

# Pemuliaan Kentang Produk Rekayasa Genetik Tahan terhadap Penyakit Busuk Daun (*Phytophthora infestans*) dan Aman Pangan di Indonesia

## (Breeding of Genetically Engineered Potato Resistant to Late Blight Disease [*Phytophthora infestans*] and Food Safety in Indonesia)

A. Dinar Ambarwati<sup>1\*</sup>, Tri J. Santoso<sup>1</sup>, Edy Listanto<sup>1</sup>, Toto Hadiarto<sup>1</sup>, Eny I. Riyanti<sup>1</sup>, Kusmana<sup>2</sup>, Bambang Sugiharto<sup>3</sup>, Netty Ermawati<sup>4</sup>, dan Sukardiman<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; \*E-mail: dinarambarwati@yahoo.com

<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Jl. Tangkuban Perahu 517, Kotak Pos 8413, Lembang 40391 Indonesia

<sup>3</sup>Universitas Jember, Jl. Kalimantan No. 37, Tegal Boto, Jember 68121 Indonesia

<sup>4</sup>Politeknik Negeri Jember, Jl. Mastrip, Kotak Pos 164, Jember 68101 Indonesia

<sup>5</sup>Universitas Airlangga, Jl. Dharmawangsa Dalam, Surabaya 60286 Indonesia

Diajukan: 20 Januari 2017; Direvisi: 30 Maret 2017; Diterima: 16 Mei 2017

### ABSTRACT

Utilization of genetically engineered (GE) potato in plant breeding through crossing with Atlantic and Granola produced six candidates hybrid lines. Prior to commercialization, the GE potato should be assessed for food safety and environment safety. The purpose of this review is to provide information on GE potato plants in Indonesia, which are resistant to late blight *Phytophthora infestans* and had obtained food safety certificate. Stability analysis showed that *RB* gene is integrated in the plant genome of GE potato Katahdin SP951 and its hybrid lines, in four sequential generations ( $G_0$ ,  $G_1$ ,  $G_2$ , and  $G_3$ ) with single copy of the gene. Studies on compositions and nutrients, total glycoalkaloid and anti nutrients in the GE potato Katahdin SP951 and its hybrid lines showed that they were substantially equivalent to non-GE Katahdin. Toxicity studies showed that the administration of tuber suspension and starch suspension of the GE potato Katahdin SP951 and the hybrid lines on mice had no impact on the mice mortality, body weight, and clinical signs. *RB* protein content showed no significant sequence homology to any protein known as toxin, therefore, it can be stated that *RB* protein was not toxic. Allergenicity study of Simulated Gastric Fluid and Simulated Intestinal Fluid showed that the tuber protein of the GE potato Katahdin SP951 and the hybrid lines were degraded in less than 5 minutes after being treated with protein degrading enzymes, pepsin or trypsin. *RB* protein has no homologous amino acid sequence to any allergen protein, therefore, there was no potential to cause an allergy. The GE potato Katahdin SP951 has been stated safe to consume by the decree of the Head of the National Agency of Drug and Food Control in 2016. The GE potato resistant to *P. infestans* that can reduce 50% of fungicide spraying, and has food safety certificate and environment safety certificate are expected to be utilized for farmers.

**Keywords:** GE potato, late blight *P. infestans*, food safety.

### ABSTRAK

Pemanfaatan tanaman kentang produk rekayasa genetik (PRG) dalam pemuliaan tanaman melalui persilangan dengan Atlantic dan Granola telah menghasilkan enam galur PRG hasil silangan yang terseleksi. Sebelum komersialisasi, kentang PRG harus dikaji keamanan pangan dan lingkungannya. Penulisan bertujuan memberikan informasi mengenai tanaman kentang PRG di Indonesia yang tahan terhadap penyakit busuk daun *Phytophthora infestans* dan telah dinyatakan aman untuk dikonsumsi oleh manusia. Analisis stabilitas menunjukkan bahwa gen *RB* stabil terintegrasi selama empat generasi klonal berurutan dalam genom tanaman kentang PRG dengan satu sisipan gen. Hasil studi komposisi dan nutrisi, glikoalkaloid total, dan anti nutrisi pada kentang PRG Katahdin SP951 dan galur-galur silangannya bersifat sepadan dengan Katahdin non-PRG. Studi toksisitas menunjukkan bahwa pemberian pakan suspensi umbi kentang dan suspensi tepung kentang Katahdin SP951 dan galur-galur silangan tidak berdampak terhadap mortalitas, bobot badan, dan tanda-tanda klinis pada mencit. Protein *RB* tidak memiliki homologi yang tinggi dengan protein toksin sehingga tidak bersifat toksik. Studi alergenitas dengan *Simulated Gastric Fluid* dan *Simulated Intestinal Fluid* menunjukkan bahwa protein umbi kentang Katahdin SP951 dan galur-galur silangan terdegradasi kurang dari 5 menit inkubasi setelah perlakuan enzim pepsin atau tripsin. Protein *RB* tidak mempunyai sekuen asam amino yang homolog dengan protein alergen, sehingga tidak berpotensi menimbulkan alergi. Kentang Katahdin SP951 telah dinyatakan aman untuk dikonsumsi melalui Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan tahun 2016. Tanaman kentang PRG tahan *P. infestans* yang dapat mengurangi 50% aplikasi fungisida, dan telah mendapat sertifikat aman pangan dan aman lingkungan diharapkan dapat menjadi pilihan untuk dimanfaatkan petani.

**Kata kunci:** Kentang PRG, busuk daun *P. infestans*, keamanan pangan.

## PENDAHULUAN

Penyakit busuk daun yang disebabkan oleh *Phytophthora infestans* menyebabkan kerugian mulai 47% hingga 100% gagal panen terutama pada musim hujan dengan kelembapan yang tinggi (Kusmana 2003; Ojiambo et al. 2000). Perakitan tanaman kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit busuk daun *P. infestans* dilakukan dengan menyisipkan gen *RB* yang diisolasi dari tanaman kentang liar *Solanum bulbocastanum* dan menghasilkan kentang PRG varietas Katahdin *event* SP951 (Song et al. 2003). Uji efikasi di lapangan uji terbatas (LUT) menunjukkan bahwa Katahdin SP951 bersifat *broad spectrum* terhadap ras-ras *P. infestans* di Amerika Serikat (AS) dan di Meksiko (Bradeen et al. 2009; Kuhl et al. 2007; Lozoya et al. 2005; Song et al. 2003; Staples 2004).

Di Indonesia, Katahdin SP951 telah digunakan sebagai tetua tahan dalam persilangan dengan varietas rentan Atlantic dan Granola dan galur-galur silangannya telah diuji secara molekuler mengandung gen *RB* (Ambarwati et al. 2009). Galur-galur silangan telah dievaluasi ketahanannya terhadap *P. infestans* dan menghasilkan dua belas galur kentang tahan, tanpa penyemprotan fungisida di LUT Pasir Sarongge (Jawa Barat, tahun 2008) (Ambarwati et al. 2011b), di LUT Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa), Lembang (Jawa Barat, tahun 2009–2010) (Ambarwati et al. 2012), di LUT Pangalengan Jawa Barat (tahun 2010–2011) dan LUT Banjarnegara, Jawa Tengah (tahun 2012).

Evaluasi ketahanan terhadap *P. infestans* dan karakter hortikultura pada dua belas galur kentang hasil persilangan di empat lokasi LUT, yaitu di Lembang, Pangalengan, Banjarnegara, dan Garut pada tahun 2012 menghasilkan enam galur kentang terseleksi, yaitu dua galur silangan Atlantic × Katahdin SP951 dan empat galur hasil silangan Granola × Katahdin SP951. Uji adaptasi pada tahun 2013–2014 di LUT Pangalengan, Garut, dan Banjarnegara menunjukkan bahwa galur-galur silangan mempunyai potensi hasil yang lebih tinggi dibanding dengan kentang Granola non-PRG dan Atlantic pada perlakuan tanpa penyemprotan fungisida. Galur-galur kentang PRG silangan menghasilkan 11–16,6 t/ha atau rata-rata 12,9 t/ha, sedangkan Atlantic dan Granola masing-masing menghasilkan 3,5 t/ha dan 5,4 t/ha.

Sebelum dapat dilepas/diedarkan tanaman PRG harus mendapat ketetapan aman lingkungan, aman pangan, dan/atau aman pakan (Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005). Seperangkat peraturan yang berkaitan dengan organisme PRG telah dibuat. Keputusan Bersama Empat Menteri tahun 1999 tentang Keamanan Hayati dan Keamanan Pangan Produk Pertanian Hasil Rekayasa Genetik telah di-

tingkatkan menjadi Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik. Untuk mengimplementasikan peraturan-peraturan tersebut, telah dibentuk Komisi Keamanan Hayati (KKH) berdasarkan Peraturan Presiden No. 39, yang tugasnya mengkaji keamanan hayati tanaman PRG. Dalam melaksanakan tugasnya, KKH dibantu oleh Tim Teknis Keamanan Hayati (TTKH) yang dibentuk melalui Keputusan Ketua KKH No. 1 Tahun 2011 (Herman 2013). Selain itu Indonesia juga meratifikasi Protokol Cartagena tentang Keamanan Hayati melalui UU No. 21 Tahun 2004 tentang Pengesahan *Cartagena Protocol on Biosafety*.

Tujuan penulisan adalah memberikan informasi mengenai tanaman kentang PRG yang tahan terhadap penyakit busuk daun *P. infestans* dan telah aman pangan di Indonesia. Dalam tinjauan ini akan dibahas beberapa hal mulai dari perakitan kentang PRG Katahdin SP951, pemanfaatannya dalam pemuliaan kentang tahan penyakit busuk daun *P. infestans*, dan studi keamanan pangan kentang PRG yang meliputi kesepadanan fenotipik, analisis komposisi dan nutrisi, uji toksisitas, dan uji alergenitas kentang PRG.

## PERAKITAN KENTANG PRG KATAHDIN SP951

Katahdin adalah varietas kentang komersial yang berasal dari AS, yang telah dimanfaatkan sejak tahun 1932 (Douches et al. 1996). Perakitan tanaman kentang PRG Katahdin *event* SP951 dilakukan oleh peneliti di Universitas Wisconsin, AS dengan menyisipkan gen *RB* melalui teknik transformasi *Agrobacterium tumefaciens*. Vektor yang digunakan dalam proses transformasi adalah plasmid pCLD04541. Komponen DNA sisipan mengandung gen *RB*, gen *nptII*, promotor dan terminator (Song et al. 2003). Gen *RB* berasal dari kerabat liar kentang *S. bulbocastanum*. Promotor yang digunakan adalah promotor alami (*endogenous*) gen *RB* yang langsung diisolasi dari *S. bulbocastanum*. Demikian pula terminator yang digunakan berasal dari *S. bulbocastanum*. Promotor gen *nptII* adalah P35S yang berasal dari *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), sedangkan terminasinya adalah *Ocs 3'* yang berasal dari gen *octopine synthase* yang diambil dari *A. tumefaciens*.

Sebagai bagian dari informasi genetik, karakterisasi molekuler telah dilakukan pada Katahdin SP951 meliputi analisis sekuensing gen *RB*, analisis stabilitas gen *RB*, dan analisis jumlah kopi sisipan gen *RB* (Hadiarto et al. 2015; Listanto et al. 2015). Setelah dibandingkan, urutan DNA gen *RB* dalam Katahdin SP951 hasil sekuensing identik dengan urutan DNA gen *RB* dari plasmid pCLD04541. Gen *RB* yang terintegrasi ke dalam genom tanaman kentang PRG

akan menghasilkan protein RB yang secara alami terdapat dalam kentang *S. bulbocastanum* dan memiliki fungsi ketahanan yang sama terhadap *P. infestans*. Analisis stabilitas gen *RB* dengan PCR menunjukkan bahwa gen *RB* masih terintegrasi selama empat generasi klonal ( $G_0$ ,  $G_1$ ,  $G_2$ , dan  $G_3$ ) dalam genom kentang PRG yang ditunjukkan dengan adanya hasil amplifikasi fragmen ujung N berukuran 619 pb (Listanto et al. 2015). Sementara, analisis *southern blot* untuk menentukan jumlah kopi sisipan gen *RB* menunjukkan adanya satu kopi sisipan berdasarkan pelacak gen *nptII*. Kestabilan integrasi gen *RB* dengan satu kopi sisipan pada tanaman kentang PRG selama empat generasi klonal menyebabkan kestabilan ketahanan tanaman kentang PRG terhadap *P. infestans* di LUT.

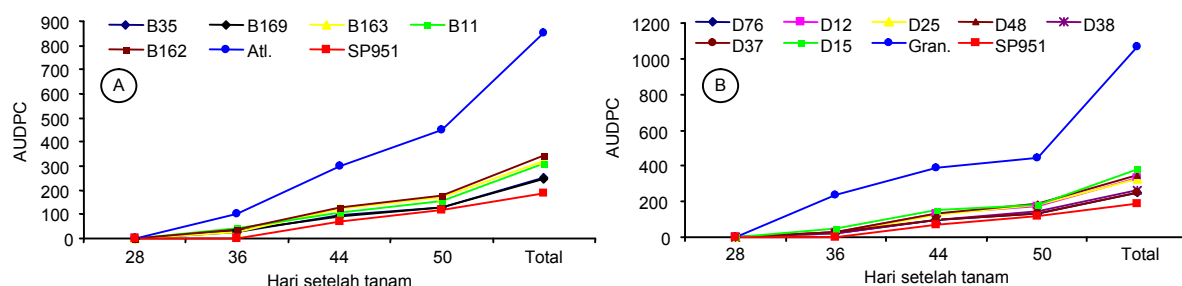
#### PEMANFAATAN KENTANG PRG KATAHDIN SP951 DALAM PEMULIAAN KENTANG TAHAN PENYAKIT BUSUK DAUN *P. infestans*

Kentang PRG Katahdin SP951 yang mengandung gen *RB* telah diuji efikasinya terhadap busuk daun *P. infestans* di Minnesota dan Wisconsin (AS), serta Toluca (Meksiko) yang menunjukkan ketahanan *broad spectrum* terhadap isolat-isolat *P. infestans* (Bradeen et al. 2009; Kuhl et al. 2007; Lozoya et al. 2005; Song et al. 2003; Staples, 2004). Katahdin SP951 juga menunjukkan ketahanan terhadap *P. infestans* di LUT Balitsa (Herman 2013) dan di dalam *mist chamber* menggunakan isolat *P. infestans* asal Jawa Barat, yaitu Pasir Sarongge, Pangalengan, dan Galunggung (Ambarwati et al. 2011b).

Dalam pemuliaan kentang di Indonesia, Katahdin SP951 digunakan sebagai sumber ketahanan dalam merakit kentang yang tahan terhadap *P. infestans*. Pendekatan yang dilakukan adalah dengan persilangan antara Katahdin SP951 dan varietas Atlantic atau Granola. Atlantic dan Granola adalah varietas unggul yang banyak ditanam di Indonesia tetapi rentan terhadap *P. infestans*. Galur-galur silangan, yaitu Atlantic  $\times$  Katahdin SP951 dan Granola  $\times$  Katahdin SP951 telah dievaluasi secara molekuler mengandung gen *RB* (Ambarwati et al. 2009).

Evaluasi ketahanan kentang PRG tersebut telah menghasilkan dua belas galur yang tahan terhadap *P. infestans* tanpa perlakuan penyemprotan fungisida di empat LUT, yaitu LUT Pasir Sarongge (tahun 2008), LUT Balitsa (tahun 2009–2010), LUT Pangalengan (tahun 2010–2011), dan LUT Banjarnegara (tahun 2012). Galur-galur tersebut menunjukkan lebih tahan dan berbeda nyata dibanding dengan tetua non-PRG nya Atlantic dan Granola (Ambarwati et al. 2011a, 2012). Rata-rata skor ketahanan galur-galur kentang PRG di keempat LUT tersebut berkisar antara 7,65–8,23 berbeda nyata dibanding dengan non-PRG Atlantic (3,6), Granola (3,45), dan Katahdin (4,30), serta tidak berbeda nyata dengan Katahdin SP951 (8,33) pada 45–50 hari setelah tanam (HST) atau 14–18 hari setelah terjadi infeksi *P. infestans* (Ambarwati et al. 2015). Pada Gambar 1 ditampilkan contoh ketahanan galur-galur silangan terhadap *P. infestans* berdasarkan nilai *area under the diseases progress curve* (AUDPC) di LUT Pangalengan, 2010–2011). Total AUDPC galur-galur silangan Atlantic non-PRG dengan Katahdin SP951 menunjukkan nilai 247,3–343,5 yang lebih kecil dibanding dengan tetuanya Atlantic (850,65) (Gambar 1A). Galur-galur silangan terlihat lebih tahan terhadap *P. infestans* dibanding dengan Atlantic. Galur-galur silangan Granola  $\times$  Katahdin SP951 juga mempunyai nilai AUDPC yang lebih kecil (248,12–379,02) dibanding dengan tetua Granola (1066,86), yang menunjukkan bahwa galur-galur tersebut lebih tahan daripada Granola (Gambar 1B).

Dua belas galur kentang PRG tersebut telah diseleksi berdasarkan karakter hortikultura dan ketahanannya terhadap *P. infestans* di LUT tahun 2012, yaitu di Lembang, Pangalengan, Banjarnegara dan Garut yang menghasilkan enam galur terpilih. Galur-galur tersebut adalah dua galur silangan Atlantic  $\times$  Katahdin SP951 dan empat galur silangan Granola  $\times$  Katahdin SP951. Galur-galur kentang PRG yang terseleksi menunjukkan ketahanan terhadap *P. infestans* sampai 45–50 HST, sehingga penyemprotan fungisida masih perlu dilakukan sebanyak sepuluh kali sampai umur tanaman siap panen, (90–95 HST).



**Gambar 1.** Area under the diseases progress curve (AUDPC) galur-galur silangan di LUT Pangalengan (2010–2011) (Ambarwati et al. 2013). A = Atlantic  $\times$  Katahdin SP951, B = Granola  $\times$  Katahdin SP951.

## STUDI KEAMANAN PANGAN KENTANG PRG

### Kesepadanan Fenotipik

Dalam hal karakter fenotipik, Katahdin SP951 sepadan dengan Katahdin non-PRG. Hasil kajian di rumah kaca menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata dalam tinggi tanaman, panjang dan lebar daun terminal antara tanaman Katahdin SP951 dan Katahdin non-PRG. Karakter bentuk dan warna batang, daun, bunga, dan kulit umbi serta daging umbi menunjukkan kesepadanan antara tanaman Katahdin SP951 dan Katahdin non-PRG. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman kentang Katahdin SP951 sepadan dengan Katahdin non-PRG (Ambarwati 2010). Pada Gambar 2 ditampilkan contoh fenotipik umbi pada galur-galur silangan dan tetuanya.

Hal yang membedakan adalah sifat ketahanan terhadap penyakit busuk daun *P. infestans*. Menurut Corner (1994) dan Schauzu (2000) perakitan tanaman PRG dilakukan dengan memindahkan suatu gen donor ke varietas tanaman yang telah dibudidayakan, sehingga secara substansial sepadan atau tidak berbeda dengan tanaman non-PRG nya, kecuali untuk suatu sifat yang ditambahkan. Ada tiga kemungkinan yang dapat terjadi dalam menganalisis kesepadanan substansial tanaman ataupun pangan PRG, yaitu secara substansial semuanya sepadan atau ekuivalen, atau secara substansial semuanya sepadan kecuali untuk sifat yang diintroduksi, atau semua tidak sepadan (Kuiper et al. 2001). Tinggi tanaman dan jumlah batang kentang Katahdin SP951 dan kentang silangan antara Katahdin SP951 dengan kentang non-PRG varietas Granola atau Atlantic tidak berbeda nyata dengan kentang non-PRG Granola dan Atlantic berdasarkan hasil uji di LUT. Tinggi tanaman pada umur 21 HST untuk Katahdin SP951 adalah 33,65 cm dan silangannya berkisar antara 30,97–37,12 cm, tidak berbeda nyata dengan Atlantic (31,37 cm) dan Granola (37,38 cm). Jumlah batang per tanaman Katahdin SP951 adalah 9,37 dan silangannya 8,63–10,19, tidak berbeda nyata dibanding dengan Atlantic (9,22) dan Granola (9,23).

### Analisis Komposisi dan Nutrisi

Analisis komposisi dan nutrisi dilakukan pada sampel umbi Katahdin SP951, enam galur kentang

PRG silangan, dan non-PRG Atlantic, Granola, dan Katahdin. Parameter yang dianalisis sesuai dengan yang ada di dalam dokumen konsensus *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD 2002) meliputi (i) nutrisi utama (bahan kering, protein, lemak, serat makanan, serat kasar, mineral, dan gula), (ii) asam amino (alanin, arginin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glisin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, penilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirosin, dan valin), (iii) vitamin (asam askorbat dan asam dehidroaskorbat yang merupakan komponen utama vitamin C), dan glikoalkaloid total ( $\alpha$ -chaconine dan  $\alpha$ -solanine), dan (iv) anti-nutrisi (*trypsin inhibitor* dan lektin). Data komposisi dan nutrisi setiap sampel umbi kentang dianalisis dan dibandingkan dengan nilai yang ada di dalam dokumen konsensus OECD (2002). Kandungan nutrisi utama, asam amino, dan vitamin pada umbi Katahdin SP951 dan galur-galur silangan sepadan dengan Katahdin non-PRG, Atlantic, dan Granola (Santoso et al. 2014a). Demikian juga halnya dengan komponen anti-nutrisi dan glikoalkaloid total (Santoso et al. 2014a).

Analisis kandungan protein menunjukkan tidak terdapat beda nyata antara umbi Katahdin SP951 (2,17%) dan Katahdin non-PRG (2,16%), galur-galur silangan (2,00–2,21%), Atlantic (2,16%), serta Granola (1,89%). Persentase kandungan protein tersebut masih dalam kisaran OECD (2002), yaitu 0,69–4,63%. Kandungan pati pada umbi Katahdin SP951 sebesar 13,51%, galur-galur silangan berkisar antara 14,24–15,87%, Katahdin non-PRG 13,50%, Atlantic 13,94%, dan Granola 14,46%, sedangkan nilai kisaran menurut OECD (2002) adalah 8,0–29,4%. Kandungan delapan belas asam amino pada umbi kentang tidak menunjukkan beda nyata antara Katahdin SP951, galur-galur silangan, dan non-PRG Katahdin, Atlantic, dan Granola yang berada dalam kisaran nilai OECD (2002). Kandungan asam askorbat tidak menunjukkan beda nyata antara umbi Katahdin SP951 (163,96 ppm) terhadap Katahdin non-PRG (200,90 ppm), juga galur-galur silangannya (146,16–186,51 ppm) (Santoso et al. 2014a).

Kandungan anti nutrisi *trypsin inhibitor* pada umbi Katahdin SP951 adalah 12,43 TIU<sup>2</sup>/mg, Katahdin non-PRG 10,69 TIU<sup>2</sup>/mg, dan galur-galur silangan 8,50–13,93 TIU<sup>2</sup>/mg. Kandungan lektin pada umbi



**Gambar 2.** Fenotipik bentuk dan warna umbi kentang tetua dan PRG silangannya (Herman et al. 2013). A = Atlantic non-PRG, galur silangan Atlantic × Katahdin SP951, dan Katahdin SP951, B = Katahdin SP951, Granola non-PRG, dan galur silangan Granola × Katahdin SP951.

Katahdin SP951 adalah 1,50 HU<sup>3</sup>/mg, Katahdin non-PRG 1,42 HU<sup>3</sup>/mg, sedangkan pada galur-galur silangan 0,57–1,55 HU<sup>3</sup>/mg. Kandungan anti nutrisi tersebut berada dalam kisaran nilai interval toleransi referensi. Demikian juga halnya dengan kandungan total glikoalkaloid. Dengan demikian dapat diartikan bahwa tanaman PRG yang mengandung gen *RB* tidak berubah dalam hal nilai gizi pangan (Santoso et al. 2014a).

### Uji Toksisitas Kentang PRG

Uji toksisitas kentang PRG Katahdin SP951 dilakukan melalui dua kegiatan, yaitu studi bioinformatik protein RB melalui homologi dengan protein toksin dan uji toksisitas oral akut.

Kajian bioinformatik yang dilakukan meliputi: (i) translasi urutan DNA gen *RB* menjadi urutan asam amino, (ii) pengacakan urutan asam amino protein RB, (iii) penentuan *e-value threshold* untuk pencarian homologi protein RB, (iv) pencarian homologi protein RB, dan (v) pencarian dan penentuan protein yang bersifat toksik dari hasil *BLASTP Alignment* protein RB. Berdasarkan kajian bioinformatik, protein RB memiliki homologi pada *e-value* kurang dari 0,22 dan protein RB tidak memiliki homologi yang tinggi dengan protein toksik yang ada pada *Entrez Protein Database* pada National Center for Biotechnology Information (NCBI), sehingga dapat disimpulkan bahwa protein RB tidak memiliki sifat toksik (Hadiarto et al. 2015).

Uji toksisitas oral akut mengacu pada prosedur Loomis dan Hayes (1996) dan Ghosh (1971) yang menggunakan sampel umbi yang berasal dari Katahdin SP951, galur-galur silangan kentang PRG dan non-PRG Atlantic, Granola, dan Katahdin. Hasil uji toksisitas oral akut menunjukkan bahwa pemberian pakan suspensi umbi dan suspensi tepung dari kentang Katahdin SP951 dan kontrol Katahdin non-PRG serta galur-galur silangan pada semua dosis perlakuan (0, 1,25, 2,5, 5, 10, 21 g/kg bobot badan) hingga 14 hari tidak berdampak terhadap hewan uji mencit, yang ditunjukkan dengan tidak adanya kematian. Bobot badan mencit yang diberi pakan suspensi umbi maupun suspensi tepung dari tanaman kentang PRG maupun non-PRG tidak menunjukkan beda nyata. Pada perlakuan dosis tertinggi (21 g/kg bobot badan), mencit yang diberi pakan suspensi umbi Katahdin SP951 menunjukkan bobot badan 28,8 g dan tidak berbeda nyata dengan Katahdin non-PRG (28,8 g) dan galur-galur silangan (28,8 g). Demikian juga, dengan bobot badan mencit yang diberi pakan suspensi tepung Katahdin SP951 (28,4 g), tidak berbeda dengan Katahdin non-PRG (28,2 g) dan galur-galur silangan (28,5 g) (Santoso et al. 2014b). Tanda-

tanda klinis, meliputi rambut berdiri, mata merah dan berair, hidung berdarah, tubuh yang gemetar, tubuh lemas, susah bernafas, dan diare tidak terdeteksi pada hewan uji mencit yang diberi pakan suspensi kentang dan suspensi tepung dari umbi kentang PRG pada semua perlakuan setelah 14 hari pengujian. Pemberian pakan suspensi umbi dan suspensi tepung Katahdin SP951 dan galur-galur silangan tidak berdampak terhadap bobot badan, mortalitas, dan tanda-tanda klinis pada mencit (Santoso et al. 2014b).

### Uji Alergenisitas Kentang PRG

Uji alergenisitas kentang PRG Katahdin SP951 dilakukan melalui dua kegiatan, yaitu studi bioinformatik protein RB pada Katahdin SP951 dan stabilitas cerna protein umbi kentang PRG melalui analisis *Simulated Gastric Fluid* (SGF) dan *Simulated Intestinal Fluid* (SIF).

Analisis bioinformatik potensi alergenisitas protein RB dilakukan dengan menggunakan program *FASTA* dan *BLASTP Alignment* dan data sekuen protein pembandingan yang tersedia pada basis data *AllergenOnline* dan NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) serta melalui basis data *The Food Allergy Research and Resource Program* (FARRP) versi 14 Januari 2014 (<http://www.allergenonline.org>). Pencarian *BLAST* dipakai untuk membandingkan sekuen protein RB dengan sekuen secara menyeluruh pada dua basis data protein yang ada di NCBI, yaitu *Allergen Database for Food Safety* (ADFS) dan *Universal Protein Resource* (UniProt) (Sugiharto dan Ermawati 2014).

Melalui *Full-FASTA Searching* dihasilkan skoring 20,5–22,7% atau di bawah 50% kesamaan yang menunjukkan tidak adanya kesamaan yang signifikan antara protein RB dan protein alergen yang ada pada basis data *AllergenOnline*, sehingga dapat dinyatakan tidak berpotensi sebagai alergen. Analisis lebih lanjut menggunakan metode *sliding 80 mer window* (CAC 2003) menunjukkan bahwa sekuen asam amino protein RB tidak ada yang identik dengan alergen. Hal ini mengindikasikan bahwa protein RB tidak berpotensi menyebabkan terjadinya *cross-reaction* yang dapat menimbulkan alergi. Analisis *BLAST* baik menggunakan basis data *UniProt* maupun *ADFS* menunjukkan bahwa protein RB tidak mempunyai sekuen asam amino homolog dengan protein alergen atau tidak ditemukan adanya kemiripan *full-length* protein RB dengan protein alergen. Analisis *scanning* enam atau delapan asam amino homolog (Goodman dan Wise 2006) pada basis data *AllergenOnline* tidak menemukan adanya segmen delapan asam amino yang secara berurutan cocok dengan suatu segmen asam amino protein alergen. Hasil analisis bioinformatik ini

menunjukkan bahwa protein RB Katahdin SP951 bukan merupakan protein alergen dan bukan protein yang dapat menyebabkan *cross-reaction* yang dapat menginduksi terjadinya alergi (Sugiharto dan Ermawati 2014).

Uji alergenitas SIF dan SGF menggunakan protein total umbi Katahdin SP951, galur-galur kentang PRG silangan, dan non-PRG Atlantic, Granola, dan Katahdin. Hasil analisis SGF dan SIF menunjukkan bahwa protein umbi Katahdin SP951 dan galur-galur silangan terdegradasi kurang dari 5 menit inkubasi setelah diberi perlakuan enzim pendegradasi protein, yaitu pepsin atau tripsin. Analisis tersebut dianggap dapat merepresentasikan kejadian yang ada pada kondisi sistem pencernaan manusia (Pharmacopeia 2000). Protein umbi kentang PRG akan terdegradasi pada saluran pencernaan, terutama di lambung atau di dalam jaringan intraseluler, sehingga protein tersebut akan aman apabila dikonsumsi. Protein yang diekstrak dari umbi kentang PRG tidak berpotensi sebagai alergen. Pernyataan ini juga didukung dengan hasil analisis bioinformatika yang menunjukkan bahwa protein RB pada umbi kentang PRG tidak mempunyai potensi sebagai allergen (Sugiharto dan Ermawati 2014).

### PROSPEK DAN TANTANGAN

Kentang telah dibudidayakan di Indonesia sejak awal abad ke-19 di wilayah dataran tinggi. Selama ini pemanfaatan kentang oleh penduduk Indonesia masih diutamakan sebagai bahan sayuran dan pangan, dan belum menjadi pangan pokok. Namun demikian, terdapat kecenderungan konsumsi kentang yang terus meningkat terutama dalam bentuk kentang olahan seperti kentang goreng (*french fries*) dan keripik (*chip*). Pengadaan benih varietas yang cocok digunakan sebagai kentang olahan, Atlantic misalnya, masih bergantung pada impor.

Sampai saat ini varietas Granola masih mendominasi produksi kentang di Indonesia, mencapai areal tanam lebih dari 80%, tersebar di daerah per-tanaman kentang di dataran tinggi di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Sumatra Utara, Jambi, Bengkulu, Sumatra Barat, Nusa Tenggara Barat, Bali, Sulawesi Selatan, dan Sulawesi Utara (Simatupang et al. 1996). Kentang varietas Atlantic banyak diminati karena memiliki mutu olahan yang tinggi (Basuki et al. 2005). Namun demikian, Granola dan Atlantic mempunyai sifat rentan terhadap penyakit busuk daun *P. infestans*.

Dalam budi daya tanaman kentang, petani biasanya melakukan penyemprotan fungisida 20 hingga 30 kali dalam satu siklus tanam untuk mengatasi serangan penyakit busuk daun. Hal ini meng-

akibatkan petani harus mengeluarkan biaya yang cukup tinggi untuk pembelian fungisida, yang setara dengan pengeluaran untuk pembelian bibit (Adiyoga dan Ameriana 2000). Galur-galur kentang PRG yang berasal dari persilangan antara Katahdin SP951 dan Granola atau Atlantic mempunyai ketahanan terhadap *P. infestans* yang dapat mengurangi 50% aplikasi penyemprotan fungisida. Galur-galur tersebut rata-rata menghasilkan umbi 21–22 t/ha tidak berbeda nyata dengan perlakuan penyemprotan fungisida secara penuh, yaitu 20 kali. Pemanfaatan kentang PRG tahan penyakit busuk daun dapat mengurangi input produksi dan pencemaran lingkungan akibat bahan kimia berbahaya. Tanaman kentang PRG diharapkan dapat menjadi pilihan bagi petani dalam memanfaatkan sumber plasma nutfah kentang yang tahan terhadap *P. infestans*.

Kentang PRG Katahdin SP951 telah mendapatkan izin peredaran pangan dari Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan melalui Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.04.01.1.52.12.16.4300 Tahun 2016. Dalam keputusan tersebut dinyatakan bahwa pangan dalam bentuk komoditas kentang PRG Katahdin SP951 dinyatakan aman untuk dikonsumsi. Namun demikian, agar dapat dilepas/diedarkan, tanaman PRG harus mendapat ketetapan aman hayati yang meliputi aman lingkungan, aman pangan, dan/atau aman pakan (Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005). Kentang PRG telah mendapat sertifikat aman pangan, namun belum memperoleh aman lingkungan. Studi keamanan lingkungan kentang PRG telah dilakukan, dan pada tahun 2017 dokumen Analisis Risiko Lingkungan sedang dalam tahap pengkajian oleh TTKH Bidang Keamanan Lingkungan, dan diharapkan kentang PRG segera memperoleh ketetapan aman lingkungan. Setelah tanaman PRG ditetapkan aman pangan dan aman lingkungan, tahap selanjutnya adalah melakukan pendaftaran varietas sesuai dengan peraturan pendaftaran varietas hortikultura untuk tujuan peredaran (Peraturan Menteri Pertanian Nomor 38/Permentan/OT.140/7/2011).

Setelah memperoleh aman pangan dan aman lingkungan serta telah didaftarkan, kentang PRG dapat diedarkan dan dimanfaatkan terutama oleh petani kentang. Kentang memiliki potensi dan prospek yang menjanjikan dalam mendukung diversifikasi pangan dan menjadi komoditas pangan prioritas non-beras. Peluang pasar untuk bahan baku kentang olahan pun masih terbuka luas.

### KESIMPULAN

Perakitan kentang PRG tahan *P. infestans* melalui persilangan antara kentang PRG Katahdin SP951

dan varietas Atlantic atau Granola telah menghasilkan galur-galur tahan terseleksi berdasarkan analisis molekuler dan karakter hortikultura di LUT. Informasi genetik menunjukkan bahwa gen *RB* stabil terintegrasi dalam genom tanaman kentang PRG selama empat generasi klonal dengan satu kopi sisipan gen. Kentang PRG menunjukkan kesepadanan dalam karakter fenotipik terhadap Katahdin non-PRG, kecuali untuk sifat ketahanan terhadap *P. infestans*. Hasil analisis komposisi dan nutrisi, glikoalkaloid total, dan anti nutrisi pada Katahdin SP951 dan galur-galur silangan sepadan dengan non-PRG. Hasil studi toksisitas umbi Katahdin SP951 dan galur-galur silangan menunjukkan tidak ada efek toksik, yaitu tidak ada mortalitas, tidak ada perubahan bobot badan dan tanda-tanda klinis pada mencit. Hasil ini didukung dengan analisis bioinformatik yang menunjukkan bahwa protein RB tidak memiliki homologi yang tinggi dengan protein toksin. Hasil studi alergenisitas protein umbi Katahdin SP951 dan galur-galur silangan tidak menunjukkan adanya stabilitas cerna protein umbi. Hasil tersebut didukung dengan analisis bioinformatik yang menunjukkan bahwa protein RB tidak mempunyai sekuen asam amino yang homolog dengan protein alergen, sehingga dapat dinyatakan tidak berpotensi menimbulkan alergi.

Kentang PRG Katahdin SP951 telah mendapatkan sertifikat aman pangan melalui Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan tahun 2016. Namun, sebelum dapat didaftarkan, kentang PRG Katahdin SP951 harus mendapatkan sertifikat aman lingkungan. Tanaman kentang PRG tahan *P. infestans* yang dapat mengurangi 50% aplikasi fungisida, bersertifikat aman pangan dan aman lingkungan serta telah terdaftar diharapkan menjadi pilihan petani.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adiyoga, W. & Ameriana, M. (2000) Sistem pengetahuan lokal pengendalian hama penyakit kentang di Pangalengan. *Jurnal Hortikultura*, 10 (3), 226–240.
- Ambarwati, A.D., Purwito, A., Herman, M., Sumaraw, S.M. & Aswidinnoor, H. (2009) Analisis integrasi dan segregasi gen ketahanan terhadap hawar daun pada progeni F1 hasil persilangan tanaman kentang transgenik dengan non transgenik. *Jurnal AgroBiogen*, 5, (1), 25–31.
- Ambarwati, A.D. (2010) Pemanfaatan gen *RB* dalam pengembangan tanaman kentang tahan penyakit hawar daun *Phytophthora infestans*. *Disertasi S3*, Institut Pertanian Bogor.
- Ambarwati, A.D., Herman, M., Purwito, A., Sofiari, E. & Aswidinnoor, H. (2011a) Kajian pendahuluan: Perpindahan gen dari tanaman kentang transgenik katahdin *RB* ke tanaman kentang non transgenik. *Jurnal Biologi Indonesia*, 7 (2), 277–287.
- Ambarwati, A.D., Herman, M., Purwito, A., Sumaraw, S.M. & Aswidinnoor, H. (2011b) 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. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 12 (1), 33–39.
- Ambarwati, A.D., Herman, M., Listanto, E., Suryaningsih, E. & Sofiari, E. (2012) Pengujian ketahanan klon-klon hasil silangan tanaman kentang transgenik dengan nontransgenik terhadap penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* di Lapangan Uji Terbatas. *Jurnal Hortikultura*, 22 (2), 187–196.
- Ambarwati, A.D., Suryaningsih, E., Kusmana, Listanto, E., Utami, D.W., Herman, M., Wijayanti, S., Suwarsih, D., Yanti & Zaenudin, U. (2013) *Evaluasi ketahanan galur-galur hasil silangan kentang Atlantic atau Granola dengan kentang produk rekayasa genetik (PRG) Katahdin SP951 terhadap penyakit busuk daun Phytophthora infestans*. Laporan hasil penelitian. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. 27 hlm.
- Ambarwati, A.D., Kusmana, & Listanto, E. (2015) Klon-klon kentang transgenik hasil persilangan terseleksi tahan terhadap penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* tanpa penyemprotan fungisida di empat Lapangan Uji Terbatas. *Jurnal Biologi Indonesia*, 11 (2), 177–186.
- Basuki, R.S., Kusmana, & Dimiyati, A. (2005) Analisis daya hasil, mutu, dan respon pengguna terhadap klon 380584.3, TS-2, FBA-4, I-1085, dan MF-II sebagai bahan baku keripik kentang. *Jurnal Hortikultura*, 15 (3), 160–170.
- Bradeen, J.M., Lorizzo, M., Mollov, D.S., Raasch, J., Kramer, L.C., Millet, B.P. Austin-Phillips, S., Jiang, J. & Carputo, D. (2009) Higher copy numbers of the potato *RB* transgene correspond to enhanced transcript and late blight resistance levels. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22 (4), 437–446.
- Codex Alimentarius Commission. (2003) *Joint FAO/WHO Food Standard Programme (Alinorm 03/34). Appendix III Draft Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Food Derived from Recombinant-DNA Plants and Appendix IV Proposed Draft Annex on the Assessment Possible Allergenicity*. Rome, Italy 30 June–5 July, 2003. Twenty-fifth session: Codex Alimentarius Commission. pp. 47–60.
- Conner, A.J. (1994) Analysis of containment and food safety issues associated with the release of transgenic potatoes. In: Belknap, W.R., Vayda, M.E. & Park W.D. (eds.) *The molecular and cellular biology of the potato*. 2nd ed. Wallingford, UK., CAB International. pp. 245–264.
- Douches, D.S., Maas, D., Jastrzebski, K. & Chase, R.W. (1996) Assessment of potato breeding progress in the USA over the last century. *Crop Science*, 36, 1544–1552.

- Ghosh, M.N. (1971) *Fundamental of experimental pharmacology*. Scientific Book Agency, Calcutta, India.
- Goodman, R.E. & Wise, J. (2006) Bioinformatic analysis of proteins in Golden Rice 2 to assess potential allergenic cross-reactivity. Food Allergy Research and Resource Program, Study No. Bio-02-2006. Nebraska, NE, USA, University of Nebraska.
- Hadiarto, T., Listanto, E. & Riyanti, E.I. (2015) Identifikasi cDNA gen *RB* pada tanaman kentang produk rekayasa genetika Katahdin SP951. *Jurnal AgroBiogen*, 11 (2), 59–64.
- Herman, M. (2013) *Agricultural biotechnology in Indonesia: Overview and updates. Communication Workshop on Agricultural Biotechnology. International Food Information Council (IFIC) and Indonesian Biotechnology Information Center (IndoBIC)*. Borobudur Hotel, Jakarta 16 May 2013. [Online] Available at: <http://www.indobic.or.id/indobic/communication-workshop-on-agricultural-biotechnology/>. [Accessed 8 January 2016].
- Herman, M., Ambarwati, A.D., Listanto, E., Santoso, T.J., Hadiarto, T., Riyanti, E.I., Kusmana, Suryaningsh, E. & Sofiari, E. (2013) *Report of Indonesian initial environmental examination (IEE) of late blight resistant potato*. Agricultural Biotechnology Support Program II.
- Kuhl, J.C., Zarka, K., Coombs, J., Kirk, W.W. & Douches, D.S. (2007) Late blight resistance of *RB* transgenic potato lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132 (6), 783–789.
- Kuiper, H.A., Kleter, G.A., Noteborn, H.P.J.M. & Kok, E.J. (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant Journal*, 27 (6), 503–528.
- Kusmana (2003) Evaluasi beberapa klon kentang asal stek batang untuk uji ketahanan terhadap *Phytophthora infestans*. *Jurnal Hortikultura*, 13 (4), 220–228.
- Listanto, E., Riyanti, E.I., Santoso, T.J., Hadiarto, T. & Ambarwati, A.D. (2015) Genetic stability analysis of *RB* gene in genetically modified potato lines tolerant to *Phytophthora infestans*. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 16 (1), 51–58.
- Loomis, T.A. & Hayes, A.W. (1996) *Loomis's essentials of toxicology*. 4th ed. USA, Academic Press.
- Lozoya-Saldana, H., Belmar-Diaz, C., Bradeen, J.M. & Helgeson, J.P. (2005) Characterization of *Phytophthora infestans* isolates infecting transgenic and somatic hybrid potatoes resistant to the pathogen in the Toluca Valley, Mexico. *American Journal of Potato Research*, 82, 79.
- Organization for Economic Cooperation and Development. (2002) Consensus document on compositional considerations for new varieties of potatoes: Key food and feed nutrients, antinutrients, and toxicants. *OECD Environment, Health, and Safety Publications, Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 4*. Paris, France, Organization for Economic Cooperation and Development.
- Ojiambo, P.S., Nyanapah, J.O., Lung'aho, C., Karinga, J.K. & Kidanemariam, H.M. (2000) Comparing different epidemiological models in field evaluations of selected genotypes from *Solanum tuberosum* CIP population A for resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary in Kenya. *Euphytica*, 111, 211–218. doi: 10.1023/A.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia. (2005) *Peraturan Pemerintah Nomor 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik*.
- Pharmacopeia, U.S. (2000) *Pharmacopeia, simulated gastric fluid, TS, simulated intestinal fluid, TS. United States Pharmacopeial Convention, Vol. 24*. The national formulary 9. Rockville, MD, USA: U.S. Pharmacopeia Board of Trustees. p. 2235.
- Santoso, T.J., Ambarwati, A.D. & Herman, M. (2014a) *Studi analisis komposisi dan nutrisi kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit hawar daun Phytophthora infestans*. Laporan Hasil Penelitian, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor.
- Santoso, T.J., Ambarwati, A.D., Herman, M. & Sukardiman. (2014b) *Studi analisis toksisitas oral akut kentang produk rekayasa genetik (PRG) tahan penyakit hawar daun Phytophthora infestans*. Laporan Hasil Penelitian, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor.
- Schauzu, M. (2000) The concept of substantial equivalence in safety assessment of foods derived from genetically modified organisms. *AgBiotechNet*, 2, 1–4.
- Simatupang, S., Hutagalung, L., Sembiring, T. & Bahar, F.A. (1996) Adaptasi varietas kentang di dataran medium Kabupaten Simalungun Sumatera Utara. *Jurnal Hortikultura*, 6 (3), 249–254.
- Song, J., Bradeen, J.M., Naess, S.K., Raasch, J.A., Wielgus, S.W., Haberlach, G.T., Liu, J., Kuang, H., Austin-Phillips, S., Buell, C.R. et al. (2003) Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (16), 9128–9133.
- Staples, R.C. (2004) Race nonspecific resistance for potato late blight. *Trends in Plant Science*, 9 (1), 5–6.
- Sugiharto, B. & Ermawati, N. (2014) *Analisa bioinformatika potensi alergenitas protein late blight resistance (RB) pada tanaman kentang produk rekayasa genetik*. Laporan hasil penelitian. Center for Development of Advanced Sciences and Technology, Universitas Jember dan Pusat Laboratorium Biosain, Politeknik Negeri Jember, Jember.