

Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman melalui Keragaman Somaklonal

Sri Hutami, Ika Mariska, dan Yati Supriati

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

ABSTRACT

Improvement of Plant Genetic Variability through Somaclonal Variations. Sri Hutami, Ika Mariska, and Yati Supriati. High genetic variability's are important factors in the development of new crop varieties. *In vitro* techniques are applicable for development of crop variability that is not found in the gene pool. One of the *in vitro* techniques that can be used for this purpose is the somaclonal variation technique. Somaclonal variation may be derived from genetic variations in explants and genetic variations in tissue cultures. Variations in the explant may be obtained from cell mutations or polysomic mutations of a certain tissue. Genetic variations in tissue culture may be caused by ploidy of chromosomes (endomitosis fusion), changes of chromosome structures (crossings), as well as changes of genes and cytoplasm. Changes of genetic characters may be improved if an organic compound was added into the medium. To improve the plant tolerances to biotic or abiotic factors, selection components may also be added to the medium. Research results showed that somaclonal variation in tissue culture can improve genetic variations in plants. The variation produced in tissue culture provide chances to develop new plant genotypes. Many selection components, such as Gamma-ray irradiation, Al contents and low pH, pure toxin or filtrate, polyethylene glycol (PEG), and plant growth regulators can be used to improve somaclonal variations in many plants to produce new genotypes.

Key words: Genetic variability, somaclonal variation.

PENDAHULUAN

Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu faktor penting untuk merakit varietas unggul baru. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan memanfaatkan plasma nutfah yang tersedia di alam dan dapat pula dengan melakukan persilangan. Sifat-sifat tertentu sering tidak ditemukan pada sumber gen yang ada sehingga teknologi lainnya perlu diterapkan.

Salah satu teknologi pilihan yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman adalah melalui teknologi kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* biasanya merupakan sumber terkaya dalam memproduksi variasi genetik. Dalam beberapa publikasi penggunaan regenerasi dinamakan sesuai dengan

asal regenerasi tanaman baru tersebut. Misalnya tanaman yang berasal dari kalus disebut *calliclones* (Skirvin dan Janik 1976), sedang tanaman yang berasal dari protoplas disebut *protoclones* (Shepard *et al.* 1980). Larkin dan Scowcroft (1981) menghasilkan berbagai variasi somaklonal yang tersebar secara luas dan disebutkan bahwa tanaman yang berasal dari berbagai bentuk kultur sel disebut *somaclones* dan variasi genetik yang terjadi termasuk variasi/keragaman somaklonal.

Keragaman somaklonal adalah keragaman genetik yang dihasilkan melalui kultur jaringan (Larkin dan Scowcroft 1981; Scowcroft *et al.* 1985). Menurut Wattimena (1992) keragaman somaklonal berasal dari keragaman genetik eksplan dan keragaman genetik yang terjadi di dalam kultur jaringan. Keragaman pada eksplan disebabkan adanya sel-sel bermutasi maupun adanya polisomik dari jaringan tertentu. Keragaman genetik yang terjadi di dalam kultur jaringan disebabkan oleh penggandaan jumlah kromosom (fusi endomitosis), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen dan sitoplasma (Evans dan Sharp 1986; Ahlowalia 1986). Dengan demikian, dari kultur jaringan dapat diseleksi genotipe yang berguna bagi pemuliaan tanaman. Keragaman genetik dapat dicapai antara lain melalui fase tak berdiferensiasi yang relatif panjang (Wattimena 1992). Daud (1996) menyatakan bahwa mutasi spontan yang terjadi pada sel somatik berkisar antara 0,2-3%. Keragaman tersebut dapat ditingkatkan dengan pemberian mutagen baik fisik maupun kimiawi.

Salah satu metode keragaman somaklonal yang banyak dimanfaatkan adalah seleksi *in vitro*. Metode tersebut lebih efektif dan efisien karena perubahan lebih diarahkan pada perubahan sifat yang diharapkan. Perubahan sifat genetik pada sel somatik yang dikulturkan sering membentuk tanaman mutan baru walaupun tanpa diberi perlakuan mutagen (Linaceru dan Vazquez 1992; Starys 1992). Perubahan sifat genetik tersebut akan meningkat apabila ke dalam media diberikan komponen organik tertentu yang dapat memunculkan variasi genetik. Untuk ketahanan terhadap faktor biotik dan abiotik, ke dalam media diberikan komponen seleksi. Untuk ketahanan terhadap kekeurangan, diberikan PEG (Short *et al.* 1987; Adkins *et al.*

1995). Senyawa tersebut telah digunakan pada tanaman padi, anggur, dan sorgum (Adkins *et al.* 1995; Duncan *et al.* 1995; Dami dan Hughes 1997). Untuk ketahanan terhadap aluminium (Al), diberikan Al dan pH rendah. Melalui teknik ini, telah dihasilkan somaklon baru yang tahan lahan masam pada kedelai (Mariska *et al.* 2004), juga pada kentang dan tomat (Starvarek dan Rains 1984) serta sorgum (Smith *et al.* 1983).

Menurut Ahlowalia dan Maluszynski (2001) penggunaan radiasi seperti sinar X, Gamma, dan neutrons serta mutagen kimiawi untuk menginduksi variasi pada tanaman telah banyak dilakukan. Induksi mutasi telah digunakan untuk peningkatan variasi tanaman penting seperti gandum, padi, barley, kapas, kacang tanah, dan kacang-kacangan lainnya yang diperbanyak melalui biji.

Seleksi *in vitro* telah banyak dimanfaatkan untuk ketahanan terhadap faktor biotik seperti patogen. Toksin murni dan filtrat umumnya digunakan untuk komponen seleksi. Apabila toksin tidak diketahui atau kurang efektif maka filtrat dapat digunakan dan di samping itu, harganya lebih murah. Penggunaan filtrat atau toksin untuk ketahanan terhadap penyakit telah dilakukan pada tanaman persik, pir (Nagatomi 1996), tomat (Toyoda *et al.* 1984) dan *Vitis vinifera* (Jayasankar *et al.* 1998). Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya korelasi antara sel somatik yang sensitif terhadap filtrat atau toksin dengan tanaman (hasil regenerasi) yang tahan penyakit. Di samping itu, sifat tahan penyakit yang ditimbulkan karena keragaman somaklonal diwariskan pada turunannya.

Muller *et al.* (1990) juga mengatakan bahwa variasi somaklonal pada tanaman yang dihasilkan dari kultur jaringan dapat digunakan untuk meregenerasikan kultivar baru. Dua tipe umum pada variasi ploidi, yaitu poliploidi dan aneuploidi sering ditemukan pada kultur jaringan sel (Roy 1990). Di antara faktor-faktor yang mempengaruhi frekuensi dan spektrum variasi somaklonal, zat pengatur tumbuh memegang peranan penting dalam induksi beberapa perubahan di dalam kromosom (Nair dan Seo 1995 dalam Do *et al.* 1999). Dengan terbuktinya bahwa keragaman somaklonal dapat membentuk variasi baru maka metode tersebut diaplikasikan pada tanaman hortikultura, pangan, dan industri.

PEMANFAATAN DAN PENERAPAN

Collin dan Edwards (1998) melaporkan bahwa pada tahap awal variasi somaklonal dapat memberikan suatu kontribusi yang nyata pada pemuliaan tanaman. Regenerasi selanjutnya selalu menunjukkan variasi yang luas dalam morfologi tetapi sebagian

besar akan hilang pada biji pertama yang dihasilkan. Walaupun variasi tidak mempengaruhi semua sifat dan tidak selalu menguntungkan di dalam pertanian, tetapi dengan seleksi kemungkinan dapat diperoleh nomor-nomor yang berguna dari sumber variasi tersebut. Misalnya peningkatan ketahanan terhadap herbisida klorosulfuran pada tanaman jagung, kenaikan toleransi terhadap imidazilinone pada jagung, ketahanan terhadap *Helminthosporium sativum* pada gandum dan barley, toleransi terhadap garam pada rami, juga peningkatan terhadap pembekuan, kualitas butir dan kandungan protein pada gandum, serta peningkatan ukuran biji dengan kandungan protein yang tinggi pada padi.

Setelah ditetapkannya kerja sama antara *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan *International Atomic Energy Agency* (IAEA) mengenai teknik nuklir di bidang pertanian, lebih dari 1800 kultivar telah dihasilkan baik sebagai mutan langsung maupun mutan yang berasal dari persilangan setelah kultivar tersebut satu peragaan disebar di 50 negara. Menurut FAO/IAEA database, 465 mutan disebarluaskan melalui tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, terutama tanaman florikultura dan beberapa tanaman buah-buahan, termasuk krisan, *Alstroemeria*, dahlia, bougenvil, mawar, *Achimenes*, begonia, anyelir, *Streptocarpus*, dan *Azalea*. Radiasi pada kultur *in vitro* dilakukan pada palem, apel, ubi jalar, kentang, dan nenas. Radiasi juga dilakukan pada tanaman yang diperbanyak secara mikropropagasi, yaitu pada tunas axilar dan tunas adventif, meristem apikal, kultur kalus regeneratif, antera, dan mikrospora, serta embrio somatik (Ahlowalia dan Maluszynski 2001). Walaupun telah banyak hasil pemanfaatan variasi somaklonal secara kultur *in vitro* pada pemuliaan tanaman, penelitian konvensional masih dilakukan dengan kemajuan yang nyata pada tanaman-tanaman penting.

Beberapa contoh hasil pemanfaatan variasi somaklonal sebagai tanaman unggul baru di antaranya:

1. Mawar mini (*Rosa hybrida L.*)

Mawar yang banyak ditanam di Indonesia umumnya merupakan hasil introduksi. Untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman tersebut maka dilakukan keragaman somaklonal kombinasi radiasi sinar gamma 0-12 krad pada mata tunas *in vitro* (Handayani *et al.* 2002). Setelah regenerasi, mata tunas *in vitro* tersebut diisolasi dari biakan yang telah mengalami periode kultur yang lama (± 24 bulan). Perubahan sifat genetik yang diekspresikan pada perubahan kelopak dan warna bunga dapat dilihat mulai dari biakan dalam botol. Setelah diaklimatisasi dan diperbanyak secara konvensional, perubahan warna tetap dipertahankan (Tabel

1). Terjadinya perubahan pada kelopak dan warna bunga dapat terjadi karena adanya mutasi pada kumpulan sel somatik dan dapat terekspresi pada sel meristem dan akan membentuk suatu sektor yang stabil (Boertjes dan Van Harten 1978). Menurut Ismachin (1988), perubahan warna bunga dapat bersifat khimera atau perubahan seluruhnya. Pada Tabel 1 terlihat bahwa di samping terjadi perubahan warna bunga terlihat pula adanya perubahan jumlah kelopak bunga. Dengan demikian, keragaman genetik yang ditimbulkan karena keragaman somaklonal pada mawar mini terekspresi pada warna dan struktur bunga. Perubahan tersebut bersifat stabil sampai tanaman ditumbuhkan di rumah kaca dan diperbanyak secara vegetatif berulang kali.

2. Panili (*Vanilla planifolia*)

Panili merupakan salah satu tanaman industri yang potensial untuk dikembangkan. Masalah utama dalam pengembangannya adalah serangan patogen *Fusarium oxysporum*. Kerusakan yang diakibatkan penyakit ini dapat mencapai 80% dari pertanaman (Balitro 1994) dengan kerugian yang ditimbulkannya diperkirakan sebesar 32 miliar rupiah setiap tahunnya. Untuk mendapatkan genotipe baru yang tahan penyakit telah dilakukan seleksi *in vitro* dengan komponen seleksi berupa toksin murni asam fusarat dan filtrat. Bahan tanaman yang diseleksi berupa struktur globu-

lar ukuran ± 1 mm. Tunas hasil seleksi dengan filtrat (0-50%) diseleksi kembali dengan asam fusarat (FA) (0-75 ppm). Demikian pula sebaliknya selalu diseleksi silang. Seleksi silang dilakukan pada biakan yang telah diseleksi dengan komponen FA maupun filtrat dan berhasil diregenerasi membentuk tunas (Kosmiatin *et al.* 2000). Setelah biakan diseleksi dengan filtrat (ekstrak) dan FA selanjutnya dilakukan aklimatisasi di rumah kaca dan diuji ketahanannya terhadap *F. oxysporum*. Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase keberhasilan aklimatisasi cukup tinggi, yaitu antara 75,0-97,8%. Bibit hasil seleksi *in vitro* penampakannya lebih tegar dan daunnya relatif lebih tebal dibandingkan dengan kontrol. Hasil pengujian menunjukkan adanya harapan karena satu bulan setelah inokulasi dengan *F. oxysporum*, persentase bibit yang hidup mencapai 95,8% untuk bibit hasil seleksi, sedangkan kontrol mati (100%).

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seleksi *in vitro* dapat meningkatkan sifat ketahanan terhadap penyakit *F. oxysporum*. Somaklon tersebut dapat digunakan oleh pemulia tanaman untuk merakit varietas baru.

3. Nilam (*Pogostemon cablin*)

Nilam merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang penting dan Indonesia sebagai pemasok utama (90%) di pasaran dunia. Nilai ekspor yang diper-

Tabel 1. Keragaman yang ditimbulkan karena iradiasi pada kultur *in vitro* dua varietas mawar mini pada generasi ketiga.

Dosis iradiasi (krad)	Keragaman bunga							
	Romantica Meilandina				Prince Meilandina			
	Eb (%)	warna	jk	Pkbb (%)	Eb (%)	warna	jk	Pkbb (%)
0	62,2	Merah muda	12	-	46,7	Merah tua	10	0
1	44,4	Putih	26	11,6	33,3	Merah agak muda	14	40
2	31,1	Putih	26	11,6	22,2	Merah agak muda	12	20
3	26,7	Putih	24	100,0	15,5	Merah agak muda	12	20
4	17,8	Putih	20	66,6	8,9	Merah agak muda	8	0
6	11,1	Putih	20	66,6	8,9	Merah agak muda	8	0
8	6,7	Putih	14	16,7	2,2	Merah agak muda	8	0
10	4,4	Putih	14	16,7	0	Merah agak muda	-	-
12	0	Putih	-	-	0	-	-	-

Eb = persentase eksplan berbunga, jk = jumlah kelopak, pkbb = peningkatan keragaman kelopak bunga.

Sumber: Handayani *et al.* (2002).

Tabel 2. Aklimatisasi dari planlet panili tahan filtrat *F. oxysporum* dan FA serta hasil uji ketahanannya terhadap konidia *F. oxysporum*.

Perlakuan	Planlet hidup, 1 bulan setelah aklimatisasi	Bibit hidup, 1 bulan setelah inokulasi
Kontrol	88,0	0
1150%	97,8	95,8
1150% FA 15%	75,0	95,0

1150% = regenerasi hasil seleksi dengan ekstrak 50%, 1150% FA 15% = regenerasi hasil seleksi dengan ekstrak FO 50% dan FA15 ppm.

Sumber: Kosmiatin *et al.* (2000).

oleh dari minyak nilam sebesar US\$ 22.526 (Ditjen Bina Produksi dan Perkebunan 2004). Peningkatan rendemen minyak dan varietas yang telah ada sulit dilakukan karena nilam di Indonesia tidak berbunga. Salah satu teknologi yang dapat dimanfaatkan adalah melalui keragaman somaklonal. Kalus yang berumur 1-24 bulan diradiasi sinar gamma 1-3 krad. Untuk kalus yang berumur sampai 24 bulan, setiap 2 bulan sekali selalu disubkultur pada media baru untuk pengkalusan. Setelah subkultur dan mencapai umur yang telah ditetapkan, biakan diradiasi. Setelah radiasi dilakukan regenerasi dan aklimatisasi di rumah kaca (Mariska dan Lestari 2003). Hasil penelitian menunjukkan adanya keragaman yang tinggi pada somaklon yang dihasilkan (Tabel 3).

Perlakuan radiasi mengakibatkan nilai rataan menjadi lebih kecil atau bahkan tidak berpengaruh. Adanya keragaman di antara nomor-nomor hasil radiasi menunjukkan potensi adanya nomor-nomor yang diharapkan memiliki sifat-sifat yang lebih baik. Dari sekitar 411 somaklon yang berhasil ditanam di lapang, setelah dianalisis kadar minyaknya diperoleh 5 somaklon baru yang kadar minyaknya lebih tinggi dibandingkan tanaman induknya, yaitu nilam Aceh. Keragaman yang ditimbulkan tidak hanya pada kadar minyaknya tetapi juga pada komponen pertumbuhan lainnya. Dari data ini menunjukkan bahwa walaupun tanaman nilam tidak berbunga tetapi melalui metode keragaman somaklonal, keragaman genetiknya dapat ditingkatkan.

4. Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.)

Indonesia selalu mengimpor kedelai setiap tahunnya karena produksi yang tidak sejalan dengan kebutuhan nasional. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi adalah memanfaatkan lahan masam yang luasnya mencapai 101.519 juta ha (Notohadiprawiro 1983). Namun masalah yang dihadapi dalam usaha pengembangannya adalah terbatasnya varietas yang toleran terhadap lahan masam. Untuk mengatasi masalah tersebut, dapat dilakukan dengan memanfaatkan seleksi *in vitro*. Melalui seleksi *in vitro*, massa sel somatik dari varietas Sindoro (varietas yang telah dilepas dan tahan lahan masam) yang diinduksi dari embriozigotik muda diseleksi dengan Al dan pH rendah (= 4). Sebelum diseleksi, masa sel diradiasi sinar gamma (400 rad) terlebih dahulu. Untuk masa sel yang insensitif terhadap Al dan pH rendah dan dapat diregenerasi melalui jalur embriogenesis somatik kemudian benih somatiknya diaklimatisasi di rumah kaca. Dari mulai pertumbuhan di rumah kaca sampai pertanaman di lahan masam terdapat keragaman yang tinggi sampai pada produksi polongnya. Sampai generasi keempat di lahan masam Gajrug Kabupaten Banten, diperoleh tiga tanaman yang produksi polongnya lebih tinggi dari Sindoro (Mariska *et al.* 2004). Ketiga tanaman tersebut berasal dari satu nomor dan diduga merupakan hasil segregasi. Oleh karena itu, ketiga tanaman tersebut digalurkan dan dijadikan nomor tersendiri (Tabel 4).

Selain tahan Al dan pH rendah juga telah diperoleh nomor-nomor kedelai yang tahan kekeringan melalui seleksi *in vitro* dengan radiasi sinar gamma 400

Tabel 3. Nilai tengah kelompok tanaman nilam asal kalus yang tidak diradiasi dan diradiasi.

Peubah	Panen	Tidak diradiasi	Diradiasi	Pengujian
Kadar minyak (%)	SIP1	2,52	2,25	**
	SIP2	2,94	2,51	*
	S2PI	2,84	2,69	tn
Patchouli alkohol (%)	SIP1	44,25	44,77	tn
	SIP2	50,46	52,16	tn
	S2PI	55,56	52,37	*
Panjang daun (cm)	SIP1	7,58	6,69	**
	SIP2	9,45	8,74	**
	S2PI	9,34	9,19	tn
Lebar daun (cm)	SIP1	7,49	6,50	**
	SIP2	9,45	8,47	**
	S2PI	9,30	8,49	tn
Tebal daun (cm)	SIP1	0,48	0,46	tn
	SIP2	0,62	0,65	tn
	S2PI	0,83	0,55	tn
Bobot basah terna (g/pohon)	SIP1	1.468,79	121,93	**
	SIP2	1.388,61	1.346,67	tn
	S2PI	1.330,46	1.130,46	*

* = berbeda nyata pada taraf 5%, ** = berbeda nyata pada taraf 1%, tn = tidak berbeda nyata, S = seri, P = panen.

Sumber: Syamsudin *et al.* (1997).

Tabel 4. Parameter pertumbuhan tanaman kedelai pilihan generasi keempat di Gajrug (Aldd 16,02 me, kejenuhan AI 45,98%, pH 4,67), Banten.

Parameter	Tanaman pilihan			Sindoro ¹
	I	II	III	
Tinggi tanaman (cm)	18	16	22	23/15,60
Polong total	37	28	54	30/6,60
Polong isi	35	22	54	19/4,60
Polong hampa	2	4	0	30,2,70

Keempat tanaman ini berasal dari H2-18, ¹ = data Sindoro merupakan nilai maksimum/nilai rata-rata dari 190 tanaman contoh.

Sumber: Mariska (2002).

rad pada massa sel embriogenik (kalus) dan seleksi massa sel dengan PEG (0, 25, 50, dan 75%) untuk memperoleh mutan yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Setelah seleksi, dilakukan regenerasi sel yang toleran terhadap PEG untuk membentuk struktur embrio somatik dan benih somatik. Benih somatik yang dihasilkan dari perlakuan PEG 25% sebanyak 5 buah, dua dari varietas Sindoro dan tiga dari varietas Wilis (Husni *et al.* 2004).

5. Padi (*Oryza sativa* L.)

Salah satu masalah yang dihadapi petani saat ini adalah masih terbatasnya bibit padi yang tahan kekeringan dan berproduksi tinggi sedangkan varietas padi gogo yang dikembangkan saat ini produksinya masih rendah dan tidak tahan serangan penyakit blas. Lestari *et al.* (2005) telah berhasil memperoleh somaklon yang menunjukkan keragaman genetik yang tinggi dan tahan kekeringan. Dengan dosis radiasi 500, 1000, 2000 rad pada kalus padi Towuti dan Gajahmungkur dan dosis radiasi 300, 500, 750 rad pada kalus padi IR64 serta penggunaan PEG (BM 6000) konsentrasi 20% sebagai komponen seleksi, telah diperoleh 9 somaklon asal Towuti, 5 somaklon asal Gajahmungkur, dan 8 somaklon asal IR64 yang unggul.

6. Pisang (*Musa* spp.)

Pemuliaan pisang di Indonesia sulit dilakukan karena keragaman genetiknya rendah. Peningkatan keragaman dapat diperoleh dari sel-sel somatik yang pada dasarnya merupakan individu yang berkemampuan untuk beregenerasi membentuk tanaman lengkap (Mariska *et al.* 2006). Pisang ambon adalah salah satu jenis pisang yang populer dan berkembang di Indonesia. Perkembangan pertanaman ini juga diikuti dengan perkembangan penyakitnya, yaitu penyakit layu fusarium (*Panama disease*) yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *cubense*. Hasil penelitian Mariska *et al.* (2006) menunjukkan bahwa radiasi sinar gamma 1000 rad dapat menginduksi mutasi pada kalus pisang ambon kuning. Bibit yang berasal dari ka-

lus yang bertahan hidup setelah diradiasi dan diseleksi dengan toksin asam fusarat pada konsentrasi 45 ppm ketahanannya berkorelasi positif ketika diuji dengan isolat. Korelasi positif juga terlihat ketika tanaman diuji di lokasi endemik yang ditandai dengan berbuahnya tanaman pisang 7 bulan setelah tanam.

7. Bawang (*Allium* spp.)

Kultur jaringan juga telah dilakukan pada berbagai *Allium* spp. untuk produksi massal secara *in vitro*, perkembangan poliploid, dan konservasi secara *in vitro*. Do *et al.* (1999) meneliti pengaruh media dasar dan zat pengatur tumbuh dalam inisiasi kalus dan regenerasi planlet pada *Allium tuberosum* liar ($2n = 4x = 32$). Inisiasi kalus tertinggi diperoleh dari eksplan *flower bud* yang dikulturkan pada media dasar MS yang diberi 2,4-D 1 mg l⁻¹ dan BA 1 mg l⁻¹. Jumlah planlet tertinggi dicapai dari kalus yang ditumbuhkan pada media MS ditambah NAA 0,2 mg l⁻¹ dan BA 2 mg l⁻¹. Analisis kromosom dari regeneran yang berasal dari kalus menunjukkan variasi dalam ploidi, seperti $2n = 28, 29, 30, 31, 33$ seperti normalnya tetraploid. Selama periode kultur 2 generasi, satu aneuploid regeneran dengan $2n = 30$ (dinamai At30) tampak lebih baik viabilitas dan pertumbuhannya daripada tanaman tetraploid.

8. Anggur (*Vitis vinifera*)

Variasi somaklonal dan mutasi yang diinduksi secara *in vitro* juga telah diteliti pada tanaman anggur (*Vitis vinifera* cv. Podarok Magaracha) yang diregenerasikan dari eksplan daun melalui somatik embriogenesis oleh Kuskova *et al.* (1997). Perhitungan kromosom pada ujung akar digunakan untuk menskrining tanaman-tanaman yang diregenerasikan. Di antara 242 tanaman yang digunakan, 6 (2,5%) tetraploid ($2n = 4x = 76$) telah diidentifikasi; lainnya adalah diploid ($2n = 2x = 38$). Khimera maupun aneuploid tidak ditemukan dalam observasi. Radiasi sinar gamma (5-100 Gy) meningkatkan frekuensi pembentukan tanaman tetraploid dari kalus utama (7%), kalus embriogenik (7,6%)

Tabel 5. Hasil tanaman tetraploid anggur (*Vitis vinifera* cv. Podarok Magaracha) yang diregenerasikan melalui jalur embriogenesis somatik dengan eksplan kalus daun.

Perlakuan	Jumlah tanaman yang diregenerasikan	Jumlah tanaman tetraploid (persentase)
Regenerasi tanaman (tanpa perlakuan)	242	6 (2,5)
Radiasi sinar gamma pada kalus utama	71	5 (7,0)
Radiasi sinar gamma pada embriogenik kalus	158	12 (7,6)
Perlakuan colchicine pada kalus utama	98	1 (1)
Perlakuan colchicine pada embriogenik kalus	114	4 (3,5)

Sumber: Kuskova *et al.* (1997).

dan tanaman aneuploid (Tabel 5). Pemberian kolkisin tidak efektif dalam pembentukan tanaman tetraploid. Variabilitas di antara tanaman yang diregenerasikan juga dijumpai setelah penanaman di lapang.

KENDALA DAN PROSPEK

Variasi somaklonal mempunyai aspek positif dan negatif (Henke *et al.* 1985). Dalam propagasi *in vitro* yang tidak menyenangkan adalah progeni tidak *true-to-type* biasanya bernilai rendah. Perubahan spontan kemungkinan juga merupakan problem dalam percobaan transformasi sel tanaman. Frekuensi perubahan yang tinggi dan tidak berhubungan dengan perlakuan dalam penelitian, dapat menimbulkan interpretasi hasil yang membingungkan dan mengganggu hasil dibandingkan dengan keuntungan dalam transfer gen spesifik. Walaupun variabilitas di antara kultur sel mungkin menurunkan atau meniadakan keperluan mutagen awal pada seleksi *in vitro*, hal ini dapat mengakibatkan variasi spesifik yang dapat diseleksi. Di lain pihak, kejadian perubahan yang tidak diharapkan di dalam kultur menimbulkan pertanyaan penting tentang asal dan plastisitas dari genom tanaman.

Prospek kultur *in vitro* untuk peningkatan keragaman genetik terhadap perubahan sifat tertentu dan tipe tanaman yang beradaptasi dengan baik sangat baik untuk dikembangkan walaupun tanpa melalui hibridisasi. Variasi yang berasal dari kultur jaringan harus diperhatikan secara serius sebagai komponen dalam program pemuliaan hanya bila memenuhi syarat-syarat sebagai berikut:

1. Perubahan harus stabil
2. Perubahan harus merupakan sifat-sifat penting seperti vigor, hasil, kemasakan, tipe tanaman, fertilitas, dan lain-lain
3. Variasi somaklonal yang menarik pada umumnya meliputi sifat-sifat positif yang belum ada pada nomor-nomor galur yang dihasilkan oleh para pemulia tanaman
4. Kemampuan identifikasi dan karakterisasi variasi somaklonal tidak melebihi dari syarat-syarat yang diperlukan dalam pemuliaan secara konvensional

5. Variasi somaklonal yang nyata sebagai sumber bagi pemulia juga tergantung pada proses pembentukannya/kejadiannya pada galur-galur penting

Dari hasil-hasil penelitian tersebut terlihat adanya perbedaan perlakuan dan komponen seleksi (radiasi sinar gamma, toksin murni atau filtrat, Al, dan pH rendah, PEG, zat pengatur tumbuh, dan lain-lain) dalam peningkatan variasi somaklonal pada berbagai jenis tanaman untuk menghasilkan genotipe-genotipe baru yang diinginkan. Para pemulia dapat memilih perlakuan mana yang sesuai untuk memperoleh genotipe baru yang diinginkan. Dengan demikian hasil variasi somaklonal yang dimulai kira-kira pada pertengahan abad 20 merupakan hal yang sangat berharga dalam peningkatan varietas tanaman pada abad 21 mendatang.

KESIMPULAN

- Keragaman somaklonal yang terjadi di dalam kultur *in vitro* terbukti dapat meningkatkan keragaman genetik berbagai jenis tanaman. Dengan adanya keragaman yang ditimbulkan melalui kultur *in vitro* maka peluang untuk mendapatkan genotipe baru yang unggul menjadi terbuka.
- Berbagai komponen seleksi (radiasi sinar gamma, toksin murni atau filtrat, Al dan pH rendah, PEG, zat pengatur tumbuh, dan lain-lain) dapat digunakan untuk meningkatkan variasi somaklonal pada berbagai jenis tanaman dalam menghasilkan genotipe-genotipe baru yang diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahlowalia, B.S. 1986. Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement. In Semal, J. (Ed.) Somaclonal variation and crop improvement. Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht. p. 14-27.
- Ahlowalia, B.S. and M. Maluszynski. 2001. Induced mutation-A new paradigm in plant breeding. Euphytica 118:167-173.
- Adkins, S.W.R. Kunanuvatchaidah, and I.D. Godwin, 1995. Somaclonal variation in rice: Drought tolerance

- and other agronomic characters. *Aust. J. Bot.* 43:201-209.
- Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 1994.** Strategi dan program pengembangan panili di Indonesia. Prosiding Temu Tugas Pemantapan budidaya dan Pengolahan Panili di Lampung. Kerjasama Balitro-Dibun DATI I Lampung. hlm. 15-21.
- Boertjes, C. and A.M. Van Harten. 1978.** Applied Mutation Breeding for Vegetatively Propagated Crops. Elsevier, Nedherland. 345 p.
- Collin, H.A. and S. Edwards. 1998.** Plant Cell Culture. BIOS. Scientific Publisher Limited. Oxford.
- Dami, I. and H.G. Hughes. 1997.** Effects of PEG-induced water stress on *in vitro* hardening of "valiant" grape. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 47:97-110.
- Daud, M.E. 1996.** Tissue culture and the selection of resistance to pathogens. *Annual Review of Phytopathology.* 24:159-186.
- Direktorat Jenderal Bina Produksi dan Perkebunan. 2004.** Statistik Perkebunan Indonesia 2000-2003: Nilam. Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan. 23 hlm.
- Do G.S., B.B. Seo, J.M. Ko, S.H. Lee, J.H. Pak, I.S. Kim, and S.D. Song. 1999.** Analysis of somaclonal variation through tissue culture and chromosomal localization of rDNA sites by fluorescent *in situ* hybridization in wild *Allium tuberosum* and a regenerated variant. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 57:113-119.
- Duncan, R.R., R.M. Waskom, and M.W. Nahors. 1995.** *In vitro* screening and field evaluation of tissue culture regenerated sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) for soil stress tolerance. *Euphytica* 85:371-380.
- Evans, D.A. and W.R. Sharp. 1986.** Somaclonal and gametoclonal. In Evans, D.A., W.R. Sharp, and P.V. Ammirato (Eds.). *Hand Book of Plant Cell Culture.* Vol. 4 Mc. Miilan Publ. Co., New York. p. 87-132.
- Handayani, W., Darliah, I. Mariska, dan R. Purnamaningsih. 2002.** Peningkatan keragaman genetik mawar mini melalui kultur *in vitro* dan iradiasi sinar gamma. *Berita Biologi* 5(4):365-371.
- Henke, R.R., K.W. Hughes, M.J. Constantin, and A. Hollander. 1985.** Somaclonal variation in progeny of plant from corn tissue culture. In *Tissue Culture in Agriculture and Forestry.* Buletin of Torrey Botanical Club. 112(4): 460-461.
- Husni, A., S. Hutami, M. Kosmiatin, dan I. Mariska. 2004.** Seleksi *in vitro* tanaman kedelai untuk meningkatkan sifat toleran kekeringan. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 23(2):93-100.
- Ismachin, M. 1988.** Pemuliaan tanaman dengan mutasi buatan. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Atom Nasional. Jakarta.
- Jayasankar, S., Litz, and Ritz. 1998.** Characterization of embryogenetic mango cultures selected for resistance to *Collectrichum gloeosporides* culture filtrate and phytotoxin. *Theor. Appl. Genet.* 96:823-831.
- Kosmiatin, M., I. Mariska, A. Husni, R. Rusyadi, Hobir, dan M. Tombe. 2000.** Seleksi silang ketahanan tunas *in vitro* panili terhadap asam fusarat dan ekstrak *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 5(2): 77-83.
- Kuskova, V.B., N.M. Piven, and Y.Y. Gleba. 1997.** Somaclonal variation and *in vitro* induced mutagenesis in grapevine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 49:17-27.
- Larkin, P.J. and W.R. Scowcroft. 1981.** Somaclonal variant, a novel source of variability from cell culture improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60:197-214.
- Lestari, E.G., I. Mariska, D. Sukmadjaja, dan D. Suardi. 2005.** Seleksi *in vitro* dan identifikasi tanaman padi varietas Gajahmungkur, Towuti, dan IR64 yang tahan kekeringan. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian BB-Biogen Tahun 2004. BB-Biogen Badan Litbang Pertanian. hlm. 170-179.
- Linaceru, R. And A.M. Vazquez. 1992.** Cytogenetic variation in rye regenerated plants and their progeny. *Genome* 35:428-430.
- Mariska, I. 2002.** Peningkatan ketahanan terhadap aluminium pada pertanaman kedelai melalui kultur *in vitro*. Laporan Riset Unggulan Terpadu RUT VIII.1. Kementerian Riset dan Teknologi dan LIPI, Jakarta.
- Mariska, I. dan E.G. Lestari, 2003.** Pemanfaatan kultur *in vitro* untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman nilam. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian.* Badan Litbang Pertanian 2(2):64-69.
- Mariska, I., E. Syamsudin. D. Sopandie, S. Hutami, A. Husni, M. Kosmiatin, dan A.V. Novianti. 2004.** Peningkatan ketahanan tanaman kedelai terhadap aluminium melalui kultur *in vitro*. *Jurnal Litbang Pertanian* 23(2): 46-52.
- Mariska, I. M. Kosmiatin, E.G. Lestari, dan I. Roostika. 2006.** Seleksi *in vitro* tanaman pisang ambon kuning untuk ketahanan terhadap penyakit layu fusarium. Laporan Akhir Rusnas Buah Tropis. BB-Biogen. Bogor. 20 hlm.
- Muller, E., P.T.H. Brown, S. Hartke, and H. Lorz. 1990.** DNA variation in tissue-culture derived rice plants. *Theor. Appl. Genet.* 80:673-679.
- Nagatomi, S. 1996.** A new approach of radiation breeding toward improvement of disease resistance in crops. Makalah utama dalam Seminar Pengendalian Penyakit Utama Tanaman Industri Secara Terpadu. JICA-Balitro, Bogor 13-14 Maret. p. 16-24.
- Notohadiprawiro, T. 1983.** Persoalan tanah masam dalam pembangunan pertanian di Indonesia. *Buletin Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada* 18:44-47.
- Roy, S.C. 1990.** Chromosomal variation in the callus tissues of *Allium tuberosum* and *A. Cepa*. *Protoplasma* 102: 171-176.

- Scowcroft, W.R., S.A. Ryan, R.L.S. Brettle, and P.J. Larkin. 1985.** Somaclonal variation in crop improvement. Proc. Inter-Centre Seminar on International Agricultural Research Centre (IARCs) and Biotechnology. Biotechnology in International Agricultural Research. Los Banos Manila. April 23-27, 1984. p. 99-109.
- Shepard, J.F., D. Bidney, and E. Shahin. 1980.** Potato pro-toplasts in crop improvement. *Science* 28:17-24.
- Short, K.C.I. Warburton, and A.V. Roberts. 1987.** *In vitro* Hardening of cultures cauliflower and chrysanthemum plantlets to humidity. *Acta Hort.* 21(20):329-324.
- Skirvin, R.M. and J. Janick. 1976.** A new Pelargonium variety from calliclones. *Hort. Sci.* 11:61-62.
- Smith, R.H., S. Bhaskaran, and K. Schertz 1983.** Sorghum plant regeneration from aluminium selection media. *Plant Cell Rep.* 2:129-132.
- Starvarek, S.J. and D.W. Rains. 1984.** The development of tolerance cells to mineral stress. *Hort. Sci.* 19:377-382.
- Starys, V. 1992.** Celluler genome stability and variability of plants *in vitro*. *Eksperimentine Biologija* 3-4:52.
- Syamsudin, E., I. Mariska, dan Hobir. 1997.** Keragaman somaklonal dan heritabilitas beberapa sifat tanaman nilam. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 3(1):25-30.
- Toyoda H., N. Tanaka, and H. Hirai. 1984.** Effects of the culture filtrate of *fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* on tomato callus growth and the selection of resistant callus cell to the filtrate. *An Phytophatol. Soc. Japan* 50:53-62.
- Wattimena, G.A. 1992.** Bioteknologi Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 308 hlm.
-