

Bioasai Tanaman Kacang Tanah Transgenik terhadap Virus Bilur Kacang Tanah (PStV)

Ifa Manzila, Jumanto, Asoko Wardoyo, dan Wawan

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Kegiatan bioasai tanaman kacang tanah transgenik R1 telah dilakukan di laboratorium Virologi dan rumah kaca kelti Rekayasa Protein dan Imunologi, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, tahun anggaran 2002. Keberhasilan dalam memproduksi tanaman transgenik adalah dengan diperolehnya ekspresi gen yang disisipkan dan muncul fenotipe baru yang diinginkan. Dalam hal ini adalah tanaman yang tahan terhadap serangan PStV. Salah satu metode yang dilakukan adalah dengan pengujian bioasai (langsung). Dalam penelitian ini telah diperoleh kacang tanah transgenik yang mengandung *CP-PStV*. Hasil penelitian dari putatif tanaman transgenik R1 diperoleh 3 kategori yaitu 8 nomor tanaman tahan terhadap PStV (R2Dd1.(1), R2Dd1.(3), R2Dd1.(4), R2Dd2.(2), R2Dd.(5), Eel 2, Cp4Dd2.2, dan Cp4Dd2.3) dengan tingkat serangan 0%, 5 nomor tanaman agak tahan (Eel 5, Eel 6, R2Dd2.(4), R2Dd2.(3) dan R2Dd1.(1) dengan tingkat serangan 33,33%, dan 5 nomor tanaman tidak tahan (R2Dd1.2, R2Dd2.(1), Eel 1, Eel 3, dan kontrol) dengan tingkat serangan 66,66%.

Kata kunci: Tanaman transgenik R1, Bioasai, PStV, Ketahanan

ABSTRACT

The experiment of bioassay to peanut transgenic R1 plant was conducted at Lab virology and glass house of Agricultural research of biotechnology and genetic resources Bogor in FY 2002. The output of transgenic plant production was obtained by successful gene expression of the insert gene and new plant phenotype i.e. plant resistant to PStV. One of the method was by using direct assay (bioassay). In this research it has been obtained transgenic peanut containing *CP-PStV* gene. Result of putative transgenic R1 plant, 3 category has been obtained i.e 8 putative plants resistant to PStV (R2Dd1.(1), R2Dd1.(3), R2Dd1.(4), R2Dd2.(2), R2Dd.(5), Eel 2, Cp4Dd2.2, and Cp4Dd2.3) showing disease intensity 0%, 5 putative plants Moderately resistant (Eel 5, Eel 6, R2Dd2.(4), R2Dd2.(3) and R2Dd1.1) with intensity of 33.33%, and 5 putative plant susceptible (R2Dd1.2, R2Dd2.(1), Eel 1, Eel 3, and control) showing disease intensity of 66.66%.

Key words: R1 transgenic plant, Bioassay, PStV, Resistance

PENDAHULUAN

Penyakit kacang tanah yang disebabkan oleh virus Bilur Kacang Tanah (*Peanut Stripe Virus*, PStV) hampir selalu dapat ditemukan pada pertanaman kacang tanah di Indonesia. Penyakit yang disebabkan oleh PStV sulit dikendalikan sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan hasil yang cukup besar. Hal ini disebabkan adanya vektor yang berperan menyebarkan PStV dari satu tanaman ke tanaman lain. Banyaknya tanaman yang dapat menjadi

inang alternatif dari PStV dan belum ditemukannya varietas kacang tanah yang tahan terhadap PStV menjadi kendala yang perlu diperhatikan (Dietzgen *et al.*, 1994; Saleh dan Baliadi, 1989; Wongkaew, 1989). Saat ini telah tersedia tanaman transgenik yang perlu segera dan diuji ketahanannya terhadap PStV yang mengandung gen *CP-PStV* (R1). Untuk membuktikan tanaman transgenik itu tahan terhadap PStV, maka telah dilakukan uji ketahanan terhadap infeksi virus dengan melakukan pengamatan terhadap gejala yang muncul.

BAHAN DAN METODE

Pengujian bioasai tanaman kacang tanah transgenik ini dilakukan dalam 4 tahapan, yaitu (a) Koleksi tanaman sakit terserang PStV dari lapang, (b) Pemurnian tanaman sakit dengan inang indikator dan perbanyakan di rumah kaca, (c) Persiapan tanaman uji, dan (d) Inokulasi sumber inokulum ke tanaman uji kacang tanah transgenik.

Koleksi Tanaman Sakit Diduga Terserang PStV

Tanaman kacang tanah yang diduga terserang PStV dikumpulkan dari beberapa daerah sentra produksi tanaman kacang tanah (Bogor, Bandung, Yogyakarta dan Lampung). Isolasi dan pemurnian PStV dilakukan di rumah kaca serta dilakukan pengujian Postulat Koch.

Pemurnian Tanaman Sakit dengan Inang Indikator dan Perbanyakan di Rumah Kaca

Isolat yang telah melalui pengujian postulat Koch diinokulasikan ke tanaman indikator *Chenopodium amaranticolor* dan *Phaseolus vulgaris*. Selanjutnya isolat murni PStV diperbanyak pada tanaman kacang tanah yang akan dipergunakan sebagai sumber inokulum PStV. Pengawetan sumber inokulum untuk pemakaian selanjutnya adalah dilakukan pengeringbekuan (*Freezer Dryer*/Liofilisasi) dengan tabung-tabung ampul.

Persiapan Tanaman Uji

Persiapan tanaman sumber inokulum dilakukan di rumah kaca. Varietas yang digunakan sebagai sumber tanaman sumber inokulum adalah varietas Gajah. Tanaman yang berumur 7 hari atau telah berdaun dua tangkai diinokulasi dengan virus PStV murni yang berasal dari tanaman indikator. Tanaman tersebut dipergunakan sebagai sumber inokulum. Empat hari setelah perbanyakan tanaman sumber inokulum di tanam tanaman kacang tanah transgenik (R1). Benih ditanam dalam pot berdiameter 25 cm² berisi tanah steril dan kompos dengan perbandingan 1 : 1 tanaman dipelihara di rumah kaca bebas hama atau disungkup.

Inokulasi dan Pengamatan Tanaman Uji

Tanaman uji yang telah berumur 7 hari diinokulasi dengan ekstrak daun tanaman kacang tanah yang terserang oleh virus PSTV (sumber inokulum) dengan metode karborundum sebelum inokulasi permukaan daun tanaman uji ditaburi dengan karborundum 600 mesh secukupnya kemudian diinokulasi.

Tanaman yang telah diinokulasi dipelihara di rumah kaca bebas hama. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan melihat gejala serangan PSTV yang muncul, baik pada tanaman uji dan kontrol (non-transgenik).

Menurut Kuhn, (1965), gejala awal dapat dilihat pada daun muda yaitu berupa bercak besar hijau yang samar, dikelilingi oleh jaringan warna hijau yang agak muda (klorosis), dan daun mengkerut. Lama-lama gejala ini memperlihatkan gejala yang khas, bercak besar hijau yang semakin tua warnanya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan terhadap tanaman uji adalah a) waktu munculnya gejala, b) persentase tanaman uji tahan, c) intensitas serangan (tingkat keparahan gejala), d) pengaruh serangan PSTV terhadap produksi polong, dan e) berat polong yang dihasilkan. Adapun nomor dan jumlah tanaman uji adalah 17 nomor dan yang memperlihatkan respon seperti pada parameter uji terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi tingkat ketahanan tanaman kacang tanah transgenik terhadap PSTV

No. tanaman uji	Waktu gejala muncul (hari ke-)	Tanaman terserang (%)	Klasifikasi
R2Dd1.(1)	-	0	Tahan
R2Dd1.(3)	-	0	Tahan
R2Dd1.(4)	-	0	Tahan
R2Dd2.(2)	-	0	Tahan
R2Dd2.(5)	-	0	Tahan
Eel 2	-	0	Tahan
Cp4Dd2.2	-	0	Tahan
Cp4Dd2.3	-	0	Tahan
Eel 5	12	33,33	Agak tahan
Eel 6	12	33,33	Agak tahan
R2Dd2.(4)	13	33,33	Agak tahan
R2Dd2.(3)	13	33,33	Agak tahan
R2Dd1.1	13	33,33	Agak tahan
R2Dd1.2	6	66,66	Agak tahan
R2Dd2.(1)	5	66,66	Agak tahan
Eel 1	3	66,66	Agak tahan
Eel 3	3	66,66	Agak tahan
Kontrol	3	66,66	Agak tahan

Pada penelitian ini level ekspresi gen yang telah disisipi ke tanaman putatif kacang tanah transgenik sangat bervariasi. Sehingga dari hasil bioasai ditemukan tingkat kategori ketahanan yang berbeda-beda, antara lain : tahan (tidak muncul gejala dan intensitas serangan 0%); agak tahan, gejala muncul pada hari ke- 12-13 setelah inokulasi dan intensitas serangan 33,33%; rentan, gejala muncul pada hari ke- 3-6 setelah inokulasi dan intensitas serangan 66,66%.

Hasil bioasai ketahanan terhadap PSTV (Tabel 1), diketahui 8 nomor yang tahan terhadap PSTV, 5 nomor agak tahan, dan 5 nomor rentan. Sedangkan respon tanaman kacang tanah transgenik terhadap PSTV secara morfologi dapat dilihat pada Tabel 2. Secara morfologi, berdasarkan tinggi batang, jumlah tunas, jumlah polong, jumlah polong bernaas dan tidak bernaas, tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata antar tanaman transgenik. Demikian pula dengan tanaman kontrol (non-transgenik).

Hasil bioasai ini dikonfirmasi dengan hasil analisis PCR pada percobaan lain memperoleh hasil yang bervariasi dari tingkat ketahanannya terhadap PSTV. Menurut Wu *et al.*, (1997) tanaman kacang tanah transgenik mempunyai kecenderungan ketahanan yang bervariasi hal ini dikarenakan adanya tingkat ekspresi gen *CP-PSTV* tanaman kacang tanah transgenik itu sendiri.

Tabel 2. Respon tanaman transgenik kacang tanah terhadap serangan PSTV secara morfologis

No. tanaman uji	Tinggi batang (cm)	Jumlah tunas	Jumlah polong	Berat polong (g)	Jumlah polong bernaas	Jumlah polong tidak bernaas
R2Dd1.(1)	31,67cde	10,67 abcd	16,67 bc	21 c	11,33 c	5,33 a
R2 Dd1.(3)	43,5 abc	6,67 e	17,67 bc	33,67 ab	14 bc	3,67 a
R2 Dd1.(4)	33,5 bcde	9 bcde	17,67 bc	25,67 bc	12 c	5,67 a
R2 Dd2.(2)	29,67 de	10,33 abcde	18 abc	28,33 abc	14,67 bc	3,33 a
R2 Dd2.(5)	44,17 ab	12 ab	26,67 a	39,67 a	22,33 a	4,67 a
Eel 2	39 abcde	13,67 a	17 bc	24,67 bc	12,67 c	4,33 a
Cp4Dd2.2	33,33 bcde	11,33 abc	25,33 ab	28 bc	20 ab	5,33 a
Cp4Dd2.3	35,67 abcd	10 abcde	23 abc	23,67 bc	16,33 abc	6,67 a
Eel 6	40,33 abcd	8,33 bcde	20,67 abc	27 bc	15,67 abc	5 a
Eel 5	46,83 a	7 de	16,33 c	25 bc	12,33 c	4 a
R2Dd2.(4)	33,33 bcde	11,67 abc	18 abc	22,33 bc	14 bc	4 a
R2Dd2.(3)	33,67 bcde	9 bcde	21,67 abc	22 bc	16,67 abc	5 a
R2Dd1.1	31,67cde	8,33 bcde	20,33 abc	28 bc	14 bc	5,67 a
R2Dd1.2	26,83 e	9 bcde	17,33 bc	24,33 bc	11 c	6,33 a
R2Dd2.(1)	30,33 de	10,67 abcd	15,33 c	19,67 c	11,67 c	3,67 a
Eel 1	44,33 ab	6,67 e	18,33 abc	26 bc	14 bc	4,33 a
Eel 3	46,67 a	10 abcde	15,33 c	20,67 c	10,33 bc	5 a
Kontrol	42,83 abc	8 cde	19 abc	23,33 bc	14,33 bc	4,67 a

Huruf yang ssama pada kolom yang ssama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf 5%

KESIMPULAN

Dari bioasai 17 nomor tanaman kacang tanah transgenik R1 terhadap PStV menunjukkan tanaman dengan tingkat ketahanan yang berbeda, 8 nomor tanaman tahan, 5 nomor agak tahan dan 5 nomor rentan.

Perlu dilakukan analisis terhadap tingkat ekspresi gen *Cp-PStV* melalui uji *Southern Blot* untuk menganalisis penyebab bervariasinya hasil bioasai.

DAFTAR PUSTAKA

- Dietzgen, Z.R.G. Xu, and P.Y. Teycheney. 1994.** Digoxigenin-labeled cRNA probe for the detection of two potyviruses infecting peanut (*Arachis hypogaea*). *Plant Dis.* 78:708-711.
- Dinarto, W. 1997.** Pengurangan Hasil dan Penurunan Kualitas Benih Akibat Infeksi Peanut Stripe Virus (PStV) Pada Kacang Tanah Varietas Banteng dan Komodo. Thesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor, 5-11 hlm.
- Kuhn, C.W. 1965.** Symptomology, host range, and effect on yield of a seed-transmitted peanut virus. *Phytopathology* 55:880-884.
- Muhsin, M. 1993.** Ekologi PStV dan Pengembangan Metode Pengendalian Penyakit Belang Kacang Tanah. Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Bogor, 51-57 hlm.
- Saleh, N., K.J. Middleton, Y. Baliadi, N. Horn, and D.V.R. Reddy. 1989.** Research on *peanut stripe virus* in Indonesia. In ICRISAT. Summary proceeding of the second coordinators meeting on *peanut stripe virus*. 1-4 August 1989. India. pp. 9-10.
- Saleh, N., dan Y. Baliadi. 1989.** Penyaringan ketahanan genotipe kacang tanah terhadap peanut stripe virus. Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan tahun 1990. hlm. 115-117.
- Wongkaew, S. 1989.** Groundnut virus research in Thailand. Summary proceeding of the second coordinators meeting on peanut stripe virus. ICRISAT, India. hlm. 18-19.
- Wu, C., Y. Fan, C. Zhang, N. Oliva, and S.K. Datta. 1997.** Transgenic fertile japonica rice plant expression of modified *cryIA(b)* gene resistant to yellow stem borer. *Plant cell. Rep.* 17:129-132.