besar, namun diperlukan kerja yang besar karena harus bekerja pada jutaan spesies yang ada di dunia.

Bagaimanakah penyusunan barcode pada tanaman? Sistem barcode pada tanaman ternyata tidak semudah yang dilakukan pada hewan. Setelah dilakukan penelitian bertahun-tahun CBOL pada tahun 2009 menawarkan dua daerah pada kloroplas yang bisa dijadikan dasar untuk barcode tanaman, yakni lokus *rbcl* dan *matK*. Penelitian itu sendiri telah menyaring tujuh lokus pada kloroplas menjadi hanya dua lokus saja. Tujuh lokus tersebut adalah *atpF-atpH spacer*, *matK gene*, *rbcl gene*, *rpoB gene*, *rpoC1 gene*, *psbK-psbL spacer*, dan *trnH-psbA spacer*. Primer-primer kedua lokus utama tersebut dapat diper-



[The Integrated Model of Biodiversity, The Core of Green Growth, using BT, IT, NT, and ET]

Gambar 2. Model penyusunan sistem barcode di Korea Selatan (<http://www.google/barcode>).

oleh di <http://www.barcoding.si.edu/>. Namun, penggunaan primer-primer tersebut masih bersifat “trial” karena belum ada yang benar-benar bisa membedakan antar spesies tanaman. Hollingsworth (2011) menawarkan primer tambahan, yakni *nuclear ribosomal DNA transcribed spacer* (nrDNA ITS) untuk menambah keakuratan data. Namun, beberapa peneliti mengkhawatirkan adanya kontaminasi dengan jamur karena nrDNA ITS umumnya digunakan sebagai pembeda pada jamur (Schoch *et al.*, 2012). Peneliti barcode tanaman di Cina melaporkan hanya 2-3% terkontaminasi jamur dari sampel yang digunakan. Penelitian barcode pada tanaman ini masih berlangsung terus, dan diharapkan dalam waktu tidak terlalu lama sudah diperoleh barcode DNA tanaman yang akurat dan bisa membedakan antarspesies tanaman.

Barcode DNA dan Perlindungan Varietas Tanaman

Penelitian barcode tanaman ini sampai saat ini baru bisa membedakan antarspesies saja dan belum

ditemukan primer spesifik yang bisa membedakan individu di dalam satu spesies. Misal pada genus *Oryza L.* terdapat 25 spesies dan genus *Capsicum* terdapat 20-27 spesies, maka barcode DNA tanaman yang bisa dibuat hanya akan efektif untuk membedakan antar ke-25 spesies padi dan 20-27 spesies cabe. Oleh karena itu, barcode DNA akan sulit dibuat untuk padi IR64, Code, Ciherang, dan lain-lain yang sama-sama masih satu spesies. Teknologi yang dimiliki oleh dunia saat ini hanyalah primer yang menghasilkan sekuen yang bisa membedakan antarspesies tanaman, bukan intra spesies. Barangkali, seandainya barcode DNA tanaman tersebut sudah lengkap, penelitian selanjutnya akan diarahkan kepada barcode DNA intra spesies, atau bahkan antar individu tanaman.

Penelitian sidik jari DNA yang terdapat dalam DIPA BB Biogen beberapa waktu yang lalu sebaiknya diarahkan untuk membuat identitas spesifik untuk tanaman yang populer di masyarakat, dan bukan diarahkan kepada pembuatan barcode DNA seluruh sampel yang di-

analisis. Penelitian ini lebih mudah dengan memilih satu varietas saja sebagai “core” yang akan dibuat identitas secara molekuler. Beberapa varietas yang bisa dicoba untuk dibuat identitas molekulernya seperti padi Ciherang, mangga Harumanis, dan tanaman lainnya yang dianggap paling populer di Indonesia. Namun, pekerjaan ini juga tidak mudah mengingat tanaman perbandingan yang digunakan masih dalam satu spesies, sehingga kemiripan genom masih mungkin terjadi. Hasil identifikasi molekuler tersebut selanjutnya bisa dicatatkan kepada instansi berwenang, seperti

Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian (PPVTTP), di bawah Kementerian Pertanian RI. Dengan tercatatnya varietas elit tersebut di kantor PPVTTP, maka negara lain tidak bisa mengklaim varietas tersebut miliknya. Seandainya Indonesia berkeinginan memberikan kontribusi terhadap pembuatan barcode organisme hidup, akan lebih baik bila menjadi anggota pusat barcode organisme hidup (CBOL).

DAFTAR PUSTAKA

CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. PNAS 106(31):12794-12797.

Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S. L. Ball, and J.R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. Lond. B. 270:313-321.

Hollingsworth, P.M. 2011. Refining the DNA barcode for land plants. PNAS 108(49):19451-19452.

Schoch, C.L., K.A. Seifert, S. Huhndorf, V. Robert, J.L. Spouge, C.A. Levesque, W. Chen, and Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. PNAS 109(16):6241-6246.

Stoeckle, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the Barcode of life. BioScience 53(9):2-3.

Tasliyah

Salinitas merupakan salah satu cekaman abiotik yang menjadi masalah serius dalam produksi padi di Indonesia. Luas lahan bersalinitas tinggi semakin luas dari tahun ke tahun akibat naiknya permukaan laut. Konsentrasi garam-garam terlarut yang berlebihan pada lahan pertanian akan mengganggu proses fisiologis tanaman dan dapat mengakibatkan penurunan produksi serta kematian tanaman padi. Untuk mengatasi permasalahan tersebut rekayasa genetik dapat diterapkan dengan menyisipkan gen yang berperan meningkatkan toleransi terhadap keracunan garam.

Rekayasa genetika pada level faktor transkripsi merupakan strategi yang menjanjikan untuk mengembangkan varietas padi toleran salinitas. Hal ini disebabkan karena kemampuan faktor transkripsi untuk melekat pada promotor dari gen-gen target dan berperan penting dalam meregulasi ekspresi gen-gen target dengan cara meningkatkan atau menekan transkripsi gen tersebut. Faktor transkripsi mempunyai bagian-bagian spesifik yang di-

Gen *OsDREB1A*, Faktor Transkripsi untuk Perbaikan Varietas Padi Toleran Salinitas Tinggi

sebut *domain*, yang terdiri dari 2 *domain*, yaitu DNA *binding domain* (elemen *trans-acting*) dan *cis-acting domain* (Haake *et al.*, 2002). Suatu faktor transkripsi dapat mengontrol ekspresi dari beberapa gen target melalui pengikatan spesifik antara elemen *trans-acting* dengan elemen *cis-acting* pada masing-masing promotornya (Nakashima *et al.*, 2009).

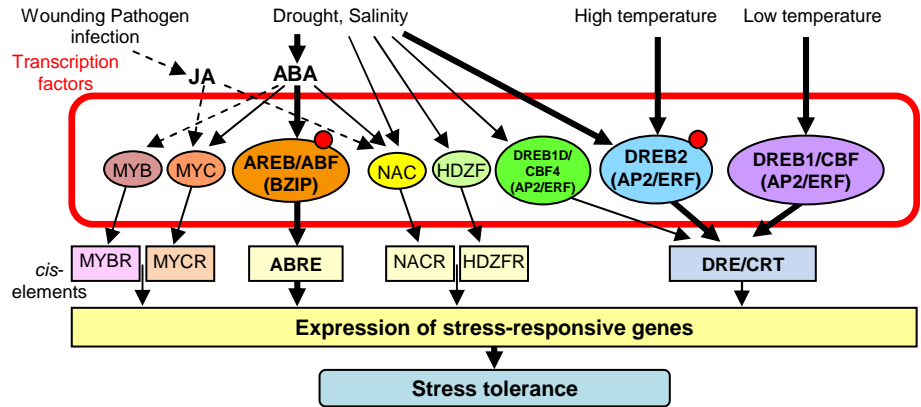
Salah satu gen faktor transkripsi yang telah dipelajari peranannya untuk toleransi terhadap cekaman abiotik adalah *Dehydration Responsive Element Binding tipe 1A (DREB1A)*. Gen *DREB1A* pada *Arabidopsis* telah dipelajari secara mendalam dan memiliki fungsi utama untuk meningkatkan toleransi terhadap titik beku. Gen ini juga memiliki peranan penting sebagai faktor transkripsi di dalam mengatur respon tanaman dan menginduksi gen-gen target yang berperan dalam peningkatan toleransi terhadap ce-

kaman (Gambar 1). Produk gen *DREB1A* akan menempel pada daerah yang disebut *dehydration responsive element (DRE)*. Daerah DRE mempunyai sekuen inti A/GCCGAC dan telah diidentifikasi sebagai elemen *cis-acting* yang terdapat pada daerah promotor gen-gen target dan berperan mengatur ekspresi gen dalam merespon cekaman (Fujita *et al.*, 2007).

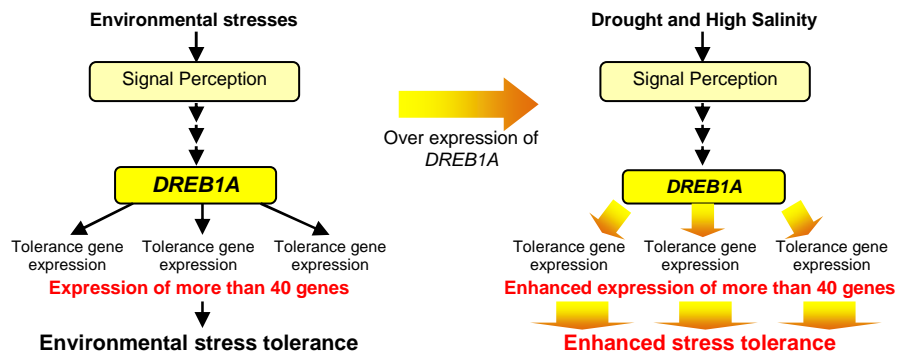
Penemuan gen *DREB1A* pada *Arabidopsis* memberikan kesempatan yang sangat luas untuk memperbaiki sifat toleran tanaman lain terhadap cekaman abiotik pada padi melalui pendekatan rekayasa genetik. Teknik yang dapat diaplikasikan untuk perbaikan toleransi terhadap salinitas melalui rekayasa genetika adalah teknik over-ekspresi gen *DREB1A*. Mekanisme dari teknik ini adalah membuat ekspresi gen *DREB1A* (bisa dari jenis tanaman sama atau berbeda)

dapat terekspresi secara berlebihan sehingga meningkatkan respon tanaman dalam menginduksi gen-gen target untuk toleransi terhadap cekaman (Gambar 2). Penelitian mengenai over-ekspresi *OsDREB1A* pada tanaman padi dilakukan untuk meningkatkan toleransi tanaman terhadap cekaman abiotik, seperti salinitas, kekeringan, dan suhu dingin. Menariknya, pengaktifan sistem regulasi transkripsi (regulon) *OsDREB1A* pada padi tidak hanya diinduksi oleh cekaman suhu rendah tetapi juga oleh cekaman salinitas tinggi dan kekeringan, sedangkan ekspresi *DREB1A* pada *Arabidopsis* hanya terinduksi oleh cekaman suhu rendah (Oh *et al.*, 2005). Penelitian Ito *et al.* (2006) menunjukkan bahwa tanaman padi transgenik yang mengalami over-ekspresi gen *OsDREB1A* memiliki tingkat toleransi yang lebih baik terhadap suhu rendah, kekeringan, dan salinitas tinggi apabila dibandingkan dengan tanaman padi tipe liar. Tanaman padi transgenik yang mengalami over-ekspresi *OsDREB1A* atau *DREB1A* akan mengakumulasi osmoprotektan seperti prolin dan beberapa tipe gula. Keberadaan osmoprotektan dapat meningkatkan kemampuan tanaman dalam menjaga turgositas sel saat merespon penurunan potensial osmotik saat terjadi cekaman salinitas tinggi.

Ito *et al.* (2006) telah mengidentifikasi 12 gen yang mengalami peningkatan ekspresi pada tanaman padi yang mengalami over-ekspresi *OsDREB1A*. Gen-gen tersebut antara lain gen *α-amilase*, *ACC oksidase*, *sitokrom P₄₅₀*, *reseptor protein kinase*, *ATPase*, *β-1,3-glukanase*, *glisin*, *inhibitor protease*, *lip5 (dehidrin)*, *lip9 (dehidrin)*, dan



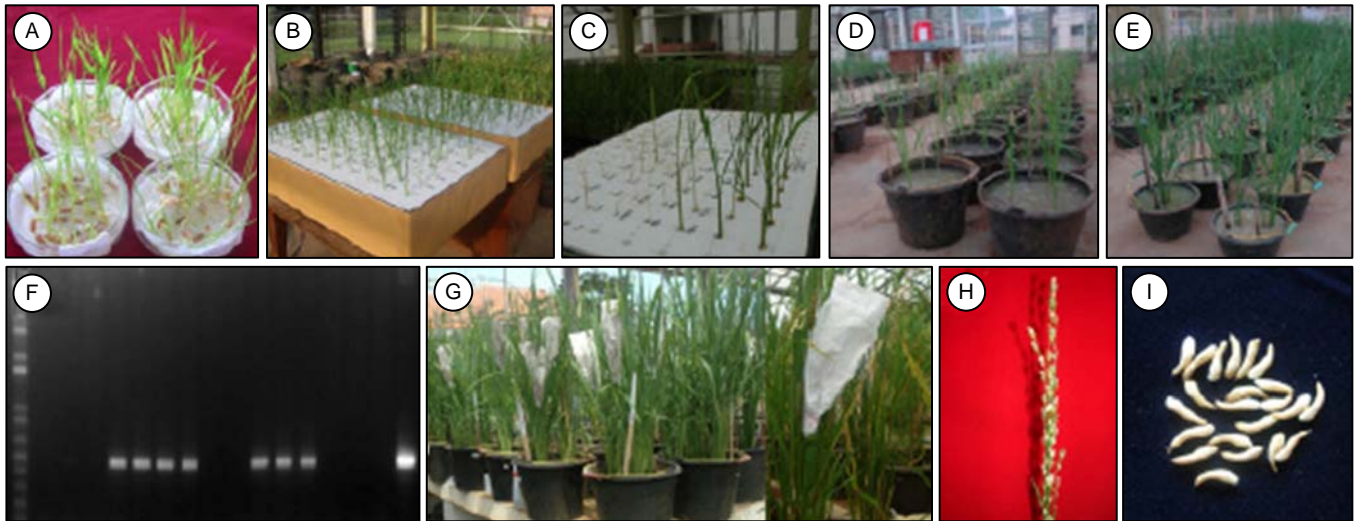
Gambar 1. Peranan faktor transkripsi untuk meningkatkan ekspresi gen-gen responsif cekaman sehingga menghasilkan toleransi terhadap cekaman (Fujita *et al.*, 2007).



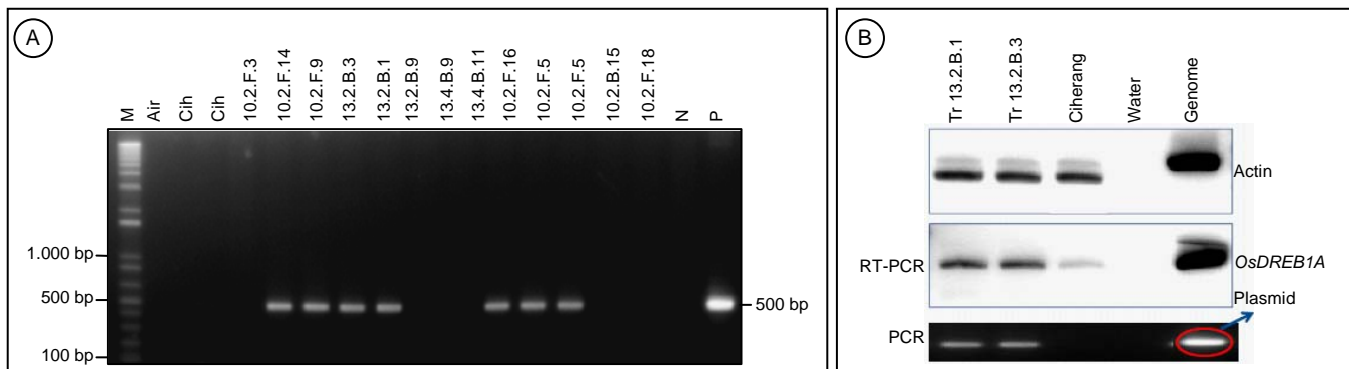
Gambar 2. Gen *DREB1A* merangsang terekspresinya sejumlah gen toleran cekaman abiotik (Fujita *et al.*, 2007).

ABA. Gen *α-amilase* dan *glisin* berperan penting dalam proses akumulasi osmoprotektan pada tanaman transgenik untuk menjaga kesetimbangan osmotik (Ito *et al.*, 2006). Gen *ACC oksidase* menyandikan enzim yang berperan dalam biosintesis etilena pada tanaman. Gen *sitokrom P₄₅₀* menyandikan enzim yang berperan dalam tahapan transformasi senyawa xenobiotik. Gen *ATPase* berfungsi mengatur kadar ion di dalam sel pada sistem kompleks pompa ion Na^+/K^+ . Gen *dehidrin* berperan dalam mencegah ketidakstabilan membran plasma selama kondisi dehidrasi. Gen *β-1,3-glukanase* berperan sebagai penghasil protein *pathogenesis-related* (PR). Peningkatan ekspresi gen-gen tersebut menyebabkan peningkatan toleransi terhadap kekeringan, salinitas, dan suhu dingin pada padi yang mengalami over-ekspresi *OsDREB1A* (Ito *et al.*, 2006).

Pentingnya peranan gen *OsDREB1A* terkait peningkatan toleransi terhadap cekaman abiotik, khususnya salinitas tinggi menjadi latar belakang perakitan tanaman padi Cihayang transgenik-*OsDREB1A*. Badan Litbang Pertanian melalui Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen) sedang mengembangkan tanaman padi toleran salinitas tinggi dengan memanfaatkan gen faktor transkripsi *OsDREB1A* untuk memberikan sifat toleransi terhadap kedua faktor pembatas abiotik. Gen tersebut telah berhasil dimasukkan ke dalam padi kultivar Nipponbare dan selanjutnya diintroduksi ke padi Cihayang melalui persilangan konvensional. Dari pengujian dan skrining awal di rumah kaca menunjukkan bahwa padi-padi hasil rekayasa genetik menunjukkan toleransi salinitas



Gambar 3. Tahapan pengujian toleransi salinitas pada galur-galur padi produk rekayasa genetis di rumah kaca. A = Perkecambahan benih padi transgenik di cawan petri, B = Bibit padi umur 2 minggu pada bak kaca yang berisi larutan Yoshida, C = Penampilan padi terseleksi pada larutan Yoshida dengan tingkat salinitas 12 dS/m. D-E = Tanaman terseleksi yang ditanam di ember berisi tanah, F = Hasil analisis PCR pada tanaman terseleksi, G-H = Tanaman padi tahan salinitas disilang-balikkan dengan Ciherang, I = Benih-benih hasil silang balik.



Gambar 4. Hasil pengujian molekuler galur-galur padi transgenik Ciherang-*OsDREB1A* toleran salinitas tinggi. A = Hasil analisis PCR menggunakan primer gen *hptII*, B = Hasil RT-PCR menggunakan primer gen *OsDREB1A*.

yang lebih tinggi dibandingkan dengan tetua non transgenik (Gambar 3). Melalui analisis molekuler dengan teknik PCR dan studi ekspresi gen dengan RT-PCR (Gambar 4) juga diperoleh informasi bahwa introduksi gen telah terjadi pada galur-galur progeni hasil silang-balik dan ekspresi transgen pada galur-galur transgenik lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman kontrol. Selain di skala rumah kaca, penelitian akan dilanjutkan dan diupayakan untuk dikembangkan pada skala lapang sehingga nantinya akan diperoleh tanaman padi Ciherang produk biotek yang toleran

terhadap cekaman kekeringan dan salinitas tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Fujita, Y., K.Y. Shinozaki, and K. Shinozaki. 2007. Improving drought and salt stress tolerance in plants by gene transfer. 4th Biomass-Asia Workshop, Malaysia.
- Haake, V., D. Cook, J.L. Riechmann, M.F. Thomashow, and J.Z. Zhang. 2002. Transcription faktor *DREB* is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 130:639-648.
- Ito, Y., K. Katsura, K. Maruyama, T. Taji, M. Kobayashi, M. Seki, K. Shinozaki, and K.Y. Shinozaki. 2006. Functional analysis of rice *DREB1/CBF*-type transcription

factors involved in coldresponsive gene expression in transgenic rice. *Plant Cell Physiol.* 47:141-153.

- Nakashima, K., Y. Ito, and K.Y. Shinozaki. 2009. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and Grasses. *Plant Physiol.* 149(1):88-95.
- Oh, S., S.I. Song, Y.S. Kim, H.J. Jang, S.Y. Kim, M. Kim, Y.K. Kim, B.H. Nahm, and J.K. Kim. 2005. *Arabidopsis CBF3/DREB1A* and *ABF3* in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth. *Plant Physiol.* 138(1):341-351.

Tri Joko Santoso

Keanekaragaman genetik di dalam koleksi plasma nutfah menjadi modal dasar dalam merakit varietas unggul. Namun demikian, dengan dikembangkannya varietas unggul maka varietas-varietas lokal lainnya menjadi rawan terhadap erosi genetik karena jarang atau bahkan sama sekali tidak dibudidayakan sehingga keragaman sifat yang dimiliki varietas-varietas tersebut akan ikut tereliminasi. Dengan demikian, upaya konservasi plasma nutfah menjadi penting dilakukan, sekalipun terhadap plasma nutfah yang saat ini belum diketahui manfaatnya atau bernilai komersial tinggi. Konservasi bahkan mutlak dilakukan terhadap tanaman-tanaman yang langka untuk menghindari kepunahan.

Konservasi plasma nutfah dapat dilakukan secara *in situ* (pada habitatnya) dan *ex situ* (di luar habitatnya) atau yang umum disebut sebagai bank gen. Konservasi *ex situ* di bank gen dengan cara penyimpanan dalam bentuk benih merupakan cara yang paling mudah, murah, dan praktis. Namun demikian, tidak semua tanaman dapat disimpan dengan cara tersebut. Cara demikian hanya cocok diterapkan pada tanaman yang berbenih ortodoks (benih yang dapat disimpan pada suhu dan kelembaban rendah tanpa berkurang viabilitasnya) tetapi tidak cocok diterapkan pada tanaman yang berbenih rekalsitran (benih yang tidak dapat disimpan pada suhu dan kelembaban rendah), juga pada tanaman yang berbenih semi rekalsitran (benih yang tahan kelembaban rendah tetapi tidak mampu disimpan pada suhu rendah), serta yang diperbanyak secara vegetatif.

Metode konservasi *in vitro* adalah salah satu cara pelestarian secara *ex situ* yang sangat sesuai diterapkan untuk tanaman yang ber-

Perkembangan Metode Konservasi *In Vitro* di BB Biogen

benih semi rekalsitran, rekalsitran, dan diperbanyak secara vegetatif. Metode tersebut memiliki keunggulan dibandingkan dengan teknik penyimpanan di lapang karena memerlukan area yang lebih sempit, tenaga kerja yang lebih terbatas, curahan waktu yang lebih sedikit, dan dana yang lebih hemat. Selain itu, materi yang disimpan akan terhindar dari risiko cekaman biotik (hama dan penyakit) serta cekaman abiotik (kekahatan, keracunan, banjir, kekeringan, kemasaman, suhu tinggi, dan kebakaran lahan).

Di antara tiga metode penyimpanan *in vitro* yang tersedia, pertumbuhan minimal dan kriopreservasi merupakan teknik yang potensial diterapkan di Bank Gen Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Penyimpanan secara pertumbuhan minimal dapat diterapkan untuk konservasi jangka menengah (bulanan) sedangkan penyimpanan secara kriopreservasi dapat diterapkan untuk konservasi jangka panjang (puluhan tahun). Melalui kedua macam teknik penyimpanan tersebut, frekuensi subkultur dapat dikurangi sehingga menurunkan peluang terjadinya kontaminasi biakan, abnormalitas, dan perubahan genetik materi pasca-konservasi.

Pada saat ini, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen) memberikan perhatian yang serius terhadap upaya konservasi plasma nutfah. Di BB Biogen teknik pertumbuhan minimal sudah cukup berkembang, namun tidak demikian dengan teknik kriopreservasi. Beberapa penelitian penyimpanan *in vitro* secara pertumbuhan minimal atau kriopreservasi telah dilakukan, antara lain pada tanaman pangan (ubi jalar, ubi kayu, talas, gembili, ubi kelapa, dan kentang hitam), hortikultura (jeruk besar, nenas, pisang, anggrek, kantung semar), obat-obatan (purwoceng, pulai, pulai pandak, bidara upas), serta tanaman industri, dan perkebunan (nilam).

Secara pertumbuhan minimal, berbagai macam modifikasi lingkungan fisik dan kimiawi telah dilakukan, antara lain penurunan suhu penyimpanan, intensitas pencahayaan, dan fotoperiodisitas serta pengenceran media dasar, penggunaan media dasar yang miskin hara, aplikasi retardan (paklobutrazol, cycocel, dan ancimidol), regulator osmotik (sukrosa, manitol, sorbitol), dan zat penghambat tumbuh

Tabel 1. Beberapa jenis tanaman yang berhasil disimpan secara pertumbuhan minimal.

No.	Jenis tanaman	Perlakuan penyimpanan	Lama penyimpanan (bulan)
1.	Ubi jalar	Paklobutrazol	18
2.	Ubi jalar	Manitol	10
3.	Ubi kayu	Paklobutrazol	12
4.	Talas	Manitol	24
5.	Gembili	Paklobutrazol	10
6.	Ubi kelapa	Ancimidol	10
7.	Kentang hitam	Paklobutrazol	10
8.	Kentang hitam	Pengenceran media dan tanpa sukrosa	12
9.	Jeruk besar	Sorbitol	4
10.	Pisang	Manitol	12
11.	Purwoceng	Pengenceran media dan paklobutrazol	4
12.	Purwoceng	Penurunan taraf sukrosa	10
13.	Nanas	Enkapsulasi dan manitol	4
14.	Kantung semar	Pengenceran media	18



Gambar 1. Beberapa jenis tanaman yang telah diteliti di BB Biogen terkait dengan pengembangan metode pertumbuhan minimal (dua baris atas) dan kriopreservasi (satu baris bawah). A dan R = Ubi jalar, B dan N = Talas, C = Ubi kelapa, D = Gembili, E dan S dan K = Purwoceng, F = Kentang hitam, G dan Q = Ubi kayu, H = Nenas, I, O, dan P = Pisang, J = Kantung semar, L = Jeruk besar, M = anggrek, T = Tebu.

(*abscisic acid/ABA*). Biakan tersebut dapat disimpan dalam waktu bulanan (Tabel 1).

Teknik kriopreservasi adalah teknik penyimpanan bahan tanaman dalam nitrogen (pada fase cair ataupun uap). Teknik ini yang prospektif untuk diterapkan di bank gen karena mampu menyimpan bahan tanaman dalam waktu yang tidak terbatas. Pada suhu super rendah di dalam nitrogen, proses metabolisme sel atau jaringan tanaman mendekati atau sama dengan nol. Teknik tersebut lebih rumit daripada teknik pertumbuhan minimal ka-

rena harus melalui beberapa tahapan, yaitu pratumbuh (*pregrowth*), prakultur (*preculture*), pemuatan (*loading*), dehidrasi (*dehydration*), pelelehan (*thawing*), penggantian muatan (*unloading* atau *deloading*), pemulihan (*recovery*), dan regenerasi (*regeneration*). Beberapa jenis tanaman yang telah dan sedang diteliti untuk disimpan secara kriopreservasi di BB Biogen adalah ubi kayu, ubi jalar, purwoceng, ubi kelapa, gembili, tebu, dan pisang.

Di antara hasil-hasil penelitian tersebut, teknik konservasi *in vitro* telah diterapkan secara rutin di

bank gen *in vitro*, antara lain untuk tanaman ubi jalar, ubi kayu, dan talas. Hasil-hasil penelitian penyimpanan *in vitro* lainnya berpotensi besar untuk diterapkan secara rutin di Bank Gen Badan Litbang Pertanian. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa BB Biogen siap mendukung terselenggaranya kegiatan konservasi secara rutin di bank gen.

BAHAN BACAAN

Dewi, N. 2012. Konservasi *in vitro* tanaman talas. *Warta Plasma Nutraf Indonesia* 24:5-7.

- Dewi, I.D., G. Jawak, I. Roostika, M. Sabda, B.S. Purwoko, dan W.H. Adil. 2010. Konservasi *in vitro* tanaman jeruk besar (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) kultivar Srinonya menggunakan osmotikum dan retardan. *Jurnal Agrobiogen* 6(2):84-90.
- Roostika, I. dan N. Sunarlim. 2001. Penyimpanan *in vitro* tunas ubi jalar dengan penggunaan paclobutrazol dan ancymidol. *Jurnal Penelitian Pertanian* 20(3):48-56.
- Roostika, I. dan I. Mariska. 2003. Pemanfaatan teknik kriopreservasi dalam penyimpanan plasma nutfah tanaman. *Buletin Plasma Nutfah* 9(2):10-18.
- Roostika, I., I. Mariska, dan N. Sunarlim. 2004. Penyimpanan ubi kayu (*Manihot utilissima*) secara kriopreservasi dengan teknik vitrifikasi. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 9(1):8-13.
- Roostika, I., N. Sunarlim, dan V.N. Arief. 2005. Penyimpanan kentang hitam (*Coleus tuberosus*) secara kultur *in vitro*. *Jurnal Penelitian Pertanian* 24(1):46-52.
- Roostika, I., S. Rahayu, dan N. Sunarlim. 2008. Kriopreservasi tanaman obat langka purwoceng dengan teknik enkapsulasi-vitrifikasi. *Buletin Plasma Nutfah* 14(2):49-56.
- Roostika, I., R. Purnamaningsih, dan I. Darwati. 2009. Penyimpanan *in vitro* tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) melalui aplikasi pengenceran media dan paklobutrazol. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 15(2):84-90.
- Roostika, I., I. Mariska, G.A. Wattimena, N. Sunarlim, dan M. Kosmiatin. 2004. Kriopreservasi ubi jalar (*Ipomea batatas* (L) Lam.) secara enkapsulasi-vitrifikasi. *Jurnal Penelitian Pertanian* 22(3):159-166.
- Roostika, I., R. Purnamaningsih, Y. Supriati, I. Mariska, N. Khumaida, dan G.A. Wattimena. 2012. Pembentukan benih sintetik tanaman nanas. *Jurnal Hortikultura* 22(4):316-326.
- Sunarlim, N. dan I. Roostika. 2003. Penggunaan zat penghambat tumbuh dan regulator osmotik manitol dalam penyimpanan ubi-ubian secara kultur jaringan. *Prosiding Seminar Teknologi Inovatif Agribisnis Kacang-kacangan dan Umbi-umbian untuk Mendukung Ketahanan Pangan*. Balitkabi. Malang.
- Sunarlim, N., I. Roostika, dan V.N. Arief. 2004. Penyimpanan *in vitro* gembili melalui pertumbuhan minimal. *Prosiding Seminar Kinerja Penelitian Mendukung Agribisnis Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Balitkabi. Malang.

Ika Roostika dan Nurwita Dewi

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi. Sesuai dengan Konvensi Rio de Janeiro tahun 1992, keanekaragaman genetik Indonesia bukan lagi menjadi kekayaan dunia melainkan kekayaan yang menjadi milik negara Indonesia. Oleh karena itu, pelestarian plasma nutfah seharusnya menjadi tanggung jawab negara. Mengingat pentingnya plasma nutfah tersebut, maka perlu dilakukan upaya konservasi yang diwujudkan melalui pembangunan bank gen.

Dewasa ini, konservasi secara *ex situ* di bank gen mendapatkan perhatian yang sangat serius dari FAO. Demikian pula, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Badan Litbang Pertanian) membuktikan keseriusannya untuk mendukung upaya konservasi plasma nutfah dengan membangun bank gen yang berlokasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen). Lebih dari satu dekade, BB Biogen telah memberikan dukungan atas terlaksana-

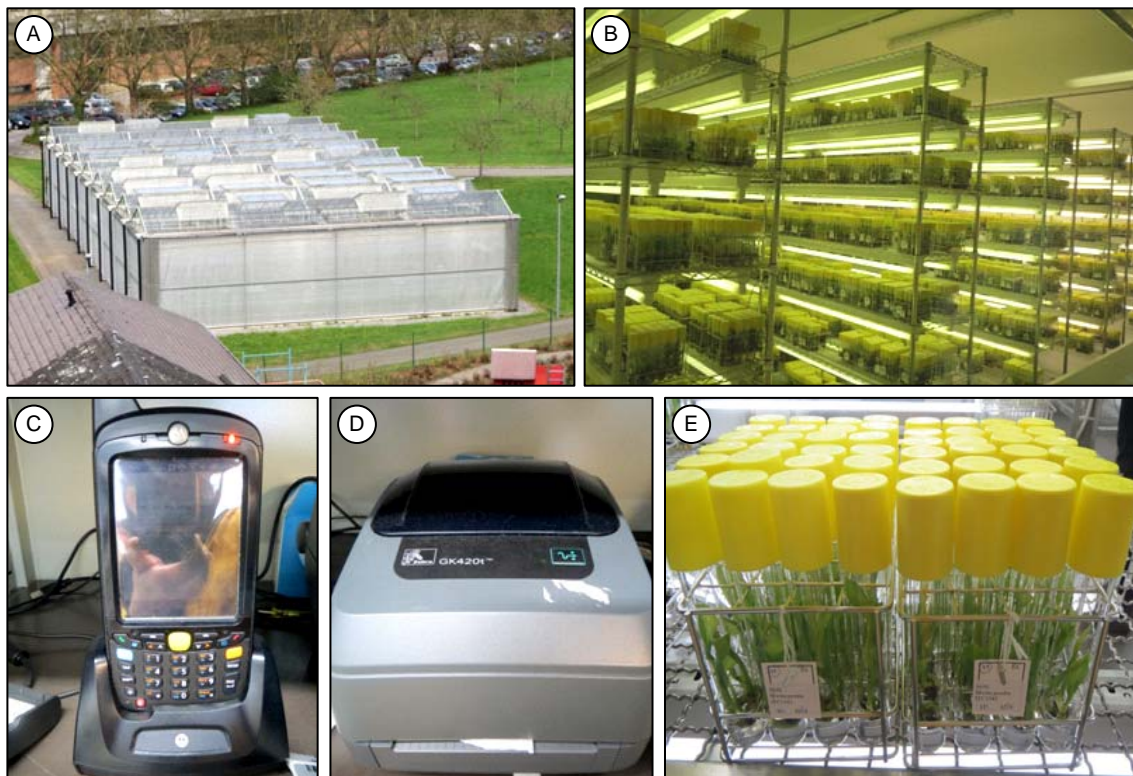
Bank Gen ITC-KUL Belgia adalah Model yang Ideal untuk Bank Gen *In Vitro* Milik Badan Litbang Pertanian

nya kegiatan penelitian yang bertopik konservasi. Kegiatan konservasi tersebut tidak hanya merupakan kegiatan penyimpanan benih dan tanaman di lapang, namun juga kegiatan penyimpanan secara *in vitro*. Hasil-hasil kegiatan tersebut tentu saja akan bermanfaat sebagai protokol standar yang akan diterapkan di bank gen.

Di mancanegara, beberapa negara telah melakukan konservasi secara rutin di bank gen, termasuk negara-negara maju yang memiliki tingkat biodiversitas yang rendah. *International Centre for Tropical Agriculture* (CIAT) di Kolombia, *Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung* (IPK) di Jerman, *International Potato Center* (CIP) di Peru, *National Institut of Agrobiological Science* (NIAS) di Jepang, dan *National Clonal Germplasm Repository* di Amerika Serikat telah rutin menyimpan ubi

kayu, kentang, dan tanaman buah-buahan di bank gen. Demikian pula dengan *International Transit Center* (ITC) yang dahulu dikenal sebagai INIBAP (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain*) di Belgia.

Bank gen ternyata tidak harus merupakan gedung yang megah dengan peralatan yang canggih dan mewah. ITC yang berlokasi di Katholieke Universiteit Leuven (KUL), Belgia merupakan contoh bank gen yang sederhana dan sesuai diterapkan di Indonesia karena peralatan yang tidak terlalu canggih. Pada bank gen tersebut, ruangan konservasi dibedakan atas rumah kaca, laboratorium, dan ruang penyimpanan secara pertumbuhan minimal dan kriopreservasi (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Ruang dan peralatan yang diperlukan pada konservasi secara pertumbuhan minimal. A = Rumah kaca untuk pengkoleksian materi dari daerah asal dan untuk pengujian pasca-penyimpanan, B = Ruang inkubasi, C dan D = Mesin *barcoding*, E = Biakan yang disimpan di dalam tabung dan diletakkan pada rak.



Gambar 2. Ruang dan peralatan yang diperlukan pada konservasi secara kriopreservasi. A = Ruang inkubasi yang terdiri atas tangki penyimpanan dengan kapasitas 150 l, B = Tangki reservoir, C = Tangki pengisian, D = Tangki penyimpanan, E = Cryo racks, F = Cryo box, dan G = Tangki transfer.

Laboratorium Kultur Jaringan di ITC terbagi atas 3 area, yaitu *dirty*, *intermediate*, dan *clean area*. *Dirty area* terdiri atas gudang penyimpanan bahan kimia (stok), tempat transit tanaman dari lapang ke laboratorium, tempat botol-botol kultur yang terkontaminasi, dan tempat pencucian alat gelas. *Intermediate area* terdiri atas ruang preparasi media, tempat sterilisasi media dengan otoklaf, tempat penyimpanan media yang siap tanam (suhu 5-7°C), tempat skrining tanaman dari kontaminasi mikroba (terutama bakteri), dan tempat konservasi DNA (sampel daun dalam refrigerator). *Clean area* terpisah dengan *intermediate area*, merupakan tempat penanaman *in vitro*, ruang inkubasi berbagai macam tanaman dengan berbagai macam tujuan (induksi, pemeliharaan, multiplikasi, dan ruang konservasi atau bank gen tanaman pisang dengan teknik pertumbuhan minimal).

Ruang konservasi pertumbuhan minimal berukuran tidak terlalu luas, hanya sekitar 40 m². Ruangan tersebut dikontrol suhu dan intensitas cahayanya (15-16°C dengan 12-16 jam terang) untuk menekan pertumbuhan biakan sehingga biakan pisang dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama (rata-rata 1 tahun). Di dalam ruang tersebut terdapat rak-rak inkubasi yang bertingkat empat dan pada setiap rak inkubasi diletakkan beberapa rak tabung reaksi yang berisi 24 botol biakan yang ditata rapi (Gambar 1E). Biakan yang siap untuk disubkultur akan diletakkan pada posisi agak maju untuk memudahkan pekerjaan. Selama 10 tahun, biakan akan disimpan dengan frekuensi subkultur sekitar 10 kali. Setelah 10 tahun penyimpanan maka biakan akan ditanam di rumah kaca untuk pengujian lebih lanjut untuk mengevaluasi ada tidaknya abnormalitas pasca-penyimpanan.

Ruang konservasi secara kriopreservasi terletak pada area lainnya di lantai dasar. Pada prinsipnya, terdapat 4 macam tangki nitrogen cair, yaitu tangki reservoir (630 l), tangki untuk pengisian (30-100 l), tangki penyimpanan (150 l), dan tangki untuk transfer material ke daerah lain (5 l). Tangki reservoir dan tangki penyimpanan diisi secara rutin setiap 1 minggu. Tangki reservoir akan mengalami kehilangan nitrogen cair sebanyak 50% oleh karena penguapan setiap 1 minggu. Tangki penyimpanan akan mengalami kehilangan nitrogen cair sebanyak 1 l/hari jika tutup selalu dalam keadaan tertutup, namun kehilangan akan semakin banyak ketika tutup sering dibuka. Untuk mengetahui banyaknya nitrogen cair yang tersisa maka di atas tangki diberikan alat indikator volume. Secara praktis, volume 1/3 tangki masih diperbolehkan, namun untukantisipasi kosongnya tangki maka dilakukan pengisian tangki secara rutin setiap 1 minggu. Untuk mengantisipasi kebocoran tangki maka selalu disediakan tangki cadangan sehingga materi yang rusak dapat segera dipindahkan ke tangki tersebut. Tangki penyimpanan dapat menyimpan bahan tanaman dalam jumlah 4.860 aksesori yang masing-masing aksesori terdiri atas 10 ulangan sehingga total materi yang tersimpan adalah 48.600 (6 *canister* x 10 rak x 81 sumur x 10 eksplan). Tangki transfer material dapat mempertahankan nitrogen cair hingga 5 hari. Tangki tersebut dimasukkan ke dalam box styrofoam.

Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa penyimpanan secara *in vitro* dapat menghemat area, tenaga, waktu, dan biaya. Selain itu, materi yang disimpan juga akan lebih mudah dipertukarkan antar negara. ITC telah berhasil mengirimkan sebagian materi biakan pisang ke Perancis untuk dijadikan sebagai *back-up* di sana. Langkah tersebut

dilakukan sebagai upaya antisipasi jika terjadi sesuatu hal yang tidak diinginkan pada bank gen milik ITC sehingga materi yang telah tersimpan akan tetap aman terpelihara dan tersedia.

Selain sarana dan prasarana, sumber daya manusia juga memegang peranan penting dalam menunjang keberhasilan pengelolaan bank gen. Secara praktis, teknik pertumbuhan minimal lebih sederhana dan lebih mudah daripada teknik kriopreservasi. Tingkat kerumitan dalam teknik kriopreservasi cukup tinggi dan menghendaki keterampilan khusus sehingga diperlukan pengalaman. Dalam hal ini, pelatihan-pelatihan (bagi peneliti dan teknisi) dan studi banding di dalam dan luar negeri diharapkan mampu meningkatkan keterampilan. Yang tidak kalah penting adalah manajemen bank gen yang baik. Oleh karena itu, diperlukan pengetahuan tentang manajemen bank gen.

BAHAN BACAAN

- Bart Panis (personal communication). May 1-10th 2013. KULeuven, Belgium.
- Bart Piette (personal communication). May 1-9th 2013. KULeuven, Belgium.
- Ines Van den houwe (personal communication). May 6th 2013. KULeuven.
- Panis, B. 2009. Cryopreservation of *Musa* Germplasm. 2nd Edition. Technical Guidelines No. 9. F. Engelmann and E. Bensen (eds.) Bioversity International. Montpellier, France.
- Van den houwe, I., B. Panis, E. Arnaud, R. Markham, and R. Swennen. 2004. The management of banana (*Musa* spp.) genetic resources at the IPGRI/INIBAP gene bank: The conservation and documentation status. p. 143-152. In H. Segers, P. Desmet, and E. Baus (eds.) Proceeding of the 3rd GBIF Science Symposium, Tropical Biodiversity: Science, Data, and Conservation. 18-19 April. Brussels.

Ika Roostika dan Nurwita Dewi