

## PEMANFAATAN TANAMAN KENTANG TRANSGENIK *RB* UNTUK PERAKITAN KENTANG TAHAN PENYAKIT HAWAR DAUN (*Phytophthora infestans*) DI INDONESIA

### *Utilization of RB Transgenic Potato in Developing Late Blight Resistant Potato (Phytophthora infestans) in Indonesia*

Alberta Dinar Ambarwati

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian  
Jalan Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111, Telp. (0251) 8337975, 8339793, Faks. (0251) 8338820  
E-mail: bb\_biogen@litbang.deptan.go.id

Diajukan: 07 November 2011; Diterima 02 Juli 2012

#### ABSTRAK

Hawar daun yang disebabkan oleh cendawan *Phytophthora infestans* merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman kentang. Kehilangan hasil akibat penyakit tersebut berkisar antara 47–100%. Hingga kini pengendalian penyakit hawar daun dilakukan secara intensif dengan penyemprotan fungisida dosis tinggi. Hal ini berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan manusia, selain meningkatkan biaya produksi. Pemanfaatan varietas tahan merupakan alternatif pengendalian yang lebih ekonomis dan ramah lingkungan. Gen ketahanan (gen *RB*) yang berasal dari spesies liar kentang diploid *Solanum bulbocastanum* memiliki spektrum yang luas terhadap *P. infestans*. Gen ini telah diintroduksi ke dalam kentang Katahdin melalui transformasi *Agrobacterium*. Tanaman transgenik Katahdin *RB* menunjukkan ketahanan yang lebih tinggi terhadap penyakit hawar daun dibandingkan dengan tanaman non-transgenik pada pengujian di rumah kaca dan di lapangan. Untuk mendukung program pemuliaan kentang tahan penyakit hawar daun di Indonesia, tanaman transgenik Katahdin *RB* dapat digunakan sebagai sumber ketahanan. Persilangan antara transgenik Katahdin (*event* SP904 dan SP951) dengan varietas kentang yang rentan terhadap hawar daun (Atlantic dan Granola) menghasilkan klon-klon kentang transgenik yang mengandung gen *RB*. Melalui evaluasi ketahanan klon-klon tersebut terhadap *P. infestans* di lapangan uji terbatas (LUT) di Pasir Sarongge, Cianjur, diperoleh empat klon tahan pada 77 hari setelah tanam atau 21 hari setelah infeksi, sementara di LUT Lembang didapatkan tiga klon tahan pada 46 hari setelah tanam atau 20 hari setelah infeksi. Sementara itu, Atlantic dan Granola memerlukan aplikasi fungisida lebih awal, yaitu pada saat muncul gejala infeksi. Klon-klon kentang tahan penyakit tersebut diharapkan dapat membantu program pemuliaan untuk perakitan varietas unggul baru yang produktif dan tahan terhadap penyakit hawar daun.

**Kata kunci:** Kentang, *Phytophthora infestans*, penyakit hawar daun, perakitan varietas, tanaman transgenik

#### ABSTRACT

Late blight caused by *Phytophthora infestans* is one of the most devastating diseases on potato. Yield losses of potato due to this disease ranged from 47% to 100%. Control of late blight disease

was carried out intensively by spraying fungicides. Frequent intervals and high rates of fungicide spray currently being practiced by potato growers to control the disease are harmful to the environment and human health. Farmers have also to spend more production costs. The use of resistant cultivars is an alternative control measure which is more economically and environmentally sustainable. Resistance gene (*RB* gene) derived from a wild diploid potato species *Solanum bulbocastanum* is a broad resistance gene against *P. infestans*. The gene had been introduced into Katahdin variety using *Agrobacterium* transformation. Transgenic Katahdin *RB* was effective against late blight disease and showed a higher resistance than non-transgenic plant both in the greenhouse and in the field experiments. To support the breeding programs of potato resistant to late blight in Indonesia, transgenic Katahdin *RB* was used as source of resistance. Crosses were made between transgenic Katahdin (*event* SP904 and SP951) and susceptible potato cultivars (Atlantic and Granola). Clones resulted from the crosses positively contained the *RB* transgene. Resistance evaluation of transgenic clones in a confined field trial (CFT) at Pasir Sarongge, Cianjur generated four resistant clones at 77 days after planting or 21 days after infection, and experiments in CFT at Lembang obtained three resistant clones at 46 days after planting or 20 days after infection. Whereas Atlantic and Granola required fungicide application earlier, after the first symptoms of late blight were detected, to control the disease. Clones with resistance gene to late blight are expected to support potato breeding programs for generating new superior varieties which are productive and resistant to late blight.

**Keywords:** Potato, *Phytophthora infestans*, late blight, varietal improvement, transgenic potato

#### PENDAHULUAN

Kentang merupakan salah satu tanaman sayuran yang potensial untuk dikembangkan. Produksi kentang di Indonesia mengalami penurunan 9,82%, dari 1.176.304 ton pada tahun 2009 menjadi 1.060.805 ton pada tahun 2010. Produktivitas kentang juga menurun dari 16,51 t/ha pada tahun 2009 menjadi 15,95 t/ha pada tahun 2010 (BPS 2010). Upaya untuk meningkatkan produk-

tivitas kentang perlu didukung oleh varietas unggul dan bibit yang berkualitas tinggi.

Pengembangan komoditas kentang dihadapkan pada beberapa kendala, antara lain serangan hama dan penyakit. Penyakit hawar daun (*late blight*) yang disebabkan oleh cendawan *Phytophthora infestans* merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman kentang. Patogen ini memiliki keragaman genetik yang tinggi sehingga ketahanan varietas menjadi mudah patah (Cooke *et al.* 2003). Kerugian akibat penyakit ini dapat mencapai 100% pada tanaman kentang yang rentan, terutama pada musim hujan dengan kelembapan yang tinggi (Ojiambo *et al.* 2000).

Penggunaan varietas tahan merupakan cara yang paling tepat untuk mengendalikan penyakit hawar daun. Ketahanan yang bersifat *durable* dengan spektrum yang luas terhadap ras-ras *P. infestans* dijumpai pada spesies kentang liar diploid *Solanum bulbocastanum* ( $2n = 2x = 24$ ) (Helgeson *et al.* 1998). Namun, pemanfaatan spesies liar dalam pemuliaan tanaman kentang kerap kali sulit dilakukan. Hal ini karena spesies liar umumnya bersifat diploid yang secara genetik tidak kompatibel dengan varietas kentang komersial (tetraploid) atau yang dibudidayakan (During 1996).

Bioteknologi dapat diaplikasikan untuk menjembatani kendala yang dihadapi dalam pemuliaan konvensional. Melalui proses transformasi gen ketahanan *RB* dari *S. bulbocastanum* ke dalam empat varietas kentang komersial di Amerika Serikat, yaitu Katahdin, Superior, Dark Red Norland, dan Russet Burbank, telah dihasilkan tanaman transgenik yang mengandung gen ketahanan tersebut (Song *et al.* 2003; Halterman *et al.* 2008). Dalam pengujian di rumah kaca maupun di lapangan, gen *RB* pada tanaman transgenik efektif terhadap isolat-isolat *P. infestans* di Amerika Serikat.

Pengembangan kentang tahan penyakit hawar daun di Indonesia memerlukan pengkajian untuk mengetahui keefektifan gen *RB* yang berspektrum luas terhadap isolat *P. infestans* di Indonesia. Tanaman transgenik Katahdin *RB* dapat digunakan sebagai sumber ketahanan terhadap penyakit hawar daun. Pendekatan yang dapat ditempuh yakni melakukan persilangan antara tanaman transgenik Katahdin *RB* sebagai donor tahan dengan kentang budi daya yang rentan terhadap hawar daun, seperti Granola dan Atlantic.

Tanaman kentang mempunyai heterozigositas yang tinggi sehingga persilangan akan menghasilkan populasi segregasi (Sahat dan Sunarjono 1985). Populasi hasil silangan perlu dievaluasi dari aspek molekuler untuk mendeteksi integrasi gen maupun sifat ketahanannya (bioasai) terhadap isolat *P. infestans* di rumah kaca maupun di lapangan uji terbatas (LUT).

Tujuan penulisan adalah memberi informasi mengenai ketersediaan tanaman kentang transgenik *RB* untuk diaplikasikan dalam pengendalian penyakit hawar daun *P. infestans* di Indonesia.

## GEN-GEN KETAHANAN TERHADAP *Phytophthora infestans*

Pemanfaatan spesies liar *Solanum* dapat memperluas dasar genetik dan memfasilitasi introgresi gen-gen ketahanan (*R*) baru ke dalam kentang budi daya. Upaya untuk mendapatkan sumber gen pada beberapa spesies kentang liar yang tahan terhadap penyakit hawar daun telah dilakukan oleh para pemulia tanaman. Dilaporkan bahwa gen ketahanan terhadap penyakit hawar daun dijumpai pada *Solanum acaule*, *S. chacoense*, *S. berthaultii*, *S. brevidens*, *S. bulbocastanum*, *S. demissum*, *S. microdontum*, *S. sparsipilum*, *S. spegazzinii*, *S. stoloniferum*, *S. sucrense*, *S. toralapanum*, *S. vernei*, dan *S. verrucosum* (Hawkes 1994).

Gen-gen ketahanan (*R*) dari spesies-spesies kentang liar tersebut telah banyak dipelajari. Sebelas gen *R* dari spesies liar heksaploid yang berasal dari Meksiko, yaitu *S. demissum* telah diintrogresikan ke dalam kentang budi daya melalui pemuliaan konvensional. Delapan gen *R*, yaitu *R3* (yang dikenal sebagai *R3a* dan *R3b*), *R5*, *R6*, *R7*, *R8*, *R9*, *R10*, dan *R11* berlokasi pada posisi yang berdekatan satu dengan yang lain pada kromosom 11 (El Kharbotly *et al.* 1994). Gen-gen *R* lainnya yaitu gen *R2* juga sudah dipetakan pada kromosom 4 (Li *et al.* 1998) dan gen *R1* pada kromosom 5 (El-Kharbotly *et al.* 1994). Namun gen-gen *R* tersebut hanya memberikan ketahanan spesifik pada ras *P. infestans* tertentu dan gen yang diintrogresikan ke dalam varietas kentang, khususnya *R1*, *R2*, *R3*, *R4*, dan *R10* dengan cepat dapat dipatahkan ketahanannya oleh ras-ras baru patogen (Umaerus dan Umaerus 1994).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mendapatkan sumber-sumber gen baru untuk ketahanan pada spesies *Solanum* liar lainnya. Gen ketahanan dari *S. berthaultii* (*R<sub>ber</sub>*) sudah dipetakan pada kromosom 10 (Ewing *et al.* 2000) dan *Rpi1* dari *S. pinnatisectum* pada kromosom 7 (Kuhl *et al.* 2001). *Quantitative trait loci* (QTLs) yang terlibat dalam ketahanan yang berasal dari *S. microdontum* terdapat pada kromosom 4, 5, dan 10 (Sandbrink *et al.* 2000). Gen-gen ketahanan terhadap *P. infestans* yang sudah diklon dari tanaman kentang disajikan pada Tabel 1.

Song *et al.* (2003) mengklon gen *RB* dari *S. bulbocastanum* klon PT29 (klon terseleksi dari *S. bulbocastanum* PI245310), yaitu spesies kentang liar diploid yang mempunyai spektrum ketahanan yang luas dan bersifat *durable* terhadap penyakit hawar daun kentang. Gen *RB* (GenBank no asesi AAP45164) atau *Rpi-blb1* dan *Rpi-blb2* dari *S. bulbocastanum* masing-masing sudah dipetakan pada kromosom 8 dan 6 (Naess *et al.* 2000; van der Vossen *et al.* 2005). Kloning gen *RB* dilakukan melalui pemetaan dalam kombinasi dengan strategi *long-range* PCR (Song *et al.* 2003). Empat *R*-gene analog (RGA) yang dihasilkan disebut sebagai RGA1-PCR, RGA2-PCR, RGA3-PCR, dan RGA4-PCR, yang kemudian diklon ke dalam situs *BamHI* dari vektor biner pCLD04541 (Song *et al.* 2003). Vektor ini membawa situs

**Tabel 1. Gen-gen ketahanan terhadap *Phytophthora infestans* yang diklon dari tanaman kentang.**

Gen	Sumber gen	Lokasi gen pada kromosom	Referensi
<i>Rber</i>	<i>Solanum berthaultii</i>	10	Ewing <i>et al.</i> (2000)
<i>Rpi1</i>	<i>S. pinnatisectum</i>	7	Kuhl <i>et al.</i> (2001)
<i>R1</i>	<i>S. demissum</i>	5	El-Kharbotly <i>et al.</i> (1994)
<i>R2</i>	<i>S. demissum</i>	4	Li <i>et al.</i> (1998)
<i>R3a, R3b</i>	<i>S. demissum</i>	11	El-Kharbotly <i>et al.</i> (1994)
<i>Rpi-blb1</i> atau <i>RB</i>	<i>S. bulbocastanum</i>	8	Naess <i>et al.</i> (2000) Song <i>et al.</i> (2003)
<i>Rpi-blb2</i>	<i>S. bulbocastanum</i>	6	van der Vossen <i>et al.</i> (2005)

*cos*, gen 35S-NPTII yang memberikan ketahanan kanamisin, dan *polylinker dark Blue Script* (dBS) yang mengandung sejumlah situs enzim restriksi. *RB* diperkirakan mengkode suatu polipeptida dengan 970 asam amino yang termasuk dalam kelas *coiled coil-nucleotide binding site-leucine rich repeat* (CC-NBS-LRR) dari gen-gen ketahanan tanaman (Song *et al.* 2003). Gen *RB* ditranskripsi secara konstitutif (Bradeen *et al.* 2009) seperti halnya gen-gen *R* yang termasuk dalam kelas NBS-LRR. Transkripsi terjadi sepanjang perkembangan tanaman, bahkan dalam keadaan tidak ada infeksi patogen (Millett dan Bradeen 2007).

## PEMULIAAN TANAMAN KENTANG

Tanaman kentang mempunyai tingkat ploidi yang sangat bervariasi, dari monoploid ( $2n = x = 12$ ) sampai heksaploid ( $2n = 6x = 72$ ). Tanaman tetraploid ( $2n = 4x = 48$ ) biasa dijumpai pada kentang komersial.

Program pemuliaan tanaman kentang biasanya dilakukan untuk meningkatkan ketahanan terhadap penyakit maupun hama, serta memperbaiki kualitas rasa, warna kulit, dan bentuk umbi. Namun, pemuliaan kentang menghadapi beberapa kendala, khususnya dalam melakukan persilangan, karena adanya perbedaan tingkat ploidi, mandul jantan pada beberapa kultivar, atau tanaman tidak menghasilkan bunga (Cutter 1978).

Salah satu hal yang harus diperhatikan dalam memanfaatkan spesies liar untuk perbaikan varietas kentang budi daya melalui persilangan ialah kompatibilitas genetik antarvarietas yang akan disilangkan (During 1996). Sekitar 75% dari spesies liar kentang mempunyai kromosom diploid ( $2n = 2x = 24$ ) (Hawkes 1994), sementara kentang budi daya umumnya memiliki kromosom tetraploid ( $2n = 4x = 48$ ). Untuk mengatasi perbedaan ploidi tersebut diperlukan strategi dalam pemuliaan tanaman.

Penggunaan metode fusi protoplas atau hibridisasi somatik merupakan alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi hambatan dalam hibridisasi seksual. Hibridisasi

somatik memfasilitasi kemungkinan memasukkan gen-gen yang bermanfaat dari spesies liar yang secara seksual tidak kompatibel ke dalam tanaman budi daya (Umaerus dan Umaerus 1994). Kloning molekuler gen-gen yang berperan dalam ketahanan serta introduksi gen-gen tersebut ke dalam varietas kentang dapat pula ditempuh untuk menghindari berbagai masalah yang dijumpai pada persilangan maupun hibridisasi somatik.

Empat gen ketahanan (*R*) terhadap *P. infestans* telah diisolasi, yaitu *R1*, *R3*, *Rpi-blb1* atau *RB*, dan *Rpi-blb2*. Gen-gen tersebut telah ditransformasikan melalui *A. tumefaciens* ke dalam kultivar kentang rentan sehingga kultivar tersebut menjadi tahan terhadap ras-ras *P. infestans*. Kentang Katahdin yang ditransformasi dengan gen ketahanan (*RB*) dapat digunakan sebagai tetua tahan dalam program pemuliaan. Persilangan secara konvensional antara tanaman kentang tetraploid dapat dilakukan.

## Efikasi Gen *RB* pada Tanaman Kentang Transgenik terhadap *Phytophthora infestans*

Perakitan tanaman kentang transgenik dengan gen *RB* telah dilakukan melalui teknik *Agrobacterium* ke dalam varietas Katahdin dan menghasilkan beberapa *event*, seperti Katahdin SP904, SP905, SP918, SP925, SP926, dan SP951 (Song *et al.* 2003). Tanaman transgenik ini menunjukkan ketahanan yang *durable* dan berspektrum luas terhadap ras-ras *P. infestans* di Amerika Serikat, seperti US1, US8, US10, US11, dan US14, dalam uji terbatas di rumah kaca maupun di lapangan, pada empat lokasi berbeda, yaitu PICTIPAPA (Meksiko), Washington, Wisconsin, dan Minnesota (Song *et al.* 2003, Kuhl *et al.* 2007; Bradeen *et al.* 2009).

Keberadaan gen *RB* pada tanaman kentang transgenik SP951, SP2423, SP2105, dan SP2564 dapat meningkatkan ketahanan tanaman yang lebih tinggi terhadap hawar daun dibandingkan dengan kentang nontransgenik yang tidak mengandung gen *RB* (Tabel 2).

**Tabel 2. Efikasi tanaman kentang transgenik RB terhadap penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* isolat US8 940480 di rumah kaca.**

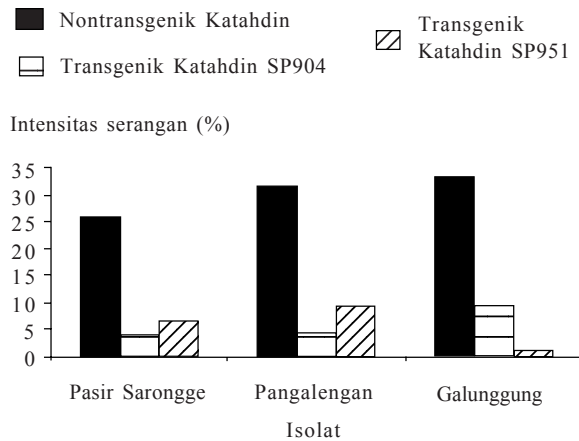
Genotipe	Gen RB	Skor ketahanan (10 hari setelah inokulasi)
Katahdin	Tidak ada	1,2 ± 0,2
Katahdin SP951	Ada	7,0 ± 0,2
Superior	Tidak ada	1,2 ± 0,3
Superior SP2423	Ada	6,6 ± 0,3
Russet Burbank	Tidak ada	1,0 ± 0,3
Russet Burbank SP2105	Ada	7,2 ± 0,2
Dark Red Norland	Tidak ada	0,9 ± 0,3
Dark Red Norland SP2564	Ada	7,6 ± 0,2
<i>Solanum bulbocastanum</i> PT29	Ada	8,0 ± 0,0

Skor ketahanan, 0 = infeksi 100%, 1 = infeksi > 90%, 2 = infeksi 81-90%, 3 = infeksi 71-80%, 4 = infeksi 61-70%, 5 = infeksi 41-60%, 6 = infeksi 26-40%, 7 = infeksi 11-25%, dan 8 = infeksi < 10%.  
 Sumber: Halterman *et al.* (2008).

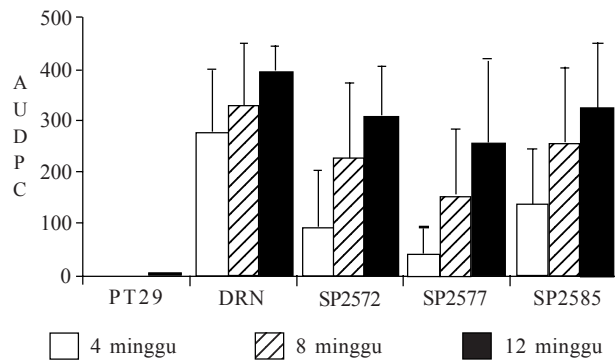
Tanaman transgenik mempunyai skor ketahanan 6,6-7,6, sementara tanaman nontransgenik hanya 0,9-1,2. Pada *S. bulbocastanum* PT29 sebagai sumber gen ketahanan, intensitas serangan kurang dari 10% (skor 8).

Penelitian efikasi gen RB pada tanaman kentang transgenik terhadap isolat *P. infestans* di Jawa Barat, yaitu Pasir Sarongge (Cianjur), Pangalengan, dan Galunggung telah dilakukan di *mist chamber* pada tahun 2008 (Ambarwati *et al.* 2011a). Tanaman dengan intensitas serangan < 25% termasuk dalam kategori tahan (Song *et al.* 2003; Halterman *et al.* 2008). Pada 10 hari setelah inokulasi, intensitas serangan pada tanaman transgenik Katahdin SP904 dan SP951 sangat kecil, berkisar antara 0,9-9,3% atau termasuk kategori tahan, dibandingkan pada tanaman nontransgenik Katahdin dengan intensitas serangan >25% (Gambar 1). Gen RB pada tanaman transgenik ternyata efektif terhadap hawar daun *P. infestans*.

Tanaman kentang transgenik Dark Red Norland yang mengandung gen RB (Millett *et al.* 2009) menunjukkan ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman nontransgenik ketika diinokulasi dengan *P. infestans* US8. Nilai *area under disease progress curve* (AUDPC) klon-klon transgenik Dark Red Norland SP2572, SP2577, dan SP2585 pada 4-9 hari setelah inokulasi, pada umur 4, 8, dan 12 minggu setelah tanam, lebih kecil daripada tanaman nontransgenik Dark Red Norland (Gambar 2). Di antara klon-klon yang diuji, SP2577 mempunyai nilai AUDPC paling rendah, dan masing-masing klon transgenik menunjukkan kumulatif serangan hawar daun yang berbeda. *S. bulbocastanum* PT29 tidak mengindikasikan adanya serangan hawar daun. Ketahanan tanaman makin menurun dengan ber-



**Gambar 1.** Efikasi gen RB pada tanaman kentang transgenik pada 10 hari setelah inokulasi, berdasarkan intensitas serangan masing-masing isolat *Phytophthora infestans* di *mist chamber* (Ambarwati *et al.* 2011a).



**Gambar 2.** Nilai AUDPC (4-9 hari setelah inokulasi) klon-klon kentang transgenik Dark Red Norland dan nontransgenik pada umur 4, 8, dan 12 hari setelah tanam, yang diinokulasi dengan *Phytophthora infestans* US8 (Millett *et al.* 2009).

tambahnya umur fisiologis tanaman. Menurut Millett dan Bradeen (2007) dan Millett *et al.* (2009), pada umur 4 minggu atau periode prapembungaan, tanaman kentang dengan gen RB menunjukkan tingkat ketahanan paling tinggi. Pada umur 8 minggu atau setelah periode berbunga selesai dan memasuki tahap awal pembentukan umbi, ketahanan tanaman mulai berkurang, sampai tanaman mengalami penuaan atau berumur ± 12 minggu.

Evaluasi klon-klon transgenik RB di lapangan (Minnesota) telah dilakukan oleh Bradeen *et al.* (2009) pada tahun 2005 dan 2006. Tanaman diinokulasi dengan *P. infestans* US8 (isolat 940480) dan selama percobaan berlangsung tidak dilakukan aplikasi fungisida. Transgen RB terbukti mempunyai tingkat ketahanan yang tinggi terhadap penyakit hawar daun dibandingkan tanaman kontrol yang tidak mengandung transgen (Gambar 3). Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa gen RB pada tanaman transgenik efektif terhadap



**Gambar 3.** Evaluasi ketahanan tanaman kentang transgenik di lapangan terhadap *Phytophthora infestans* US8 pada 4 minggu setelah inokulasi. Tanaman transgenik tumbuh dengan baik, sementara tanaman nontransgenik cv. NorChip mati (Bradeen *et al.* 2009).

hawar daun *P. infestans* dengan mengurangi intensitas penyakit.

### Persilangan Tanaman Kentang Transgenik *RB* dengan Nontransgenik

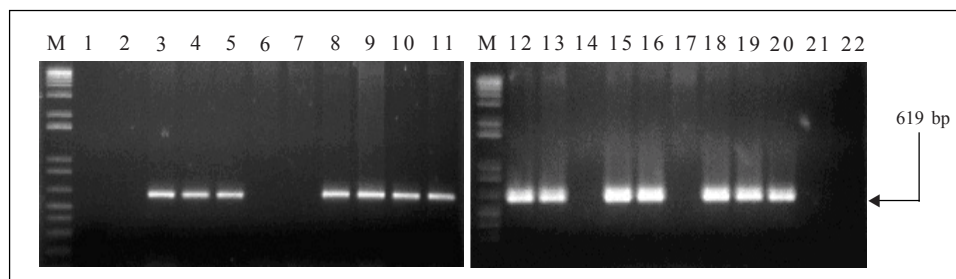
Tanaman kentang transgenik Katahdin terbukti efektif terhadap penyakit hawar daun *P. infestans* dalam pengujian di rumah kaca maupun di lapangan. Untuk mendukung program pemuliaan kentang tahan penyakit hawar daun di Indonesia, tanaman transgenik *RB* digunakan sebagai plasma nutfah yang mempunyai ketahanan  *durable* dan berspektrum luas terhadap ras-ras *P. infestans*. Persilangan dilakukan untuk menggabungkan sifat-sifat yang diinginkan ke dalam suatu genotipe yang bersifat rentan, dan biasanya memiliki sifat-sifat unggul lainnya. Persilangan dilakukan antara tanaman transgenik Katahdin SP904 atau SP951 dengan varietas kentang budi daya di Indonesia, yaitu Atlantic atau Granola (Ambarwati *et al.* 2009).

Granola merupakan varietas kentang yang dominan di Indonesia, dengan luas area tanam lebih dari 90%. Varietas ini disukai petani karena berdaya hasil tinggi, berumur pendek, memiliki adaptasi yang luas, toleran terhadap serangan layu bakteri (Simatupang *et al.* 1996), dan tahan terhadap virus A kentang (PVA) dan virus Y kentang (PVY) (Anonim 1999). Varietas Atlantic diminati petani karena memiliki mutu olahan yang tinggi dan rasa yang enak serta tahan terhadap virus X kentang (PVX) (Anonim 1999). Namun Granola maupun Atlantic mempunyai kelemahan, yaitu tidak tahan terhadap penyakit hawar daun, meskipun sudah dilakukan proteksi dengan penyemprotan fungisida secara intensif (Kusmana dan Basuki 2004).

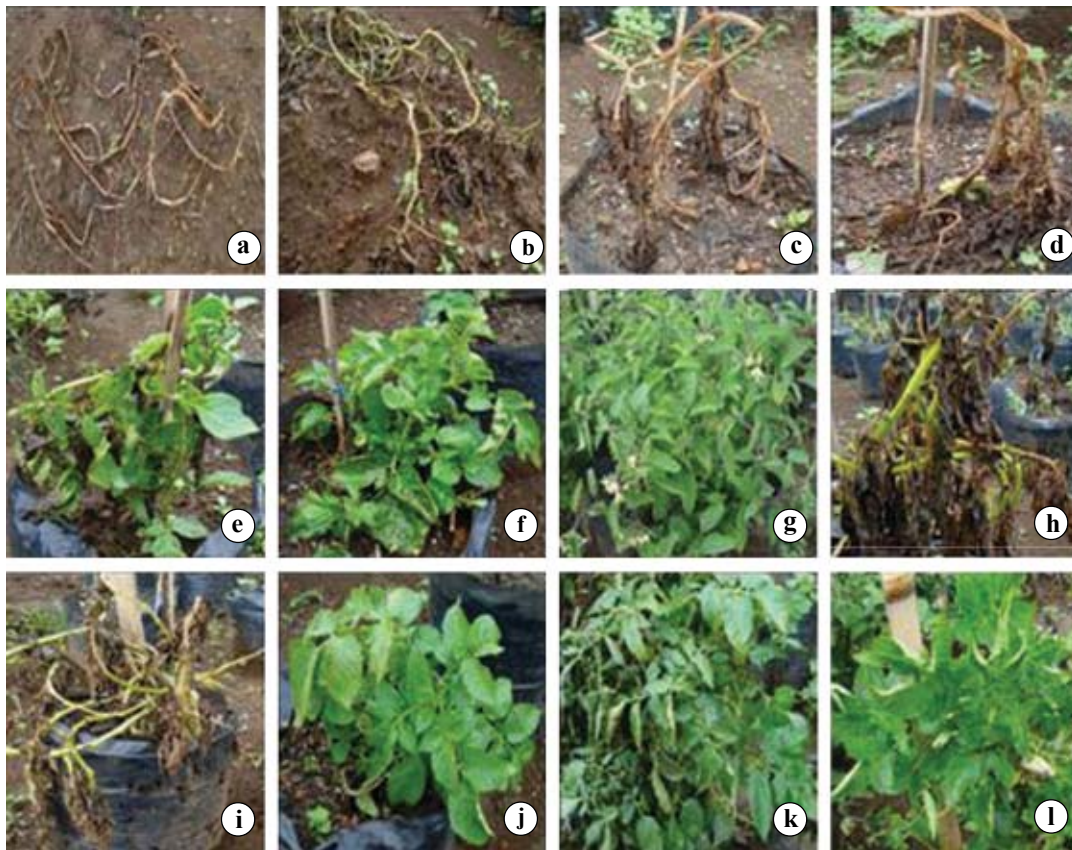
Klon-klon hasil silangan Atlantic x transgenik Katahdin SP904, Atlantic x transgenik Katahdin SP951, Granola x transgenik Katahdin SP904, dan Granola x transgenik Katahdin SP951 telah dianalisis secara molekuler untuk mengetahui integrasi gen *RB* dan segregasinya (Ambarwati *et al.* 2009). Pita berukuran 619 bp dan 840 bp teramplifikasi pada beberapa sampel klon yang dievaluasi. Hal ini menunjukkan bahwa klon-klon tersebut positif mengandung gen *RB* dari tanaman transgenik Katahdin sebagai tetua tahan dalam persilangan (Gambar 4).

### Evaluasi Ketahanan terhadap *P. infestans*

Klon-klon hasil silangan yang positif mengandung gen *RB* diuji secara fenotipik untuk melihat ekspresi gen *RB* terhadap hawar daun *P. infestans* di lapangan uji terbatas (LUT) (Gambar 5). Pengujian di LUT Pasir Sarongge, Cianjur, Jawa Barat pada tahun 2008, menggunakan inokulum alami dan tidak dilakukan penyemprotan fungisida selama percobaan berlangsung. Pengamatan skor ketahanan didasarkan pada persentase daun terinfeksi menurut skala 0–9 (Haltermann *et al.* 2008) seperti pada Tabel 2, dan nilai AUDPC dihitung menurut rumus dari CIP (2007). Pengamatan dimulai pada saat muncul gejala serangan, yaitu pada 56, 60, 63, 70, dan 77 hari setelah



**Gambar 4.** Hasil amplifikasi PCR (*N-term end*) untuk mendeteksi integrasi gen *RB* pada klon-klon kentang hasil silangan Granola x transgenik Katahdin SP904. M: 1 Kb DNA ladder, 1–19: klon-klon hasil silangan Granola x Katahdin SP904, 20: tetua tahan (Katahdin SP904), 21: tetua peka (Granola), 22: H<sub>2</sub>O. (Ambarwati *et al.* 2009).



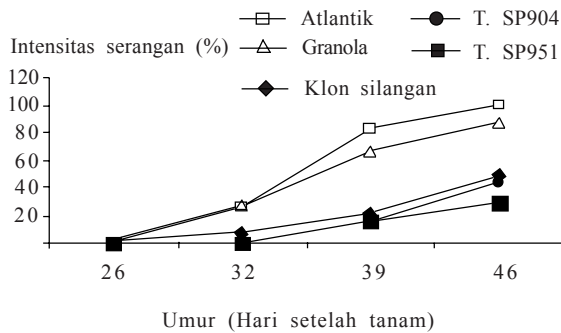
**Gambar 5.** Respons ketahanan klon-klon silangan di Lapangan Uji Terbatas (LUT) Pasir Sarongge, Cianjur tahun 2008, a) Border Katahdin, b) Granola, c) Atlantic, d) Katahdin nontransgenik, e) transgenik Katahdin SP904, f) transgenik Katahdin SP951, g) *S. bulbocastanum* PT29, h) galur A10 (Atlantic x transgenik Katahdin SP904), i) galur B59 (Atlantic x transgenik Katahdin SP951), j) galur B8 (Atlantic x transgenik Katahdin SP951), k) galur C183 (Granola x transgenik Katahdin SP904), l) galur D77 (Granola x transgenik Katahdin SP951) (Ambarwati *et al.* 2011b).

tanam (HST). Delapan puluh empat klon *RB* dari empat kombinasi persilangan yang diuji menunjukkan keragaman tingkat ketahanan terhadap penyakit hawar daun.

Atlantic dan Granola menunjukkan kategori rentan pada 60 HST atau 4 hari setelah infeksi (HSI), sedangkan 98% klon-klon dari keempat kombinasi persilangan termasuk dalam kategori tahan. Pada akhir pengamatan atau 77 HST (21 HSI) diperoleh empat klon tahan, yaitu klon B8, B26, C183, dan D89. Klon B8 dan B26 yang berasal dari persilangan antara Atlantic dengan transgenik Katahdin SP951 masing-masing memiliki skor ketahanan 7,6 dan 7. Klon C183 dan D89 dengan skor ketahanan 7, masing-masing merupakan hasil persilangan antara Granola x transgenik Katahdin SP904 dan Granola x transgenik Katahdin SP951. Keempat klon tersebut mempunyai ketahanan yang melebihi tetua tahan, yaitu transgenik Katahdin SP904 dengan skor 4,6 dan transgenik Katahdin SP951 dengan skor 6,8. Sementara itu, Granola dan Atlantic menunjukkan intensitas serangan 100% (Ambarwati *et al.* 2011b).

Gen *RB* memiliki spektrum yang luas terhadap *P. infestans* sehingga evaluasi ketahanan perlu dilakukan di

beberapa lokasi endemis hawar daun. Evaluasi ketahanan klon-klon silangan di LUT Balitsa, Lembang dilakukan pada tahun 2009. Pengamatan dimulai pada saat muncul gejala serangan, yaitu 26, 32, 39, 46, dan 53 HST. Pada 32 HST (6 HSI), klon-klon silangan menunjukkan intensitas serangan 7,4% atau termasuk kategori tahan, sedangkan Atlantic dan Granola sudah mencapai kategori rentan, masing-masing dengan intensitas serangan 25,2% dan 26,6% (Gambar 6). Pada 46 HST (20 HSI), Atlantic, Granola, dan transgenik Katahdin SP904 dan SP951 sudah menunjukkan kategori rentan dengan intensitas serangan 28,9–100%. Secara individu dari klon-klon silangan, terdapat tiga klon yang masih tahan, yaitu klon B49 (silangan Atlantic x transgenik Katahdin SP951) dengan intensitas serangan 17%, klon C111 (silangan Granola x transgenik Katahdin SP904) dengan intensitas serangan 20,7%, dan klon D26 (silangan Granola x transgenik Katahdin SP951) dengan intensitas serangan 18,7%. Intensitas serangan hawar daun pada klon-klon silangan ini lebih rendah dibandingkan dengan Atlantic dan Granola, tetapi lebih tinggi daripada transgenik Katahdin SP904 dan SP951. Hal ini menunjukkan bahwa secara umum klon-klon hasil silangan mempunyai ketahanan



**Gambar 6.** Intensitas serangan penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* pada klon-klon silangan kentang transgenik dengan nontransgenik di Lapangan Uji Terbatas, Lembang (Herman *et al.* 2009).

yang lebih tinggi dibandingkan dengan tetua rentan, yaitu Atlantic dan Granola, tetapi lebih rendah dari tetua tahan transgenik Katahdin SP904 dan SP951. Ketiga klon yang tahan di LUT Lembang juga menunjukkan ketahanan pada pengamatan 63 HST (7 HSI) di LUT Pasir Sarongge.

Penelitian yang dilakukan Millett *et al.* (2009) dan Bradeen *et al.* (2009) menunjukkan bahwa klon-klon transgenik *RB* memiliki tingkat ketahanan yang berbeda terhadap hawar daun, yang diduga berkorelasi dengan banyaknya transkripsi gen *RB*. Respons keragaman ketahanan yang berbeda mengindikasikan bahwa gen *RB* pada klon-klon silangan tersebut tidak ditranskripsi. Hal ini disebabkan adanya deleksi parsial atau pengaturan kembali gen *RB* (Kuhl *et al.* 2007).

## MANFAAT TEKNOLOGI TRANSGENIK DALAM PENGENDALIAN HAWAR DAUN KENTANG

Penyakit hawar daun yang menyerang pertanaman kentang dapat menyebabkan kehilangan hasil 50–80% dan bahkan mengakibatkan gagal panen, terutama bila didukung oleh kondisi lingkungan dengan curah hujan dan kelembapan yang tinggi. Berbagai strategi telah digunakan untuk mengendalikan patogen, seperti pengendalian secara mekanis, kultur teknis maupun secara kimiawi. Namun, sampai saat ini pengendalian kimiawi masih menjadi strategi utama dalam pengelolaan tanaman sehingga dapat membahayakan kesehatan manusia dan kelestarian lingkungan, selain memicu munculnya isolat-isolat tahan dan lebih virulen (Leonard-Schipper *et al.* 1994).

Dalam mengendalikan penyakit hawar daun, petani kentang pada awalnya menggunakan fungisida secara tunggal, namun kemudian banyak yang memakai fungisida campuran atau kombinasi. Berdasarkan hasil

survei terhadap petani di Pangalengan, Jawa Barat, beberapa kombinasi fungisida yang digunakan yakni mefenoksam (sistemik) dengan mankozeb (kontak), mefenoksam-mankozebe (sistemik-kontak), klorotalonil + mankozeb, dan klorotalonil + mankozeb (Adiyoga dan Ameriana 2000).

Pada awalnya petani menggunakan fungisida dengan dosis sesuai anjuran, namun apabila tidak lagi efektif maka dosis fungisida akan ditingkatkan. Frekuensi penyemprotan sangat bergantung pada perkembangan serangan dan keadaan cuaca. Pada musim hujan dan cuaca buruk, penyemprotan dapat dilakukan setiap 2–3 hari sekali, dan pada musim kemarau setiap 5–7 hari sekali. Hal ini mengakibatkan petani harus mengeluarkan biaya yang cukup banyak untuk pembelian fungisida. Menurut hasil survei yang dilakukan oleh Adiyoga dan Ameriana (2000) terhadap petani kentang di Pangalengan, komponen biaya produksi yang cenderung meningkat dengan cepat adalah biaya pengendalian hama dan penyakit yang setara dengan pengeluaran untuk pembelian bibit.

Studi sosial ekonomi (*ex ante*) yang dilakukan oleh Adiyoga (2009) menginformasikan bahwa petani menyemprotkan fungisida antara 20–30 kali per musim tanam untuk mengendalikan *P. infestans*. Apabila menggunakan kentang varietas tahan terhadap *P. infestans*, petani dapat menghemat biaya penyemprotan fungisida antara 50–80% dengan hanya melakukan penyemprotan 6–12 kali. Pengurangan aplikasi fungisida memberikan dampak positif bagi petani karena akan mengurangi biaya produksi dan kontak dengan fungisida, menyelamatkan lingkungan dari pencemaran bahan kimia berbahaya, serta menginduksi resistensi patogen terhadap bahan aktif fungisida. Pengembangan klon-klon kentang hasil silangan memberi manfaat untuk pengendalian penyakit hawar daun sekaligus meningkatkan produksi dan mutu hasil kentang.

Kentang memiliki potensi dan prospek yang baik untuk mendukung program diversifikasi dalam rangka mewujudkan ketahanan pangan berkelanjutan. Kentang tidak lagi sebagai komoditas sayuran, tetapi sebagai salah satu komoditas prioritas nonberas (pangan).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Perakitan tanaman kentang transgenik tahan terhadap penyakit hawar daun *P. infestans* dilakukan melalui persilangan antara tanaman transgenik Katahdin yang mengandung gen ketahanan *RB* dengan tanaman nontransgenik Atlantic dan Granola. Klon-klon kentang transgenik yang dihasilkan telah diuji secara molekuler dan terbukti mengandung gen *RB*. Klon-klon tersebut telah dievaluasi ketahanannya terhadap penyakit hawar daun *P. infestans* di LUT.

Pengembangan klon-klon kentang transgenik hasil silangan yang tahan penyakit hawar daun perlu ditindaklanjuti dengan menyeleksi ketahanannya di

sentra-sentra produksi kentang dan dievaluasi karakter agronomisnya untuk memperoleh klon-klon tahan penyakit hawar daun *P. infestans* dan mempunyai karakter agronomis yang diinginkan. Studi sosial ekonomi (*Ex-post*) terhadap penggunaan tanaman kentang transgenik *RB* perlu dilakukan untuk mengetahui efisiensi pengurangan aplikasi fungisida.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiyoga, W. dan M. Ameriana. 2000. Sistem pengetahuan lokal pengendalian hama penyakit kentang di Pangalengan. *J. Hort.* 10(3): 226–240.
- Adiyoga, W. 2009. Costs and benefits of transgenic late blight resistant potatoes in Indonesia. pp. 86–104. *In* G.W. Norton and M.H. Desiree (Eds.). *Projected Impacts of Agricultural Biotechnologies for Fruits and Vegetables in the Philippines and Indonesia*. ISAAA SEAsia Center, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Ambarwati, A.D., A. Purwito, M. Herman, S.M. Sumaraw, dan H. Aswidinnoor. 2009. Analisis integrasi dan segregasi gen ketahanan terhadap hawar daun pada progeni F1 hasil persilangan tanaman kentang transgenik dengan nontransgenik. *Jurnal AgroBiogen* 5(1): 25–31.
- Ambarwati, A.D., S.M. Sumaraw, A. Purwito, M. Herman, E. Suryaningsih, dan H. Aswidinnoor. 2011a. Efikasi gen *RB* pada tanaman kentang transgenik Katahdin SP904 dan SP951 terhadap empat isolat *Phytophthora infestans* dari Jawa Barat. *Jurnal AgroBiogen* 7(1): 28–36.
- Ambarwati, A.D., M. Herman, A. Purwito, S.M. Sumaraw, dan H. Aswidinnoor. 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. *Indones. J. Agric. Sci.* 12(1): 33–39.
- Anonim. 1999. *World Catalogue of Potato Varieties*. Agri Media.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2010. Luas panen, produksi dan produktivitas kentang, 2009–2011. <http://www.bps.go.id>. [16 Desember 2011].
- Bradeen, J.M., M. Iorizzo, D.S. Molloy, J. Raasch, L.C. Kramer, B.P. Millett, S. Austin-Phillips, J. Jiang, and D. Carputo. 2009. Higher copy numbers of the potato *RB* transgene correspond to enhance transcript and late blight resistance levels. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22(4): 437–446.
- CIP (International Potato Center). 2007. *Procedures for Standard Evaluation Trials of Advanced Potato Clones*. An International Cooperators' Guide. International Potato Center. p. 41–54.
- Cooke, D.E.L., V. Young, P.R.J. Birch, R. Toht, F. Gourlay, J.P. Day, S.F. Carnegie, and J.M. Duncan. 2003. Phenotypic and genotypic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Scotland (1995–97). *Plant Pathol.* 52: 181–192.
- Cutter, E.G. 1978. Structure and development of the potato plant. pp. 71–139. *In* P.M. Harris (Ed). *The Potato Crop: The scientific basis for improvement*. Chapman & Hall, London.
- During, K. 1996. Genetic engineering for resistance to bacteria in transgenic plants by introduction of foreign genes. *Mol. Breed.* 2: 297–305.
- El-Kharbotly, A., C. Leonards-Schippers, D.J. Huigen, E. Jacobsen, A. Pereira, W.J. Stiekema, F. Salamini, and C. Gebhardt. 1994. Segregation analysis and RFLP mapping of the *R1* and *R3* alleles conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in progeny of dihaploid potato parents. *Mol. Gen. Genet.* 242: 749–754.
- Ewing, E.E., S. Imko, C.D. Smart, M.W. Bonierbale, E.S.G. Mizubuti, G.D. May, and W.E. Fry. 2000. Genetic mapping from field of qualitative and quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in a population derived from *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. *Mol. Breed.* 6: 25–36.
- Halterman, D.A., L.C. Kramer, S. Wielgus, and J. Jiang. 2008. Performance of transgenic potato containing the late blight resistance gene *RB*. *Plant Dis.* 92: 339–343.
- Hawkes, J.G. 1994. Origin of cultivated potatoes and species relationships. pp. 3–42. *In* J.E. Bradshaw and G.R. Mackay (Eds.). *Potato Genetics*. CAB International.
- Helgeson, J.P., J.D. Pohlman, S. Austin, G.T. Haberlach, S.M. Wielgus, D. Ronis, L. Zambolim, P. Tooley, J.M. McGrath, R.V. James, and W.R. Stevenson. 1998. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight. *Theor. Appl. Genet.* 96: 738–742.
- Herman, M., M. Bustamam, A.D. Ambarwati, E. Listanto, E. Suryaningsih, E. Sofiari, T.J. Santoso, dan S. Hendrastuti. 2009. Pembentukan tanaman transgenik kentang dan tomat tahan penyakit yang dapat mengurangi 50% aplikasi pestisida. Laporan Hasil Penelitian DIPA 2009. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Kuhl, J.C., R.E. Hanneman Jr, and M.J. Havey. 2001. Characterization and mapping of *Rpi1*, a late blight resistance locus from diploid (1EBN) Mexican *Solanum pinnatisectum*. *Mol. Genet. Genomics* 265: 977–985.
- Kuhl, J.C., K. Zarka, J. Coombs, W.W. Kirk, and D.S. Douches. 2007. Late blight resistance of *RB* transgenic potato lines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132(6): 783–789.
- Kusmana dan R. Basuki. 2004. Produksi dan mutu umbi klon kentang dan kesesuaiannya sebagai bahan baku kentang goreng dan keripik kentang. *J. Hort.* 14(4): 246–252.
- Leonard-Schippers, C., W. Gieffers, R. Schafer-Pregl, E. Ritter, S.J. Knapp, F. Salamini, and C. Gebhardt. 1994. Quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in potato: a case study for QTL mapping in an allogamous plant species. *Genetics* 137: 67–77.
- Li, X., H.J. van Eck, J.N.A.M.R. van der Voort, D.J. Huigen, P. Stam, and E. Jacobsen. 1998. Autotetraploids and genetic mapping using common AFLP markers: the *R2* allele conferring resistance to *Phytophthora infestans* mapped on potato chromosome 4. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1121–1128.
- Millett, B.P. and J.M. Bradeen. 2007. Development of allele-specific PCR and RT-PCR assays for clustered resistance genes using a potato late blight resistance as a model. *Theor. Appl. Genet.* 114: 501–513.
- Millett, B.P., D.S. Molloy, M. Iorizzo, D. Carputo, and J.M. Bradeen. 2009. Changes in disease resistance phenotypes associated with plant physiological age are not caused by variation in *R* gene transcript abundance. *MPMI* 22(3): 362–368.
- Naess, S.K., J.M. Bradeen, S.M. Wielgus, G.T. Haberlach, J.M. McGrath, and J.P. Helgeson. 2000. Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theor. Appl. Genet.* 101: 697–704.
- Ojiambo, P.S., J.O. Nyanapah, C. Lung'aho, J.K. Karinga, and H.M. Kidanemariam. 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.
- Sahat, S. dan H. Sunarjono. 1985. Varietas kentang dan pemuliaannya. *Dalam* Kentang. Balai Penelitian Hortikultura Lembang. hlm. 28–43.
- Sandbrink, J.M., L.T. Colon, P.J.C.C. Wolters, and W.J. Stiekema. 2000. Two related genotypes of *Solanum microdontum* carry different segregating alleles for field resistance to *Phytophthora infestans*. *Mol. Breed.* 6: 215–225.



- Simatupang, S., L. Hutagalung, T. Sembiring, dan F.A. Bahar. 1996. Adaptasi varietas kentang di dataran medium Kabupaten Simalungun Sumatera Utara. *J. Hort.* 6(3): 249–254.
- Song, J., J.M. Bradeen, S.K. Naess, J.A. Raasch, S.W. Wielgus, G.T. Haberlach, J. Liu, H. Kuang, S. Austin-Phillips, C.R. Buell, J.P. Helgeson, and J. Jiang. 2003. Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 9128–9133.
- Umaerus, V. and M. Umaerus. 1994. Inheritance of resistance to late blight. pp. 365–401. *In* J.E. Bradshaw and G.R. Mackay (Ed). *Potato Genetics*. CAB International.
- van der Vossen, E.A.G., J. Gros, A. Sikkema, and M. Muskens. 2005. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance. *Plant J.* 44(2): 208–222.