

PEMULIAAN TANAMAN MELALUI INDUKSI MUTASI DAN KULTUR IN VITRO



**IAARD
PRESS**

Prof.Dr.Endang Gati Lestari.M.Si

PEMULIAAN TANAMAN MELALUI INDUKSI MUTASI DAN KULTUR *IN VITRO*

PEMULIAAN TANAMAN MELALUI INDUKSI MUTASI DAN KULTUR *IN VITRO*

Penulis
Endang Gati Lestari

Editor
**Ika Mariska
Sutrisno**



**IAARD
PRESS**

**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN
2016**

PEMULIAAN TANAMAN MELALUI INDUKSI MUTASI DAN KULTUR *IN VITRO*

Cetakan 2016

Hak cipta dilindungi undang-undang
©Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2016

Katalog dalam terbitan

LESTARI, Endang Gati

Pemuliaan tanaman melalui induksi mutasi dan kultur *in vitro*/Penulis, Endang Gati Lestari.--Jakarta: IAARD Press, 2016.

xiii, 58 hlm.: ill.; 24 cm

ISBN: 978-602-344-151-8

1. Kultur *In Vitro* 2. Induksi Mutasi 3. Pemuliaan Tanaman
I. Judul II. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

631.52

IAARD Press

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Jalan Ragunan No. 29, Pasarmingu, Jakarta 12540
Telp: +62 21 7806202, Faks.: +62 21 7800644

Alamat Redaksi:

Pusat Perpustakaan dan Penyebaran Teknologi Pertanian
Jalan Ir. H. Juanda No. 20, Bogor 16122
Telp.: +62 251 8321746, Faks.: +62 251 8326561
e-mail: iaardpress@litbang.pertanian.go.id

ANGGOTA IKAPI NO: 445/DKI/2012

PRAKATA

Seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, maka kebutuhan akan produk pertanian, perkebunan dan hortikultura semakin meningkat pula. Sementara itu lahan produktif semakin menyempit karena alih fungsi semakin meluas. Hal ini diperparah dengan kondisi iklim yang tidak menentu, seperti curah hujan tinggi dalam waktu lama atau kekeringan yang meluas, karena pengaruh perubahan iklim global. Perubahan iklim global menyebabkan penurunan produksi berbagai komoditi unggulan seperti padi, kedelai, jagung, sawit dll. Walaupun Indonesia memiliki lahan pertanian yang sangat luas, namun tidak semua lahan tergolong subur dan cocok untuk budidaya tanaman, bahkan sebagian besar lahan tergolong marginal seperti lahan kering, lahan masam dan lahan berkadar garam tinggi.

Dengan kondisi tersebut maka perlu berbagai usaha antara lain: memperbaiki sistem irigasi dan perakitan varietas unggul baru. Kegiatan pemuliaan tanaman difokuskan untuk mendapatkan galur unggul yang beradaptasi luas seperti lahan kering, lahan masam, lahan dengan kandungan garam tinggi dll. Hal ini dapat dilakukan melalui pembentukan varietas unggul baru untuk mendukung produksi tinggi dan beradaptasi luas dalam kondisi cekaman abiotik maupun biotik. Pemuliaan melalui mutasi kombinasi dengan kultur *in vitro* telah berkembang luas. Di Vietnam, Thailand, Belanda, Jepang, dan Korea, tanaman yang dihasilkan melalui teknik ini telah ditanam dalam skala luas. Di Indonesia pemuliaan melalui mutasi telah dilakukan di Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN) dan telah menghasilkan berbagai varietas unggul pada padi, kedelai, kapas, sorgum dan kacang hijau. Balai Penelitian Tanaman Hias telah melepas tanaman mawar dan krisan dan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat telah melepas tanaman nilam hasil variasi somaklonal. Hasil pemuliaan melalui mutasi masih sangat kurang bila dibandingkan dengan kebutuhan sehingga upaya perakitan varietas unggul perlu ditingkatkan serta pemahaman tentang mekanisme terjadinya mutasi perlu diperdalam.

Bogor, 16 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
Prakata	vii
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xiii
Bab I. Pendahuluan	1
Latar Belakang	1
Tujuan	3
BAB II. Mutasi dalam pemuliaan tanaman	5
Klasifikasi tingkat mutasi	9
Seleksi mutan	17
Perkembangan Penelitian Pemuliaan Melalui Mutasi	19
BAB III. Kultur jaringan untuk pemuliaan tanaman	29
Aplikasi Kultur Jaringan untuk Mendukung Program Pemuliaan	30
Perkembangan pemuliaan melalui kultur jaringan	41
BAB IV. Penutup	47
BAB V. Daftar Pustaka	49

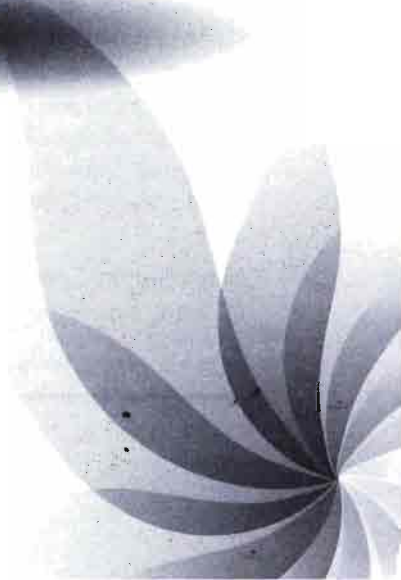
DAFTAR GAMBAR

halaman

Gambar 1. Mutasi pada gen	11
Gambar 2. Perubahan pada struktur atau jumlah kromosom	16

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 1. Tanaman mutan toleran cekaman abiotik (data base FAO-IAEA 2013)	8
Tabel 2. Perubahan fenotipe akibat mutasi pada gen regulator	11
Tabel 3. Perubahan sifat hasil iradiasi sinar gamma pada tanaman buah	24
Tabel 4. Berbagai karakter baru yang dihasilkan dari perlakuan mutasi	24
Tabel 5. Varietas baru hasil mutasi pada padi, kedelai, kacang hijau ...	26
Tabel 6. Beberapa tanaman hias dan tanaman perkebunan hasil mutasi yang telah dilepas Badan Litbang Pertanian	27
Tabel 7. Berbagai karakter yang berubah pada tanaman hasil keragaman somaklonal	38
Tabel 8. Beberapa varietas baru hasil variasi somaklonal	38
Tabel 9. Galur baru berasal dari iradiasi sinar gamma kombinasi dengan kultur <i>in vitro</i>	39
Tabel 10. Tanaman hasil mutasi menggunakan mutagen kimia EMS	40



BAB I

LATAR BELAKANG

Terwujudnya kemandirian pangan yang menjadi program pemerintah diperlukan teknologi yang dapat mempercepat perakitan varietas unggul baru yang adaptif pada kondisi lahan sub optimal. Penggunaan varietas unggul baru yang adaptif lebih efisien dan efektif serta lebih ramah lingkungan, karena tidak memerlukan tambahan pupuk yang berlebihan serta pemberian kapur untuk meningkatkan pH tanah. Penggunaan varietas unggul merupakan teknologi yang handal dalam meningkatkan produksi karena lebih aman dan lebih ramah lingkungan serta lebih murah bagi masyarakat petani (Mugiono *et al.*, 2009). Kebutuhan akan pangan, hasil perkebunan dan hortikultura semakin meningkat sejalan dengan semakin meningkatnya jumlah penduduk. Untuk memenuhi kebutuhan bibit unggul produktivitas tinggi dan adaptif di lahan sub optimal, maka bioteknologi diharapkan lebih dapat berperan dalam bidang pertanian, untuk itu diperlukan teknologi yang dapat mempercepat perakitan varietas unggul baru antara lain melalui bioteknologi (Lakhan, 2006).

Pemanasan global ("climate change") yang sudah terjadi pada dekade terakhir ini menyebabkan adanya perubahan iklim global, El Nino yang ekstrim (hujan berkepanjangan) dan El Nina yang ekstrim (musim kering berkepanjangan). Kondisi tersebut menimbulkan dampak antara lain perubahan ekosistem dan perubahan musim tanam, karena iklim yang sulit diprediksi. Emisi karbon yang tinggi (efek gas rumah kaca) disebabkan pola hidup masyarakat antara lain penggunaan bahan bakar dari fosil. Dengan adanya perubahan iklim global dapat menurunkan produksi pangan dunia. Sejalan dengan pernyataan Wang *et al.* (2003), bahwa emisi karbon yang tinggi dapat memberikan dampak terhadap penurunan produktivitas tanaman. Untuk mengantisipasi kondisi tersebut perlu adanya genotipe baru yang mempunyai toleransi terhadap perubahan iklim global, toleran terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Abdullah, 2006).

Lahan sub optimal dapat dimanfaatkan dengan merakit varietas baru yang adaptif pada lahan tersebut, disamping itu untuk meningkatkan produksi tanaman terutama tanaman pangan. Sampai saat ini jumlah varietas yang adaptif lahan sub optimal (lahan masam, lahan dengan kandungan sulfat masam, lahan salin) belum banyak dihasilkan. Kearifan lokal pada lahan sub optimal sudah banyak yang hilang karena diganti dengan varietas yang baru yang produktivitasnya tinggi tetapi ternyata mengalami degenerasi genetik pada waktu yang relatif cepat.

Kombinasi pemuliaan konvensional dengan bioteknologi, mutagenesis, rekayasa genetik dan marka molekular diharapkan dapat mempercepat di-

hasilkannya varietas unggul yang sesuai dengan tujuan yang diharapkan (Jain, 2010). Berbagai teknologi yang dapat diaplikasikan untuk perakitan varietas unggul baru antara lain rekayasa genetika dan kultur *in vitro*. Dengan menggunakan varietas yang ada dalam "gene pool" yang tersedia atau kearifan lokal sebagai materi untuk bahan perakitan varietas diharapkan dapat diperoleh varietas baru yang toleran cekaman biotik maupun abiotik dan produktivitasnya tinggi. Pembentukan varietas baru secara cepat, tepat dan efisien tergantung dari metode pemuliaan atau kombinasi metode pemuliaan tanaman yang dipilih, yaitu metode pemuliaan tanaman konvensional, metode pemuliaan seluler dan metode pemuliaan molekuler (Watimena *et al.*, 2011).

Perakitan varietas unggul menggunakan teknik rekayasa genetika di negara maju seperti Amerika dan Eropa telah menghasilkan berbagai keunggulan. Namun dengan teknologi tersebut hasil yang telah didapatkan, untuk dapat dilepas harus melalui regulasi seperti keamanan pangan, pakan dan lingkungan, sehingga memerlukan waktu yang relatif lama. Disamping itu masih ada resistensi dari berbagai LSM atau NGO terhadap tanaman transgenik walaupun para ilmuwan di bidang bioteknologi telah mengantisipasi kekhawatiran tersebut di atas.

Pemuliaan tanaman secara konvensional untuk perakitan varietas unggul dapat dilakukan melalui introduksi dan adaptasi, persilangan dua tetua yang telah diketahui sifatnya dan perakitan varietas dari kearifan lokal. Tanaman hasil persilangan kemudian diseleksi menggunakan metode bulk atau pedigree, dan selanjutnya diuji sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dilakukan, termasuk uji ketahanan penyakit atau hama tertentu (Abdullah, 2006).

Kendala utama dalam pemuliaan tanaman secara konvensional ialah terbatasnya sumber gen (*genetic resources*) yang dapat digunakan sebagai tetua dalam persilangan. Selain itu memerlukan waktu lama antara 10–15 tahun untuk menghasilkan varietas baru. Dalam bidang pemuliaan tanaman, tersedianya keragaman genetika yang tinggi sangat diperlukan sebagai materi genetika untuk bahan seleksi sesuai tujuan pemuliaan yang dikehendaki, sehingga dapat memberikan peluang yang tinggi bagi keberhasilan proses seleksi genotipe unggul.

Mutasi untuk perakitan varietas baru telah lama dan banyak dikembangkan di berbagai negara seperti China, Korea, Vietnam, dan Eropa, mutan yang dihasilkan telah di tanam dan dikembangkan secara luas dan telah digunakan masyarakat petani (Jain, 2010; Kharkwal *et al.*, 2004). Sementara di Indonesia pemuliaan tanaman melalui mutasi masih tertinggal jauh dari negara-negara Asia lainnya seperti India, China, Jepang dan Thailand (Handayati, 2014). Dengan berkembangnya teknik *in vitro* maka pemanfaatan teknik mutasi menjadi lebih berkembang, karena lebih cepat diperoleh hasil

dan lebih menguntungkan serta dapat memperkaya plasma nutfah yang ada sekaligus untuk perbaikan tanaman (Kharkwal *et al.*, 2004). Salah satu pemanfaatan kultur *in vitro* dalam bidang pemuliaan untuk perbaikan tanaman antara lain melalui kultur haploid, penyelamatan embrio, keragaman somaklonal dan fusi protoplas. Aplikasi pemuliaan melalui mutasi kombinasi dengan kultur *in vitro* dapat mempercepat perolehan varietas unggul baru.

Penggunaan populasi sel somatik (kalus) yang melakukan pembelahan sel terus menerus dapat menyebabkan terjadinya aberasi kromosom (perubahan struktur dan jumlah kromosom), kombinasi dengan mutagen baik fisik (iradiasi sinar gamma) maupun mutasi kimiawi (EMS atau DEMS) dapat lebih meningkatkan peluang keragaman genetik. Selanjutnya dapat dilakukan seleksi secara *in vitro* untuk menyaring sifat-sifat yang diinginkan (Foster dan Shu 2012). Dalam seleksi *in vitro*, tujuan penggunaan komponen seleksi ("selection agen") adalah untuk menyaring sel-sel somatik yang mampu beregenerasi dalam kondisi cekaman yang disimulasikan menyerupai dengan kondisi *in vivo*.

Teknik mutasi menggunakan mutagen kimia maupun fisik telah menghasilkan tanaman yang meningkat produktivitasnya pada berbagai tanaman, baik pada tanaman yang diperbanyak menggunakan biji maupun secara vegetatif (Foster dan Shu, 2012). Sejak tahun 1930 hingga 2014 telah dilepas ± 3.200 mutan, dengan komposisi 75% tanaman budidaya dan 25% tanaman hias. Mutan terbanyak ialah tanaman tergolong sereal, dan paling banyak dikembangkan di wilayah Asia (Foster dan Shu, 2012). Dalam buku ini akan dibahas mengenai penggunaan mutagen untuk perakitan varietas baru, perubahan genetik yang terjadi, teknik seleksi hasil mutasi serta aplikasi kultur *in vitro* dalam mendukung program pemuliaan dan kombinasi dengan pemberian mutagen (baik fisik maupun kimiawi).

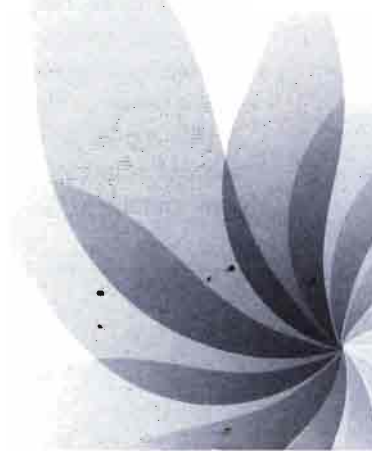
TUJUAN

Tujuan penulisan buku ini adalah untuk memberikan informasi perkembangan penelitian melalui mutasi dan kultur *in vitro* untuk mendukung program pemuliaan.



Bio-IR-E1C

Adress: Kilmorygan Road
Rear 2, 4th Floor, Unit 10, Kilmorygan
Tangier, Ireland, Dublin 12, Ireland



BAB II

MUTASI UNTUK PEMULIAAN TANAMAN

Pengertian Tentang Mutasi

Mutasi didefinisikan sebagai suatu proses perubahan suatu gen secara tiba-tiba dan secara acak, yang mengakibatkan perubahan fenotipe dan genotipe yang diturunkan (*heritable*) dari suatu generasi ke generasi berikutnya (Ahloowalia *et al.*, 2004; Mugiono, 2006), tetapi bukan berasal dari segregasi genetik atau hasil rekombinasi (Van Harten, 1998). Perubahan dapat terjadi pada gen tunggal atau sejumlah gen atau pada kromosom. Peluang mutasi akan lebih tinggi apabila dilakukan pada sel, jaringan maupun organ yang aktif melakukan pembelahan seperti tunas pucuk, tunas lateral, meristem dan kalus (Micke dan Donini, 1993).

Mutasi dapat terjadi secara spontan di alam (*spontaneous mutation*) dan melalui induksi (*induced mutation*). Secara mendasar tidak dapat dibedakan antara mutasi secara alami dan hasil induksi. Keduanya menimbulkan variasi genetik untuk dijadikan dasar seleksi tanaman, secara alami (evolusi) maupun seleksi secara buatan (pemuliaan) (Van Harten, 1998). Untuk menginduksi adanya mutasi dapat digunakan mutagen tertentu yang diaplikasikan pada organ reproduksi seperti: biji, mata tunas, meristem, serbuk sari, akar, rizhome, kalus dan tunas pucuk (Human, 2003). Keuntungan dari pemuliaan tanaman menggunakan teknik mutasi antara lain dapat memisahkan gen linkage serta memunculkan sifat-sifat baru, teknik tersebut lebih efektif untuk beberapa sifat dan waktu lebih singkat (Broertjes dan Van Harten, 2012).

Mutagen yang dapat digunakan sebagai agen untuk induksi mutasi diklasifikasikan menjadi dua yaitu kimiawi dan fisik (radiasi ionisasi), yang tergolong dalam mutagen kimia antara lain etilen metan sulfonat (EMS), dietil sulfat (DES), etilen imin (Ei), etil nitroso uretans (UNE) dan kolkisin, yang termasuk mutagen fisik antara lain sinar x, sinar gamma, partikel alpha, partikel beta, proton, neutron dan ultraviolet (Van Harten, 1998). Radiasi pengion mempunyai energi yang begitu besar sehingga molekul air dan senyawa kimia lainnya yang terkena olehnya akan terurai menjadi fragmen-fragmen bermuatan listrik. Radiasi pengion meliputi sinar x beserta partikel-partikelnya dan radiasi yang dihasilkan oleh unsur-unsur radioaktif seperti sinar α . Sinar gamma mempunyai energi yang tinggi dan sangat efektif, efisien dan paling banyak digunakan (Jain, 2010). Sinar gamma merupakan radiasi sinar elektromagnetik yang panjang gelombangnya lebih pendek dari sinar x, dapat menghasilkan radiasi elektromagnetik dengan tingkat energi lebih tinggi (IAEA, 1977; Van Harten, 1998; Jain, 2002). Di antara mutagen tersebut, EMS dan sinar gamma paling banyak digunakan (Bhatia *et al.*, 2001), namun yang

sering digunakan adalah penyinaran. Sinar gamma digunakan sebesar 64% dan 22% menggunakan sinar x (Jain, 2005). Keuntungan menggunakan sinar gamma ialah dosis yang digunakan lebih akurat dan penetrasi penyinaran ke dalam sel jaringan bersifat homogen. Sedangkan keuntungan menggunakan mutagen kimia seperti EMS ialah laju mutasinya tinggi dan didominasi mutasi titik, EMS merupakan mutagen alkali dimana sodium azide disini berperan menimbulkan mutasi titik pada level DNA, sehingga mempunyai peran besar untuk merubah karakter agronomi penting pada tanaman (Roychodhuri dan Tah, 2011; Jain, 2005; Van Harten, 1998). Pada pemuliaan mutasi, tanaman hasil mutasi pada generasi M_1 dapat diidentifikasi pada tingkat DNA dengan menggunakan marka molekuler seperti SSR ataupun pada generasi berikutnya (Asadi, 2011). Mutasi dapat menimbulkan perubahan sifat genetis baik ke arah positif maupun negatif dan kemungkinan mutasi yang terjadi dapat kembali normal (*recovery*). Mutasi yang terjadi ke arah positif dan terwariskan (*heritable*) ke generasi-generasi berikutnya merupakan mutasi yang dikehendaki oleh pemulia tanaman. Sifat positif yang dimaksud tergantung tujuan pemuliaan (Human, 2003).

Mutagen kimia dapat menimbulkan mutasi melalui beberapa cara, gugusan alkil aktif dari bahan mutagen kimia ditransfer ke molekul *grup phosphat* dan juga molekul purin dan pirimidin sebagai penyusun struktur dioksi ribonukleic acid (DNA).

Mutagen fisika bersifat sebagai radiasi pengion (*ionizing radiation*), dapat melepas energi (ionisasi) saat melewati atau menembus materi yang diberi perlakuan iradiasi. Mutagen fisika termasuk di antaranya sinar x, radiasi gamma, sinar beta, neutron dan partikel dari akselerator. Menurut Maluszynski (2001) dari 2,250 varietas yang telah dilepas sebagai varietas baru di dunia 75% merupakan hasil mutasi induksi yang diperoleh dari iradiasi sinar gamma, lainnya berasal dari radiasi sinar x dan mutagen lainnya.

Akhir-akhir ini telah berkembang teknik baru untuk menginduksi terjadinya mutasi yaitu menggunakan ion beams, termasuk di dalamnya proton dan helium, ion beams menghasilkan energi lebih besar dibanding sinar gamma atau sinar x, sehingga efek biologi yang ditimbulkan juga lebih tinggi. Ion beam yang diberikan dapat menyebabkan rusaknya DNA utas tunggal maupun utas ganda. Perlakuan ion beam pada bunga menghasilkan berbagai perubahan warna seperti orange, kuning dan berbagai warna lain, tidak hanya pink cerah dan gelap sebagaimana warna yang biasa dihasilkan menggunakan sinar gamma (Tanaka *et al.*, 2010).

Faktor yang mempengaruhi terjadinya mutasi antara lain besarnya dosis radiasi yang digunakan, dosis radiasi diukur dalam satuan Gray (Gy), 1 Gy = 0,10 krad, yakni satu J energi per kilo gram iradiasi yang dihasilkan. Untuk

menentukan keragaman mutan (*mutan variability*) terbanyak, umumnya terjadi sedikit di bawah nilai LD₅₀ (*Letal Dose 50*) atau pada nilai LD₅₀ tersebut. LD₅₀ adalah dosis yang menyebabkan 50% kematian dari populasi yang di radiasi (Van Harten, 1998). LD₅₀ digunakan untuk mengukur sensitivitas jaringan terhadap radiasi, atau dikenal dengan istilah radio sensitivitas. Selain LD₅₀, radiosensitivitas juga dapat diamati dari adanya hambatan pertumbuhan atau kematian (letalitas), mutasi somatik, patahan kromosom, serta jumlah dan ukuran kromosom (Herison, 2008). Pada kisaran LD₅₀ tersebut akan diperoleh keragaman genetik optimum (Chay *et al.*, 2004). Apabila dosis yang diberikan terlalu rendah maka pengaruh dari perlakuan mutasi tidak akan tampak sebaliknya apabila dosis yang diberikan terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan atau tanaman menjadi steril. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka pertumbuhan tanaman akan semakin menurun. Radiosensitivitas masing-masing tanaman tergantung faktor genetik, kondisi fisiologi eksplan, morfologi, ploidi serta faktor lingkungan tumbuh seperti kelembapan lingkungan (Kodym *et al.*, 2012). Teknologi yang dikembangkan untuk perakitan varietas baru melalui transformasi dan mutasi mempunyai kelebihan dan kekurangan. Perubahan yang terjadi di dalam struktur DNA dapat ditimbulkan oleh pengaruh mutasi atau karena transformasi. Berikut berbagai perbedaan antara teknik transformasi dan mutasi:

Transformasi	Mutasi
• Menggunakan teknik biologi molekuler untuk isolasi dan konstruksi gen serta marka molekuler untuk identifikasi tanaman hasil transformasi sehingga lebih mahal dibanding menggunakan teknik mutasi • Terjadinya insersi gen ke dalam tanaman secara random, sehingga perubahan pada DNA dan RNA tidak dapat diketahui secara pasti • Dapat dimasukkan gen baru yang berasal dari hewan, bakteri, atau insekta	• Mutasi gen terjadi secara acak dan memerlukan populasi besar sebagai bahan seleksi • Tidak dapat dipastikan adanya perubahan pada DNA • Mutagen yang diberikan menyebabkan kerusakan pada DNA diikuti dengan mekanisme memperbaiki sehingga terbentuk susunan baru disebut mutan

Sumber: Jain, 2010.

Perakitan Tanaman Toleran Cekaman Kekeringan melalui Mutasi

Cekaman kekeringan dapat mempengaruhi semua proses metabolisme dalam tanaman sehingga menghambat pertumbuhan dan perkembangan sel tanaman. Untuk menghadapi cekaman lingkungan seperti kekeringan, maka tanaman yang toleran memiliki strategi untuk menghadapi cekaman tersebut, dimulai saat fase perkecambahan dan fase vegetatif sampai fase generatif:

Drought Escape: tumbuhan menyelesaikan siklus hidupnya sebelum mengalami cekaman abiotik yang sangat ekstrim yaitu dengan berbunga atau berbuah lebih awal

Dehydration avoidance: tumbuhan dapat menjaga agar potensial air tetap tinggi dengan mengurangi transpirasi dan meningkatkan absorpsi air dengan penutupan stomata, daun menggulung, meningkatkan panjang dan ketebalan akar yang mengarah ke bawah.

Dehydration tolerance: mengatur tekanan turgor melalui osmoregulasi dan elastisitas dinding sel, merupakan respon ekologi tanaman yaitu menurunkan potensial osmotik dan mengakumulasi senyawa osmotik terlarut (Hapsah *et al.*, 2006). Senyawa-senyawa terlarut yang biasa diakumulasi adalah grup gula dan asam amino antara lain prolin (Girousse *et al.*, 1996).

Tabel 1. Tanaman mutan toleran cekaman abiotik (data base FAO-IAEA, 2013).

Sifat	Varietas	Nama latin	Mutagen	Negara	Didaftar tahun
Toleran terhadap garam	Binasarisha-5	<i>Brassica napus</i> L	Sinar- γ	Bangladesh	2002
	Binasarisha-6	<i>Brassica campestris</i> L	Sinar- γ	Bangladesh	2002
	Kiran	<i>Cicer arietinum</i> L	neutrons	India	1984
	Mohan (= CSR4)	<i>Oryza sativa</i> L	Sinar- γ	India	1983
	Atomita 2	<i>Oryza sativa</i> L	Sinar- γ (200 Gy)	Indonesia	1983
Toleran salin tinggi	A-20	<i>Oryza sativa</i>	0,015% MNH	Vietnam	1990
	Changwei 19	<i>Triticum aestivum</i> L	Sinar- γ (350 Gy)	China P R	1978
Toleran garam, Resisten garam dan alkalin	Jiaxuan 1	<i>Triticum aestivum</i> L	Sinar- γ	China P R	1974
Toleran kekeringan	Nunxuan	<i>Setaria sp</i>	Neutron ($5-10^{12}$)	China PR	1986
	Co 5	<i>Cajanus cajan</i> Mill sp	Sinar- γ (160 Gy)	India	1984
	Shannong 138	<i>Triticum aestivum</i>	-	China PR	2007
	Yubian 31	<i>Glycine max</i> L	X-Rays (100 Gy)	China PR	1982
	Yushu 5	<i>Ipomoea batatas</i> (L)	Sinar- γ kombinasi dengan NaN_3	China PR	1990
	Zhangdou 1	<i>Glycine max</i> L	Sinar- γ	China PR	1980
	Azmil mutant	<i>Oryza sativa</i>	Sinar- γ (200 Gy)	Philippines	1976
	Verzule	<i>Lens culinaris</i> Medik	Sinar- γ (250 Gy)	Republik Moldova	2004
	Balder 1	<i>Hordeum vulgare</i> L	Sinar-X (60 GY)	Finlandia	1960
	Amelina	<i>Glicine max</i> L	-	R. Moldova	2007
Toleran panas, angin kering	Anni				
Toleran panas, angin kering	Neimai 5	<i>Triticum aestivum</i> L	Sinar- γ	China PR	1079

Sumber: Suprasanna *et al.* (2014).

Prolin berperan sebagai osmoregulator. Tanaman yang mengalami cekaman salinitas atau kekeringan pada umumnya meningkatkan biosintesa prolin. Prolin disintesa dari glutamat atau ornitin melalui rantai glutamat sintetase, pembentukan prolin dalam rantai glutamat dikatalisa oleh enzim delta-pirolin-5-karboxilate sintetase (P5CS:Y-glutamil kinase, EC 2.7.2.11; glutamate-5-semialdehyde dehidrogenase EC.1.2.1 (41). Selanjutnya asam glutamat 5-semialdehyde-5-karboxilate (PSC), direduksi oleh P5C reductase (PSCR) menjadi prolin (Misra dan Saxena, 2009).

Teknik mutasi telah diaplikasikan oleh pemulia untuk mendapatkan galur baru yang toleran terhadap cekaman abiotik seperti salinitas dan kekeringan dan biotik seperti penyakit (Tabel 1). Mutan yang dihasilkan mempunyai sifat unggul yaitu toleran terhadap garam tinggi, kekeringan dan temperatur rendah (Suprasana *et al.*, 2015).

KLASIFIKASI TINGKAT MUTASI

Mutasi dibedakan menjadi mutasi kecil (mutasi gen) dan mutasi besar (mutasi kromosom). Mutasi kecil adalah perubahan yang terjadi pada susunan molekul gen (DNA), sedangkan lokus gennya tetap, mutasi jenis ini menimbulkan perubahan alela. Sedangkan mutasi besar ialah perubahan yang terjadi pada struktur dan susunan kromosom. Berdasarkan faktor penyebabnya, mutasi dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu:

Mutasi Alamiah (Spontan)

Mutasi alami terjadi dengan sendirinya atau penyebabnya tidak diketahui, mutasi ini terjadi secara spontan. Mutasi alam diduga disebabkan oleh sinar kosmis (proton, positron, photon), sinar radioaktif (uranium), sinar ultraviolet, dan radiasi ionisasi internal, yaitu bahan radioaktif dalam suatu jaringan tubuh yang berpindah masuk ke jaringan lainnya (Tanaka *et al.*, 2010). Mutasi dapat disebabkan oleh agen biologi seperti insersi T DNA dan transposon.

Mutasi Induksi (Buatan)

Mutasi buatan, terjadi akibat campur tangan manusia, untuk kepentingan tertentu. Mutasi buatan merupakan awal lahirnya rekayasa genetika dalam bidang bioteknologi. Mutagen kimia EMS menyebabkan mutasi titik, sedangkan T DNA menginduksi fenotipe "knock-out" dengan adanya insersi fragmen DNA kedalam gen. Mutasi yang disebabkan oleh ionisasi radiasi menghasilkan bermacam-macam fenotipe karena pengaruhnya terhadap kerusakan DNA relatif acak dan menghasilkan mutasi yang beragam (Tanaka *et al.* 2010).

Adapun istilah-istilah di dalam mutasi ialah sebagai berikut:

- **Mutasi gen**

Mutasi gen disebut juga dengan mutasi titik, terjadi karena perubahan spesifik pasangan dalam struktur DNA atau dapat dikatakan sebagai perubahan hanya pada satu atau beberapa nukleotida pada DNA. Mutasi titik disebut juga dengan substitusi satu gen atau satu nukleotida oleh nukleotida lainnya, mutasi tersebut sering terjadi dalam proses mutasi (Foster dan Shu 2012). Mutasi titik dapat terjadi melalui dua cara yaitu transversi dan transisi. Contoh transisi ialah Adenin (A) menjadi G (Guanin) atau G menjadi A, di mana purin menjadi purin atau pirimidin menjadi pirimidin seperti T (Thimin) menjadi C (Cytosin) atau C menjadi T. Transversi terjadi bila purin berubah menjadi pirimidin dan pirimidin menjadi purin. Perubahan dengan pola transisi lebih sering terjadi dibanding transversi. Dikenal ada tiga tipe mutasi titik yaitu "missense", non sense dan "silent" mutasi (Foster dan Shu, 2012). Dengan adanya mutasi gen maka dapat mengarah pada munculnya alel baru sehingga menjadi dasar munculnya variasi pada spesies. Mutasi gen digolongkan menjadi *microlesien* dan *macrolesions*. *Microlesions* adalah mutasi di mana terjadi substitusi pasangan basa, transisi atau transversi pasangan basa, penyisipan baru pasangan basa. *Macrolesios* adalah mutasi dimana terjadi penghapusan, duplikasi atau penyusunan kembali pasangan basa. Mutasi *microlesions* sering juga disebut mutasi titik (*point mutation*). Mutagen kimia biasanya erat hubungannya dengan mutasi *mikrolesion* sedang mutagen fisika (iradiasi) hubungannya dengan *macrolesions*. Protein yang disintesis berasal dari pembacaan tiga pasangan basa (triplet). Penggantian basa nitrogen adalah mutasi gen yang terjadi akibat perubahan satu nukleotida dalam gen. Akibat perubahan satu nukleotida tersebut, pasangan tiga basa (triplet) yang merupakan kode genetik (kodon) nya akan berubah.

Penggantian basa nitrogen dapat menyebabkan perubahan rangkaian asam amino yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena perubahan satu basa tersebut menghasilkan kodon yang berbeda dalam mengodekan asam amino. Contohnya, suatu gen dengan urutan basa nitrogen UCA ACG GAG menghasilkan urutan asam amino serin threonin glutamine, adanya penggantian basa nitrogen adenin (A) oleh sitosin (C) menyebabkan perubahan asam amino threonin menjadi prolin. Akibatnya, urutan asam amino yang terbentuk menjadi serin-prolin glutamat. Contoh lain, perubahan satu basa nitrogen dapat menyebabkan perubahan besar. Misalnya, perubahan basa guanin (G) pada triplet GAG yang mengkodekan asam amino glutamat, basa guanin (G) digantikan oleh basa urasil (U) menjadi UAG. Perubahan ini menghasilkan kodon UAG yang merupakan stop kodon, yaitu tanda dihentikannya proses

translasi pada sintesis protein. Hal ini menyebabkan berhentinya proses sintesis protein sebelum waktunya. Perubahan urutan asam amino dan terhentinya proses translasi sintesis protein dapat menyebabkan protein yang dibentuk rusak, tidak aktif, bahkan menjadi senyawa berbahaya.

Mutasi gen dapat disebabkan karena delesi dan inversi. **Delesi** adalah peristiwa penghapusan atau pengurangan satu basa nitrogen pada gen. Adapun **insersi** adalah peristiwa penambahan satu basa nitrogen pada gen. Peristiwa mutasi ini memiliki pengaruh yang lebih besar dibandingkan mutasi oleh penggantian basa nitrogen. Jika suatu gen memiliki 300 buah urutan basa nitrogen maka akan terbentuk polipeptida yang mengandung 100 urutan asam amino. Apabila satu basa nitrogen disisipkan atau dihilangkan di tengah-tengah urutan basa maka semua urutan basa dan asam aminonya akan berubah. Gen yang bermutasi bersifat letal, sehingga gejala mutasi dapat diamati sebab individu segera mati sebelum dewasa. Gen yang bermutasi umumnya bersifat resesif, sehingga selama dalam keadaan heterosigot tidak akan terlihat (Lundqvist *et al.*, 2012).

Masing-masing gen terdiri dari daerah-daerah yang berbeda-beda dengan fungsi berbeda pula, bagian tersebut disebut dengan promotor, kodon, operon. Mutasi yang terjadi pada wilayah yang berbeda akan menghasilkan perubahan berbeda pula, sebagai contoh terjadinya mutasi pada daerah promotor menyebabkan resistensi pada tanaman padi (Chu *et al.* 2006).

Tabel 2. Perubahan fenotipe akibat mutasi pada gen regulator.

Karakter yang berubah	Lokasi mutasi	Gen	Tanaman	Pustaka
Tanaman menjadi lebih pendek	Faktor transkripsi	Rht, B1/Rht D1, dwarf	gandum, jagung, padi	Peng <i>et al.</i> 1999
Berbunga lebih awal	Faktor transkripsi	Leafy hull Sterile 1	padi	Leon <i>et al.</i> 2000
Aleuron-berwarna warni	Faktor transkripsi	Pac 1	jagung	Carey <i>et al.</i> 2004
Bobot biji bertambah	AGP gen regulator	Sh2	jagung	Giroux <i>et al.</i> 1996

Sumber: Lee *et al.* (2012).



Gambar 1. Mutasi pada gen.

• Mutasi kromosom

Kromosom ialah struktur di dalam sel berupa molekul deret panjang terdiri atas satu molekul DNA yang menghubungkan gen sebagai kelompok satu rangkaian. Kromosom memiliki dua lengan, yang panjangnya kadangkala sama dan kadangkala berbeda. Lengan-lengan itu bergabung pada sentromer yaitu lokasi menempelnya *benang spindel* selama pembelahan sel secara mitosis dan meiosis. Adanya bahan mutagen, khususnya radiasi yang paling banyak menyebabkan pecahnya benang kromosom (*chromosome breakage* atau *chromosome aberration*). Mutasi pada kromosom disebut aberasi meliputi perubahan pada jumlah dan struktur kromosom.

Suatu spesies, mempunyai seperangkat kromosom (genom) dengan jumlah kromosom yang konstan. Pada gamet mengandung n kromosom, sedangkan sel somatis mengandung $2n$ kromosom. Namun, kadang kala terjadi ketidak teraturan selama mitosis, atau meiosis sehingga menghasilkan sel-sel dengan jumlah kromosom yang bervariasi. Hal itu terjadi melalui proses duplikasi atau adisi atau kehilangan seluruh perangkat kromosom. Kejadian-kejadian yang menyangkut perubahan kromosom, tersebut ialah sebagai berikut (Lundqvist *et al.*, 2012).

Euploidi : merupakan mutasi yang melibatkan pengurangan atau penambahan dalam perangkat kromosom (genom), berikut ini jenis-jenis euploidi:

Monoploidi : organisme monoploidi memiliki satu genom (n kromosom) dalam sel tubuhnya. Dimiliki oleh sebagian besar bakteri, fungi, alga, lumut, dan serangga *Hymenoptera*. Organisme monoploidi kurang kuat dan bersifat steril karena kromosom homolog tidak memiliki pasangan selama meiosis.

Diploidi: organisme diploidi memiliki dua genom ($2n$ kromosom) pada setiap sel somatis. Keadaan ini sangat menunjang fertilitas, keseimbangan pertumbuhan, adaptasi, dan kemampuan hidup.

Poliploidi: organisme poliploidi memiliki kromosom lebih dari dua genom ($2n$ kromosom). Misalnya triploid ($3n$), tetraploid ($4n$), dan pentaploid ($5n$). Pengaruh poliploidi terhadap sel atau individu, antara lain (a) Terjadinya pertumbuhan raksasa, (b) Jumlah kandungan vitamin pada tumbuhan menjadi meningkat, (c) Kesuburan atau fertilitas umumnya menjadi berkurang.

Aneuploidi. Aneuploid merupakan mutasi kromosom yang tidak melibatkan perubahan pada seluruh genom, tetapi terjadi hanya pada salah satu kromosom dari genom. -

Beberapa macam aneuploidi adalah sebagai berikut:

- **Monosomik**, adalah peristiwa hilangnya satu kromosom dari sepasang kromosom homolog dengan rumus genom ($2n-1$), sehingga menghasilkan dua jenis gamet, yaitu (n) dan ($n-1$).
- **Nulisomik**, adalah peristiwa hilangnya sepasang kromosom homolog dengan rumus genom ($2n-2$). Organisme yang mengalami nulisomik menunjukkan ciri-ciri kurang kuat, kurang fertil, dan daya tahan hidup rendah.
- **Trisomik**, adalah organisme diploid yang memiliki satu kromosom ekstra atau tambahan dengan rumus genom ($2n + 1$), sehingga gamet yang dihasilkan adalah ($n + 1$) dan (n).
- **Tetrasomik**, adalah organisme jika satu pasang kromosom berada dalam tambahan seperangkat kromosom organisme dengan rumus genom ($2n + 2$) disebut tetrasomik.
- **Trisomik ganda**, suatu organisme diploid dengan dua kromosom yang berbeda masing-masing menghasilkan trisomik ganda dengan rumus genom ($2n + 1 + 1$).

Perubahan Struktur Kromosom

Perubahan struktur kromosom merupakan penyimpangan yang terjadi di dalam kromosom (intra kromosom). Adapun jenis-jenis perubahan struktur kromosom, ialah sebagai berikut.

Defisiensi atau Delesi

Delesi terjadi ketika kromosom kehilangan sebagian segmennya. Defisiensi ini mempunyai pengaruh genetis, antara lain efek letal (kematian) dan pseudodominan (pemunculan fenotipe sifat resesif, seperti sifat dominan). Defisiensi adalah penghilangan satu atau lebih segmen gen pada kromosom. Penghilangan dapat terjadi pada segmen panjang lengan kromosom.

Duplikasi

Duplikasi terjadi jika kromosom memperoleh tambahan sebagian segmen kromosom lainnya. Duplikasi mempunyai efek genetis, antara lain melindungi pengaruh gen resesif yang merugikan untuk evaluasi materi genetis, dan menghasilkan efek posisi (menghasilkan fenotipe baru). Duplikasi dapat terjadi melalui beberapa cara seperti: pematangan kromosom yang kemudian diikuti dengan transposisi segmen yang patah, penyimpangan dari mekanisme *crosing over* pada *meiosis* (fase pembelahan sel), rekombinasi kromosom saat terjadi translokasi, sebagai konsekuensi dari perlakuan bahan mutagen.

Inversi

Inversi merupakan mutasi yang terjadi karena perubahan letak gen akibat terpilinnya kromosom pada saat meiosis sehingga terbentuk kiasma. Tipe kelainan kromosom ini sulit diidentifikasi secara visual. Pada peristiwa inversi, urutan gen menjadi terbalik yang disebabkan karena kromosom pecah menjadi dua bagian, bagian tengahnya menyisip kembali dalam urutan terbalik. Inversi ini dapat dibedakan menjadi dua yaitu inversi perisentrik bila peristiwa inversi melibatkan perubahan posisi sentromer dan bila peristiwa inversi tidak melibatkan perubahan posisi sentromer maka disebut inversi parasentrik. Peristiwa rekombinasi meiotik yang melibatkan inversi dapat berakibat pada rekombinan yang membawa duplikasi atau defisiensi bagi bagian dari kromosom tersebut (Lundqvist *et al.*, 2012). Perubahan yang diakibatkan adanya inversi ditandai dengan adanya aborsi tepung sari atau biji tanaman, seperti pada tanaman jagung dan barley (IAEA, 1977).

Translokasi

Translokasi adalah pertukaran sebagian kromosom dengan kromosom nonhomolog lainnya sehingga menghasilkan efek posisi. Translokasi terjadi apabila dua benang kromosom patah setelah terkena energi radiasi, kemudian patahan benang kromosom bergabung pada kromosom lain yang tidak homolog. Ada dua jenis translokasi, yaitu translokasi resiprok (timbang balik) dan translokasi non resiprok, yaitu apabila kromosom direlokasi pada kromosom yang sama (intra kromosomal) atau ditransfer pada lokasi kromosom lain (inter-kromosomal), translokasi tidak menyebabkan hilangnya material genetik.

Translokasi resiprokal, merupakan bentuk translokasi yang paling umum dan terjadi saat dua kromosom secara simultan pecah menghasilkan keepingan yang saling ambil posisi (*swap position*). Cara ini umum terjadi di dalam pemuliaan tanaman, khususnya pada tanaman poliploid. Translokasi resiprokal dengan induksi sinar-x diaplikasikan untuk mentransfer ketahanan penyakit layu daun ke dalam gandum yang diambil dari gandum liar, *Aegilops umbellulata*. Contoh lain termasuk transfer ketahanan terhadap penyakit dari tanaman gandum hitam dan *Agroparon elongatum* ke dalam gandum ketahanan penyakit dari *Avenabarabata* ke dalam tanaman oat, ketahanan nematoda terhadap *Betapotelaris* dan *Betaprocumben* ke dalam bit gula, dan ketahanan virus dari *Nicotiana glutinosa* ke dalam tembakau. Translokasi sering mengarah pada ketidak seimbangan gamet, sehingga dapat menyebabkan kemandulan (*sterility*) karena terbentuknya kromatid dengan duplikasi dan penghapusan.

Perubahan Jumlah Kromosom

Perubahan jumlah kromosom menimbulkan sejumlah kelemahan dan kelebihan yaitu:

Kelemahan. Terjadi reduksi jumlah genom, perubahan tingkat ploidi (HH) menjadi haploid (H). Produksi tanaman haploid ganda untuk menghasilkan galur homosigous merupakan teknologi yang menguntungkan di dalam pemuliaan tanaman dan genetika, yaitu melalui induksi embriogenesis pada sel haploid (gamet), kultur sel dan penggandaan (doubling) genom. Pada beberapa spesies, dijumpai mekanisme genetik alami yang menyebabkan reduksi ploidi, misalnya gen penginduksi haploid pada tanaman *Zea mays* dan *barley* yang dapat meningkatkan frekuensi embrio haploid di dalam biji (Barret *et al.*, 2008; Finch 1989; Ravi dan Chan 2010).

Iradiasi polen merupakan teknik lain yang dapat diaplikasikan untuk memproduksi embrio haploid. Perlakuan iradiasi tidak mempengaruhi kemampuan polen untuk berkecambah, tumbuh dan menembus kantong embrio. Akibatnya polinasi tetap terjadi tetapi tanpa fertilisasi berikutnya, dan metode ini secara rutin digunakan dalam banyak spesies tanaman buah.

Reduksi dalam genom umumnya terjadi pada persilangan ploidi yang terjadi secara alami atau dilakukan oleh manusia. Pada genetika dan pemuliaan tanaman, reduksi dapat dimanipulasi di dalam intrograsi gen dari satu spesies ke spesies lain, misalnya dari spesies gandum diploid liar ke dalam gandum diploid budidaya durum (tetraploid) dan gandum roti (hexaploid).

Kelebihan. Poliploidi yang terbentuk melalui duplikasi genom (autopoloid) atau penambahan genom (allopoloid) secara alami terjadi di dalam evolusi pada banyak spesies dan juga melalui induksi, tujuannya untuk perbaikan tanaman. Salah satu manfaat dari poliploidi ialah meningkatkan volume nukleus, sehingga meningkatkan ukuran sel dan jaringan organ dan tanaman. Allopoloid memiliki kelebihan karena genom yang berbeda mengandung serangkaian gen yang berlainan, sehingga memperkaya keragaman gen (menambahkan gen baru) dan meningkatkan heterosis (ketahanan hibrida).

Poliploid yang terjadi secara spontan maupun terinduksi memiliki kemampuan untuk mendomestikasi tanaman liar dan memperbaiki tanaman pangan. Tanaman yang didomestikasi karena poliploid mencakup:

Triploid : pisang, semangka, apel.

Tetraploid : kapas, kubis, gandum, kentang, tembakau.

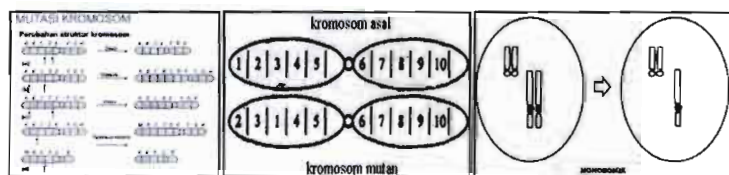
Hexaploid : gandum roti, oat, gandum, krisan.

Oktaploid : dahlia, strawberi.

Pada beberapa spesies, peristiwa ploiploidi sudah berlangsung sejak lama sehingga tidak dapat dikenali dengan teknik sitologis dan hanya dapat dideteksi pada tingkat molekul saja, misalnya dengan menemukan duplikasi gen. Poliploidi semacam itu termasuk: jagung, beras, karet, dan kedelai. Induksi poliploidi yang disengaja dilakukan pada pertengahan abad 20 an dan berhasil pada tanaman sayuran dimana ukuran organ menjadi penting (Hagberg dan Akenberg, 1962).

Poliploidi pada kentang: kentang budidaya *Solanum tuberosum* sub spesies andigena ($2n = 4x = AAA$) berasal dari hibridisasi alami *S. stenotomum* ($2n = 2n = AA$) dengan *S. sparsipilum* ($2n = 2x = AA$) diikuti penggandaan kromosom secara alami. Poliploidi pada pisang : pisang yang digunakan sekarang berasal dari *Musa bulbisiana* ($2n = 2x = BB$) dan *Musa acuminata* ($2n = 2, x = 22 = AA$). Pisang yang ada saat ini mulai dari AA (pisang mas, pisang lilin), AAA (pisang ambon kuning, pisang ambon lumut, pisang badak, pisang susu), AAB (pisang raja bulu, pisang tanduk) dan ABB (pisang kepok) adalah hasil hibridisasi alamiah atau mutasi alamiah. Pisang-pisang endemik di Indonesia belum ada campur tangan pemulia tanaman.

Tidak semua materi genetik (DNA) berada di dalam inti sel (nukleus), hal ini dapat dibuktikan setelah dijumpai adanya beberapa sifat tanaman yang diturunkan dengan tidak mengikuti hukum Mendel. Penurunan sifat dapat terjadi karena dikontrol oleh gen-gen yang berada di luar sel atau di dalam sitoplasma, penurunan sifat model ini disebut dengan istilah ektranuklear inheritance. Di dalam sitoplasma dijumpai banyak organel di antaranya kloroplas dan mitokondria yang masing-masing berfungsi dalam proses fotosintesis dan sintesa adenosin triposfat (ATP). Kloroplas dan mitokondria mengandung materi genetik (gen atau DNA) yang juga dapat termutasi. Mutasi gen kloroplas atau mitokondria sering disebut mutasi di luar inti atau mutasi ektranuklear. Mutasi gen di dalam kloroplas dapat menyebabkan kerusakan gen mutan (*defective mutan genes*) yang kemudian dapat mengganggu proses fotosintesis pada daun. Dengan demikian dampak mutasi gen kloroplas sering diekspresikan dengan munculnya gejala warna belang pada daun tanaman. Mutasi di luar inti sel menimbulkan gejala pertumbuhan kerdil, berubah morfologi bunga dan penyimpangan morfologi lainnya dan ketahanan terhadap herbisida yang biasanya disandikan gen di dalam mitokondria.



Gambar 2. Perubahan pada struktur atau jumlah kromosom.

SELEKSI MUTAN

Prosedur yang tepat dalam pemberian perlakuan mutagen, pengelolaan populasi mutan serta seleksi mutan merupakan unsur penting dalam pemuliaan melalui mutasi (Ukai dan Nakagawa, 2012). Untuk mendapatkan tanaman mutan yang stabil secara genetik, seleksi dilakukan minimal sampai generasi ke-4 atau ke-5 (M_4 untuk tanaman yang diperbanyak secara generatif atau MV_5 untuk tanaman yang diperbanyak secara vegetatif) berdasarkan penampilan fenotipik (Handayati *et al.*, 2007; Sihombing, 2005; Datta, 2001).

Seleksi Mutan pada Tanaman yang Menyerbuk Sendiri

Populasi putatif mutan generasi ke-1 (M_1) dan putatif mutan generasi ke-2 (M_2). Setelah aplikasi mutagenik, bahan tanaman berupa benih, jaringan, organ, dan tanaman yang ditumbuhkan tersebut disebut generasi M_1 . Biji-biji yang dipanen dari tanaman M_1 dan tanaman yang tumbuh dari benih ini disebut generasi M_2 . Populasi M_1 dan M_2 terdiri atas tanaman M_1 dan M_2 . Struktur genetiknya berlainan dari struktur genetik program silang konvensional, yakni F_1 dan F_2 .

Metode seleksi pada pemuliaan mutasi yang lazim digunakan ialah menggunakan metode bulk yang diikuti oleh pedigree. Galur homisigot umumnya sudah dapat diperoleh pada generasi M_5 (Asadi 2013). Seleksi bulk hanya dilakukan pada generasi M_1 , selanjutnya pada generasi M_2 – M_4 diteruskan dengan seleksi pedigree, yaitu dengan cara memilih baris terbaik yang diikuti dengan memilih tanaman terbaik dari setiap baris terbaik. Pada generasi M_4 tanaman sudah mulai homisigot.

Populasi Putatif Generasi Ke-1 (M_1)

Frekwensi terjadinya mutasi pada gen tertentu dari perlakuan yang diberikan didefinisikan sebagai tingkat mutasi per gen. Frekwensi peristiwa mutasi pada satu atau lebih gen pada suatu lokus dalam sel disebut tingkat mutasi per sel. Peluang terjadinya mutasi dari satu gen dari lokus tertentu ialah μ . Probabilitas peristiwa mutasi pada satu atau dua gen dari loki tersebut adalah $2\mu(1-\mu) + \mu^2 = (2\mu - \mu^2)$, yang mendekati 2μ , karena μ jauh lebih kecil daripada 1. Pada tanaman diploid, tingkat mutasi per sel adalah tingkat mutasi ganda per gen. Kesempatan untuk terjadi peristiwa simultan dari dua atau lebih mutasi pada lokus yang sama dari dua kromosom homolog pada tanaman diploid sangatlah jarang terjadi. Demikian pula kesempatan untuk terjadinya segregasi mutan homisigot di dalam populasi M_1 sangat terbatas.

Menumbuhkan Populasi Putatif Mutan Generasi M₁

Seleksi dan evaluasi materi hasil mutasi perlu dilakukan dengan baik mengikuti prosedur dalam pembentukan populasi, demikian pula teknik seleksi yang digunakan agar diperoleh karakter yang diharapkan (Ukai dan Nakagawa, 2012). Acuan dalam mengembangkan populasi M₁ sebagai berikut: (1) tanaman harus ditumbuhkan pada kondisi yang tepat; (2) tanaman harus diisolasi secara fisik ataupun biologis dari varietas atau material lain pada spesies yang sama. Pasca perlakuan mutagenis, bahan tanaman dan benih sering mengalami penurunan viabilitas. Misalnya, tingkat perkecambahan dari benih M₁ dapat berkurang kira-kira 50% dibandingkan dengan tanaman kontrol. Tingkat perkecambahan berikutnya dapat berkurang secara signifikan apabila ditanam di lingkungan yang minimum, misalnya lingkungan kering dan bergaram. Oleh karena itu, meskipun tujuan program mutasi ialah untuk memilih tanaman yang tahan kering dan tahan salinitas, tanaman M₁ haruslah ditanam dulu pada kondisi dengan tingkat cekaman rendah. Jika tidak, maka akan tidak cukup tanaman yang dapat dikembangkan menjadi M₂.

Perlakuan mutagenis tidak hanya menyebabkan reduksi perkecambahan benih M₂, tetapi juga menurunkan fertilitas polen dari tanaman M₁. Karena itu tanaman M₁ memiliki kecenderungan persilangan lebih tinggi dari pada tanaman yang tidak diberi perlakuan mutasi. Apabila ada tanaman dari genotipe lain (tanaman semusim) yang ditanam di dekatnya yang berbunga bersamaan dengan tanaman M₁ akan mudah sekali terjadi persilangan dengan tanaman M₁ yang mengakibatkan terkontaminasinya biji tanaman M₁. Dengan demikian tanaman M₂ harus ditanam pada jarak yang cukup jauh dari varietas lain (isolasi fisik) atau periode yang tidak bersamaan dengan tanaman lain (isolasi biologis) (Ukai dan Nakagawa, 2012).

Dalam pemuliaan melalui mutasi, mutan dari populasi M₂ dapat dimanfaatkan dan digandakan untuk seleksi dan pengujian lebih lanjut. Biasanya, dua atau lebih mutan dari jenis yang sama tidak diperlukan. Kata "jenis yang sama" di sini berarti sama perubahannya dalam rangkaian DNA, perubahan dalam gen yang sama atau secara fenotipe perubahannya sama. Hal ini tergantung dari tujuan pelaku percobaan dan subjeknya (Ukai dan Nakagawa, 2012).

Seleksi Mutan dengan Karakter Kuantitatif

Pertimbangan Teoretis

Karakter kuantitatif seperti hasil dan kualitas bulir biasanya dikontrol oleh banyak gen, dan, dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Dengan demikian seleksi mutan dalam pemuliaan mutasi biasanya tidak diterapkan secara kuantitatif, khususnya ketika jumlah dari loki yang mengontrol sifat terlalu ba-

nyak dan efek dari tiap lokus itu kecil dibandingkan dengan variasi lingkungan. Namun banyak kajian *quantitative trait locus* (QTL) menunjukkan bahwa efek genetik di antara loki yang memberikan kontribusi tidaklah sama. Se-ringkali beberapa loki memiliki efek genetik yang secara signifikan lebih tinggi. Mutasi gen pada loki dengan efek yang lebih tinggi semacam itu dapat diseleksi setelah diberi perlakuan mutagenik. Untuk mutasi semacam itu, metode satu-malai-satu-bulir dianggap paling efektif untuk seleksi mutan.

Struktur produksi dan struktur genetik populasi putatif mutan generasi ke-2 (M_2)

Pada tanaman menyerbuk-silang (*allogamous*) seperti jagung, melon, mentimun dan sawit, bunga jantan dan betinanya terpisah. Pada spesies semacam itu, dimungkinkan untuk menghasilkan populasi M_2 dengan menggunakan persilangan buatan dari tanaman M_1 dengan polinasi pada bunga betina dengan polen dari bunga jantan dari tanaman yang sama. Meskipun demikian, mutan homosigot tidak akan muncul pada populasi M_2 semacam itu, dikarenakan gamet jantan dan betina biasanya diambil dari sel yang berlainan di dalam embrio biji. Sedangkan tanaman M_2 ada yang bebas dari kimera dan karenanya biji mutan homosigot M_3 diproduksi melalui selfing atas tanaman heterozigot (Aa') dalam M_2 dan kemudian tanaman mutan heterosigot disegregasi di dalam populasi M_2 . Namun banyak spesies pada perkawinan silang yang tidak berhasil karena (*self-incompatible*), dan pada kasus lain, persilangan buatan pada skala besar menjadi tidak praktis dikarenakan ukuran bunga yang sangat kecil.

Pada tanaman hias, saat seleksi akhir dilakukan uji observasi dan preferensi konsumen untuk memperoleh mutan yang solid yang memiliki penampilan baru yang menarik, unik dan sesuai dengan selera konsumen tanaman hias. Khusus pada tanaman hias, uji adaptasi tidak perlu dilakukan pada beberapa lingkungan tumbuh karena, tanaman hias pada umumnya ditanam pada lingkungan yang terkontrol dan spesifik lokasi (Handayani, 2014).

PERKEMBANGAN PENELITIAN PEMULIAAN MELALUI MUTASI

Penggunaan teknik nuklir untuk pemuliaan tanaman telah dimulai sejak tahun 1940, yaitu semenjak Freisleben dan Lein dari Jerman menemukan mutan jelai yang tahan penyakit embun tepung ("mildew") (Gupta, 1997). Pada tahun 1950 berbagai kegiatan pemuliaan teknik mutasi mulai dikembangkan di berbagai negara seperti di Amerika, Swedia, Uni Soviet, Nederland dan Jepang (Micke *et al.*, 1985). Jain (2010) menyatakan bahwa data dari IAEA, Vienna, Austria dari tahun 1960 telah diperoleh 3000 mutan yang telah dilepas di 60 negara, negara terbanyak mengembangkan tanaman

hasil mutasi adalah China, India dulu bernama USSR, Netherlands, Jepang dan USA. Padi menduduki posisi tertinggi sebanyak 700 mutan, diikuti jelai, gandum, jagung, oatmeal.

Netherlands menduduki posisi tertinggi dalam pelepasan tanaman hias, seperti bunga potong anyelir (*Dianthus caryophylls*), *Alstroemeria* (*Lili inca*), tanaman rimpang seperti *Dahlia variabilis* (dahlia kebun) dan tulip, serta tanaman pot *Begonia* sp., *Achimenes* dan *Streptocarpus*. Demikian pula pemulia di Jerman, Perancis, Belgia dan India juga melakukan mutasi pada berbagai tanaman hias seperti *Rhododendron*.

Pada tahun 1950 hingga 1960 an pemerintah USA memperkenalkan program " atom untuk perdamaian" dan memberikan contoh, pada tahun 1960, tanaman kacang tanah di Michigan telah hancur diserang penyakit dan yang tersisa merupakan varietas baru hasil pemuliaan radiasi, tanaman tersebut yang kemudian menggantikan jenis tanaman kacang tanah yang terdahulu.

Awal tahun 1970-an, Dr. Rutger *et al.*, mencoba menggunakan sinar-gamma pada tanaman padi. Diperoleh mutan semi-kerdil produksi lebih banyak, karena ukuran bulir padinya lebih besar. Varietas itu kemudian diberi nama Calrose 76 telah dilepas tahun 1976. Saat ini, setengah dari padi yang ditanam di California diambil dari tanaman kerdil ini.

Kejadian yang sama ditemukan di Texas, pada tahun 1929, ketika petani menemukan mutasi alami pada tanaman jeruk grape fruit merah tua, dimana daging buahnya berubah menjadi warna pink, dan diperoleh varietas baru diberi nama grape fruit Star Ruby telah dilepas tahun 1971 dan Rio Red, di tahun 1985. Keturunan mutan tersebut saat ini menempati 75% dari semua tanaman jeruk yang tumbuh di Texas, dari pengalaman tersebut, maka para ahli di bidang tanaman mengembangkan radiasi untuk menghasilkan mutan dengan warna yang lebih menarik.

Kultivar hasil mutasi pertama milik CV Todd Mitcham Peppermint, tahun 1971 dilepas oleh A.M. Todd Company (direktur riset M.J. Murray) di Kalamazoo, Michigan, USA. Kultivar ini secara resmi didaftarkan tahun 1972 oleh Cropp Science Society Amerika (Murray dan Todd, 1972). Kultivar baru, yang diperoleh merupakan hasil perlakuan *thermal neutron*. Sifat baru yang diperoleh antara lain lebih tahan terhadap penyakit layu, warna daun lebih gelap, ukuran daun lebih kecil, dan lebih tegak serta lebih sedikit percabangan serta lebih cepat panen 5 sampai 10 hari. Pada tahun 1976, diperoleh kultivar kedua yang didaftarkan untuk mendapatkan paten dengan sifat baru produksi lebih tinggi dengan tingkat ketahanan yang sama.

Buletin *Mutation Breeding Newsletter* Todd (1990) melaporkan bahwa pada tahun 1989 sudah 40.000 hektar lahan yang ditanami peppermint di USA.

Lima puluh persennya ditanami pepermint asli oleh Mitchamn, sedang 40% ditanami tanaman mutan dari CV. Todd Mitcham dan 10% mutan dari CV Murray Mitcham dengan nilai omset sebesar 90 juta US dollar. Sejumlah petani mengamati bahwa saat tidak ada serangan penyakit, maka pepermint dari Mitcham mendapat untung lebih besar.

Tahun 1990-an merupakan periode pemantapan, integrasi teknik-teknik mutasi dan bioteknologi. Pada masa teknik mutasi telah menjadi pusat perhatian dan membuka cara baru di dalam penggunaan mutagenesis. Aplikasi dari mutagenesis di dalam kultur jaringan tanaman telah berkembang dengan cepat pada berbagai program riset mutasi dan menjadi sangat penting dalam pemuliaan tanaman dan penelitian dasar. Adanya penelitian baru tentang persilangan, induksi mutasi maupun produksi haploid ganda telah terbukti berhasil memperbaiki spesies tanaman dalam jumlah besar. Dengan menggunakan pendekatan ini 38 varietas mutan yang meliputi padi (14 buah), gandum (14), oilseed rape (3), kentang (3), jelai (2). Kedelai (1) dan jagung (1) telah dikembangkan dan dilepas sejak tahun 1996. Pada tahun 2000 jumlah keseluruhan yang ditanami varietas ini mencapai lebih dari 6,7 juta hektar. Hasil yang menonjol juga diperoleh menggunakan aplikasi penanda molekular terhadap penyaringan dan identifikasi mutan (Liu dan Zheng, 1992).

Pemuliaan melalui mutasi telah dikembangkan di berbagai negara, sebagai contoh di Vietnam telah dilepas dan dikembangkan secara luas berbagai varietas baru hasil mutasi seperti tanaman padi, lebih dari 15% tanaman padi yang dikembangkan merupakan hasil mutasi dan telah memberikan kontribusi yang besar dalam mendukung ketahanan pangan nasional. Vietnam bekerjasama dengan International Atomic Energy Atomic (IAEA), untuk mengembangkan pertanian yang berkesinambungan dengan pola pemanfaatan lahan secara efektif dan penggunaan air secara efisien. Saat ini telah dilepas berbagai varietas baru, paling banyak ialah tanaman serealialia khususnya padi sebanyak 17 varietas, kedelai 10 varietas, dua varietas jagung dan satu varietas krisan. Adapun sifat baru yang diperoleh antara lain resisten terhadap serangan hama, produksi tinggi dan resisten terhadap penyakit. Lebih dari 50% tanaman kedelai yang dikembangkan ialah varietas unggul berasal dari hasil mutasi.

Database dari FAO/IAEA pada tahun 2000 menyebutkan bahwa sebanyak 434 varietas padi telah dilepas di 31 negara seperti Cina, Jepang, India, Brazil, Guyana, USA, Vietnam, Indonesia, Pakistan dan Bangledes, Cina menduduki wilayah terluas dalam mengembangkan tanaman hasil mutasi.

Penggunaan mutasi buatan untuk pembentukan varietas baru pada tanaman padi menduduki ranking teratas, sebanyak 700 mutan telah dikembangkan diikuti jelai, jagung, gandum, biji oat, jewawut dan sorgum. Varietas

baru yang telah dilepas antara lain padi toleran kekeringan di China, kapas produksi tinggi di Pakistan, gandum toleran panas di India dll. Tahun 2009, telah dikembangkan sekitar 3.100 tanaman mutan hasil mutasi (Forster dan Shu, 2012), dengan berkembangnya teknologi marka DNA dan penelitian genomik untuk skrening maka pengembangan tanaman hasil mutasi menjadi lebih pesat.

China telah mengembangkan padi produksi tinggi dan telah mencapai 33 juta ha lahan. Melalui mutasi telah dihasilkan tanaman CMS (Citoplasmic Male Steril) dalam perakitan padi hibrida. Berbagai keunggulan yang telah dihasilkan melalui mutasi antara lain resisten terhadap penyakit, dan kualitas bulir lebih baik. Penggunaan teknik mutasi untuk perbaikan tanaman di China telah berjalan sejak tahun lima puluh (Liu *et al.*, 2004). Beberapa lembaga penelitian melakukan penelitian secara intensif. Sampai tahun 2004 telah dilepas sebanyak 620 kultivar dari 44 spesies tanaman. Beberapa mutan telah ditanam dalam skala yang luas dan memberikan dampak ekonomi yang nyata terhadap peningkatan produksi tanaman pangan, termasuk di antaranya di lahan yang ada cekaman. Sekitar 10 varietas mutan yang telah dilepas antara lain : padi, gandum, kedelai, jagung, kapas, sendawang dan mulberi, menggunakan berbagai teknik seperti pembentukan benih hibrida, iradiasi pada embrio, jaringan daun dan sel dalam kultur *in vitro* (Wang, 1991; Xu *et al.*, 1996). Setelah diteliti selama 45 tahun, teknik mutasi terbukti sangat menguntungkan untuk peningkatan produksi tanaman, khususnya produksi tanaman pangan di China. Jumlah area per tahun ada sekitar 9 juta hektar guna penanaman varietas mutan, kira-kira 1/10 dari total area tanaman untuk spesies yang sama selama 20 tahun.

Lembaga Ilmu Pertanian Nuklier, institut Pertanian Zhejiang di tahun 1981 telah melepas varietas tanaman padi resisten terhadap penyakit blast yaitu varietas "Zhefu 802". Lembaga ini dengan resmi telah melepas sebanyak 12 varietas mutan dari tahun 1962 hingga 1995. Varietas mutan Zhefu 802 telah ditanam di enam provinsi seluas 14 juta hektar di tahun 1995. Varietas mutan Zhefu 802 diinduksi dengan sinar gamma. Zhefu 802 merupakan varietas padi konvensional yang ditanam secara ekstensif di antara tahun 1986 dan 1994 di China, area yang ditanami hingga 10,6 juta hektar (Shu *et al.*, 1997). Varietas 'Zhefu 802' mempunyai sifat baru yaitu: periode tanam yang pendek (di bawah 110 hari), produksi tinggi, tidak memerlukan penanganan yang rumit, resistensi tinggi terhadap blast dan toleran terhadap suhu dingin.

Varietas gandum mutant, "Yangmai 158" telah dikembangkan oleh Lembaga Penelitian Lixiahe, sebuah lembaga penelitian pertanian di Provinsi Jiangsu China melalui perlakuan sinar gamma pada biji hibrida dan telah dilepas pada tahun 1993. Area penanaman per tahun melebihi 1,33 juta hektar

sejak tahun 1997, dan total area penanamannya menjadi 9 juta hektar pada akhir tahun 2001. Varietas ini telah ditanam di sepanjang sungai Yangtze dan menjadi jenis gandum yang paling luas penanamannya.

Pada tahun 1996, telah dikembangkan teknik mutasi dikombinasi dengan bioteknologi dan terbukti dapat mempercepat diperoleh galur mutan, pada tahun tersebut berhasil dilepas 14 mutan padi, 14 mutan gandum, tiga mutan *oil seed rape*, tiga mutan tomat, dua mutan jelai, satu mutan kedelai dan satu mutan jagung, total area yang telah ditanam $\pm 6,7$ ribu ha pada tahun 2000. Kontribusi teknik mutasi dalam menghasilkan varietas unggul paling banyak ialah pada tanaman pangan. Jumlah total varietas mutan yang telah dilepas sampai tahun 2000 berdasar kan data FAO/IAEA sebanyak 2252 varietas (Maluszynski *et al.* 2000).

Perbaikan genetik melalui mutasi juga telah dikembangkan di Afrika Barat. Iradiasi sinar gamma pada *Oryza glaberima* diperoleh bulir berwarna putih dan telah dikembangkan secara luas, selain itu telah dikembangkan pula varietas baru tahan genangan dan tahan kekeringan. Selain pada tanaman padi telah dikembangkan pula tanaman sorgum hasil iradiasi dengan karakter baru antara lain produksi sekitar meningkat 30–50%, kandungan protein meningkat dan masak lebih awal bila dibandingkan tetuanya, beberapa varietas mempunyai keunggulan toleran terhadap kekeringan.

Pemanfaatan teknologi nuklir di India sudah sejak lama dikembangkan sehingga 90% padi yang dikembangkan di Maharashtra berasal dari radiasi nuklir di Bhabha Atomic Research Centre (BARC), Trombay. Sebanyak 41 varietas baru telah dikembangkan melalui induksi mutasi iradiasi yang dikombinasikan dengan persilangan. Berbagai keunggulan dari varietas hasil mutasi tersebut antara lain produksi lebih tinggi, masak lebih cepat dan efisien dalam penggunaan air. Pada tanaman kacang tanah diperoleh varietas baru toleran kekeringan, masak lebih awal, ukuran biji lebih besar dan produksi tinggi, yaitu 7 ton/ha. BARC juga telah melepas tanaman kacang buncis yang produksinya tinggi, resisten terhadap penyakit *moong beans*. Saat ini telah dikembangkan berbagai varietas baru hasil mutasi dan mencapai ratusan hektar untuk mendukung keamanan pangan di India serta memperbaiki gizi masyarakat. Karakter unggul yang dapat diperoleh menggunakan teknik mutasi antara lain tinggi tanaman, produksi, jumlah bunga pertanaman, berbunga lebih awal, kualitas buah, resisten terhadap hama dan penyakit, tahan suhu dingin serta kekeringan (Jain *et al.*, 1998). Berbagai perubahan karakter dari perlakuan mutasi menggunakan sinar gamma pada tanaman buah dapat dilihat pada Tabel 3.

Pemuliaan pada tanaman hias secara konvensional biasanya dilakukan dengan melakukan persilangan dan melakukan seleksi dari populasi yang

telah didapatkan, tetapi akhir-akhir ini mulai dikembangkan penggunaan teknik mutasi untuk mendapatkan warna baru pada bunga seperti warna kuning dan warna merah pekat, serta tahan pada suhu rendah. Dari berbagai penelitian diperoleh informasi bahwa penggunaan teknik mutasi dapat menginduksi perubahan sifat, berbagai perubahan sifat seperti diuraikan pada Tabel 4.

Penggunaan teknik mutasi untuk perakitan varietas unggul tanaman padi di Indonesia telah dilakukan sejak tahun 1972 di BATAN (Badan Tenaga Atom) bekerja sama dengan proyek penelitian mutasi dari IAEA (International Agency Energy Atomic). Berikut ini perkembangan penelitian di Batan

Radiasi pada biji padi varietas Pelita 1/1 telah diperoleh tiga galur mutan tahan terhadap hama wereng coklat biotipe 1, produksi tinggi dan umur genjah, dilepas dengan nama Atomita 1, Atomita 2 dan Atomita 3.

Perbaikan genetik pada padi gogo dilakukan dengan memberikan perlakuan iradiasi sinar gamma dosis 10–50 krad pada padi varietas seratus

Tabel 3. Perubahan sifat pada tanaman buah hasil iradiasi sinar gamma.

Jenis buah	Karakter baru yang dihasilkan
Apel	Masak lebih awal, warna buah menjadi lebih merah, tanaman menjadi lebih pendek
Plum	Masak lebih awal
Pisang	Toleran <i>Fusarium oxysporum</i> F. sp. <i>cubense</i> ras 4, ukuran buah lebih besar
Jeruk	Tanpa biji, buah menjadi merah dan lebih berair, resisten terhadap <i>Xanthomonas citri</i> , resisten terhadap <i>Tristeza virus hitam</i>
Peer jepang	Resisten penyakit bercak hitam
Nenas	Duri berkurang, toleran kekeangan
Persik	Berbunga lebih awal
Delima	Lebih pendek
Pepaya	Lebih pendek
Pear	Resisten terhadap penyakit
Persik	Resisten terhadap penyakit dan ukuran buah berubah
Kurma	Resisten terhadap penyakit
Jambu biji	Biji berkurang, bentuk buah berubah
Strawberi	Daun menjadi lebih kecil, buah lebih panjang dan resisten terhadap <i>Phytophthora cactorum</i>

Sumber: Jain (2010).

Tabel 4. Berbagai karakter baru yang dihasilkan dari perlakuan mutasi.

Perubahan sifat	Jumlah mutan yang telah diperoleh
Warna bunga	417
Bentuk bunga	31
Bentuk tanaman	25
Warna daun	13
Daun varigata	9
Tipe omamen	9
Bentuk daun	7
Masak lebih awal	6
Tumbuh lebih cepat	5
Lebih pendek	4
Tipe bunga	3
Karakter lain	27

Sumber: Jain (2010).

malam, dari kegiatan tersebut telah diperoleh beberapa galur mutan padi gogo antara lain MG-4/Psj dan SM268/Psj. Hasil uji ketahanan terhadap penyakit blas diperoleh galur Mg-4/Psj agak tahan terhadap semua isolat blas yang ada di Indonesia kecuali dengan ras Lampung dan dilepas tahun 1992 dengan nama Situgintung.

Tahun 1994 dilakukan radiasi benih F1 dari persilangan (Atomita-2/IR64), (Atomita-3/IR64), (Atomita-4/IR64), Obs-1647/IR64) dan (Obs-1647/IR-74) dengan dosis 20 krad (Mugiono *et al.*, 2001; 2002; 2003; 2004). Radiasi pada F1 (Atomita-2/IR64) menghasilkan galur Obs-1650/PsJ yang kemudian dilepas dengan nama Woyla. Radiasi pada F1 Atomita-3/IR64 menghasilkan galur Obs-1658/PsJ yang kemudian dilepas dengan nama Winongo. Dari hasil radiasi F1 (Atomita-4/IR64) menghasilkan galur Obs-1653/PsJ dan Obs-1665/PsJ yang kemudian dilepas dengan nama Meraoke dan Khahayan. Selanjutnya dari radiasi F1 (Obs-164/IR64) dan F1 (Obs-164/IR74) telah diperoleh galur Obs-1678/PsJ dan Obs-1659/PsJ yang kemudian masing-masing dilepas dengan nama Mayang dan Diah Suci. Tahun 1995 dilakukan radiasi benih IR64 dengan dosis 10 krad untuk mendapatkan varietas tahan terhadap penyakit hawar daun (Mugiono 2004) dan diperoleh galur Obs-1677/PsJ yang kemudian dilepas dengan nama Yuwono. Dari hasil tersebut membuktikan bahwa radiasi ^{60}Co 20 krad pada benih IR64 dapat meningkatkan mutu gabah dan kualitas serta ketahanan terhadap penyakit hawar daun.

Perbaikan tanaman harus dilakukan terus menerus untuk mendapatkan kualitas dan kuantitas tanaman. Perbaikan genetik pada varietas Cisantana telah dilakukan dengan melakukan radiasi pada biji dengan dosis 0,20–0,30 kGy. Pengujian terhadap ketahanan hama wereng coklat dan penyakit hawar daun di rumah kaca, diperoleh galur Obs-1688/PsJ dan Obs-1692/PsJ tahan terhadap wereng coklat biotipe 1 dan 2 dan agak tahan biotipe 3 serta tahan terhadap penyakit hawar daun strain III dan agak tahan terhadap strain IV. Kedua galur tersebut mempunyai mutu dan kualitas beras lebih baik antara lain rasa lebih enak dan nasi lebih pulen. Galur Obs-1688/PsJ dan Obs-1692/PsJ telah dilepas sebagai varietas baru oleh Menteri Pertanian masing-masing dengan nama Mira-1 pada tahun 2006 dan Bestari pada tahun 2008 (Mugiono *et al.*, 2009).

Pemuliaan mutasi iradiasi kedelai yang dilakukan di BATAN dimulai tahun 1977. Sampai tahun 2010 telah menghasilkan enam varietas unggul kedelai, yaitu varietas Muria yang dirilis tahun 1987, varietas Tengger dirilis tahun 1991, dan Meratus dilepas tahun 1998, tahun 2004 melepas varietas Rajabasa, dan tahun 2012 dilepas varietas Gemasugen 1 dan 2 (Tabel 5).

Pada tanaman hias, aplikasi teknik mutasi untuk mendapatkan varietas unggul sudah lama berkembang terutama di negara-negara produsen tanam-

Tabel 5. Varietas baru hasil mutasi pada padi, kedelai, kacang hijau, gandum, sorgum dan kapas yang telah dilepas oleh BATAN.

Jenis tanaman	Varietas baru	Tahun dilepas	Jenis tanaman	Varietas baru	Tahun dilepas
Padi	Atomita 1	1982	Kedelai	Muria	1987
	Atomita 2	1983		Tengger	1991
	Atomita-3	1990		Meratus	1998
	Atomita-4	1991		Rajabasa	2004
	Situgintung	1992		Gamasugen 1	2012
	Cilosari	1996		Gamasugen 2	2012
	Maraoke	2001	Kacang hijau	Mira 1	2015
	Woyla	2001		Mira 2	2015
	Kahayan	2003		Camar	1991
	Winongo	2003		Kharisma	2008
	Diah Suci	2003		Ganesha	2013
	Yuwono	2004	Sorgum	Samurai 1	2014
	Mayang	2004		Samurai 2	2014
	Mira-1	2006		Pahat	2015
	Bestari	2008			
	Pandan Putri	2010			
	Inpari Sidenuk	2011			
	Inpari Mugibat	2012			
	Sulitan Unsrat 1	2012			
	Sulitan Unsrat 2	2012			
	Inpari Sidenuk	2013			

Sumber: www.Batan.go.id.

an hias utama dunia seperti Belanda dan Amerika (Broertjes dan Van Harten, 1988). Menurut Lagoda (2009) terdapat sekitar 3000 tanaman mutan termasuk tanaman hias di seluruh dunia yang dihasilkan melalui teknik mutasi. Di Indonesia penelitian pemuliaan melalui mutasi pada tanaman hias baru dimulai sekitar tahun 1990 pada gladiol (Badriah dan Soedjono, 1991), Anyelir (Dwimahyani *et al.*, 2006; Aisyiah *et al.*, 2009). Namun belum banyak varietas yang dilepas sebagai varietas unggul, karena kegiatan belum dirancang secara komprehensif sampai menghasilkan genotipe-genotipe (klon-klon) harapan yang dilepas sebagai varietas unggul baru karena penelitian yang dilakukan masih berkutat pada penentuan dosis, jenis mutagen serta studi keragamannya (Handayati, 2014). Sampai tahun 2011 telah dilepas sebanyak 102 varietas unggul baru melalui pemuliaan konvensional melalui persilangan (Yufdi *et al.*, 2012) namun masih sangat kurang bila dibandingkan dengan membanjirnya produk impor (Handayati, 2014). Beberapa tanaman mutan tanaman hias yang telah dilepas sebagai varietas baru nasional antara lain: Yulikara, Rosanda, dan Rosmarun (mawar mini), rosa (mawar potong), dan Mustika kania (krisan) (Handayati, 2014).

Tabel 6. Beberapa tanaman hias dan tanaman perkebunan hasil mutasi yang telah dilepas Badan Litbang Pertanian.

Tanaman	Nama varietas baru
Mawar	Rosmarum
	Yulikara
	Rosanda
Krisant	Mustika Kania
Nilam	Pachouly 1
	Pachouly 2

Sumber: www.litbang.pertanian.go.id.

Berikut contoh aplikasi mutasi pada tanaman menta dan krisan

• Menta (*Mentha piperita*)

Tanaman menta (*Mentha piperita*) yang resisten terhadap penyakit layu *Verticillium* di USA, telah diperoleh melalui radiasi stolon pada tahun 1959, dan masih diketahui efektif hingga tahun 1990. Penyakit layu yang berasal dari jamur tular tanah ditemukan di tahun 1924 tetapi belum menjadi penyakit yang serius hingga tahun 1940, masalah penyakit tersebut diatasi dengan cara menanam secara besar-besaran serta menyilangkannya dengan *Mentha* lain. Namun upaya itu tidak memberikan hasil sehingga pada tahun 1950 diputuskan memperbaiki kualitas tanaman dengan melakukan pemuliaan mutasi. Dua nilai positif yang diperoleh menggunakan teknik mutasi yaitu mudah untuk meradiasi stolon dalam jumlah besar dalam waktu yang sama dan metode seleksinya tidak rumit dilakukan dalam skala besar. Saat ditanam di area yang sangat terinfeksi oleh penyakit layu, tanaman yang rentan akan mati dan meninggalkan sejumlah tanaman tahan yang di harapkan.

Lebih dari 100.000,00 potongan stolon yang ditanam di tanah yang terinfeksi penyakit layu, telah menghasilkan enam juta tanaman. Namun setelah empat tahun serangan penyakit yang parah tersebut hanya menyisakan 60, 000 tanaman yang tampaknya tahan. Dari populasi ini, diperoleh tujuh stolon yang sangat tahan, lima yang cukup tahan dan mutan tersebut dipilih (Murray, 1972).

• Krisan (*Chrysanthemum* sp.)

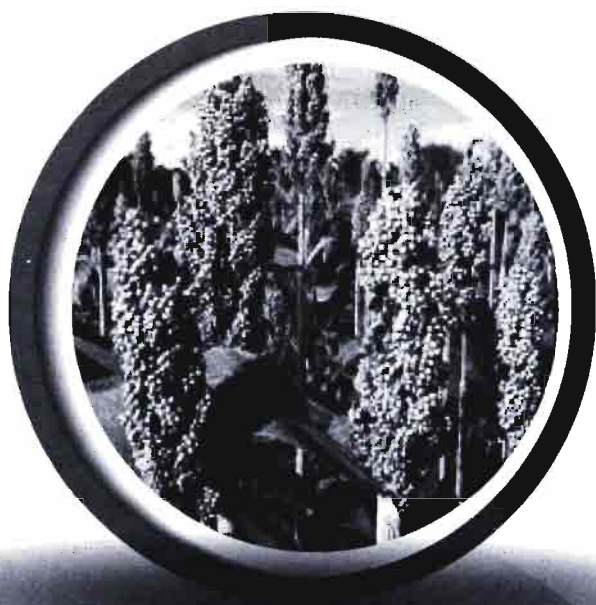
Krisan telah lama dikomersilkan sebagai bunga potong, merupakan komoditas tanaman yang paling banyak diteliti melalui pemuliaan mutasi karena tanaman mudah diperbanyak secara vegetatif, peka terhadap perlakuan mutasi, serta umur tanaman berbunga yang pendek. Selain itu perlakuan mutasi dapat diberikan pada stek pucuk berakar, tidak berakar maupun plantlet (Datta, 2001). Krisan termasuk tanaman yang penting di Netherlands. "Dutch Descriptive Variety List for Ornamental and Florist Crop" tahun 1993

mengemukakan bahwa sekitar 1,26 juta tanaman krisan potong telah dipanen dengan omset 580 juta gulden (350–400 juta US dolar), telah terjual di pusat lelang bunga. Kira-kira 50% dari jumlah produksinya berhasil diekspor

Mutasi pada tanaman krisan yang dilakukan di Balai Penelitian Hias (Balithi) sampai tahun 2013 telah menghasilkan delapan varietas baru, salah satu diantaranya adalah varietas Mustika Kaniya berasal dari radiasi pada varietas Jaguar Red dengan keunggulan ukuran bunga besar, warna bunga standar tingkat keseragaman pembungaan yang kompak dengan dataran bunga terminal yang rata saat mekar (Anonim, 2013).

Agen mutagen yang diberikan pada masing-masing varietas dan bagian tanaman yang berbeda memiliki sensitivitas atau tanggap yang berbeda terhadap dosis iradiasi sinar gamma (Qosim, 1999). Pada krisan varietas Dark Fiji menunjukkan bahwa dosis optimal iradiasi sinar gamma untuk mendapatkan mutan adalah 10–15 Gy. Dosis yang lebih tinggi menyebabkan kerusakan fisiologis yang parah, sehingga tanaman menjadi kerdil dan lebih lambat berbunga. Mutasi yang terjadi pada warna bunga adalah variasi gradasi warna dari warna bunga aslinya. Dari penelitian ini diperoleh 15 kuntum bunga hasil mutasi yang potensial dikembangkan menjadi galur mutan melalui teknik kultur jaringan (Dwimahyani *et al.* 2006).

Perlakuan iradiasi sinar gamma dengan dosis 20 Gy dapat menghasilkan 6 mutan (putatif) pada varietas Dewi Ratih dan 7 mutan (putatif) pada varietas Puspita Nusantara. Perlakuan iradiasi dengan dosis 15 Gy pada krisan pot genotip *Bornholm* menyebabkan terjadinya kimera sektoral pada mahkota bunga (Qosim 1999).



BAB III

KULTUR JARINGAN UNTUK PEMULIAAN TANAMAN

Kultur jaringan atau disebut juga kultur *in vitro* merupakan suatu metode untuk memisahkan bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan atau organ tanaman dan menumbuhkannya pada lingkungan aseptik di dalam ruang yang terkontrol sehingga bagian dari tanaman tersebut dapat tumbuh dan berkembang memperbanyak diri dan beregenerasi membentuk tanaman lengkap (Lestari, 2008; Mohanan, 2010).

Manfaat kultur jaringan paling banyak ialah untuk memperbanyak tanaman secara masal dan cepat pada tanaman hias, tanaman hortikultura dan tanaman perkebunan. Tujuannya untuk mendapatkan bibit secara cepat dalam jumlah banyak dan seragam khususnya untuk varietas-varietas unggul. Seperti tanaman hias (anggrek, krisan, bunga potong dll), tanaman buah (pisang, stroberi dan nenas), tanaman industri dan tanaman perkebunan (jati, kopi, coklat, rami, nilam, tebu dll). Dengan berkembangnya ilmu pemuliaan tanaman, kultur jaringan menjadi punya peran yang besar (Khumaida dan Efendi, 2011).

Aplikasi kultur jaringan terus berkembang selain untuk memperbanyak bibit, telah diaplikasikan pula untuk penyimpanan dan pelestarian berbagai berbagai aksesori plasma nutfah yang tergolong langka. Aplikasi kultur *in vitro* pada abad ini lebih banyak untuk tujuan perbaikan kualitas tanaman (Taji *et al.*, 2001). Teknik kultur *in vitro* yang dapat dikembangkan untuk pemuliaan tanaman antara lain melalui pembungaan *in vitro*, polinasi dan fertilisasi *in vitro* dan penyelamatan embrio yang mengalami abortif, peningkatan keragaman genetik, transformasi genetik, produksi tanaman haploid dan dihaploid yang homogen melalui kultur antera atau mikrospora, pemberian mutagen dan kombinasi dengan kultur *in vitro* untuk meningkatkan keragaman genetik serta hibridisasi somatik melalui fusi protoplas (Jain, 2007; Ahloowalia dan Małuszynski, 2001).

Dalam kultur jaringan, zat pengatur tumbuh tanaman mempunyai peran penting dalam mengontrol proses-proses biologi dalam jaringan tanaman (Davies, 1995; Gaba, 2005). Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al.*, 2004; George, 1993; Dodds dan Roberts, 1982). Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur jaringan terdiri dari golongan sitokinin dan auksin, penggunaannya dapat dikombinasikan antara keduanya atau tunggal

tergantung tujuan dan bahan tanaman yang digunakan. Pembentukan tunas ganda di dalam kultur *in vitro* sangat menentukan keberhasilan produksi bibit dalam jumlah banyak secara cepat. Semakin banyak tunas yang terbentuk akan berkorelasi positif dengan bibit yang dapat dihasilkan.

Pada penelitian mutasi dan transformasi genetik, kultur *in vitro* sangat diperlukan untuk penyediaan eksplan seperti kalus, tunas pucuk atau embrio somatik serta untuk skrining atau seleksi dan memperbanyak materi hasil mutasi (Suprasanna *et al.*, 2012). Keberhasilan pemuliaan melalui mutasi dan transformasi tergantung pada kemampuan regenerasi tanaman serta efisiensi dalam seleksi hasil mutasi atau hasil transformasi.

Aplikasi Kultur Jaringan untuk Mendukung Program Pemuliaan

Kultur protoplas

Protoplas adalah bagian sel hidup yang telah dihilangkan dinding selnya atau disebut sebagai sel telanjang. Tujuan melakukan kultur protoplas dan dilanjutkan dengan fusi protoplas adalah untuk mengatasi permasalahan di dalam persilangan secara konvensional terjadinya masalah inkompatibilitas.

Isolasi protoplas dilakukan secara enzimatis menggunakan enzim yang dapat melarutkan dinding sel. Sebanyak 15 jenis enzim dapat dipergunakan untuk melarutkan dinding sel tanaman yaitu: *pectin glycosidase*, *pectinase*, *cellulase R10*, *xylanase*, *macerozyme*, *meicelase rohamen*, *cellulase onozuka RS*, *driselase*, *cellilase*, *cellulase*, *pectolyase Y-23*, *hemysellulase*, *cellulysin*, *macerase rhozyme*. Jenis enzim dan konsentrasi yang tepat untuk melarutkan dinding sel tanaman sangat bervariasi (Purwito, 2011). Untuk mendapatkan protoplas dari eksplan daun dilakukan melalui empat tahapan, yaitu sterilisasi daun, penghilangan epidermis, perlakuan enzim, isolasi dan pemurnian protoplas. Keberhasilan kultur protoplas tergantung pada genotipe jaringan tanaman yang digunakan, kondisi fisiologis dari jaringan, kemurnian enzim, periode inkubasi, media kultur, zat pengatur tumbuh dan kondisi inkubasi (Klima *et al.*, 2009; Serraf *et al.*, 1991). Penggunaan bahan *in vitro* banyak memberikan keuntungan karena eksplan dalam kondisi steril, dapat tersedia secara kontinyu, lingkungan tumbuh stabil dan jaringan tetap terjaga dalam kondisi juvenil (Purwito, 2011).

Densitas tinggi pada protoplas dapat diperoleh menggunakan biakan *in vitro* sebagai eksplan, keuntungannya karena dinding sel belum kompleks dan belum membentuk dinding sekunder sehingga mudah larut, dan materi yang digunakan dalam bentuk steril sehingga tidak ada resiko kontaminasi pada saat dikulturkan. Regenerasi tanaman dari protoplas merupakan tahap yang paling sulit, menggunakan eksplan dari kalus atau jaringan muda memberikan

peluang keberhasilan lebih tinggi dibanding menggunakan eksplan tanaman dari luar.

Hibridisasi Somatik melalui Fusi Protoplas. Hibridisasi secara somatik dilakukan untuk mengatasi permasalahan dalam hibridisasi seksual dimana persilangan hanya dapat dilakukan pada kerabat yang dekat. Melalui hibridisasi somatik diharapkan dapat mengatasi beberapa permasalahan hibridisasi seksual.

Kelebihan hibridisasi somatik antara lain (1) dapat dilakukan hibridisasi antar spesies, genus dan famili, (2) dapat melakukan hibridisasi pada tanaman yang tidak bisa berbunga atau steril, (3) hibridisasi antar spesies yang tidak kompatibel melalui hibridisasi seksual. Namun demikian ada hal yang perlu diperhatikan dalam hibridisasi somatik yaitu (1) dapat terjadi eliminasi kromosom atau fragmen DNA melalui delesi, translokasi, maupun inversi, (2) variasi genetik, (3) memungkinkan terjadinya khimera, (4) tidak dapat dipastikan bahwa karakter tertentu dapat diekspresikan setelah fusi, (5) regenerasi protoplas menjadi tanaman masih sering sulit dilakukan (Purwito, 2011).

Produksi Tanaman Dihaploid Ganda

Ada dua teknik dalam kultur *in vitro* yang dapat diaplikasikan untuk produksi tanaman Dihaploid ganda (DH), yaitu:

- **Androgenesis**

Proses perubahan mikrospora dari gametofitik normal ke jalur sporofitik kemudian beregenerasi membentuk tanaman haploid disebut androgenesis. Di bawah kondisi kultur yang optimal, mikrospora dapat mengalami pembelahan sel dan kemudian berkembang menjadi embrio atau kalus yang dapat diregenerasikan menjadi tanaman utuh. Terdapat dua pendekatan yang digunakan di dalam androgenesis yaitu kultur antera dan kultur mikrospora.

- **Kultur Antera**

Dalam perakitan varietas baru melalui pemuliaan, pembentukan galur murni merupakan prosedur yang dianjurkan (Dewi *et al.*, 2007). Kultur antera dapat mempercepat perolehan galur murni melalui pembentukan tanaman haploid ganda pada generasi pertama sehingga menghemat biaya dibanding penelitian konvensional (Dewi *et al.*, 1996). Melalui induksi individu haploid ganda spontan (*Spontaneous doubled haploid/dihaploid*) atau dengan menggandakan kromosom dari individu haploid (Dewi *et al.*, 2007). Masalah dalam kultur antera sereal adalah rendahnya tanaman hijau dan banyaknya tanaman albino hasil regenerasi (Dewi *et al.*, 2004), untuk meningkatkan kemampu-

an regenerasi tanaman hijau dapat digunakan spermidin 10^{-3} M (Dewi *et al.*, 2004).

Kultur antera merupakan teknologi yang paling luas dipakai di dalam produksi tanaman haploid ganda. Dengan teknik ini, antera yang mengandung mikrospora pada tahap perkembangan yang tepat (umumnya pada tahap pertengahan hingga akhir uni-nukleat, yang diambil dari seludang, malai atau mahkota bunga dalam kondisi steril), dikulturkan pada medium induksi kalus dan diinkubasi di bawah suhu yang tepat selama empat hingga enam minggu. Selama periode ini, mikrospora yang responsif mengalami mitosis dan berkembang menjadi kalus dan selanjutnya menjadi tunas dan akar (plantlet). Dalam banyak kasus, embrio atau struktur mirip embrio muncul bersama dalam kultur yang sama dengan kalus yang berasal dari mikrospora.

Perubahan mikrospora dari perkembangan gametofit normal menjadi jalur sporofitik merupakan langkah yang sangat penting. Perubahan dapat diinduksi dari variasi cekaman yang diberikan pada bahan tanaman sebelum dilakukan kultur. Isolasi antera dari tanaman donor memberikan cekaman dalam dirinya itu sendiri, tetapi perlakuan cekaman tambahan dapat meningkatkan respons androgenik dari mikrospora. Yang sering dilakukan ialah diterapkannya cekaman suhu, misalnya kejutan panas (32°C untuk beberapa jam hingga beberapa hari) atau pra-perlakuan dengan temperatur dingin (4°C untuk dua hingga empat minggu).

Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur antera antara lain kondisi pertumbuhan dari tanaman donor, komposisi medium, lingkungan fisik dari inkubasi kultur dan regenerasi plantlet, serta genotipe tanaman yang digunakan sebagai donor antera. Kondisi yang tepat dari pertumbuhan tanaman donor merupakan faktor kunci untuk memastikan tanggap kultur yang baik. Material yang digunakan umumnya ditanam dalam ruangan pertumbuhan dengan suhu, cahaya, dan kelembaban yang terkontrol. Di antara komponen media, sumber dan tingkat karbohidrat serta nitrogen menjadi faktor yang cukup penting. Pada berbagai spesies, maltose telah digunakan sebagai sumber karbon untuk medium induksi kalus dan induksi tunas.

Istilah "haploid" mengacu pada tanaman yang memiliki satu gamet dari kromosom (n) di dalam jaringan somatiknya. Haploid dapat muncul secara spontan dari sel telur yang tidak dibuahi. Di dalam pemuliaan tanaman dan genetika tanaman, gamet jantan atau betina dapat diinduksi secara *in vitro* untuk menghasilkan embrio haploid atau kalus yang kemudian diregenerasi menjadi tanaman haploid. Karena hanya satu set dari kromosom homolog, maka tanaman haploid tidak dapat mengalami meiosis normal dan menjadi steril. Namun jumlah kromosom dari haploid dapat meningkat dua kali lipat, yang terjadi secara spontan maupun dengan perlakuan khusus (umumnya

digunakan kolkisin). Hasilnya adalah individu yang dikenal "haploid ganda" (DH), yang memiliki dua kromosom identik, sehingga bersifat subur dan homosigot. Dengan demikian pembentukan tanaman "haploid ganda" merupakan jalan pintas untuk menghasilkan galur-galur yang homosigot dari bahan-bahan tanaman yang bersifat heterozigot (Szarejko 2012).

Tanaman haploid yang pertama diperoleh ialah dari anther *Datura innoxia* yang dikultur secara *in vitro* (Guha and Maheshwari, 1964). Sejak saat itu, berbagai teknik produksi DH untuk spesies tanaman pangan berkembang dengan pesat. Sistem DH telah terintegrasi ke dalam program pemuliaan banyak tanaman, termasuk tanaman serealia utama, minyak sayur, tanaman buah, sayuran, tanaman obat dan tanaman hias. Aplikasi sistem DH tidak hanya memotong banyak generasi yang diperlukan guna menghasilkan galur unggul homozigotik tetapi juga meningkatkan efektivitas seleksi, khususnya sifat-sifat kuantitatif.

Pada tanaman yang diperbanyak dengan biji, pembentukan tanaman haploid dan haploid ganda sangat menguntungkan, karena dapat menyaring sifat resesif atau dominan dan dapat dilakukan fiksasi dan seleksi sedini mungkin, secara cepat sehingga memungkinkan diperoleh mutan dan meningkatkan peluang melakukan identifikasi karakter penting yang diperlukan, serta dapat dihindari adanya fenomena kimera (Xu *et al.*, 1996).

Penggunaan DH pada Tanaman Tahunan

Pada tanaman buah-buahan, tanaman berkayu dan tanaman perkebunan memerlukan waktu cukup lama untuk pembentukan galur murni. Pada tanaman buah-buahan yang telah diperoleh melalui sistem haploid antara lain apel, jeruk, longan, lyches, chery, pir dan anggur (Hofer, 2004). Pada tanaman tahunan dan perkebunan antara lain *quersus*, mimba dan karet (Bueno *et al.*, 2003).

Penggunaan DH dalam Pemuliaan Tanaman Tetraploid

Dengan sistem haploidisasi maka tetraploid murni dapat diperoleh melalui penggandaan kromosom yang selanjutnya dapat digunakan sebagai tetua persilangan untuk memperoleh heterosis maksimal (Dewi dan Purwoko, 2011).

Penggunaan DH Dalam Pemuliaan melalui Mutasi

Skrlning mutan-mutan yang mempunyai sifat-sifat antara lain resisten terhadap cekaman biotik dan abiotik dan peningkatan kandungan nutrisi merupakan hal yang penting dalam perbaikan tanaman. Kombinasi antara teknik mutasi dan kultur antera dapat mempersingkat pembentukan genotipe yang

homozigous, pada tanaman jelai, padi, kubis, jagung dan gandum telah diperoleh varietas baru menggunakan kombinasi antara teknik mutasi dan kultur antera (Ahloowalia, 1998).

Iradiasi akan menghasilkan tanaman dimana gen yang mengalami mutasi akan segera tampak. Alel resesif yang terinduksi oleh mutagen, sebelum atau selama tahap haploid, setelah terjadi penggandaan kromosom akan homozigous dan akan terekspresi secara fenotipik. Dengan sistem haploidisasi, maka mutan yang diinginkan yang umumnya resesif dan sukar untuk dideteksi pada pemuliaan konvensional, akan berada dalam kondisi homozigous dan mudah di seleksi walaupun muncul dalam frekuensi yang rendah (Ahloowalia, 1998).

Penyelamatan embrio ("embryo rescue")

Masalah yang dihadapi dalam penyelamatan embrio adalah sulitnya mengecambahkan embrio yang belum masak, pada umumnya embrio yang belum sempurna tersebut tidak berkembang normal sehingga plantlet yang dihasilkan menjadi lemah (Taji *et al.*, 2001). Tujuan penyelamatan embrio hasil persilangan ialah untuk mengatasi biji yang steril atau dorman (2) menyelamatkan embrio hasil persilangan yang tidak kompatibel, (3) persilangan antara padi budidaya dan padi liar menghadapi masalah adanya ketidakcocokan dalam gen berpasangan, sehingga embrio yang dihasilkan selalu gugur, untuk menyelamatkan bakal embrio yang telah diperoleh maka dikulturkan pada media kultur. Dalam sel tersebut di atas media kultur *in vitro* dapat berperan sebagai endosperm

Kultur *in vitro* mendukung program rekayasa genetik

Transformasi umumnya dilakukan pada populasi somatik yang kemudian diregenerasikan. Dengan demikian sebagai tahap awal sistem regenerasi yang optimal perlu dikuasai terlebih dahulu. Walaupun transformasi dapat dilakukan dalam *in planta* tetapi masalah khimera, kepastian hasil mendapatkan transforman harus lebih tinggi. Aplikasi sel somatik yang telah ditransformasi diregenerasi melalui jalur embriogenesis. Melalui teknologi rekayasa genetika dapat disisipkan satu sampai beberapa gen spesifik yang diinginkan ke dalam genom tanaman tanpa harus merusak sifat agronomi tanaman tersebut. Rekayasa genetik dapat menggunakan bantuan bakteri *agrobacterium*, bakteri ini digunakan sebagai alat untuk membawa gen spesifik ke dalam genom tanaman.

Keragaman somaklonal

Teknik kultur jaringan telah digunakan secara intensif untuk memperbanyak pada berbagai tanaman hias, hortikultura dan perkebunan, serta untuk mempelajari proses biokimia dan studi molekuler. Namun demikian dalam kultur jaringan tidak selalu menghasilkan klon atau tanaman yang sama dengan induknya, dapat dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik dari tanaman sebagai hasil dari perubahan sifat genetik sel somatik yang disebut dengan keragaman somaklonal (Larkin, 1987; Larkin dan cowcroft, 1981; Kaepler dan Phillips, 1993). Faktor yang menyebabkan terjadinya keragaman somaklonal tersebut antara lain fisiologi eksplan, biokimia dan genetik (Jayasankar, 2005). Adanya perubahan genetik selama dalam proses kultur *in vitro* sudah dibahas dalam berbagai diskusi (Kaepler dan Phillips, 1993). Perubahan genetik yang ditimbulkan dapat bersifat stabil dan diturunkan seperti halnya perubahan genetik akibat mutagen fisik atau kimiawi (Jain *et al.*, 1998). Menurut Li dan Gray (2005) melalui keragaman somaklonal dapat menghasilkan kultivar baru dalam waktu relatif singkat.

Variasi genetik yang terjadi selama dalam proses kultur jaringan dapat disebabkan oleh banyak faktor antara lain: sifat genetik pohon induk, kalus yang melakukan proliferasi yang cepat, periode kultur yang lama, frekuensi sub kultur yang tinggi dan penggunaan zat pengatur tumbuh dengan aktivitas tinggi seperti 2,4-D atau Benzil Adenin (Larkin dan Scowcroft, 1981; Evans *et al.*, 1984). Selain faktor tersebut, ada faktor lain yang dapat menyebabkan perubahan genetik antara lain kondisi fisiologi eksplan, jumlah sub kultur, lingkungan kultur, senyawa kimia yang ditambahkan serta level ploidi dari eksplan (Silvarolla, 1992; .../mutasi dan k *in vitro* untuk perbaikan tanaman_januari_2014.doc; Jain, 1998). Variasi yang ditimbulkan dapat berupa variasi genetik atau epigenetik, variasi morfologi dan DNA yang diperoleh di antara tanaman hasil klonal. Epigenetik adalah perubahan gen yang dapat kembali karena bersifat tidak stabil (Kaepler *et al.*, 1998; Kaepler, 2000). Keragaman tanaman dari kultur kalus yang menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D disebabkan karena terganggunya replikasi deoxy ribonucleic acid (DNA) dan mitosis (Bayli, 1980). Lamanya periode kultur dan jenis kultur yang digunakan seperti kalus akan memberikan peluang adanya variasi somaklonal, semakin lama periode kultur kalus maka kemungkinan besar terjadinya keragaman somaklonal, hal ini dapat diamati dari adanya penurunan kemampuan regenerasi tunas dari kalus yang mengalami periode kultur yang lama.

Sedangkan perubahan genetik bersifat dapat diturunkan melalui persilangan atau memperbanyak klonal. Mutasi atau perubahan genetik yang diwariskan dapat terbentuk pada populasi sel somatik atau pada eksplan karena

adanya sel-sel bermutasi pada jaringan tertentu. Perubahan genetik yang terjadi diarahkan hanya pada beberapa gen saja ke arah sifat yang diinginkan (Bozorgipour dan Snape, 1997). Keragaman somaklonal dapat terjadi pada gen yang dominan atau yang resesif meliputi gen tunggal (Broertjes dan Van Harten, 1988).

Keragaman genetik dapat disebabkan adanya (1) penggandaan jumlah kromosom, (2) perubahan struktur kromosom, (3) pindah silang somatik atau perubahan sister kromatid, (4) amplifikasi dan delesi gen, (5) partikel loncat, (6) perubahan kariotip dan (7) pengurangan dan penambahan produk gen (George dan Sherrington, 1984; George, 1993; Maluszynski *et al.*, 1995; Duncan *et al.*, 1995; Larkin dan Scowcroft, 1981) serta perubahan pada sekuens promotor dan delesi pada introns (Ahloowalia 1997). Perubahan kromosom dalam kultur jaringan yang terjadi hasil aneuploidi maupun poliploidi telah banyak dihasilkan antara lain pada tanaman shorgum, gandum (Ahloowalia, 1982), padi (Oono, 1979). Dari penelitian tersebut di atas menunjukkan bahwa kultur *in vitro* telah lama dimanfaatkan untuk perbaikan tanaman. Beberapa perubahan yang terjadi seperti anakan menjadi lebih tinggi, laju pertumbuhan menurun dan daun tegak meningkat.

Beberapa pendekatan yang dapat dilakukan untuk mendapatkan keragaman somaklonal yaitu (1) menumbuhkan kalus atau suspensi sel pada beberapa siklus, (2) meregenerasikan tanaman dalam jumlah besar dari kultur yang telah mengalami periode kultur *in vitro* yang lama, (3) skrening/seleksi untuk sifat tertentu pada tanaman hasil regenerasi atau turunannya, melalui seleksi *in vitro* menggunakan cekaman seperti cekaman biotik atau abiotik, herbisida dan garam, (4) pengujian dan seleksi varian sampai generasi lanjut pada sifat yang diinginkan, (5) perbanyakan pada mutan yang sudah stabil untuk mendapatkan genotipe baru (Brar dan Jain, 1998).

Berikut kekurangan dan kelebihan keragaman somaklonal:

- Kekurangan

- Perubahan sifat tidak terjadi pada gen yang kompleks (poligen)
- Perubahan genetik ke arah sebaliknya atau berlawanan dengan yang sifat diinginkan
- Perubahan genetik terjadinya tidak dapat di prediksi atau terjadi secara acak
- Somaklon hasil seleksi ada kemungkinan tidak stabil
- Somaklon hasil seleksi perlu diuji di lapang sesuai karakter yang diinginkan
- Somaklon yang didapatkan kadang tidak stabil disebabkan adanya metilasi dan elemen loncat.

- Keuntungan

- Perubahan genetik dapat terjadi pada karakter agronomi penting
- Perubahan gen dalam frekuensi tinggi
- Sifat baru yang diperoleh kadang tidak mungkin ditemukan pada "gene pool" yang ada. Menggunakan teknik seleksi *in vitro* maka sifat yang diinginkan dapat diarahkan dengan menggunakan komponen seleksi sehingga lebih efektif. Dengan demikian genotipe baru dengan sifat baru yang diinginkan dapat lebih cepat dihasilkan. Menggunakan seleksi *in vitro* maka dapat dilakukan pada populasi dalam jumlah banyak sehingga individu baru lebih banyak dihasilkan untuk seleksi lebih lanjut di lapang

Keragaman genetik dalam kultur *in vitro* dapat ditingkatkan yaitu kombinasi dengan perlakuan mutasi baik mutagen kimiawi atau fisik seperti sinar gamma, sinar x dll. Berbagai hasil penelitian dengan menggunakan metode somaklonal kombinasi dengan mutagen telah dilakukan antara lain pada *Petunia* sp. (Pahan. 1987), Anylelir (Aisyah *et al.*, 2010), gerbera (Prasetyorini, 1991), mawar mini (Handayati *et al.*, 2003), dan berbagai tanaman hias lainnya. Ibrahim *et al.* (1998) melaporkan bahwa kultur *in vitro* pada beberapa tanaman hias yang diberi perlakuan iradiasi telah menghasilkan perubahan pada warna bunga, ukuran dan jumlah petal. Selain pada tanaman hias, mutan unggul juga diperoleh pada tanaman tembakau, tebu, tomat, gandum dan padi. Adapun karakter baru yang diperoleh antara lain resisten terhadap penyakit, tinggi tanaman, jumlah anakan, umur panen dan berbagai karakter fisiologi dan biokimia seperti warna daun pada tembakau, warna buah pada tomat, toleran terhadap *Helmintosporium maydis* ras T pada jagung serta resisten terhadap *Phitophthora infestans*. Pada tanaman mawar, dari 5809 varietas yang telah dilepas, sebanyak 865 adalah hasil mutasi. Pada tanaman azalea dan krisan 50% dari kultivar yang dilepas merupakan hasil mutasi (Preil, 1982). Tulip merupakan tanaman hias pertama yang di lepas dengan nama CV Fastay (Broertjes dan Van Harten, 1988).

Teknik keragaman somaklonal untuk perakitan varietas baru, awalnya dikembangkan pada tanaman hias seperti anggrek, krisan, gerbera, dan mawar. Hal ini dikaitkan dengan upaya peningkatan nilai jual yang diharapkan berdampak nyata terhadap peningkatan nilai tambah produk, karena selera pasar tanaman hias menuntut tanaman hias yang unik, indah dan langka. Sedangkan pada tanaman pangan dan tanaman lainnya membutuhkan hasil ("yield") yang tinggi sehingga adanya abnormalitas tanaman akibat mutasi tidak dapat berproduksi tinggi tidak akan memiliki nilai (Mattjik, 2011). Dengan semakin intensifnya perkembangan penelitian maka perbaikan kualitas juga diarahkan untuk memendekkan tanaman, berbunga lebih cepat, buah masak lebih awal, buah menjadi lebih menarik warnanya, produksi lebih tinggi dan tahan ter-

hadap patogen (Soedjono 2003). Semakin berkembangnya teknik induksi keragaman dan teknik seleksi, maka komoditas yang dikembangkan makin luas seperti tanaman pangan, tanaman hortikultura dan tanaman perkebunan. Berbagai sifat baru yang telah dihasilkan antara lain produktivitas meningkat, resisten terhadap penyakit serta tahan cekaman biotik lainnya maupun toleran cekaman abiotik. Perubahan sifat yang telah diperoleh dari aplikasi metoda keragaman somaklonal dapat dilihat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

Dengan terbentuknya keragaman somaklonal sering digunakan karakter baru yang lebih baik tetapi dapat pula sebaliknya sebagai contoh pada tanaman hias, adanya efek negatif seperti terbentuknya bercak-bercak atau perubahan warna menjadi gelap (Bhojwai dan Dantu, 1998). Atau bentuk dan warna bunganya kurang menarik sehingga kurang layak dikembangkan secara komersial (Handayati, 2014). Konsumen dalam negeri umumnya menginginkan bunga berwarna terang dan mencolok, selain memiliki bentuk atau penampilan yang unik. Varietas baru hasil variasi somaklonal pada tanaman hias dapat dilihat pada Tabel 9.

Kultur *in vitro* dikombinasi dengan induksi mutasi terbukti efektif dan memberikan keuntungan untuk mengatasi berbagai masalah yang dihadapi pemulia konvensional. Sebagai contoh, perlakuan mutasi dapat diaplikasikan pada populasi yang banyak, pada struktur embrio somatik, pada tunas pucuk, tunas aksilar atau tunas yang ukuran yang sangat kecil (Maluszynski *et al.*, 1995). Keberhasilan aplikasi variasi somaklonal dalam perakitan varietas baru

Tabel 7. Berbagai karakter yang berubah pada tanaman hasil keragaman somaklonal.

Jenis tanaman	Sifat baru
Tebu	Resisten terhadap penyakit "Fiji" dan "Downy mildew Eyespot"
Kentang	Resisten terhadap <i>Fusarium oxysporum</i> dan <i>Phytophthora infestans</i>
Jagung	Resisten terhadap <i>Helminthosporium maydis</i>
Gandum	Resisten terhadap <i>Helminthosporium</i> , toleran panas/kekeringan
Padi	Tahan penyakit blas, lebih pendek, resisten terhadap genangan, produksi lebih tinggi dan toleran garam tinggi
Sorgum	Toleran lahan masam

Tabel 8. Beberapa varietas baru hasil keragaman somaklonal.

Tanaman	Sifat baru	Nama kultivar
Jelai	Produksi meningkat dan resisten penyakit "Downey mildew"	AC Malone
Gandum	Perbaikan karakter agronomi dan produksi lebih tinggi	Hezu 8
Kentang	Menghambat pencoklatan pada umbi	White baron
Tomat	Resisten terhadap <i>Fusarium</i>	DNAP 17
Padi	Resisten terhadap <i>Picularia</i> (blas) dan rasa lebih enak	DAMA
Tebu	Resisten terhadap penyakit dan rendemen gula lebih tinggi dan umur genjah	ONO Co 94012
Pisang	Resiten terhadap <i>Fusarium</i> dan produksi buah lebih tinggi	Tai-Chiao No-Formusa
Amorilis	Warna merah dan kuning dalam satu bunga	Surya kiran (IARI)

Sumber: Larkin, 2004.

Tabel 9. Galur baru asal iradiasi sinar gamma kombinasi dengan kultur *in vitro*.

Tanaman	Eksplan	Perubahan	Pustaka
Anyelir (<i>Dianthus caryophyllus</i> Linn.)	stek pucuk	Wama bunga	Aisyah <i>et al.</i> , 2009 Broertjes and Van Harten, 1978
<i>E pulcherrima</i> dan <i>Dendranthema</i>	kultur suspensi	Toleran pada temperatur rendah	Preil <i>et al.</i> , 1983
<i>Chrysantemum</i>	stek pucuk	Diperoleh enam warna bunga baru	Nagatomi, 1993
<i>Gerbera</i> (<i>Gerbera sp</i>)	tunas pucuk	Wama bunga berubah menjadi lebih menarik	Prasetyorini, 1999
<i>Chrysantemum</i> (<i>Dendranthema grandiflora</i> Tzvelev)	pedikula	Wama bunga menjadi lebih menarik	Latado <i>et al.</i> , 2004
<i>Chrysantemum</i> var. "Taihei"	stek pucuk	Wama bunga, bentuk dan ukuran bunga menjadi lebih baik	Lamseejan <i>et al.</i> , 2000
Mawar mini Prince Meilandina (merah tua-red grey 48 B)	tunas pucuk	Wama menjadi merah marun (red group 53 A)	Handayati, 2014
Mawar Romantica Meilandina (pink = red purple 58c)	tunas pucuk	Putih ujung kelopak bunga merah jambu (red 57B) dan warna salem (orange red 35 D), varietas baru bernama Rosmarun, Yulikara dan Rosanda	Handayati, 2014
Mawar bunga potong varietas Pertiwi	tunas pucuk	Wama petal berbeda	Handayati, 2014
Krisan	tunas pucuk	Jumlah kuntum lebih banyak, fase hidup lebih panjang, susunan daun berseling, berakar serabut dan warna bunga unik, ukuran besar	Anonim, 2013

tergantung pada stabilitas genetik dari somaklon tanaman (Larkin, 1998; Rout *et al.*, 2006). Pada tanaman yang perbanyakannya dilakukan secara vegetatif, maka perbaikan tanaman yang paling efektif ialah menggunakan induksi mutasi dikombinasikan dengan kultur *in vitro* (Jain, 2002)

Pembentukan mutan melalui pemberian radiasi sinar gamma yang paling efektif pada kultur jaringan ialah diberikan pada tingkat kalus karena (1) sel-sel meristematik lebih radiosensitif dari pada sel-sel dewasa, (2) kalus merupakan struktur yang sederhana dalam kultur *in vitro* dan (3) karena ukurannya kecil sehingga tergantung pada tanaman untuk menjalankan fungsinya (Tal, 1993; Lestari, 2012).

Sinar x dan sinar gamma (mutagen fisik) adalah gelombang elektro magnetik, dimana proton akan meresap ke dalam materi dengan suatu proses dimana sebagian atau seluruh energi proton ditransfer ke energi kinetik atau elektro. Elektron ini kemudian kehilangan energinya karena berinteraksi dengan atom dari molekul materi dan melepaskan elektron lain. Proses ionisasi ini menghasilkan radikal ion positif dan ion bebas. Dalam sistem biologi, elektron tersebut akan terjebak dalam sistem polar, sehingga cukup waktu bagi ion radikal yang lebih dan aktif tersebut untuk bereaksi dengan molekul lain atau masuk ke dalam susunan jaringan (Ismachin, 1988).

Bahan yang diradiasi pada umumnya mengandung air sehingga penyerapan sinar pengion ke dalam materi biologi tersebut akan melibatkan proses fisika dan kimia sebagai sumber kerusakan gen (Ismachin 1988). Kecepatan dosis radiasi adalah jumlah dosis terserap persatuan waktu (rad per detik atau Gy per detik).

Berbagai teknik yang dapat diaplikasikan untuk menginduksi terbentuknya variasi somaklonal (1) menumbuhkan kalus atau suspensi sel pada beberapa siklus subkultur, (2) regenerasi tunas dari kalus yang telah disubkultur berkali-kali dan disimpan dalam periode kultur yang lama, (3) seleksi terhadap sifat tertentu seperti cekaman biotik menggunakan agen seleksi tertentu seperti toksin, herbisida, (4) pengujian pada tanaman seleksi untuk sifat tertentu dan (5) multiplikasi tanaman hasil seleksi yang telah stabil untuk dikembangkan menjadi varietas baru. Varietas baru hasil mutasi menggunakan mutagen kimiawi EMS dapat dilihat pada Table 10.

• Evaluasi dan seleksi tanaman hasil keragaman somaklonal

Seleksi merupakan kegiatan penting dalam perakitan varietas baru. Adanya variasi somaklonal dapat diamati secara agronomi, morfologi, fisiologi, biokimia, sitologi dan marka molekuler (Sorina *et al.*, 2013; Mudibu *et al.*, 2012). Marka molekuler dapat digunakan sebagai metoda untuk seleksi tahap awal untuk mendeteksi adanya keragaman genetik. Beberapa teknik yang dapat digunakan untuk melakukan seleksi dan mendeteksi terjadinya perubahan genetik, antara lain izoenzym, RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Amplified fragment length polymorphic DNA (AFLP), RFLP, SSR (Simple sequence repeat) dan inter-simple sequence repeat (ISSR). Karakterisasi morfologi, biokimia dan marka molekuler dapat diperoleh keragaman stabilitas pada tanaman hasil *in vitro* (Samantaray dan Maiti, 2010; Mohanty *et al.*, 2011). Beberapa peneliti menganjurkan menggunakan berbagai teknik sebagai sarana untuk identifikasi adanya keragaman somaklonal.

RAPD dan AFP adalah *dominan marker* sedangkan RFLP adalah Co-dominant marker. RAPD paling sering digunakan untuk identifikasi keragaman somaklonal. Teknik ini mudah dilakukan dan lebih murah dibandingkan metode identifikasi secara molekuler lainnya, walaupun metode ini kurang berhasil mengidentifikasi perubahan-perubahan DNA yang sangat kecil. AFLP dapat mengidentifikasi keragaman somaklonal pada beberapa tanaman antara lain: pecan (*Carya ilinoensis* Wangenh), lettuce (*Lactuca sativa* L.)

Tabel 10. Tanaman hasil mutasi menggunakan mutagen kimia EMS.

Jenis tanaman	Eksplan	Perubahan sifat	Pustaka
Mawar Dendranthema	Bakal bunga Bakal bunga	Perubahan pada warna Perubahan pada warna petal	Kaicker dan Vishnu, 1972 Latado <i>et al.</i> , 2004

dan krisan (*Dendranthema grandiflora* Trzev.) (Li dan Gray, 2005). RAPD dapat membedakan galur mutan dengan varietas asalnya (Taryono *et al.*, 2011), marka RAPD dapat membedakan galur mutan gandum B-100 dan ZH-30 dengan varietas asalnya Dura dan Zhengzu. Younessi *et al.* (2011) juga menggunakan RAPD untuk membedakan keragaman genetik pada galur mutan M7 dengan varietas asal yang tidak diiradiasi.

Seleksi *In Vitro*

Seleksi *in vitro* merupakan salah satu metode dari variasi somaklonal, cara tersebut lebih efektif dan efisien karena perubahan lebih terarah kepada penyaringan sifat yang diinginkan. Pada berbagai tanaman, seleksi *in vitro* telah terbukti menghasilkan varietas baru yang tahan penyakit dan sifat tersebut diwariskan pada keturunannya (Van den Bulk, 1991; Mohannan, 2010; Lestari, 2006).

Manfaat menggunakan kultur *in vitro* dalam seleksi *in vitro* antara lain: (1) dapat diperoleh populasi yang seragam, (2) pengaruh lingkungan dapat dibatasi, begitu pula musim. (3) memungkinkan adanya respon dari sel yang terpisah dari tanaman utuh. Sedangkan kekurangannya antara lain: (1) respon tertentu hanya akan didapatkan pada kalus yang dapat diregenerasikan (2) respon ketahanan dapat diperoleh apabila laju diferensiasinya cukup tinggi.

Selain berperan dalam meningkatkan ketahanan terhadap faktor abiotik, seleksi *in vitro* juga dapat dilakukan untuk meningkatkan ketahanan terhadap faktor biotik, antara lain pada tanaman padi untuk ketahanan terhadap *Xanthomonas oryzae* dan *Helminthosporium oryzae* serta pada tanaman terong untuk ketahanan terhadap *Verticillium dahliae* (Van den Bulk, 1991).

Melalui seleksi *in vitro* dapat dilakukan seleksi tahap dini untuk sifat-sifat penting yang diinginkan sehingga dapat diperoleh perubahan genetik ke arah yang diinginkan (Lestari, 2006). Selama kultur *in vitro* dapat dilakukan seleksi mutan yang bermanfaat secara agronomis, yakni yang berkaitan dengan sifat-sifat genetik. Untuk seleksi, media kultur dapat dibuat dengan menambahkan senyawa herbisida, garam atau aluminium, atau dikondisikan dalam cekaman fisik seperti suhu tinggi atau rendah. Cekaman semacam itu akan membunuh sel-sel yang tidak memiliki toleransi dan resistensi, sehingga memungkinkan sel-sel yang kuat tetap hidup karena memiliki resistensi dan toleransi terhadap cekaman yang diberikan. Sel yang unggul itulah kemudian digandakan melalui subkultur dan diregenerasikan hingga menjadi tanaman.

Perkembangan Pemuliaan melalui Kultur Jaringan

Perakitan varietas baru melalui kultur jaringan telah berkembang luas baik pada tanaman pangan maupun tanaman perkebunan dan hortikultura

berikut contoh kegiatan pemuliaan yang telah dilakukan untuk perbaikan genetik pada pisang dan krisan serta komoditi lainnya.

Pisang Tahan Penyakit Layu Fusarium

Pisang (*Musa spp.*) merupakan salah satu komoditas pangan penting di dunia. Hampir 400 juta penduduk negara berkembang baik di wilayah tropis maupun subtropis menggantungkan hidupnya pada tumbuhan jenis ini, sehingga menjadi komoditas penting di tingkat lokal maupun di tingkat internasional. Namun sejumlah patogen yang hidup di kawasan tropis seluruh dunia telah mengancam produktivitas tanaman. Yang paling merugikan ialah penyakit *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ras 4. Belum ditemukan metode kimia maupun kultur yang mampu mengendalikan penyakit ini. Dengan demikian perlu dikembangkan plasma nutfah tanaman yang tahan agar produksi tetap tinggi. Untuk mendapatkan genotipe baru yang tahan terhadap fusarium, dilakukan penanaman mutan terpilih hasil seleksi *in vitro* di lokasi endemik penyakit layu dan toleransi dari tanaman mutan tersebut dievaluasi berdasarkan pada kemampuan tetap hidup dan berkembang, serta menunjukkan sifat-sifat unggul lainnya seperti produksi buah.

Teknik yang dikembangkan ialah menggunakan tunas apeks dari biakan *in vitro* diberi perlakuan iradiasi sinar gamma (^{60}Co) dosis 20 gy, mutan yang diperoleh selanjutnya diinokulasi menggunakan isolat fusarium ras 4.

Gejala yang tampak seperti tanda-tanda pelayuan, daun kekuningan, terbelahnya pangkal batang dicatat menurut skala 1–3, 1 berarti tak ada gejala, 2 sedang, 3 parah. Kemudian diklasifikasikan. Tanaman dipelihara sampai lewat M_1V_4 dimulai tahun 1993 hingga tahun 1997 dan diperoleh lima galur DPM 2; 25; 15; 22 dan 16 yang resisten terhadap penyakit layu tanpa kehilangan produktivitas. Lima galur yang diperoleh diperbanyak secara *in vitro* kemudian ditanam di lokasi terinfeksi *Fusarium oxysporum* guna dievaluasi lebih lanjut. Satu galur (DPM 25) terpilih dan dievaluasi bersamaan dengan kultivar komersial William, selama tahun 1998–2003 di lokasi terinfeksi *Fusarium oxysporum*. DPM 25 merupakan galur mutan baru yang toleran terhadap *Fusarium oxysporum* (Smith *et al.*, 2006).

Chay *et al.* (2004) juga telah melakukan seleksi *in vitro* bertahap pada galur mutan pisang dan diperoleh peningkatan dari 16% menjadi 60% untuk sifat unggul berbuah lebih awal. Selain berbuah lebih awal ternyata anakan berasal dari kultur jaringan lebih lama dapat hidup berproduksi di lahan endemik dibandingkan asal anakan, dari hasil seleksi secara bertahap telah dihasilkan varietas baru diberi nama Mutiara.

Tanaman Krisan

Tanaman krisan merupakan salah satu bunga potong yang mempunyai nilai ekonomi tinggi sehingga mampu menjadikan Belanda, Afrika Selatan, Spanyol, Colombia dan Israel sebagai negara produsen terbesar di dunia. Di Indonesia sendiri permintaan akan tanaman krisan selalu meningkat setiap tahunnya. Lebih dari itu, krisan telah menjadi model yang mewakili tanaman yang dapat dibiakkan secara vegetatif, khususnya pada tanaman hias yang memiliki ploidi hexaploid dan heterozigot. Induksi keragaman genetik dengan mutasi menjadi lebih mudah dan lebih menarik.

Pada tanaman krisan, seleksi dilakukan dengan memilih langsung di lapangan seperti pada warna tanaman/bunga maupun tipe tanaman. Tanaman mungkin masih menunjukkan adanya kimera (sifat yang tidak diharapkan) di dalam generasi M_1V_1 di lapangan, tetapi diharapkan sifat ini akan berkurang pada M_1V_3 atau pada populasi sesudahnya. Untuk menyaring sifat yang dikehendaki (warna, misalnya) jaringan mahkota bunga dapat dikultur *in vitro* kan untuk memperoleh galur tanaman mutan yang unik.

Di dalam produksi krisan secara komersial, generasi vegetatif yang dikembangkan dari M_1V_1 hingga M_1V_3 atau generasi lebih lanjut tidak dapat dihindarkan. Untuk memperpendek proses tersebut maka kultur jaringan dapat diterapkan untuk mengisolasi jaringan sehingga dapat dihasilkan mutan namun bukan kimera, kondisi ini akan terjadi karena adanya teori totipotensi bahwa dari setiap jaringan maupun organ dapat ditumbuhkan menjadi tanaman lengkap.

Pada tanaman budidaya antara lain tanaman pangan, prioritas perbaikan genetik adalah untuk meningkatkan produktivitas serta kualitas hasil, pada tanaman hias yang diinginkan adalah yang dapat memenuhi selera pasar, yaitu unik, indah dan langka. Pada tanaman pangan adanya abnormalitas akibat perlakuan mutasi tidak akan memiliki nilai, sebaliknya pada tanaman hias, abnormalitas akibat mutasi dapat memberikan nilai tambah misalnya tanaman menjadi kerdil, daun menggulung, adanya bercak, atau warna menjadi gelap, cepat berbunga atau abnormalitas lainnya dapat memiliki nilai estetika yang bernilai tinggi (Mattjik, 2011).

Tanaman Serealia

Aplikasi mutasi baik fisik maupun kimiawi di kombinasi dengan kultur *in vitro* telah dimanfaatkan untuk mendapatkan berbagai galur baru yang meningkat ketahanannya terhadap cekaman biotik maupun abiotik serta mempunyai keunggulan lainnya. Untuk mendapatkan padi IR64 toleran kekeringan, telah dilakukan iradiasi sinar gamma pada kalus dengan dosis 30–50 Gy dan seleksi *in vitro* menggunakan PEG (BM 6000) konsentrasi 20% (Lestari,

2005). Seleksi ketahanan terhadap kekeringan dilakukan menggunakan uji tembus akar (Lestari *et al.*, 2015) dan analisa prolin saat tanaman mengalami cekaman kekeringan (Lestari, 2004). Putatif galur mutan hasil seleksi yang diperoleh telah diuji di lahan kering di Sulawesi yaitu Jeneponto, Luwu, Takalar, Sulawesi Selatan dan Gowa, menghasilkan genotipe-genotipe dengan produktivitas 6,44–7,01 t/ha lebih tinggi dibanding tetua 5,6 t/ha (Lestari, 2012). Galur harapan yang menunjukkan produksi tinggi tersebut sedang di uji daya hasilnya di berbagai lokasi.

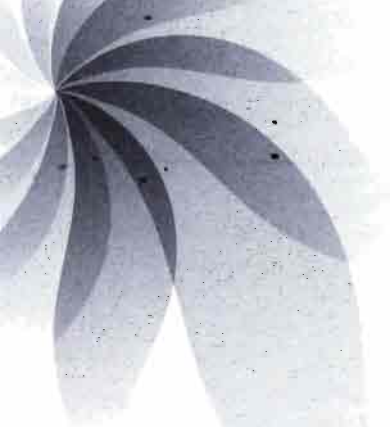
Untuk mendapatkan varietas padi yang tahan penyakit blas dengan hasil tinggi telah pula dilakukan induksi mutasi pada kalus padi varietas Fatmawati menggunakan sinar gamma dengan dosis 10–50 Gy. Hasil pengujian ketahanan terhadap penyakit blas menggunakan isolat blas 001, 033 dan 073 menghasilkan 21 putatif galur mutan yang sangat tahan (Lestari *et al.*, 2010). Hasil kultur antera pada galur mutan yang tahan penyakit blas menghasilkan 119 galur dihaploid yang bersifat homosigot. Pengujian ketahanan terhadap penyakit blas leher di lahan endemik penyakit blas di Sukabumi didapatkan mutan yang tahan dan menghasilkan malai, karakter agronomi pada mutan hasil seleksi nampak lebih baik dibanding tetuanya (Lestari *et al.*, 2015). Hasil uji pendahuluan dan lanjutan yang dilakukan di Sukabumi dan Pusakanagara, beberapa galur memberikan hasil yang lebih baik dibanding tetuanya dan varietas pembanding. Pada uji daya hasil di daerah endemik penyakit blas di Sukabumi, tiga galur menghasilkan gabah lebih tinggi dengan kisaran 6,3–6,7 t/ha sementara tetuanya 6,3 t/ha (Lestari *et al.*, 2013).

Hasil uji adaptasi dan stabilitas 10 galur dihaploid Padi tipe Baru di Sulawesi Selatan yaitu di pangkep, Barru, Gowa dan Maros menghasilkan galur Bio-MF 116, Bio MF-130, Bio MF 151 dan Bio MF 153 yang stabil dan mampu beradaptasi dengan baik di semua lokasi uji dengan kisaran hasil 7,51–7,79 t/ha (Dewi *et al.*, 2015). Dari hasil uji multilokasi di berbagai lokasi menghasilkan satu nomor yaitu Bio MF 133 yang produktivitasnya lebih tinggi dibanding tetua dan pembanding serta stabil di berbagai lokasi sehingga menjadi kandidat untuk dapat direkomendasikan sebagai varietas unggul baru.

Perbaikan genetik pada tanaman pisang untuk mendapatkan genotipe unggul yang tahan terhadap penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang ambon kuning telah dilakukan menggunakan iradiasi sinar gamma dosis 10 Gy dan seleksi *in vitro* menggunakan asam fusarat 30–45 ppm, dilanjutkan dengan inokulasi menggunakan konidia *F. oxysporum*. Galur mutan yang tahan ditanam di lahan endemis penyakit layu *Fusarium* (Lestari *et al.*, 2009). Hasil pengujian menghasilkan galur baru yang dapat menghasilkan buah menandakan adanya ketahanan pada galur tersebut. Penelitian tersebut di danai

oleh Pusat Kajian Buah Tropis Institut Pertanian Bogor, galur-galur yang tahan tersebut dikembangkan oleh IPB (Lestari, 2013). Aplikasi mutasi kombinasi dengan kultur *in vitro* juga telah dikembangkan untuk perbaikan genetik tanaman artemisia untuk meningkatkan kandungan artemisinin (Lestari *et al.*, 2010). Untuk meningkatkan kandungan brik gula pada tanaman sorgum telah dilakukan mutasi iradiasi sinar gamma menggunakan iradiasi dengan dosis 40–70 Gy pada tunas pucuk varietas Numbu, hasil evaluasi dan seleksi putatif galur mutan M_1 – M_6 menghasilkan peningkatan keragaman dan beberapa galur mutan menghasilkan brik gula lebih tinggi 40% dibanding tetuanya (Lestari dan Dewi, 2015) galur harapan yang stabil menghasilkan brik gula = 16%. Untuk tujuan pelepasan varietas unggul baru sedang dilaksanakan uji multilokasi di berbagai lokasi.

Keberhasilan perakitan varietas unggul memerlukan wadah kerjasama antar lembaga dalam bentuk konsorsium, agar galur-galur harapan hasil kombinasi kultur *in vitro* dengan mutagen fisik yang telah diperoleh dapat diuji dan dilepas sebagai varietas baru, diseminasi hasil-hasil penelitian lebih diintensifkan agar dapat segera dimanfaatkan dan disebar luaskan (Lestari, 2012).



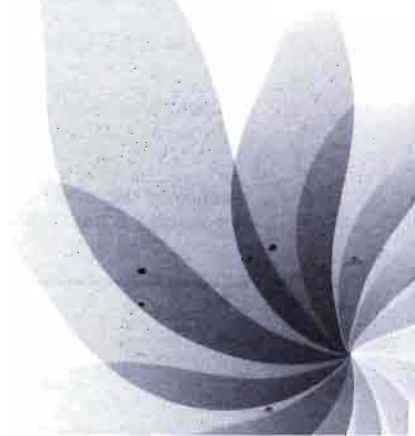
BAB IV

PENUTUP

Untuk mendukung program pemerintah antara lain kemandirian pangan maka salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu memanfaatkan lahan sub optimal antara lain, lahan salin, kekeringan dan sulfat masam. Di samping itu dengan adanya fenomena perubahan iklim global ("climate change") yang sudah melanda dunia pada dekade terakhir ini termasuk Indonesia, fenomena tersebut menyebabkan El Nino dan La Nina yang ekstrim (musim kering atau musim hujan yang berkepanjangan) serta peningkatan suhu bumi. Maka diperlukan varietas unggul baru yang adaptif terhadap lahan sub optimal dan iklim yang sulit diprediksi.

Teknologi yang dapat dimanfaatkan untuk perakitan varietas unggul baru antara lain melalui induksi mutasi baik secara fisik (antara lain iradiasi sinar gamma) dan kimiawi (EMS, DEMS). Menurut data FAO/IAEA varietas unggul baru yang banyak dihasilkan melalui penggunaan mutagen fisik, adalah pada tanaman pangan yaitu sebanyak 2252 varietas sampai tahun 2000. Di samping itu juga pada tanaman lainnya yaitu hortikultura dan perkebunan. Teknologi terkini yang potensial untuk menghasilkan varietas baru yaitu melalui kultur *in vitro*. Peluang keberhasilan akan meningkat apabila kultur *in vitro* dikombinasikan dengan pemberian mutagen baik fisik maupun kimiawi. Melalui seleksi *in vitro* lebih efisien dan efektif karena karakter yang diinginkan sudah diseleksi sejak dalam kondisi *in vitro*. Melalui kultur *in vitro* telah banyak varietas unggul baru yang dihasilkan antara lain pada tanaman pangan.

Kombinasi perlakuan mutagen (fisik maupun kimiawi) pada tanaman, telah terbukti dapat menghasilkan galur-galur harapan baru yang dapat direkomendasikan untuk di lepas sebagai varietas unggul baru.



BAB V

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. 2006. Potensi padi liar sebagai sumber senetik IPTEK Tanaman Pangan. hlm. 143–152.
- Abdullah, B. dan Sularjo. 1988. Evaluasi program persilangan dalam usaha perbaikan varietas padi di Indonesia. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balittan Bogor 17–18 Desember. hlm. 274–286.
- Ahloowalia, B.S. 1997. Improvement of horticultural plants through *in vitro* culture and induced mutations. In A. Altman and M. Ziv (eds.). *In vitro* Culture and Breeding. p. 545–549. Hort Biotech Acta Hort.
- Ahloowalia, B.S. 1998. *In vitro* techniques and mutagenic for the improvement of vegetatively propagated plants. In S.M. Jain, D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (eds.) p. 293–309. Somaclonal Variation and Induced Mutation in Crop Improvement. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Ahloowalia, B.S. and M. Maluszynski. 2001. Induced mutations-a new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118(2):167–173.
- Ahloowalia, B.S., M. Maluszynski, and K. Nichterlein. 2004. Global impact of Mutation-derived Varieties. *Euphytica*. 135(2):187–204.
- Aisyah, S.I., H. Aswidinnoor, dan A. Saefuddin. 2010. Induksi mutasi pada stek pucuk anyelir (*Dianthus caryophyllus*. Linn) melalui iradiasi sinar gamma. *Indonesian Journal*. 33(1):62–70.
- Anonim. 2013. Krisan varietas mustika kania. Balai Penelitian Tanaman Hias.
- Asadi. 2013. Pemuliaan mutasi untuk perbaikan terhadap umur dan produktivitas pada kedelai. *Jurnal Agrobiogen* 9(3):135–142.
- Badriah, S. dan S. Soedjono. 1991. Perbaikan varietas dengan iradiasi. Laporan Hasil Penelitian Tanaman Hias. Sub Balai Penelitian Hortikultura. Cipanas. Tidak dipublikasikan.
- Barret, P., M. Brinkmann, and M. Backert. 2008. A major ILocus expressed in the male gametophyte with incomplete penetrance is responsible for in situ Gynogenesis in Maize. *Theoretical and Applied Genetics*. 117:581–594
- Bayli, I.S. 1980. Chromosomal variation in plant tissue culture. *International Review of Cytology* (Supplement) 11A, p. 113–114.
- Bhatia, C.R., M. Maluszynski, K. Nichterlein, and L. Van Zanten. 2001. Grain legume cultivars derived from induced mutation and mutation affecting nodulation. *Mutation Breeding Review*. (13):1–44.
- Bhinu, V.S. Pillai, and S. Chellamma. 2014. Abiotik stress and control of yield in cereals. p. 205–230. In: P. Ahmad, M.R. Wani, M.M. Azooz, and Lam-Son P. Tran (eds.) *Improvement of Crops in the Era of Climatic Change Vol 1*. Springer.
- Bhojwani, S.S. dan P.K. Dantu. 1998. *Plant Tissue Culture: An Introductory Text*. 141–154. Springer India.
- Bozorgipour, R. and J.W. Snape. 1997. An assesment of somaclonal variation as a breeding tool for generating herbicide tolerant genotypes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 94(3):335–340.
- Bueno, N., R. Kuprienne, and L. Zilenaite. 2004. Embryogenesis, callogenesis and conjugated putrescine. Callus formation and root differentiation in leaf explants of tobacco calcitrated in

- vitro: Effect of the Suicide Inhibitors of Putrescine synthesis. In H.E. Flores, R.N. Artica, and J.C. Shannon (eds.) Polyamines and Ethylene Biochemistry, Physiology and Interaction. American Society of plant Physiologist USA.
- Brar, D.S. and S.M. Jain. 1998. Somaclonal Variation: Mechanism and applications in crop improvement. p. 15–38. In S.M. Jain, D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (eds.) Somaclonal Variation Induced Mutation in Crop Improvement. Kluwer Acad Pres Netherlands.
- Broertjes, C. and A.M. Van Harten. 1988. Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops. 343 pp. Amsterdam. Elsevier.
- Broertjes, C. and A.M. Van Harten. 2012. Application of Mutation Breeding Methods in The Improvement of Vegetatively Propagated Crops (Vol. 2). In C. Broertjes (ed.) Elsevier Scientific Publishing Company. pp. 323
- Chay, M.A.K., Y.W. Ho., K.W. Liew, and J.M. Asif. 2004. Biotechnology and *in vitro* mutagenesis for banana improvement. In J.M. Jain and R. Swennen (eds.) p. 59–77. Banana Improvement Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutation. Science Publisher. Inc.
- Chu, Z., M. Yuan, and T. Yao. 2006. Promotor mutation of an essential gene for pollen development result in disease resistance in rice. *Genes & Dev.* 20:1250–1255.
- Datta, S.K. 2001. Mutation studies on garden *Chrysanthemum*". A Review. *Sci. Hort.* 7, 159–199. Davies, P.J. 1995. The plant hormone their nature, occurrence and function. In Davies (ed.) Plant Hormone and Their Role in Plant Growth Development. Dordrecht Martinus Nijhoff Publisher.
- Dewi, I.S., I. Hanarida, and S. Rianawati. 1996. Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia". *Indon. Agric. Res. and Dev. J.* 18:51–56.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I.H. Somantri. 2004. Kultur antera padi pada berbagai media mengandung poliamin. *J. Biotek. Pertanian.* 9(1):14–19.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, dan H. Aswidinnoor. 2007. Regenerasi tanaman pada kultur antera padi: Pengaruh persilangan dan aplikasi putresin". *Bul Agron.* 35:68–76.
- Dewi, I.S. dan B.S. Purwoko. 2011. Kultur *in vitro* untuk produksi tanaman haploid androgenik. p. 107–157. Dalam G.A. Wattimena, A.M. Nurhayati, N.M. Armini, A. Purwito, D. Efendi, B.S. Purwito, dan N. Khumaida (eds.) Faperta IPB Bogor.
- Dewi, I.S., E.G. Lestari, Chaerani, dan R. Yunita. 2015. Penampilan galur harapan mutan dihaploid padi tipe baru di Sulawesi Selatan. *J. Agron Indonesia* 43(2):89–98.
- Dodds, J.H. and L.R. Roberts. 1982. Experiments in plants tissue culture. Cambridge University. Press.
- Duncan, R.R., R.M. Wascom, and M.W. Nabors. 1995. *In vitro* screening and field evaluation of tissue-culture-regenerated Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moenth.) for soil stress tolerance. *Euphytica.* 85(3):371–380.
- Dwimahyani, I., S. Widiarsih, dan Yulidar. 2006. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan dan pembungaan stek pucuk krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) CV. Dark Fiji". *Risalah Seminar Ilmiah Isotop dan Radiasi.* hlm. 115–120.
- Evans, D.A., W.R. Sharp, and H.P. Medina-Filho. 1984. Somaclonal and gametoclonal variation. *Amer. J. Bot.* 71(6):759–774.
- Finch, R.A. 1989. The hap gene Cause facultative pseudogamy in barley. *Barley Genetics Newsletter:* 13:4–6.

- Forster, B.P. and Q.Y. Shu. 2012. Plant mutagenesis in crop improvement: *In* Q.Y. Shu and B.P. Forster (eds.) Basic Terms and Applications. Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Joint FAO/IAEA Programme. Vienna, Austria.
- Foster, T.M., J.T. Lough, S.J. Emerson, R.H. Le, J.L. Bowman, R.L.S. Forster, and W.J. Lucasa. 2002. A surveillance system regulates selective entry of RNA into the Shoot Apex". *The Plant Cell*, 14:1497–1508.
- Gaba, V.P. 2005. Plant growth regulator. *In* R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) p. 87–100. Plant Tissue Culture and Development. CRC Press. London.
- George, E.F. and P.D. Sherington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Hand book and Directory of Commercial Laboratories. Exegetics Lim. England. 709 p.
- George, E.F. 1993. Plant propagation by tissue culture. Part 1 The Technology. Exegetics Lim. England. pp. 1361.
- Guha, S. and S.C. Maheshwari. 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of datura. *Nature*. 204(4957):497 p.
- Gupta, U.S. 1997. Crop improvement. Stress Tolerance 2:303 pp. Science Publisher Inc. USA
- Hagberg, A. and E. Akerberg. 1962. Mutation and polyploidy in plant breeding Bonniers, Stockholm: Scandinavian. University Books. 150 pp.
- Handayati, W., Darliah, I. Mariska, dan R. Purnamaningsih. 2003. Usulan pelepasan varietas mawar mini "Rosmarun, Roshanda, dan Yulikara". Balai Penelitian Tanaman Hias. Tidak Dipublikasikan. 24 hlm.
- Handayati, W.D., I. Mariska, R. Purnamaningsih, dan Darliah. 2007. Peningkatan keragaman genetik mawar mini melalui kultur *in vitro* dan iradiasi sinar gamma. *Berita Biologi*, 5(4):365–371.
- Handayati, W. 2014. Perkembangan pemuliaan mutasi tanaman hias di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 9(1):67–80.
- Hapsoh, S. Yahya, T. Muhammad, H. Oelim, dan B.S. Purwoko. 2006. Respons fisiologi beberapa genotipe kedelai yang bersimbiosis dengan MVA terhadap berbagai tingkat cekaman kekeringan Hayati. 13(2):43–48.
- Hofer, M. 2004. *In vitro* androgenesis in apple-improvement of the Induction phase. *Plant Cell Report* 22(6):365–370.
- Human, S. 2003. Peran iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian. *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir*, hlm. 308–316. Jogjakarta.
- IAEA. 1977. Manual on mutation, viability and population structure. *Acta Agric. cand.* IV. p. 601–632.
- Ibrahim, R., W. Mondelaers, and C.D. Pierre. 1998. Effect of x-irradiation on adventitious bud regeneration from *in vitro* leaf explants of rosa hybrid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 54:37–44.
- Ismachin, M. 1988. Pemuliaan tanaman dengan mutasi buatan". Jakarta: Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Atom Nasional.
- Jain, S.M., M. Buiatti, F. Gimeli, and F. Sacacardi. 1998. Somaclonal variation in improving ornamental plants. p. 81–104. *In* S.M. Jain, D.S. Brar, B.S. Ahloowalia (eds.) Somaclonal variation induced mutation in crop improvement. Kluwer Acad Pres Netherlands.

- Jain, S.M. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement". *Euphytica*. 18(2):153–156.
- Jain, S.M. 2002. Feeding the world with induced mutation and biotechnology. Proc. Int. nuclear. conference. Global trends and perspectives. Seminar 1: Agriculture and Bioscience. Bangi, Malaysia: MINT. p. 1–4.
- Jain, S.M. 2005. Major mutation assisted plant breeding progress support by FAO/IAEA". *Plant Cell Tiss Org Cult*. 82:113–123.
- Jain, S.M. 2007. Recent advances in plant tissue culture and mutagenesis. *Acta Hort* 7(36):205–211.
- Jain, S.M. 2010. Mutagenesis in crop improvement under the climate change. *Romanian Biotechnological Letter*. 15(2):88–106.
- Jayasankar, S. 2005. Variation in tissue culture. In R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) p. 301–309. *Plant Development and Biotechnology* CRC Press. LLC, 2000. New York.
- Kaepler, S.M. and R.L. Phillips. 1993. DNA Methylation and Tissue-induced Variation in Plant. *In vitro Cell Dev Biol*. 29:125–130.
- Kaepler, S.M., R.L. Philips and P. Olhoft. 1998. Molecular basis of heritable tissue culture-induced variation in plants. In S.M. Jain, D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (eds.) p. 455–484. *Somaclonal variation and induced mutation in crop improvement*. Netherland: Springer.
- Kaepler, S.M., F.H. Kaepler, and Y. Rhee. 2000. Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants *Plant Molecular Biology*. 43:179–188.
- Kaicker, U.S. and S. Vishnu. 1972. Induced mutations in roses. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 32(2):257–265.
- Kharkwal, M.C., R.M. Panday, and S.E. Pawar. 2004. Mutation breeding in crop improvement. p. 601–645. In: H.K. Jam and M.C. Kharkwal (eds.) *Plant breeding-mendelian to molecular approach*. New Delhi: Narosa Publishing House.
- Khumaida, N. dan D. Efendi. 2011. Teknik kultur jaringan dalam perbaikan tanaman. p. 45–62. *Dalam* G.A. Wattimena, A.M. Nurhayati, N.M. Armini, A. Purwito, D. Efendi, B.S. Purwito, dan N. Khumaida (eds.) *Faperta IPB Bogor*.
- Klima, M., E. Abraha, M. Vyradilova, and M. Beehyne. 2009. Protoplas culture and fusion between *Brassica cavinata* and *Brasica napus*". *Agricultural tropica et subtropica* 42(1):34.
- Kodym, A., R. Afza, B.F. Foster, Y. Ukai, H. Nakagawa, and C. Mba. 2012. p. 169–180. *Methodology for Physical and Chemical Mutagenic Treatments*. In: Q.Y. Shu, B.P. Foster and H. Nakagawa (eds.) *Plant Mutation Breeding and Biotechnologi*. Joint FAO/IAEA Programe.
- Lagoda, P.J.L. 2009. Networking and fostering of cooperation in plant mutation genetics and breeding: Role of the Joint FAO/IAEA Division". In *Induced Plant Mutation in Genomic Era*. Q.Y. Shu (ed.) *Food and Agriculture Organization of The United Nations*. Rome. p. 27–30.
- Lakhan, S. 2006. The emergence of moder biotechnology in China". *Issues in Informing Science and Information Technology*, 3:333–353.
- Lamseejan, S., P. Jompuk, A. Wongpiyasatid, S. Deeseepan, and P. Kwanthammachart. 2000. Gamma-rays induced morphological changes in *Chrysanthemum*. (*Chrysanthemum morifolium*)". *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 34:417–422.
- Larkin, P.J. and W.R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor Appl. Genet* 60:197–214.

- Larkin, P.J. 1987. Somaclonal variation:History, Method and Meaning". Iowa State. J. 61:393–434.
- Larkin, P.J. 1998. In introduction. In M. Jain, D.S. Brar, B.S. Ahloowalia (eds.) p. 3–13. *Somaclonal Variation and Induced Mutation in Crop Improvement*. S. Kluwer Acad Publ.
- Larkin, P. 2004. Somaclonal variation:Origin And Causes. In: R. Goodman (ed.) Encyclopedia of plant and crop science. Marcel Dekker, New York, pp. 1158–1161.
- Latado, R.R., A.H. Adames, and A.T. Neto. 2004. *In vitro* Mutation of Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) with Ethylmethane sulphonate (EMS) in Immature Floral Pedicels. Plant Cell and Tissue Organ Culture. 77(1):103–106.
- Lee, S., S. Costanzo, and Y. Lia. 2012. The structure and regulation genes and consequences of genetic mutations. p. 31–46. In Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Q.Y. Shu, B.P. Foster, and H. Nakagawa (eds.) FAO IAEA.
- Lestari, E.G. 2004. Akumulasi prolin untuk seleksi ketahanan kekeringan pada tanaman padi hasil seleksi *in vitro*. Prosiding Seminar Nasional. Perhimpunan Bioteknologi Indonesia. Malang, 12–13 April 2004.
- Lestari, E.G. 2005. Seleksi *in vitro* untuk ketahanan terhadap kekeringan pada tanaman padi. Disertasi. Pasca Sarjana IPB, Bogor. 216 hlm.
- Lestari, E.G., E. Guhardja, S. Harran, dan I. Mariska. 2005. Uji daya tembus akar untuk seleksi somaklon toleran kekeringan pada padi varietas Gajah mungkur, Towuti dan IR64. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 24(2):97–103.
- Lestari, E.G. 2006. *In vitro* selection and somaclonal variation for biotic and abiotic stress Tolerance. Biodiversitas 7(3):297–301.
- Lestari, E.G., I. Mariska, I. Roostika, dan M. Kosmiatin. 2006. Induksi mutasi dan seleksi *in vitro* menggunakan asam fusarat untuk ketahanan penyakit layu pada pisang Ambon hijau. Berita Biologi 8(1):27–35.
- Lestari, E.G. 2008. *Kultur Jaringan*. Aka Demia. 60 hlm.
- Lestari, E.G., I. Mariska, I. Roostika, dan M. Kosmiatin. 2006. Induksi mutasi dan seleksi *in vitro* menggunakan asam fusarat untuk ketahanan penyakit layu pada pisang Ambon hijau. Berita Biologi 8(1):27–35.
- Lestari, E.G., R. Purnamaningsih, I. Mariska, dan S. Hutami. 2009. Induksi keragaman somaklonal dengan iradiasi sinar gamma dan seleksi *in vitro* kalus pisang raja bulu menggunakan asam fusarat, serta regenerasi dan aklimatisasi plantlet. Berita Biologi 9(4):411–418.
- Lestari, E.G., M. Syukur, R. Purnamaningsih, R. Yunita, dan R. Firdaus. 2010. Keragaman somaklonal untuk perbaikan tanaman artemisia (*Artemisia annua* L.) melalui kultur *in vitro*. Jurnal Agro Biogen 6(1):26–32.
- Lestari, E.G., I.S. Dewi, R. Yunita, dan D. Sukmadjaja. 2010. Induksi mutasi dan keragaman somaklonal untuk meningkatkan ketahanan penyakit blas daun pada padi Fatmawati. Bull. Plasma Nutraf 16(2):96–102.
- Lestari, E.G. 2012. Mutan padi IR64 toleran kekeringan. WARTA Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 34(2):7–8.
- Lestari, E.G. 2012. Naskah Orasi. Badan Litbang Pertanian. Bogor. 27 Desember 2012.
- Lestari, E.G. 2012. Combination of somaclonal variation and mutagenesis for crop improvement. AgroBiogen. 8(1):34–44.

- Lestari, E.G. 2013. Pembentukan galur unggul tanaman melalui peningkatan keragaman genetik dengan metode variasi somaklonal. *Pengembangan Inovasi Pertanian*. 6(2):54–61.
- Lestari, E.G. dan I.D. Dewi. 2015. Evaluasi dan seleksi galur mutan sorgum manis varietas Numbu hasil mutasi. Seminar Nasional Biologi II. Undip Semarang. 6 Agustus 2015.
- Lestari, E.G., I.S. Dewi, dan R. Yunita. 2015. Seleksi galur mutan padi Fatmawati tahan terhadap penyakit blas dan evaluasi karakter agronomi di rumah kaca dan di lahan sawah. *Bul. Plasma Nutrafah*. 21(2):79–88.
- Li and D.J. Gray. 2005. Genetic engineering technologies. p. 241–250. *In* R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) *Plant Development and Biotechnology*. CRC. Press. LLC. 200. New York.
- Liu, L.Q. and Q. Ch. Zheng. 1997. Space-Induced mutation for crop improvement. *In*: China Nucl. Sci. and Tech. Report. CNICo1139/CSNAS-0111. China Nucl. Information Centre, Atomic Energy Press, Beijing.
- Liu, L., L. Van Zanten. Q.Y. Shu, and M. Maluszynski. 2004. Officially released mutant varieties in China". *Mutation Breeding Review*. FAO/IAEA. 14. 10 p.
- Lundqvist, U. 1991. Swedish mutation research in barley with plant breeding aspects (a historical review) *In* *Plant Mutation Breeding for Crop improvement*". (Proceedings FAO/IAEA Symposium. Vienna. 1990). Vol 1. Vienna: IAEA, pp. 135–148.
- Lundqvist, U., J.D. Franckowiak, and B.P. Forster. 2012. Mutation categories. *In* Shu and Forster (eds.) *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Joint FAO/IAEA Programme. Vienna, Austria.
- Maluszynski, M., B.S. Ahloowalia, and B. Sigurbjornsson. 1995. Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*. 85:303–315.
- Maluszynski, M., K. Nichterlein, L. Van Zanten, and B. Ahloowalia. 2000. Officially released mutant varieties-The FAO/IAEA Database". *Mutation Breeding Review*. 12:1–84.
- Maluszynski, M. 2001. Officially released mutant varieties". The FAO/IAEA Database. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 65:175–177.
- Mattijk, N.A. 2011. Keragaman somaklonal p. 159–188. *Dalam* G.A. Wattimena, A.M. Nurhayati, N.M. Armini, A. Purwito, D. Efendi, B.S. Purwito, dan N. Khumaida (eds.) *Biotechnologi Dalam Pemuliaan Tanaman*. Faperta IPB Bogor.
- Micke, A., M. Maluszynski, and B. Donnini. 1985. Plant cultivars derived from mutation induction and the used of induced mutans in cross breeding mutation. *Mutation Breeding Review*". IAEA. Vienna, Austria. 92 p.
- Micke, A., B. Donini. 1993. Induced mutation. *In* *Plant Breeding*. A. Micke and B. Donini (eds.) pp. 52–62. Springer.
- Misra, N. and P. Saxena. 2009. Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress". *Plant Science* 177(3):181–186.
- Mohanani, K.V. 2010. *Essentials of plant breeding*. PHI Learning Private Limited New Deldi. 150 pp.
- Mohanty, S., R. Parida, S. Singe, R.K. Joshi, E. Subudhi, and S. Nayak. 2011. Biochemical and molecular profiling of micropropagated and conventionally grown *Kaempferia galanga*". *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 106:39–46.
- Mudibu, J., K.K.C. Nkongolo, A. Kalonji-Mbuyi, and V.K. Roger. 2012. Effect of gamma irradiation on morphoagronomic characteristics of soybean (*Glycine max* L.). *Am. J. Plant Sci.* 3:331–337.

- Mugiono, Sutisna, Hambali, dan T.W. Susanto. 2001. Obs-1650/Psj dan Obs-1653/PsJ, Galur mutan padi sawah umur genjah, tahan wereng coklat dan tahan penyakit bakteri hawar daun. Usulan pelepasan galur Obs-1650/Psj dan Obs-1653/PsJ. Patir-Batan. Jakarta. 15 p.
- Mugiono, Sutisna, Hambali, dan T.W. Susanto. 2002. Obs-1656/Psj dan Obs-1658/Psj, Galur Atomita-4 dengan IR64. Usulan Pelepasan Galur Obs-1656/Psj dan Obs-1658/Psj. Patir-Batan. Jakarta. 32 p.
- Mugiono, Sutisna, Hambali, dan T.W. Susanto. 2003. Obs-1659/Psj, Galur Mutan Padi Sawah Produktif Tinggi, Umur Genjah dan Tahan Wereng Coklat dengan Rasa Nasi Pulen. Usulan Pelepasan Varietas Galur Obs-1659/Psj Sebagai Varietas Baru. Patir Batan, Jakarta. 34 p.
- Mugiono, L. Harsanti, Sutisna, Hambali, dan Yulidar. 2004. "Obs-1677/Psj dan Obs 1678/Psj, Galur Mutan Padi Sawah Produksi Tinggi, dari Perbaikan Varietas IR64 dengan Teknik Mutasi. Usulan Pelepasan Galur Obs-1677/Psj dan Obs-1678/Psj Sebagai Varietas Unggul Baru ". Patir-Batan. Jakarta.
- Mugiono. 2006. Aplikasi Teknik Nuklir untuk Penelitian Bidang Pertanian dan Peternakan. Pelatihan Introduksi Teknik Nuklir bagi guru SMU. Pusat Pendidikan dan Pelatihan. Batan, Jakarta. 30 p.
- Mugiono, L. Harsanti, dan A.K. Dewi. 2009. "Perbaikan Padi Varietas Cisantana ". Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. 5(2):194-210.
- Murray. M.J. and W.A. Todd. 1972. Regristation of Todd's mitcham peppermint. Crop Science. 12:128.
- Oono, K. 1979. Test tube breeding of rice by tissue culture. Tropical Agric. Res. Series Ministry Agric. Forest 11:109-124
- Pahan. 1987. Pengaruh radiasi sinar gamma pada pucuk *in vitro* terhadap keragaman genetik petunia (*Petunia Hybrid* Vilm.). Karya Ilmiah. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.
- Prasetyorini. 1991. Pengaruh radiasi sinar gamma dan jenis eksplan terhadap keragaman somaklonal pada tanaman gerbera". (Disertasi) Fakultas Pasca Sarjana. IPB. Bogor. 81 hlm.
- Preil, W., M. Engelhardt, and F. Walther. 1982. Breeding of low temperature tolerant Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) and *Chrysanthemum* by Means of Mutation Induction in *In vitro*". Acta Horticulturae. 131:345-351.
- Purwito, A. 2011. Kultur protoplas dan hibridisasi somatik. p. 67-94. Dalam G.A. Wattimena, A.M. Nurhayati, N.M. Armini, A. Purwito, D. Efendi, B.S. Purwito, dan N. Khumaida (eds.) Bioteknologi Dalam Pemuliaan Tanaman. Faperta IPB Bogor.
- Qosim, W.A. 1999. Variabilitas genetik karakter morfologi tanaman krisan pada generasi MV₂ dan MV₃ akibat iradiasi sinar gamma. Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Padjadjaran. Bandung. 60 hlm.
- Ravi, M. and S.W.L. Chan. 2010. Haploid plants produced by centromere-mediated genome elimination". Nature 464:615-619.
- Rout, G.R., A. M. Mahapatra, and M. Jain. 2006. Tissue culture of ornamental pot plant: A Critical Review on Present Scenario and Future Prospects". Elsevier. 24:531-560.
- Roychowdhury, R. and J. Tah. 2011. Assessment of chemical mutagenic effects in mutation breeding programme for M₁ generation of carnation (*Dianthus caryophyllus*). Res. Plant Biol., 1:23-32.
- Samantaray, S. and S. Maiti. 2010. An assesment of genetic fidelity of micropropagated plants of *Chlorophyton borivilianum* Using RAPD Markers". Biologia Plantarum 54(2):334-338.

- Satyavathi, V.V., P.P. Jauhar, E.M. Elias, and M.B. Rao. 2004. Genomics, molecular genetic & biotechnology effects of growth regulators on *in vitro* plant regeneration". *Crop Sci.* 44:1839–1846.
- Serraf, I.D. Sihachakr, D. Ducreux, S. Brown, M. Allot, N. Barghi, and L. Rossgnol. 1991. Interspecific somatic hybridization in potato by protoplast electrofusion". *Plant Sci.* 76:115–126.
- Shu, Q.Y., X. Wu, and W.Y. Xia. 1997. The most widely cultivated rice variety" Zhefu 802" In China And its Geneology". *MBNL.* 43:3–5.
- Sihombing, D. 2005. Iradiasi sinar gamma meningkatkan keragaman krisan". *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian.* 27(6):6–7.
- Silvarolla, M.B. 1992. Plant genomic alternations due to tissue culture. *J. Brazil Assoc. Adv. Sci.* 44:329–335.
- Soedjono, S. 2003. Aplikasi mutasi induksi dan variasi somaklonal dalam pemuliaan tanaman". *Journal Litbang Pertanian* 22(2):70–78.
- Sorina, P., B.O. Maria, A. Lazar, and C. Urzu. 2013. The assessment of the variability induced by tissue culture to *Cymbidium* Sp. Using RAPD Markers". *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* 17(2):273–276.
- Smith, M.K., S.D. Hamill, P.W. Langdon, J.E. Giles, V.J. Doogan, and K.G. Peg. 2006. Towards the development of a cavendish banana resistant to race 4 of fusarium wilt: gamma irradiation of micropropagated Dwarf Parfitt (*Musa* spp., AAA group, Cavendish subgroup)". *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46(1):107–113.
- Suprasanna, P., S.M. Jain, S.J. Ochatt, V.M. Kulkarni, and S. Pedrieri. 2012. Application of *in vitro* techniques in mutation breeding of vegetatively propagated crops. p. 371–385. In Shu and Forster (eds.) *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Joint FAO/IAEA Programme. Vienna, Austria.
- Suprasanna, P., S.J. Mirajkar, Y.V. Patade, and S.M. Jain. 2015. Induced mutagenesis for improving plant abiotic stress tolerance. In *Mutagenesis:exploring genetic diversity of crops*. M.B. Tomlekova, M.I. Kazgar, and M.R. Wani. pp. 359–378. Wageningen Academic Netherlands.
- Szarejko, I. 2012. Haploid Mutagenesis. In Q.Y. Shu, Y. Foster. B.P. Nakagama (eds.) *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. p. 387–410. UK:Cab direct.
- Tal, M. 1993. *In vitro* Methodology for increasing salt tolerance in crop Plants *Acta Hort.* (ISHS) 336:69–78. <http://www.actahort.org/books/336-8.htm>.
- Tanaka, A., N. Shikazono, and Y. Hase. 2010. Studies on biological effects of ion beams on lethality molecular nature of mutation rate, and spectrum of mutation phenotype for mutation breeding in higher plants. *J. Radiant. Res.* 51:223–233.
- Taji, A.P. Kumar, and P. Lakshmanan. 2001. *In vitro* Plant Breeding. 167 pp. New York. Oxford.
- Taryono, C. Paramita, and H. Soeranto. 2011. The detection of mutational changes in sorghum using RAPD. *Indonesian J. Biotechnology* 16(1):66–70.
- Ukai, Y. and H. Nakagawa. 2012. Strategies and approaches in mutant population development for mutant selection in seed propagated crops. In Shu and Forster (eds.) *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Joint FAO/IAEA Programme. Vienna, Austria.
- Van den Bulk, R.W. 1991. Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance Breeding-A Review". *Euphytica* 56:269–285.

- Van Harten, A.M. 1998. Mutation breeding. Theory and Practical Applications. Cambridge University Press. 353 p.
- Wang, L.Q. 1991. Induced mutation for crop improvement in China". In: Proc. IAEA Symp. on Plant Mutation Breeding for Crop Improvement". June 18–22, 1990. IAEA, Vienna, p. 9–32.
- Wang. W., B. Vinocur, and A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Toward Genetic Engineering For Stress Tolerance". *Planta* 281:1–14.
- Xu, L., U. Najeeb, M.S. Naem, G.L. Wan, Z.L. Jin, Khan, and W.J. Zhou. 1996. *In vitro* mutagenesis and genetic improvement". Technological innovation in major world oil crops. 2:151–173.
- Younessi, M.H., A. Izadi-Darbandi¹, N. Pirvali-Beiranvand, M. Taher-Hallajian, and A. Majdabadi. 2011. Phenotypic and molecular analysis of M7 generation of soybean mutant lines through random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker and some morphological traits". *African J. Agricultural Research* 6(7):1779–1785.
- Yufdi, M.P., M. Soedarjo, B. Marwoto, B. Winarto, S. Rianawati, A.S. Setyowati, I. B. Raharjo, I. Djatnika, E. Tasman, A. Saefulloh, D.S. Badriah, dan Y. Sulyo. 2012. Revitalisasi Balai Penelitian Tanaman Hias Mendukung Peningkatan Kualitas dan Daya Saing Produk Florikultura". Balai Penelitian Tanaman Hias. 54 hlm.

DAFTAR ISTILAH

Aneuploid	: ialah perubahan jumlah kromosom, penyebabnya anafase lag (peristiwa tidak melekatnya benang-benang spindel ke sentromer) dan non disjunction (gagal berpisah).
DNA	: Asam nukleat utama penyusun organisme
Diploid	: Dua set kromosom
Duplikasi	: Kejadian bergandanya suatu daerah bagian dari DNA yang mengandung gen
Delesi	: Hilangnya sebagian segmen kromosom yang mengandung gen karena patah.
Euploidi	: perubahan berupa pengurangan maupun penambahan perangkat dalam genom
Inversi	: Peristiwa perubahan urutan lokus (gen) terbalik atau berpindah sebagai akibat dari kromosom yang terpilin sehingga menyebabkan terjadinya penyisipan gen-gen pada lokus dengan urutan yang berbeda dengan sebelumnya
Kromosom	: suatu badan yang didalamnya banyak mengandung gen
Monoploid	: Satu set kromosom
Mutan	: Individu yang mengalami perubahan fenotipe akibat mutasi.
Mutasi	: perubahan yang terjadi pada bahan genetic (DNA) maupun RNA baik pada urutan gen (disebut mutasi titik) maupun pada mutasi kromosom
Mutasi kromosom	: perubahan pada susunan dan struktur kromosom
Poliploidi	: Satuan banyaknya genom (himpunan kromosom) dasar yang dimiliki oleh sel makhluk hidup.
Radiasi	: pancaran energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel atau gelombang elektromagnetik atau cahaya dari sumber radiasi.
Translokasi	: Mutasi yang terjadi akibat perpindahan ruas DNA (segmen kromosom) ke tempat yang baru, baik dalam satu kromosom atau antar kromosom.
Variasi somaklonal	: Keragaman genetik yang dihasilkan melalui kultur jaringan.

PEMULIAAN TANAMAN MELALUI INDUKSI MUTASI DAN KULTUR *IN VITRO*

Penggunaan varietas unggul merupakan teknologi yang handal dalam meningkatkan produksi karena lebih aman dan lebih ramah lingkungan serta lebih murah bagi masyarakat petani. Untuk memenuhi kebutuhan bibit unggul produktivitas tinggi dan adaptif di lahan sub optimal, maka bioteknologi diharapkan lebih dapat berperan dalam bidang pertanian, untuk itu diperlukan teknologi yang dapat mempercepat perakitan varietas unggul baru antara lain melalui bioteknologi. Berbagai teknologi yang dapat diaplikasikan untuk perakitan varietas unggul baru antara lain rekayasa genetika dan kultur *in vitro*. Dengan berkembangnya teknik *in vitro* maka pemanfaatan teknik mutasi menjadi lebih berkembang, karena lebih cepat diperoleh hasil dan lebih menguntungkan serta dapat memperkaya plasma nutfah yang ada sekaligus untuk perbaikan tanaman. Teknik mutasi menggunakan mutagen kimia maupun fisik telah menghasilkan tanaman yang meningkat produktivitasnya pada berbagai tanaman baik pada tanaman yang diperbanyak menggunakan biji maupun secara vegetatif.

Buku "PEMULIAAN TANAMAN MELALUI INDUKSI MUTASI DAN KULTUR *IN VITRO*" sangat diperlukan bagi pemulia bioteknologi serta peneliti dan mahasiswa yang mendalami tentang kultur jaringan dan aplikasinya untuk perakitan varietas unggul. Buku ini memberikan petunjuk tentang:

- Peran mutasi dan kultur *in vitro* untuk perbaikan genetika tanaman.
- Manfaat kultur *in vitro* untuk mendukung pemuliaan tanaman.



Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Jalan Ragunan No. 29, Pasarmingu, Jakarta Selatan 12540
Telp: +62 21 7806202, Faks.: +62 21 7800644
www.litbang.pertanian.go.id

Pertanian

ISBN 978-602-944-151-8

