

# Aplikasi Teknik Rekayasa Genetik dalam Perbaikan Sumber Daya Genetik Tanaman untuk Ketahanan Cekaman Biotik

M. Herman

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111  
Telp. (0251) 8337975, 8316897; Faks. (0251) 8338820; E-mail: mherman@indo.net.id

Diajukan: 21 Desember 2009; Diterima: 15 April 2010

## ABSTRACT

**The Application of Genetic Engineering Techniques in the Improvement of Plant Genetic Resources for Biotic Stresses Resistance.** The main constraint encountered in the utilization of plant genetic resources (PGR) in agriculture are biotic stresses such as insect pests, plant diseases, and plant parasitic nematodes. The application of genetic engineering techniques create a great opportunity for crops improvements particularly for insect and plant diseases resistance. Through genetic engineering, genetically engineered (GE) crops have been developed, of which having the new traits such as resistance to insect pests, plant diseases, and herbicide tolerance. GE crops are already widely grown and marketed in many countries. Globally, GE crops that are commercialized consists of four categories of traits, which are insect resistance (IR), herbicide tolerance, (HT), the combined traits of IR and HT (stacked genes), and virus resistance. Initially, GE crops had been commercialized globally covering 1.7 million ha in 1996, and the cropping area increased rapidly to reach about 134 million ha in 2009. Indonesia is known as a country rich in PGR, that have very high value. One of environmentally friendly technologies that can be applied in the utilization of PGR in Indonesia, is genetic engineering. In Indonesia, research on plant genetic engineering had started since 1997. Commodities that are being researched to develop GE plants limited on rice, potatoes and tomatoes. GE rice resistant to stem borer (*Scirpophaga incertulas*), GE potato resistant to late blight (*Phytophthora infestans*), and GE tomato resistant to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) and cucumber mosaic virus (CMV) have been successfully developed by Research Center for Biotechnology of Indonesian Institute of Science and Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development (ICABIOGRAD). Those GE crops have been tested for their resistance at the screenhouses, green houses of the biosafety containment, and confined field trial.

**Keywords:** Genetic engineering, comercialization, research, crop improvements.

## ABSTRAK

Masalah utama yang dihadapi dalam pemanfaatan sumber daya genetik tanaman (SDGT) usaha pertanian adalah cekaman bio-

tik seperti serangga hama, penyakit, dan nematoda parasit tanaman. Aplikasi teknik rekayasa genetik memiliki peluang besar untuk perbaikan sifat tanaman, khususnya ketahanan terhadap serangga hama dan penyakit tanaman. Melalui rekayasa genetik sudah dihasilkan tanaman produk rekayasa genetik (PRG) yang memiliki sifat baru seperti ketahanan terhadap serangga hama dan penyakit atau toleran herbisida. Tanaman PRG tersebut sudah banyak ditanam dan dipasarkan di beberapa negara. Tanaman PRG yang sudah dikomersialkan terdiri atas empat kategori sifat, yaitu tahan serangga hama (TSH), toleran herbisida (TH), gabungan sifat TSH dan TH (*stacked genes*), serta tahan virus patogen. Tanaman PRG mulai dikomersialkan luas pada tahun 1996 seluas 1,7 juta ha dan meningkat pesat menjadi 134 juta ha pada tahun 2009. Indonesia dikenal sebagai negara yang memiliki kekayaan SDGT berlimpah dan bernilai tinggi. Salah satu teknologi yang ramah lingkungan dan dapat digunakan dalam pemanfaatan SDG tanaman di Indonesia adalah rekayasa genetik. Di Indonesia, penelitian rekayasa genetik untuk merakit tanaman PRG sudah dimulai pada tahun 1997-an. Komoditas yang diteliti untuk perakitan tanaman PRG, baru terbatas pada padi, kentang, dan tomat. Padi PRG tahan penggerek batang (*Scirpophaga incertulas*), kentang PRG tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*), dan tomat PRG tahan *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) dan *cucumber mosaic virus* (CMV) telah berhasil dirakit oleh Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI dan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen). Tanaman-tanaman PRG tersebut ada yang sudah diuji di rumah kaca dan rumah kasa, fasilitas uji terbatas, dan lapangan uji terbatas.

**Kata kunci:** Rekayasa genetik, komersialisasi, penelitian, perbaikan tanaman.

## PENDAHULUAN

*International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture* (ITPGRFA) telah diakses oleh Indonesia melalui Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 4 Tahun 2006 tentang Pengesahan *International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture* (Perjanjian Mengenai Sumber Daya Genetik Tanaman untuk Pangan dan Pertanian). Menurut Undang-

Undang Nomor 4 Tahun 2006 tersebut, yang dimaksud sumber daya genetik (SDG) tanaman adalah materi genetik dari tanaman yang mempunyai nilai nyata atau potensial. Materi genetik itu sendiri adalah bahan dari tanaman, termasuk materi propagasi reproduktif dan vegetatif, yang mengandung unit-unit fungsional pewarisan sifat (hereditas).

Masalah utama yang dihadapi dalam pemanfaatan SDG tanaman pada usaha pertanian adalah cekaman biotik seperti serangga hama, penyakit, dan nematoda parasit tanaman, dan cekaman abiotik seperti kekeringan, pembekuan dan suhu rendah, salinitas, oksidatif, dan cekaman logam berat. Perakitan tanaman tahan serangga hama atau penyakit atau nematoda parasit secara konvensional dapat dilakukan melalui pemuliaan, tetapi sumber gen ketahanan cekaman tersebut terbatas atau sering tidak dijumpai dalam SDG tanaman yang tersedia (Manshardt, 2004). Aplikasi bioteknologi modern dengan teknik rekayasa genetik dalam pemanfaatan SDG tanaman memiliki peluang besar untuk menunjang produksi pertanian dan ketahanan pangan. Penggunaan teknologi ini memberikan manfaat antara lain untuk perbaikan sifat tanaman (Manshardt, 2004). Teknik rekayasa genetik dapat digunakan sebagai mitra dan pelengkap teknik pemuliaan tanaman yang sudah mapan dan telah berhasil digunakan selama bertahun-tahun (Manshardt, 2004). Kehadiran teknologi rekayasa genetik memberikan wahana baru bagi pemulia tanaman untuk memperoleh kelompok gen baru yang lebih luas (Herman, 2008).

Teknik rekayasa genetik membuka peluang untuk mengisolasi gen ketahanan dari organisme lain seperti cendawan, bakteri, virus atau dari tanaman yang secara konvensional tidak dapat dilakukan. Gen eksogenous (dari luar spesies) yang sudah dikonstruksikan bisa dipindahkan ke tanaman budi daya yang diinginkan. Contoh gen yang dapat dimanfaatkan untuk perbaikan tanaman melalui rekayasa genetik adalah gen ketahanan terhadap cekaman biotik, toleran cekaman abiotik, gen toleran herbisida, dan gen untuk memodifikasi kualitas produk tanaman. Penelitian rekayasa genetik untuk memproduksi tanaman tahan serangga hama dan penyakit tanaman difokuskan pada protein-protein yang mengandung kode gen tunggal (Herman, 2008). Teknik rekayasa genetik telah diaplikasikan dalam

perbaikan sifat tanaman dan telah menghasilkan tanaman produk rekayasa genetik (PRG) yang selama ini disebut dengan tanaman transgenik, tanaman PRG siap dimanfaatkan bagi kemajuan di berbagai bidang, khususnya pertanian.

Tanaman PRG telah dikomersialkan secara luas pada tahun 1996 yang meliputi 1,7 juta ha, dan meningkat pesat menjadi 134 juta ha pada tahun 2009 (James, 2009). Sejak tahun 1997 sampai 2009, ada tiga jenis tanaman PRG tahan cekaman biotik yang telah berhasil dikomersialkan, yaitu tanaman PRG tahan serangga hama (TSH), tahan virus patogen (TVP), dan gabungan sifat TSH dengan toleran herbisida (TH) atau lebih dikenal dengan *stacked genes* (Herman, 2008; James, 2009).

Teknik rekayasa genetik telah berhasil diaplikasikan dengan baik dalam penelitian dan pengembangan di Indonesia, baik yang dilakukan oleh lembaga penelitian dan perguruan tinggi maupun badan usaha milik negara (BUMN) dan perusahaan swasta. Perakitan tanaman PRG tahan cekaman biotik telah dilakukan oleh Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Institut Pertanian Bogor (IPB), Universitas Udayana, dan Universitas Brawijaya (Herman, 2008). Menurut ketentuan dalam Pasal 9 Peraturan Pemerintah Nomor 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati PRG, pengujian tanaman PRG harus dilakukan di laboratorium, fasilitas uji terbatas (FUT), dan/atau lapangan uji terbatas (LUT). Makalah ini membahas teknik rekayasa genetik dan perkembangan tanaman PRG.

## TEKNIK REKAYASA GENETIK

Gen interes yang ditransformasikan ke genom tanaman untuk memperoleh sifat yang diinginkan seperti ketahanan terhadap cekaman biotik, dapat diisolasi dari berbagai organisme seperti cendawan, bakteri, virus, serangga, binatang, atau tanaman lain (Tabel 1). Gen untuk ketahanan terhadap serangga yang telah diisolasi dari tanaman adalah *cowpea trypsin inhibitor*, *GNA*, yaitu gen yang mengkode *snowdrop lectin Galanthus nivalis agglutinin*

Tabel 1. Gen interes yang digunakan dalam perbaikan sumber daya genetik tanaman untuk ketahanan cekaman biotik.

Sifat tahan yang diinginkan	Contoh gen interes	Sumber/asal gen
Hama tanaman		
• Serangga	<i>cry1A(a), cry1A(b), cry1A(c), cry1B, cry1F, cry2A(b), cry3A(a), cry3B(b1), cry1F(a2), cry5, cry9C, dan Vip3A</i>	Bakteri
• Serangga	<i>pinII</i>	Tanaman
• Serangga	<i>α-amylase inhibitor</i>	Tanaman
• Serangga	<i>GNA</i>	Tanaman
Penyakit tanaman		
• Cendawan patogen	<i>RB</i>	Tanaman
• Cendawan patogen	<i>chitinase</i>	Bakteri
• Cendawan patogen	<i>β-1,3-glucanase</i>	Tanaman
• Cendawan patogen	<i>RIP</i>	Tanaman
• Virus patogen	<i>CP</i>	Virus
• Virus patogen	<i>replicase</i>	Virus

*cry* = *crystal*, *pin* = *proteinase inhibitor*, *GNA* = *Galanthus nivalis agglutinin*, *RIP* = *ribosome in-activating protein*, *cecP1* = *cecropin P1*, *CP* = *coat protein virus patogen*.

Sumber: Herman (2008).

(Herman, 2008). Gen tahan serangga yang populer adalah gen Bt atau gen *cry* yang diisolasi dari bakteri *Bacillus thuringiensis* (Herman, 2008). Kata *cry* adalah singkatan dari *crystal* yang mempresentasikan gen dari strain Bt yang memproduksi protein kristal. Gen ini bekerja seperti insektisida (*insecticidal crystal protein*) yang dapat mematikan serangga hama. Ada beberapa gen yang digunakan untuk memproduksi tanaman PRG tahan penyakit tanaman yang disebabkan oleh cendawan patogen, yaitu *chitinase*, *glucanase*, *RIP* (*ribosome in-activating protein*), dan gen *RB* (Song *et al.*, 2003). Gen *replicase* atau *coat protein* dari virus patogen dapat dimanfaatkan dalam perakitan tanaman PRG TVP (Santoso, 2008; Vidya *et al.*, 2000).

Dalam sistem transformasi, gen interes yang akan ditransfer ke tanaman biasanya diklon terlebih dahulu dalam vektor plasmid yang dapat memperbanyak diri dalam *Agrobacterium tumefaciens* atau *Escherichia coli*. Gen tersebut digabungkan dengan promoter yang dapat diekspresikan dalam tanaman dan dirangkaikan dengan terminator yang tepat (Pena, 2005). Promoter merupakan daerah DNA di mana RNA *polymerase* akan menempel untuk memulai proses transkripsi (Pena, 2005). Ada beberapa promoter yang digunakan dalam perakitan tanaman PRG, bergantung pada tujuan penggunaannya dalam pengendalian ekspresi gen interes. Jenis-jenis promoter tersebut antara lain *constitutive*, *inducible*, dan spesifik jaringan (*tissue specific*) (PL, 2007).

Promoter yang sering digunakan dalam transformasi adalah 35S (berasal dari virus patogen *cauliflower mosaic*), *ubiquitin* (*Ubi*) dari jagung, dan *actin 1* (*Act-1*) dari padi. Ketiganya adalah promoter *constitutive* pengatur ekspresi gen interes di semua jaringan tanaman. Terminator adalah sekuens DNA yang berada di ujung *transcript* yang menyebabkan RNA *polymerase* menghentikan proses transkripsi. Transkripsi adalah proses sintesis RNA pada *template* DNA (Pena, 2005). Contoh terminator adalah NOS 3' yang berasal dari *Agrobacterium*, yaitu daerah 3' yang tidak ditranslasi dari gen *nopaline synthase* yang mengakhiri transkripsi dan mengarahkan poliadenilasi.

Plasmid yang digunakan untuk transformasi tanaman tidak hanya mengandung gen dari sifat atau karakter yang diinginkan, tetapi juga gen marka untuk seleksi, seperti gen *npt II* untuk ketahanan terhadap antibiotik (*kanamycin*) atau gen bar untuk toleran herbisida *glufosinate*. Gen marka tersebut akan memudahkan seleksi sel atau jaringan yang tertransformasi. Selain itu, adakalanya ditambahkan gen pelapor (*reporter gene*) antara lain *β-glucuronidase* (*GUS*) atau gen *luciferase* (*luc*) atau gen *green fluorescent protein* (*GFP*).

Plasmid yang mengandung konstruksi gen lengkap (gen interes, gen marka seleksi, dan gen pelapor) siap ditransformasikan ke genom tanaman. Seandainya gen interes dan marka seleksi terletak dalam dua plasmid yang berbeda perlu dilakukan

ko-transformasi (*co-transformation*), yaitu mentransfer dua plasmid ke tanaman secara simultan (Herman, 2008). Teknik transfer gen dibedakan menjadi dua, yaitu langsung dan tidak langsung (Herman, 2008). Contoh transfer gen secara langsung adalah perlakuan pada protoplas tanaman dengan elektroporasi atau dengan *polyethyleneglycol* (PEG), penembakan eksplan gen dengan *particle bombardment*, atau penggunaan *silicon carbide whiskers* (SCW) dengan *vortex*. Transfer gen secara tidak langsung menggunakan vektor *A. tumefaciens*. Setelah proses transfer gen, eksplan dipindahkan ke medium seleksi untuk mengidentifikasi transforman. Sel atau jaringan tanaman yang ditransformasi harus dapat diregenerasi menjadi suatu tanaman. Regenerasi tanaman dapat dilakukan secara organogenesis atau embriogenesis. Tanaman PRG perlu dikarakterisasi secara molekuler untuk mengkonfirmasi integritas gen yang diintroduksi dan menentukan jumlah kopinya dengan analisis *Southern Blot* dalam genom tanaman. Tanaman tersebut juga perlu dikarakterisasi secara biokimia untuk menentukan apakah gen tersebut berfungsi dengan benar. Setelah tahapan regenerasi *in vitro* dan analisis molekuler dilalui, tanaman PRG perlu dikarakterisasi sifat yang diinginkan di laboratorium dan rumah kaca. Selanjutnya, untuk mengkonfirmasi apakah sifat baru yang diinginkan dapat diturunkan, maka perlu disilangkan untuk mempelajari pewarisannya.

## STATUS TANAMAN PRG

### Luas Areal

Secara global, tanaman PRG sudah banyak ditanam dan dipasarkan di berbagai negara. Per-tanaman PRG tersebar di beberapa negara yang meliputi benua Afrika, Amerika Utara, Amerika Selatan, Asia, Australia, dan Eropa. Tingkat peredaran tanaman PRG berbeda antarnegara, tahap komersialisasi atau pengujian di lapangan terbatas untuk prakomersialisasi. Pada tahun 1996, ada enam negara yang mengawali penanaman tanaman PRG secara luas yakni 1,7 juta ha. Negara-negara tersebut adalah Amerika Serikat, Argentina, Afrika Selatan, Australia, Kanada, dan Meksiko (Herman, 2009).

Dalam kurun waktu 14 tahun (1996-2009) telah terjadi peningkatan tajam luas areal tanaman

PRG. Pada tahun 2007, terdapat 23 negara yang menanam tanaman PRG dengan luas 114,3 juta ha (James, 2009). Luas areal tanaman PRG tersebut terdistribusi di negara maju seluas 65,2 juta ha dan di negara berkembang 49,1 juta ha. Dari 23 negara penanam tanaman PRG, hanya delapan negara yang menanam tanaman PRG dengan luas di atas 1 juta ha, yaitu Amerika Serikat (57,7 juta ha), Argentina (19,1 juta ha), Brazil (15,0 juta ha), Kanada (7,0 juta ha), India (6,2 juta ha), Cina (3,8 juta ha), Paraguay (2,6 juta ha), dan Afrika Selatan (1,8 juta ha). Pada tahun 2008, jumlah negara penanam tanaman PRG meningkat menjadi 25 dengan total luas 125 juta ha, kemudian meningkat lagi menjadi 134 juta pada 2009. Ada 16 negara berkembang dan sembilan negara maju yang menanam tanaman PRG secara luas pada tahun 2009 (James, 2009).

Dari puluhan negara yang menanam tanaman PRG, hanya beberapa negara yang mendominasi. Dalam hal luas areal tanaman PRG, negara maju yang selalu berada pada peringkat ke-1 sejak tahun 1996-2009, adalah Amerika Serikat. Pada tahun 1996 areal tanaman PRG di Amerika Serikat seluas 1,5 juta ha dan meningkat menjadi 8,1 juta ha pada tahun 1997. Pada 1998, luas areal tersebut menjadi 20,5 juta ha dan setelah sebelas tahun kemudian meningkat menjadi 64 juta ha pada tahun 2009. Pada tahun 2009, peringkat ke-2 dan ke-3 luas areal tanaman PRG diduduki oleh negara berkembang, yaitu Brazil dan Argentina masing-masing 21,4 juta ha dan 21,3 juta ha. Masih pada tahun 2009, India dan Kanada juga mengembangkan tanaman PRG masing-masing seluas 8,4 juta ha dan 8,2 juta ha (James, 2009).

### Sifat Tahan Cekaman Biotik

Tanaman PRG yang berhasil dirakit dan dikomersialkan terdiri atas empat kategori sifat, yaitu TSH, TH, gabungan sifat TSH dan TH, dan TVP. Tanaman PRG yang pertama kali dikembangkan secara komersial adalah tembakau PRG TVP. Tembakau TVP tersebut ditanam di Cina pada tahun 1993. Pada tahun 1996, luas areal tanaman PRG TSH mencapai 1,1 juta ha sedangkan luas areal tanaman PRG TH 0,6 juta ha. Pada tahun 1997, luas areal tanaman PRG TH mencapai 6,9 juta ha, sementara luas areal tanaman PRG TSH 4 juta ha.

Luas areal tanaman PRG dengan gabungan sifat (*stacked genes*) kurang dari 100.000 ha (Herman, 2009). Pada tahun 2009, luas areal tanaman PRG dengan gabungan sifat (TSH/TH) telah mencapai 28,7 juta ha. Laju peningkatan luas areal tanaman PRG TSH tidak sebesar tanaman PRG TSH/TH, baru mencapai 21,7 juta ha pada tahun 2009.

Tanaman PRG TSH yang telah dikomersialkan secara luas, mengandung gen interes ketahanan serangga hama yang berasal dari bakteri tanah *B. thuringiensis* atau disingkat Bt. Oleh karena itu, tanaman PRG TSH sering disebut tanaman PRG Bt, misalnya jagung Bt, kapas Bt (Herman, 2008). Perkembangan areal tanaman PRG tahan cekaman biotik dari tahun 2005 sampai 2009 tercantum pada Tabel 2. Pada tahun 2005, luas areal jagung Bt mencapai 11,3 juta ha dan jagung Bt/TH 6,5 juta ha. Dalam kurun waktu lima tahun, luas pertanaman jagung Bt/TH sudah melampaui jagung Bt. Demikian juga kapas Bt/TH, areal tanamannya lebih luas dibanding kapas Bt (Tabel 2).

Pada tahun 2009, jagung Bt dan jagung Bt/TH dikomersialkan di berbagai negara seperti Afrika Selatan, Amerika Serikat, Argentina, Brazil, Cili, Filipina, Honduras, Kanada, Mesir, Polandia, Portugal, Republik Czechia, Slovakia, Spanyol, dan Uruguay. Gen *cry* yang telah ditransformasikan ke tanaman jagung Bt adalah *cry1A(b)*, *cry3B(b1)*, *cry1F(a2)*, *Vip3Aa20*, gabungan gen *cry34A(b1)* dengan *cry35A(b1)*, dan *cry1A.105* dengan *cry2Ab2*. Jagung Bt ditujukan untuk mengendalikan serangga hama utama jagung, yaitu *Ostrinia furnacalis* (*Asian corn borer*), *O. nubilalis* (*European corn borer*), *Diabrotica* spp. (*corn*

*rootworm*), *Helicoverva armigera* (*corn earworm*), *Spodoptera* spp. (*armyworm*), *Agrotis* spp. (*cutworm*), *Busseola fusca* (*African stalk borer*), dan *Chilo partellus* (*spotted stem borer*) (Herman, 2007). Kapas Bt dan kapas Bt/TH dipasarkan di Afrika Selatan, Amerika Serikat, Argentina, Australia, Argentina, Brazil, Burkina Faso, Cina, India, Kolumbia, Kosta Rika, dan Meksiko (James, 2009). Ada beberapa gen *cry* yang ditransformasikan ke kapas Bt dan disetujui untuk dikomersialkan, yaitu *cry1A(a)*, *cry1A(b)*, *cry1A(c)*, *cry1F*, dan gabungan dua gen *cry1A(c)* dengan *cry2A(b)*, *cry1A(c)* dengan *cry1F*, dan *Vip3A* dengan *cry1A(b)* (Herman, 2003, 2008). Kapas Bt ditujukan untuk mengendalikan serangga hama utama kapas, yaitu *H. armigera* (*cotton bollworm*), *Pectinophora gossypiella* (*pink bollworm*), *Earias* spp. (*spiny bollworm*), *Heliothis virescens* (*tobacco budworm*) (Herman, 2003).

Tanaman PRG TSH dan TVP yang hanya ditanam di Amerika Serikat adalah kentang Bt/TH, dan labu TVP (James, 2009). Serangga hama target yang akan dikendalikan dengan kentang Bt adalah *Colorado potato beetle* (*Leptinotarsa decemlineata* Say) dan *potato tuber moth* (*Phthorimaea operculella*, PTM). Gen *cry3A(a)* digunakan untuk ketahanan terhadap *Colorado potato beetle*, sedangkan gen *cry5* untuk ketahanan terhadap *potato tuber moth* (Herman, 2008). Labu PRG TVP dirakit dengan menggunakan gen *coat protein* (CP) dari *watermelon mosaic virus2* (WMV2), *zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), dan *cucumber mosaic virus* (CMV) untuk ketahanan terhadap WMV2, ZYMV, dan CMV. Pepaya PRG TVP ditanam secara komersial di Hawaii dan Cina (James,

Tabel 2. Luas areal pertanaman PRG di seluruh dunia berdasarkan sifat tahun 2005-2009.

Tanaman	Sifat	2005		2006		2007		2008		2009	
		Luas (juta ha)	Persentase								
Jagung	TSH (Bt)	11,3	13	11,1	11	9,3	8	7,1	6	9,2	7
Jagung	Bt/TH	6,5	7	9,0	9	18,8	17	24,5	20	26,1	19
Kapas	TSH (Bt)	4,9	5	8,0	8	10,8	9	11,9	9	12,4	9
Kapas	Bt/TH	3,6	4	4,1	4	3,2	3	2,6	2	2,6	2
Padi Bt	TSH (Bt)	<0,1	<1	<0,1	<1	-	-	-	-	-	-
Pepaya	TVP	<0,1	<1	<0,1	<1	<0,1	<1	<1	<0,1	<1	<0,1
Labu	TVP	<0,1	<1	<0,1	<1	<0,1	<1	<1	<0,1	<1	<0,1

TH = toleran herbisida, TSH = tahan serangga hama, Bt = *Bacillus thuringiensis*, TVP = tahan virus patogen.

Sumber: Modifikasi James (2009), Herman (2009).

2009). Gen yang ditransformasikan ke dalam pepaya PRG TVP adalah CP dan *replicase* untuk ketahanan terhadap pepaya ring spot virus (PRSV). Tanaman PRG tahan cekaman biotik lain yang hanya ditanam di Cina adalah poplar Bt, tomat TVP, dan cabai TVP. Padi Bt belum dikembangkan secara komersial di Cina, walaupun sudah disetujui oleh regulator pada November 2009. Menurut James (2009), padi Bt yang mengandung gen *cry1A(b)* untuk ketahanan terhadap serangga hama penggerek batang padi (PBP) putih (*Scirpophaga innotata* Wlk), dan kuning (*S. incertulas* Wlk) hanya ditanam secara komersial di Iran pada tahun 2005-2006.

### **Pengelolaan Ketahanan Serangga Hama**

Dengan luasnya pengembangan tanaman PRG TSH, ada kekhawatiran bahwa gen ketahanan (misalnya gen Bt) tanaman PRG menjadi tidak tahan lagi terhadap serangga hama tertentu, sehingga menimbulkan biotipe baru yang lebih ganas atau dikenal dengan “hama super” (Herman, 2008). Pemikiran tersebut didasari oleh tekanan secara terus-menerus dari tanaman PRG terhadap serangga hama target yang akan menyebabkan perubahan genetik dalam tubuh serangga sehingga menjadi tahan terhadap gen Bt, atau terjadi kepatahan ketahanan tanaman.

Beberapa kasus patahnya ketahanan tanaman PRG terhadap serangga hama target telah dilaporkan akhir-akhir ini. Di Afrika Selatan, ketahanan jagung PRG dengan nama dagang *Yieldgard* (*event* MON810) yang mengandung gen *cry1Ab* dipatahkan oleh serangga hama *African maize stalkborer* (*Busseola fusca* Fuller). Di Puerto Rico, jagung PRG *event* TC1507 (*Herculex*) yang mengandung gen *cry1F* diserang oleh serangga hama *fall armyworm* (*Spodoptera frugiperda*). Di India telah ditemukan serangga hama *pink bollworm* (*P. gossypiella*) yang menyerang kapas Bt (*Bollgard event* MON531/757/1076) yang mengandung gen *cry1Ac*. Patahnya ketahanan tanaman PRG terhadap serangga hama target disebabkan oleh beberapa kemungkinan: (1) tingginya adopsi tanaman PRG TSH oleh petani, (2) kurang sempurnanya pengendalian serangga hama target, (3) tingginya tingkat

serangan serangga hama, dan (4) kurangnya penanaman tanaman refugia (Penna, 2010).

Menurut Shelton *et al.* (2000), Bates *et al.* (2005), Alphey *et al.* (2007, 2009), dan Frisvold dan Reeves (2008), pengelolaan ketahanan serangga hama (*insect resistance management*) memerlukan beberapa strategi. Strategi tersebut meliputi: (1) penggunaan dosis tinggi (*high dose*), (2) menjaga populasi serangga hama target tetap rentan melalui penanaman *refugia* (tanaman non PRG) 20-50% dari total area sebagai suaka (*refugia*), atau pergiliran tanaman dengan varietas non PRG, atau mencampur benih PRG dengan non PRG, (3) diversifikasi sumber gen ketahanan. Strategi ketiga adalah penggabungan dua gen yang berbeda *mode of action*-nya (*pyramiding genes*), misalnya gen *cry1A.105* dengan *cry2Ab* pada jagung Bt MON89034 (AgBios, 2009), gen *cry1Ab* dengan *cry3Bb1* pada jagung PRG Yield Gard R Plus, *cry1A(c)* dengan *cry1F* pada kapas WideStrike, *Vip3A* dengan *cry1A(b)* pada kapas ND VipCot (Herman, 2008), atau persilangan antara jagung PRG Bt11 yang mengandung gen *cry1Ab* dengan jagung PRG MIR162 yang mengandung gen *vip3Aa*, atau melakukan retransformasi kapas PRG Bollgard I yang mengandung gen *cry1Ac* dengan gen *cry2Ab2* menjadi tanaman PRG baru yang disebut Bollgard II.

## **STATUS TANAMAN PRG DI INDONESIA**

### **Status Penelitian**

Di Indonesia, penelitian rekayasa genetik untuk ketahanan hama atau penyakit terutama diarahkan pada tanaman padi, kentang, dan tomat dengan status yang berbeda, ada yang baru pada taraf rumah kaca FUT dan ada pula yang sudah di LUT (Herman, 2008).

### **Padi PRG tahan hama penggerek batang**

Penelitian perakitan padi PRG tahan hama penggerek batang dilakukan oleh BB-Biogen dan Puslit Bioteknologi LIPI (Herman, 2008; Loedin, 2008). Perakitan padi PRG tahan PBP putih (*Scirpophaga innotata*) dan PBP kuning (*S. incertulas*) dimulai pada tahun 1997 oleh tim peneliti BB-Biogen (Herman, 2008). Tim peneliti BB-

Biogen menggunakan gen *cry1A(b)* dalam perakitan padi PRG untuk ketahanan terhadap hama penggerek batang. Gen *cry1A(b)* ditransformasikan ke tanaman padi *Indica* varietas Cisadane dan Sintanur, serta padi *Japonica* varietas Taipei 309 (T309) dengan teknik penembakan partikel (Hanarida *et al.*, 2002).

Hasil transformasi menunjukkan bahwa varietas T309 yang sangat responsif terhadap transformasi dengan penembakan partikel (Hanarida *et al.*, 2002). Hasil analisis molekuler dengan PCR pada tanaman PRG putatif generasi T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, dan T<sub>3</sub> menunjukkan 10 tanaman positif, yang terdiri atas dua tanaman generasi T<sub>1</sub>, tujuh tanaman generasi T<sub>2</sub>, dan satu tanaman generasi T<sub>3</sub> (Santoso *et al.*, 2002). Hasil bioasai di rumah kaca FUT, menunjukkan ke-10 tanaman tersebut bereaksi tahan sampai sangat tahan terhadap PBP kuning (Dewi *et al.*, 2002). Benih padi PRG putatif generasi T<sub>4</sub> dan T<sub>5</sub> ditumbuhkan dan diuji dengan analisis molekuler PCR, immunostrip, dan bioasai dengan PBP kuning di rumah kaca FUT. Hasil pengujian menunjukkan bahwa 38 tanaman T<sub>4</sub> 45,8% positif PCR dan 31 tanaman 37,4% positif immunostrip. Pada generasi T<sub>5</sub> menunjukkan bahwa 85 tanaman 51,1% positif PCR dan 50 tanaman 30,3% positif immunostrip. Hasil bioasai padi Bt terhadap PBP kuning menunjukkan 25 tanaman generasi T<sub>4</sub> bereaksi tahan sampai sangat tahan pada fase vegetatif (gejala serangan sundep) dan 28 tanaman pada fase generatif (gejala serangan beluk). Dari generasi T<sub>5</sub> diperoleh 22 tanaman yang bereaksi tahan sampai sangat tahan pada fase vegetatif (sundep) dan 17 tanaman pada fase generatif (beluk) (Ambarwati *et al.*, 2004).

Padi PRG varietas Rojolele yang mengandung gen *cry1A(b)* telah berhasil dirakit oleh tim peneliti dari Puslit Bioteknologi LIPI (Estiati *et al.*, 2006). Studi bioasai PBP kuning terhadap padi Bt dilakukan di FUT. Hasil bioasai menunjukkan perbedaan mortalitas pada larva PBP kuning yang makan padi Bt dan padi non-Bt. Bahkan dari pengujian padi Bt di LUT di Karawang dan Indramayu telah diperoleh satu galur padi PRG 6.11(+/-) generasi ketujuh (T<sub>6</sub>) mengandung gen *cry1Ab*, potensial untuk tahan PBP kuning (Estiati *et al.*, 2006). Hasil LUT menunjukkan galur 6.11(+/-) tahan terhadap PBP kuning (*S. incertulas* Wlk) dengan tingkat ke-

rusakan hanya 5%, sedangkan tingkat kerusakan padi non-PRG 21% pada varietas Rojolele dan 50% pada varietas IR42 (Estiati *et al.*, 2006).

Studi pengkajian keamanan lingkungan dan dampak padi Bt terhadap organisme bukan sasaran (nontarget) dan perpindahan gen (*gene flow*) telah dilakukan di LUT selama tiga tahun. Hasil studi menunjukkan bahwa padi Bt yang mengandung gen *cry1A(b)* tidak berpengaruh terhadap populasi musuh alami dan organisme non target (termasuk mikroba tanah). Hal ini terkait dengan tidak adanya perbedaan populasi musuh alami dan organisme non target pada plot padi Bt maupun non Bt. Hasil studi perpindahan gen menunjukkan tidak terjadi perpindahan gen. Di samping gen *cry1A(b)*, tim peneliti Puslit Bioteknologi LIPI juga menggunakan gen fusi *cry1B-cry1A(a)* dan gen *cry1B* dengan promoter gen terinduksi pelukaan (*wound induceable*), *mpi* untuk merakit padi Bt yang lain. Hasil bioasai padi Bt yang positif mengandung gen *cry1B-cry1A(a)* atau *cry1B* terhadap hama PBP menunjukkan bahwa padi Bt mendapat serangan yang lebih rendah dibandingkan dengan padi non-Bt varietas Rojolele (Estiati *et al.*, 2006).

### **Kentang PRG tahan penyakit hawar daun**

Penelitian perakitan kentang PRG tahan penyakit hawar daun yang disebabkan oleh cendawan patogen *Phytophthora infestans* dimulai pada tahun 2006, atas kerja sama BB-Biogen dengan *University of Wisconsin* dengan melibatkan Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa) Lembang. BB-Biogen telah menerima materi genetik yang berupa konstruksi gen RB dan kentang PRG varietas Katahdin *event* SP904 dan SP951 untuk penelitian lanjutan di Indonesia. Ada dua pendekatan yang ditempuh BB-Biogen, yaitu persilangan dan transformasi. Kegiatan pertama yang dilakukan adalah persilangan varietas Granola dan Atlantic dengan kentang PRG varietas Katahdin *event* SP904 dan SP951. Kegiatan kedua adalah transformasi gen RB ke varietas Granola melalui mediasi *A. tumefaciens*.

Persilangan Katahdin PRG SP904 dan SP951 dengan Atlantic dan Granola menghasilkan biji F<sub>1</sub>. Kedua biji F<sub>1</sub> tersebut ditumbuhkan dan diuji secara molekuler dengan PCR untuk mendeteksi gen RB. Uji PCR menunjukkan hasil sebagai berikut: Grano-

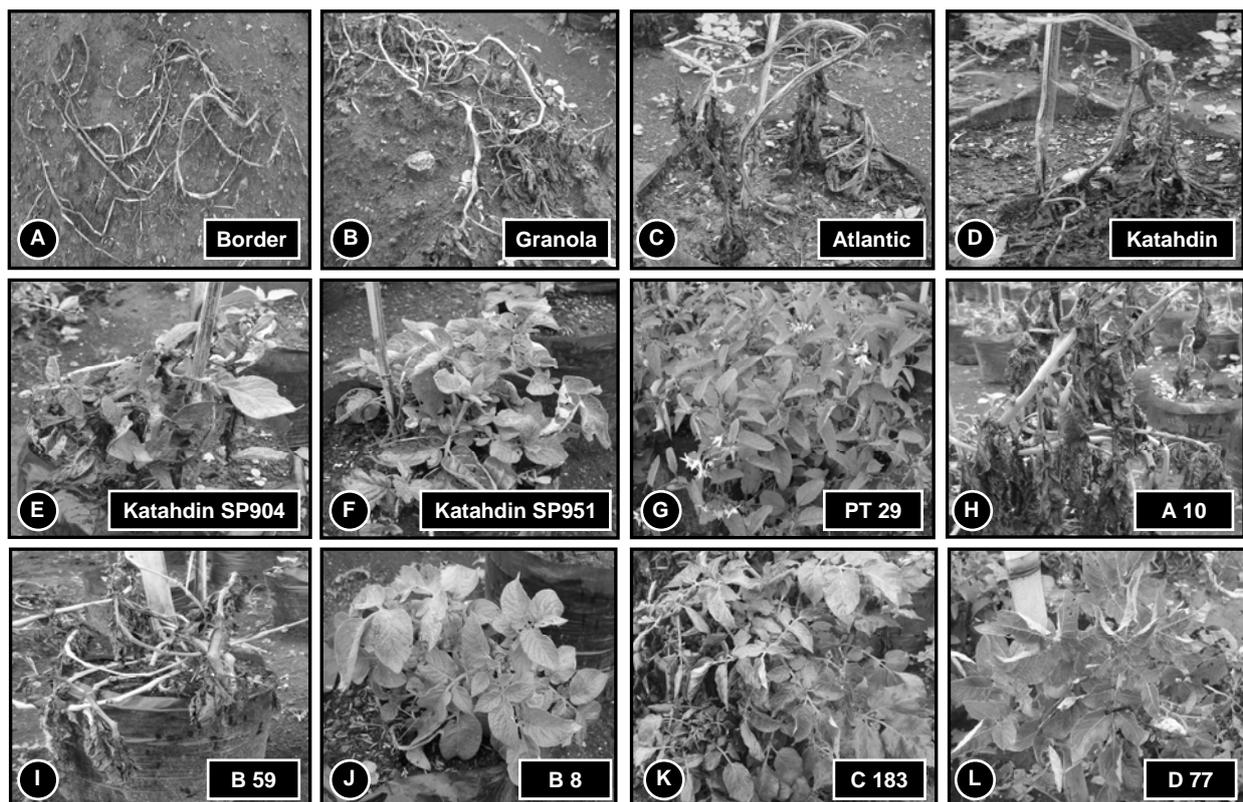
la x SP904 26,1% positif PCR, Granola x SP951 44,1% positif, Atlantic x SP904 33,3% positif, dan Atlantic x SP951 49,6% positif (Herman, 2008).

Pada tahun 2008, sebanyak 84 galur hasil persilangan diseleksi ketahanannya terhadap *P. infestans* di LUT di Pasirsarongge, Cipanas Jawa, Barat. Hasil seleksi menunjukkan bahwa pada 77 hari setelah tanam (HST) terdapat empat galur yang lebih tahan terhadap *P. infestans* dibandingkan dengan Katahdin PRG 904 dan SP951 (Gambar 1). Empat galur tersebut adalah B8 dan B26 (Atlantic x Katahdin PRG SP951), C183 (Granola x Katahdin PRG SP904), dan D89 (Granola x Katahdin PRG SP951). Pada tahun 2009, percobaan LUT dilakukan di Balitsa, Lembang, Jawa Barat. Enam puluh empat galur hasil persilangan diseleksi ketahanannya terhadap *P. infestans*. Penelitian di Lembang, menunjukkan tiga galur hasil persilangan lebih tahan dari Katahdin PRG SP904 dan SP951 pada 46 HST. Tiga galur tersebut adalah B49 (Atlantic x

Katahdin PRG SP951), C111 (Granola x Katahdin PRG SP904), dan D26 (Granola x Katahdin PRG SP951) (Gambar 2).

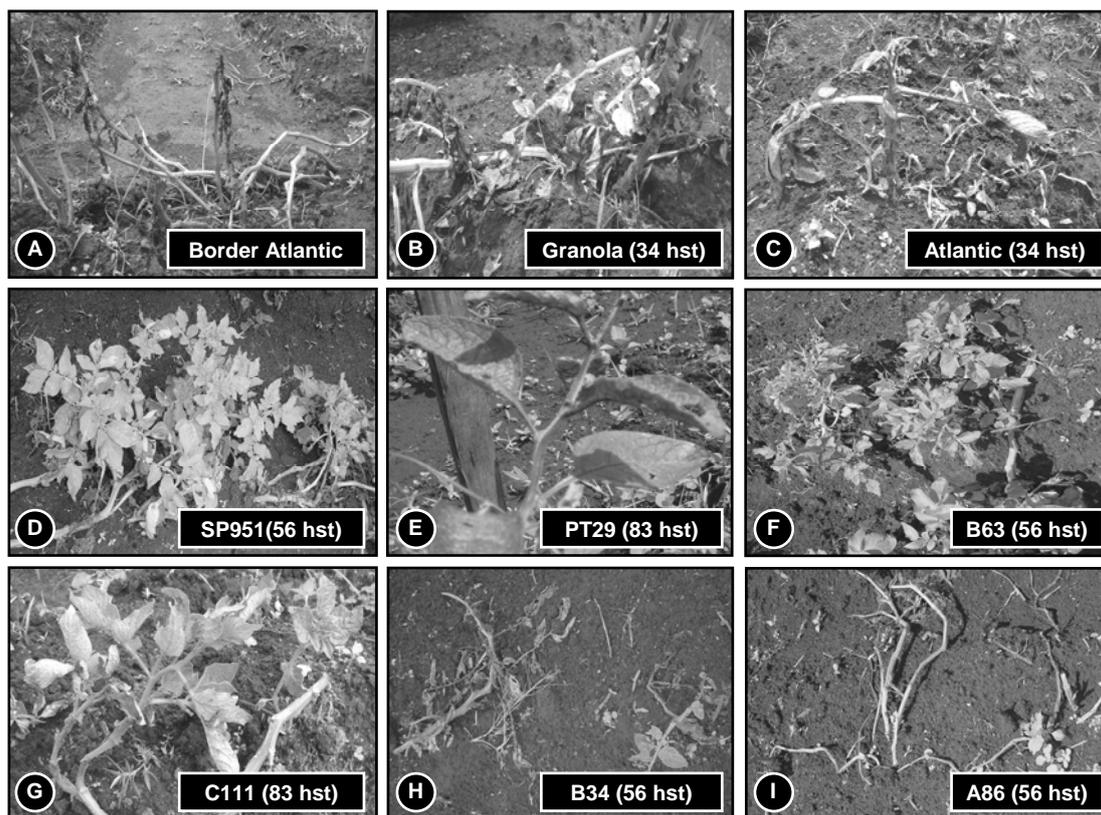
Gen RB hasil kloning dan konstruksi tim peneliti dari *University of Wisconsin* juga berhasil ditransformasikan ke kentang varietas Granola. Transformasi gen RB menghasilkan 95 transforman, 74 di antaranya telah dianalisis secara molekuler dengan PCR untuk mengetahui keberadaan gen RB. Hasil PCR menunjukkan 50 tanaman positif, berasal dari 20 *independent event* (Herman, 2008).

Seleksi ketahanan transforman terhadap *P. infestans* di Pasirsarongge terhadap 22 transforman pada tahun 2008 (pada lokasi yang sama dengan LUT hasil persilangan). Empat transforman sangat tahan dan satu transforman bereaksi tahan terhadap *P. infestans* (Herman *et al.*, 2009). Pada tahun 2009, sebanyak 20 transforman diuji di Lembang, 13 di antaranya tahan terhadap *P. infestans* (Herman *et al.*, 2010).



**Gambar 1.** Respon berbagai varietas kentang non PRG dan PRG terhadap serangan *Phytophthora infestans* pada 77 hari setelah tanam di lapangan uji terbatas, Pasirsarongge tahun 2008. A-D = (non PRG) rentan, E-F = (PRG) tahan, G = (kerabat liar) kebal, H-I = (hasil persilangan) rentan, J-L = (hasil persilangan) tahan.

Sumber: Ambarwati (2010).



**Gambar 2.** Respon berbagai varietas kentang non PRG dan PRG terhadap serangan *Phytophthora infestans* di lapangan uji terbatas, Balitsa, Lembang tahun 2009. A-C = (non PRG) rentan pada 34 HST, D = (PRG) tahan pada 56 HST, E = (kerabat liar) kebal pada 83 HST, F-G = (hasil persilangan) tahan pada 56 HST dan 83 HST, H-I = (hasil persilangan) rentan pada 56 HST, HST = hari setelah tanam.

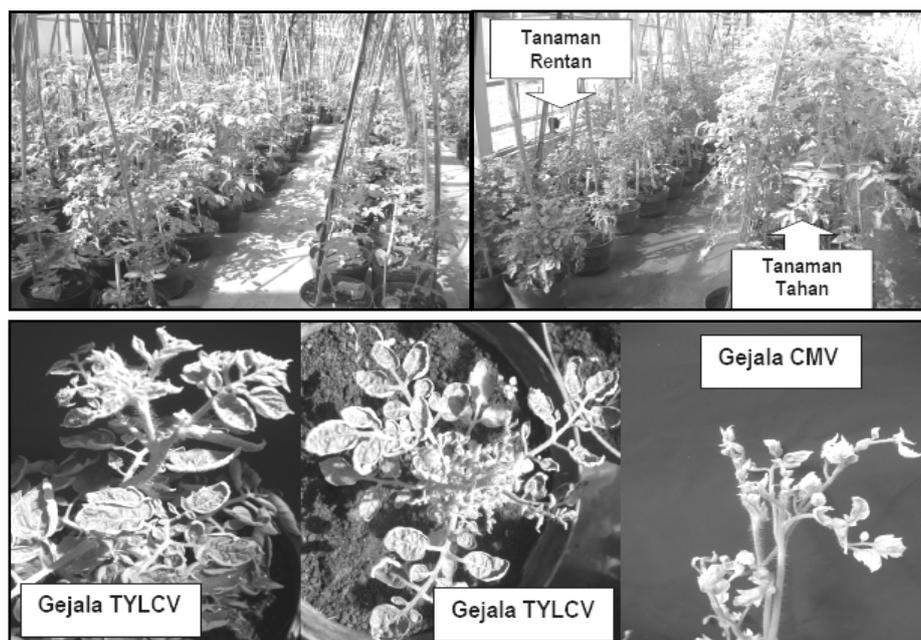
Sumber: Herman *et al.* (2010).

Dengan diperolehnya galur-galur yang tahan dapat mengurangi aplikasi fungisida. Hasil studi sosial ekonomi (*ex ante*) Adiyoga (2009) dari Balai Penelitian Tanaman Sayuran menunjukkan bahwa untuk mengendalikan *P. infestans*, petani menggunakan fungisida sebanyak 20-30 kali per musim tanam. Apabila menggunakan varietas kentang tahan *P. infestans*, petani dapat menghemat biaya penyemprotan fungisida antara Rp 4.097.625 (50%) sampai Rp 6.556.200 (80%) per musim tanam.

### Tomat PRG tahan penyakit virus TYLCV dan CMV

Perakitan tomat PRG tahan TYLCV dan CMV merupakan penelitian kerja sama BB-Biogen dengan Balitsa dan IPB. Dua galur tomat tahan virus gemini TYLCV (FLA456 dan FLA478) hasil persilangan konvensional dan dua *event* tomat PRG (R7-110-11 dan R7-51-12) tahan CMV telah dirakit

di AVRDC. Empat galur tomat tersebut digunakan sebagai *donor parent* dalam persilangan dengan empat tomat varietas Indonesia (Gondol Hijau, CL6046, Opal, dan Intan) sebagai *recurrent parent* di AVRDC (Herman, 2008). Uji lanjutan terhadap progeni hasil persilangan dilakukan di Indonesia, seperti persilangan ganda (*intercross*) dan efikasi ketahanan terhadap virus gemini dan CMV strain Indonesia. Hasil uji efikasi terhadap virus gemini di IPB menunjukkan bahwa FLA456 (tetua tahan TYLCV) lebih tahan dibandingkan dengan tetua FLA478. Terhadap progeni hasil persilangan varietas Intan dengan FLA456 dilakukan uji skrining ketahanan terhadap TYLCV (Santoso, 2008). Dari pengujian ini terdapat 30 tanaman yang tahan terhadap TYLCV. Progeni tahan TYLCV disilanggandakan dengan progeni persilangan dengan R7-110-11 dan R7-51-12 yang positif mengandung gen CP-CMV. Terhadap progeni hasil persilangan varietas



**Gambar 3.** Respon berbagai galur tomat PRG hasil persilangan ganda dan tomat non PRG terhadap serangan virus TYLCV dan CMV di rumah kaca, FUT, BB-Biogen Bogor tahun 2009. TYLCV = *tomato yellow leaf curl virus*; CMV = *cucumber mosaic virus*.

Sumber: Herman *et al.* (2010).

Intan dengan R7-110-11 (CMV-A) juga dilakukan uji skrining ketahanan terhadap CMV dan terdapat 14 tanaman tahan. Terhadap progeni hasil persilangan ganda diuji efikasi ketahanannya terhadap TYLCV dan CMV, serta dianalisis keberadaan gen CP-CMV dengan PCR. Hasil uji skrining ketahanan TYLCV pada progeni persilangan ganda menunjukkan 10 tanaman (dari 17 tanaman) bereaksi tahan, dan 12 tanaman positif mengandung gen CMV melalui analisis PCR (Santoso, 2008). Progeni tahan dan mengandung gen CP-CMV disilangbalikkan dengan tomat varietas Intan dan CL6046 (Herman, 2008). Respon ketahanan galur-galur tomat hasil persilangan ganda terhadap TYLCV dan CMV di rumah kaca tercantum pada Gambar 3.

Pada tahun 2009, 12 galur hasil persilangan ganda berlatar belakang Intan dan CL6046 diseleksi ketahanannya terhadap TYLCV dan CMV di Balitsa, Lembang. Galur-galur tersebut diinokulasi buatan secara mekanik untuk CMV dan melalui serangga vektor kutu kebul (*Bemisia tabaci*) untuk TYLCV, serta inokulasi alami. Hasil percobaan di lapang menunjukkan bahwa empat galur (F3-IC-CL-34-2-7, F3-IC-CL-34-2-4, F3-IC-CL-34-2-13, dan F3-IC-CL-34-2-9) yang berlatar belakang

CL6046 bereaksi sangat tahan, satu galur (F3-IC-CL-34-2-2) tahan terhadap serangan ganda TYLCV dan CMV. Respon ketahanan galur-galur tomat hasil persilangan ganda terhadap serangan TYLCV dan CMV tercantum pada Gambar 4.

### Status Komersialisasi

Ada lima tanaman PRG yang sudah dikomersialkan di luar negeri dan ditetapkan aman lingkungan di Indonesia, sesuai dengan keputusan Komisi Keamanan Hayati No. LB.150.905.155 dan No. LB.150.905.156 (Herman, 2009). Lima tanaman PRG tersebut adalah kedelai TH GTS 40-3-2, jagung Bt MON810, jagung TH GA21, kapas TH MON1445/1698, dan kapas Bt MON531/757/1076. Dari kelima tanaman PRG tersebut, hanya kapas Bt MON531/757/1076 yang dikomersialkan di Indonesia, dengan nama dagang Bollgard I. Kapas Bt ini dikembangkan secara terbatas di Takalar, Gowa, Bantaeng, Bulukumba, Bone, Soppeng, dan Wajo, Sulawesi Selatan, melalui Keputusan Menteri Pertanian (Kepmentan) No. 107/Kpts/KB.430/2/2001. Pada tahun 2001, kapas Bt ditanam oleh petani seluas 4.364 ha. Pada tahun 2002, pelepasan terbatas



**Gambar 4.** Respon berbagai galur tomat PRG hasil persilangan ganda dan tomat non PRG terhadap serangan virus TYLCV dan CMV di lapangan uji terbatas, Balitsa, Lembang tahun 2009. TYLCV = *tomato yellow leaf curl virus*; CMV = *cucumber mosaic virus*.

Sumber: Herman *et al.* (2010).

kapas Bt diperbarui dengan Kepmentan No. 03/Kpts/KB.430/1/2002. Luas pertanaman kapas Bt meningkat menjadi 5.393 ha di tujuh kabupaten tersebut. Pada tahun 2003 keluar Kepmentan No. 102/Kpts/KB.430/2/2003 yang mengizinkan penanaman kapas Bt di sembilan kabupaten, yaitu Takalar, Gowa, Bantaeng, Bulukumba, Bone, Soppeng, Wajo, Jeneponto, dan Sinjai. Pada tahun 2003, perusahaan pemilik kapas Bt memutuskan menghentikan pengembangan kapas Bt di Indonesia. Pada waktu itu, benih yang tersedia hanya cukup untuk ditanam pada lahan seluas 70 ha, karena merupakan sisa benih musim tahun 2002 (Herman, 2009).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Teknik rekayasa genetik telah diaplikasikan dalam upaya perbaikan sifat sumber daya genetik tanaman untuk ketahanan terhadap cekaman biotik dan menghasilkan tanaman PRG tahan serangga hama dan penyakit virus patogen, yang telah dikomersialkan secara luas sejak 1996.

2. Penelitian rekayasa genetik untuk merakit tanaman tahan cekaman biotik telah dilakukan di Indonesia sejak 1997.
3. Beberapa tanaman PRG tahan cekaman biotik seperti padi PRG tahan hama penggerek batang, kentang PRG tahan penyakit hawar daun, dan tomat PRG tahan penyakit virus TYLCV dan CMV telah diuji ketahanannya di lapangan uji terbatas.

### Saran

Menyadari bahwa teknologi rekayasa genetik membutuhkan biaya mahal, tingkat kesulitan tinggi, dan sulit memperoleh konstruksi gen dari sifat yang diinginkan, maka diperlukan langkah-langkah:

1. Pembinaan tenaga usia muda dalam bidang kultur jaringan dengan penekanan pada efisiensi regenerasi tanaman dan biologi molekuler, khususnya untuk teknik isolasi, kloning, dan karakterisasi gen.
2. Kerja sama internasional dengan berbagai instansi pemerintah maupun swasta yang mempunyai kompetensi dalam rekayasa genetik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiyoga, W. 2009. Costs and benefits of transgenic late blight resistant potatoes in Indonesia. *In* G.W. Norton and M.H. Desiree (*ed.*) Projected Impacts of Agricultural Biotechnologies for Fruits and Vegetables in the Philippines and Indonesia. ISAAA SEAsia Center, Los Banos Laguna 4030, Philippines. p. 86-104.
- AgBios. 2009. Lepidopteran pest resistance maize MON-89034-3 (MON89034). AgBios GM Database. Last modified on Monday, November 09, 2009. Available at [http://cera-gmc.org/index.php?Evidcode=MON89034&hstIDXCode=1&gType=IR&AbbrCode=&atCode=&stCode=&coIDCode=&action=gm\\_crop\\_database&mode=Submit](http://cera-gmc.org/index.php?Evidcode=MON89034&hstIDXCode=1&gType=IR&AbbrCode=&atCode=&stCode=&coIDCode=&action=gm_crop_database&mode=Submit)
- Alphey, N., P.G. Coleman, C.A. Donnelly, and L. Alphey. 2007. Managing insecticide resistance by mass release of engineered insects. *J. Econ. Entomol.* 100(5):1642-1629.
- Alphey, N., M.B. Bonsall, and L. Alphey. 2009. Combining pest control and resistance management: Synergy of engineered insects with Bt crops. *J. Econ. Entomol.* 102(2):717-732.
- Ambarwati, A.D. 2010. Pemanfaatan gen RB dalam pengembangan tanaman kentang tahan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*). Disertasi Doktor Institut Pertanian Bogor.
- Ambarwati, A.D., I. Hanarida, A. Apriana, T.J. Santoso, I.S. Dewi, A. Sisharmini, dan IM. Samudra. 2004. Perakitan tanaman padi transgenik untuk ketahanan terhadap hama penggerek batang. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian BB-Biogen tahun 2004.
- Bates, S., J.Z. Zhao, R.T. Roush, and A.M. Shelton. 2005. Insect resistance management in GM crops: Past, present and future. *Nat. Biotechnol.* 23:57-62.
- Dewi, I.S., I.S. Hanarida, D. Damayanti, A. Apriana, dan T.J. Santoso. 2002. Bioasai lanjutan tanaman putative transgenik padi *cryIA* generasi T1, T2, dan T3. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Tahun 2002.
- Estiati, A., S. Rahmawati, dan S. Purwantomo. 2006. Aplikasi teknologi DNA untuk peningkatan ketahanan terhadap hama penggerek padi. <http://www.biotech.lipi.go.id/index.php?option=content&task=view&id=46&catid=56&Itemid=48>.
- Frisvold, G.B. and Reeves J.M. 2008. The costs and benefits of refuge requirements: the case of Bt cotton. *Ecol. Econ.* 65(1):87-97.
- Hanarida, I., A.D. Ambarwati, I.S. Dewi, A. Apriana, dan T.J. Santoso. 2002. Transformasi padi Japonica (T309) dan Indica dengan gen *cryIA*. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Tahun 2002.
- Herman, M. 2003. Status perkembangan kapas Bt. *Buletin AgroBio* 6(1):8-25.
- Herman, M. 2007. Sebelas tahun kapas Bt dan status global. *Jurnal AgroBiogen* 3(2):73-79.
- Herman, M. 2008. Tekonologi rekayasa genetik dan status penelitiannya di Indonesia. *Dalam* B. Purwantara, dan M. Thohari (*eds.*) Tanaman Produk Rekayasa Genetik dan Kebijakan Pengembangannya. Volume 1. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. 106 hlm.
- Herman, M. 2009. Status global tanaman produk rekayasa genetik dan regulasinya. *Dalam* B. Purwantara dan M. Thohari (*eds.*) Tanaman Produk Rekayasa Genetik dan Kebijakan Pengembangannya. Volume 2. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. 153 hlm.
- Herman, M., E. Listanto, A.D. Ambarwati, T.J. Santoso, M. Bustamam, D. Damayanti, H. Purwanti, A. Sisharmini, A. Apriana, E. Sofiari, A. Duriat, E. Suryaningsih, dan S.H. Hidayat. 2010. Pembentukan tanaman transgenik kentang dan tomat tahan penyakit yang dapat mengurangi 50% aplikasi pestisida. Laporan Hasil Penelitian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Tahun 2009.
- James, C. 2009. Global review of commercialized Biotech/GM crops: 2009. ISAAA Brief No. 41. ISAAA, Ithaca, NY.
- Loedin, I.H.S. 2008. Status perkembangan bioteknologi pangan di tingkat global. Media Workshop Manfaat Bioteknologi dalam Mengatasi Krisis Pangan. IndoBIC, CropLife, dan PBPI. Jakarta, 28 Agustus 2008.
- Manshardt, R. 2004. Crop improvement by conventional breeding or genetic engineering: how different are they? BIO-5, January 2004. Biotechnology. Cooperative Extension Service. College of Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawaii at Manoa.
- Patent Lens (PL). 2007. Promoters used to regulate gene expression. <http://www.bios.net/daisy/promoters/242/g2/266.html>
- Pena, L. 2005. Transgenic plants: Methods and protocols. *Methods in Molecular Biology* Vol. 286.
- Penna, D. 2010. IRM risk assessment: Preparing for launch of Bt crops in new areas. Stewardship Training 7-8 April 2010, Bogor.

- Shelton, A.M., J.D. Tang, R.T. Roush, T.D. Metz, and E.D. Earle. 2000. Field tests on managing resistance to Bt-engineered plants. *Nat. Biotech.* 18:339-342.
- Santoso, T.J., I. Hanarida, A.D. Ambarwati, A. Apriana, dan I.S. Dewi. 2002. Analisis molekuler lanjutan tanaman putatif transgenik padi gen *cryIA* generasi T1 dan T2. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Tahun 2002.
- Santoso, T.J. 2005. Report of ABSPII training on Initial Hybridization for Development of Indonesian Multiple Viruses Resistant Tomato in AVRDC December 1, 2004-February 28, 2005.
- Santoso, T.J. 2008. Identifikasi begomovirus Indonesia dan analisis diversitas genetik gen AV1 serta pemanfaatannya untuk pengembangan tanaman tahan virus. Disertasi Doktor Institut Pertanian Bogor.
- Song, J., J.M. Bradeen, S.K. Naess, J.A. Raasch, S.W. Wielgus, Haberlach, J.T. Liu J., S. Kuang, S. Austin-Phillips, Buell, J.M. Helgeson, and J. Jiang. 2003. Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:9128-9133.
- Vidya, C.S.S., M. Manoharan, C.T.R. Kumar, H.S. Savitri, and G.L. Sita. 2000. Agrobacterium mediated transformation tomato with coat protein of Physalis mottle tymovirus. *J. Plant Physiol.* 156:106-110.