

Analisis Integrasi dan Segregasi Gen Ketahanan terhadap Hawar Daun pada Progeni F₁ Hasil Persilangan Tanaman Kentang Transgenik dengan Non Transgenik

A. Dinar Ambarwati¹, Agus Purwito², M. Herman¹, S.M. Sumaraow³, dan Hajrial Aswidinnoor²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

³Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Integration and Segregation Analysis of Late Blight Resistance Gene in F₁ Progenies of Transgenic and Non Transgenic Potato Crosses. A. Dinar Ambarwati, Agus Purwito, M. Herman, S.M. Sumaraow, and Hajrial Aswidinnoor. Potato late blight, caused by *Phytophthora infestans* is one of the most devastating plant diseases. Potato yield losses due to this disease ranged from 47-100%. Frequent intervals and high rates of fungicide spray, currently practiced by potato growers to control the disease are expensive. Host resistance is an alternative control measure that is more economically and environmentally sustainable. Development of late blight resistant plants was conducted by crossing *RB* transgenic Katahdin SP904 and SP951 as male and two susceptible (Atlantic, Granola) varieties as female parents. F₁ progenies were molecularly characterized for the integration of the *RB* transgene and evaluated for their segregations. Crossing data of Atlantic x transgenic Katahdin SP904 and SP951 produced 71 (57.72%) berries with average number of seeds per berry 139.58 and 83 (41.29%) berries with average number of seeds/berry 85.23, respectively. Granola x transgenic Katahdin SP904 and SP951 crosses gave higher results in terms of berry set (79.55 and 84.44%, respectively) than Atlantic x transgenic Katahdin crosses. A total of 554 F₁ progenies were analyzed for the presence of the *RB* PCR marker. An expected 619-bp and 840-bp band were amplified in the progenies that contain the *RB* gene. The *RB* gene was integrated in 65 (45.45%), 77 (47.83%), 47 (45.63%), and 71 (48.30%) F₁ progenies of Atlantic x transgenic Katahdin SP904, Atlantic x transgenic Katahdin SP951, Granola x transgenic Katahdin SP904, and Granola x transgenic Katahdin SP951, respectively. Chi-square tests showed that all the four cross combinations followed a 1 : 1 segregation ratio.

Key words: *RB* gene, simplex, nulliplex, potato, sexual hybridization.

PENDAHULUAN

Usaha pengembangan komoditas kentang untuk mendapatkan varietas unggul menemui beberapa kendala, di antaranya adalah serangan hama dan penyakit. Busuk daun atau hawar daun (*late blight*) yang

disebabkan oleh cendawan *Phytophthora infestans*, merupakan salah satu penyakit utama yang dapat menyerang tanaman kentang pada bagian umbi, daun, tangkai daun (Alexopoulos *et al.* 1996) dan menyebabkan kehilangan hasil sebesar 47-100% (Hariyadi dan Koentjoro 1996). Penggunaan varietas tahan merupakan cara yang paling tepat untuk mengendalikan penyakit busuk daun, karena lebih efisien dan aman bagi lingkungan. Namun demikian, keragaman genetik yang tinggi dari *P. infestans* menyebabkan ketahanan varietas dapat dipatahkan (Cooke *et al.* 2003).

Sumber-sumber ketahanan genetik terhadap *P. infestans* banyak dijumpai pada spesies kentang liar. Sebelas gen ketahanan spesifik ras *P. infestans* dari *S. demissum* sudah diintroduksi ke dalam tanaman kentang budi daya, namun gen-gen ketahanan tersebut sudah dipatahkan oleh ras baru yang berkembang cepat dan lebih virulen (Umaerus dan Umaerus 1994). Gen ketahanan berspektrum luas terhadap *P. infestans*, yang dikenal sebagai gen *RB* atau *Rpi-b1* yang berasal dari spesies kentang liar diploid *S. bulbocastanum*, sudah dipetakan pada kromosom 8 (Naess *et al.* 2000, Song *et al.* 2003).

Pemanfaatan gen ketahanan pada spesies kentang liar dalam pemuliaan kentang kerap kali sulit dilakukan, karena sifat ketahanan tersebut kebanyakan terdapat pada spesies liar diploid yang secara genetik tidak kompatibel dengan tanaman kentang komersial (tetraploid) yang dibudidayakan (During 1996). Di samping perbedaan ploidi, keberadaan mandul jantan pada beberapa varietas atau varietas yang tidak menghasilkan bunga menjadi hambatan di dalam melakukan persilangan (Cutter 1978, Howard 1978).

S. bulbocastanum secara seksual tidak kompatibel dengan kentang budi daya tetraploid (Helgeson *et al.* 1998). Melalui pendekatan bioteknologi, seperti transformasi gen dan hibridisasi somatik, sumber-sumber gen ketahanan pada spesies ini telah dimanfaatkan untuk perakitan tanaman kentang tahan hawar daun (Helgeson *et al.* 1998, Song *et al.* 2003). Perakitan tanaman kentang transgenik dengan gen *RB* telah di-

lakukan melalui transformasi dengan menggunakan *Agrobacterium* ke dalam kultivar Katahdin (Song *et al.* 2003). Hasilnya menunjukkan ketahanan dengan spektrum luas terhadap beberapa strain *P. infestans*, baik dalam pengujian di rumah kaca maupun di lapang (Song *et al.* 2003, Lozoya-Saldana *et al.* 2005, Halterman *et al.* 2008). Tanaman transgenik Katahdin telah dijadikan sebagai donor (tetua) tahan dalam persilangan dengan kentang budi daya Atlantic dan Granola, yang merupakan varietas unggul dan mendominasi areal pertanaman kentang di Indonesia. Namun demikian, kedua varietas tersebut mempunyai kelemahan, yaitu rentan terhadap penyakit hawar daun. Kerugian hasil di tingkat petani cukup tinggi meskipun sudah dilakukan pengendalian dengan fungisida secara intensif (Kusmana dan Basuki 2004, Basuki *et al.* 2005). Progeni F_1 yang dihasilkan perlu dianalisis secara molekuler untuk melihat adanya integrasi gen.

Integrasi suatu gen dalam tanaman dapat dianalisis dengan mengidentifikasi marka genetik (transgen) yang khas menggunakan teknik molekuler (Latta *et al.* 1998). Marka berbasis PCR sudah dikembangkan pada tanaman kentang untuk ketahanan terhadap hawar daun (Colton *et al.* 2006) dan nematoda [*Globodera rostochiensis* (Woll.) Skarbilovich] (Niewohner *et al.* 1995).

Penelitian ini bertujuan: (1) melakukan persilangan untuk memasukkan gen ketahanan (*RB*) terhadap hawar daun dari tanaman kentang transgenik Katahdin SP904 dan SP951 ke dalam varietas Atlantic dan Granola dan (2) mengidentifikasi integrasi dan segregasi gen *RB* pada progeni F_1 hasil persilangan.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan untuk persilangan adalah kentang transgenik Katahdin SP904 dan SP951 yang dirakit oleh Song *et al.* (2003) di Universitas Wisconsin, Amerika Serikat, sebagai tetua donor tahan (tetua jantan), dan kultivar kentang budi daya Atlantic dan Granola sebagai tetua betina. Masing-masing kentang transgenik disilangkan dengan kultivar budi daya. Progeni F_1 dari masing-masing persilangan dianalisis dengan teknik PCR untuk mengetahui integrasi gen *RB* dan segregasinya.

Persilangan Tanaman Kentang

Persilangan kentang dilakukan di fasilitas uji terbatas (FUT), Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. Pada percobaan ini, tanaman dipelihara di rumah kaca FUT yang bersuhu 18°C untuk menginduksi

pembungaan. Tanaman ditanam pada media campuran arang sekam, tanah, dan pupuk kandang (2 : 1 : 1) dengan penambahan batubata di bagian atas media untuk mencegah atau mengurangi pembentukan umbi. Di samping itu, pemotongan tunas aksiler yang tumbuh di bawah infloresen dilakukan untuk mengurangi kompetisi tanaman dalam mendapatkan makanan. Emaskulasi dilakukan pada bunga dari tetua betina pada saat bunga belum masak putiknya, yaitu satu atau dua hari sebelum mekar, dengan cara membuka daun mahkota menggunakan pinset, dan membuang benangsari, sehingga hanya tertinggal putiknya. Tepungsari dari bunga tetua jantan diambil dengan alat penggetar (*vibrator*) dan dikumpulkan dalam tabung gelas kecil. Penyerbukan dilakukan terhadap putik yang telah reseptif, ditandai dengan adanya lapisan lendir pada permukaan kepala putik. Bunga yang telah diserbuki ditutup dengan kantong kertas dan diberi label kode persilangan, asal kedua tetuanya, dan tanggal persilangan.

Penyemaian Biji Hasil Persilangan

Empat sampai lima minggu setelah penyerbukan, beris (buah) kentang yang sudah masak dipanen, kemudian diperam beberapa hari supaya agak lunak dan dapat dikupas. Biji yang sudah dikeluarkan dari buah dan masih tercampur lendir, dicuci bersih dan dikeringkan di atas kertas saring. Setelah itu, biji direndam dalam larutan GA_3 1.500 ppm selama 24 jam untuk pematahan dormansi, kemudian disemai dalam kotak persemaian. Tanaman semai dengan daun dan akar yang sudah tumbuh kuat dipindahkan ke dalam pot berisi campuran arang sekam, tanah, dan pupuk kandang (2 : 1 : 1) yang sudah disterilkan.

Analisis PCR gen *RB*

Progeni F_1 hasil persilangan (Atlantic x transgenik Katahdin SP904, Atlantic x transgenik Katahdin SP951, Granola x transgenik Katahdin SP904, Granola x transgenik Katahdin SP951) dianalisis secara molekuler dengan teknik PCR, untuk mengetahui integrasi gen *RB*. Isolasi DNA dari daun tanaman dilakukan dengan menggunakan metode microprep (Fulton *et al.* 1995). Analisis PCR gen *RB* dilakukan dengan primer 1-5 (5'-CTCATTTCACCCCTACAA-3') dan primer 3-5 (5'-CGCAAAACCTGGGAAAAT-3') untuk mengamplifikasi ujung N dari *coding sequence*, serta primer cfl (5'-TAAGCATGAGTTGGAATAACT-3') dan primer cr1 (5'-CGGTCAGAAGAGGATAAGGGA-3') untuk mengamplifikasi ujung C dari *coding sequence*. Tahapan PCR yang digunakan adalah denaturasi pertama (96°C selama 2 menit), 30 siklus untuk denaturasi pada suhu 96°C selama 1 menit, penempelan primer pada suhu 53°C se-

lama 30 detik, pemanjangan primer 72°C selama 1 menit, dan diakhiri dengan satu siklus pemanjangan primer pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR dipisahkan pada gel agarosa 1,2% dalam 1 x *Tris-borate* EDTA dan divisualisasi dengan *Chemidoc gel system* (Biorad) di bawah ultra violet, setelah diwarnai dengan etidium bromida. Produk *N-term* akan menghasilkan pita berukuran 619 bp dan produk *C-term* akan menghasilkan pita berukuran 840 bp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persilangan Tanaman Kentang

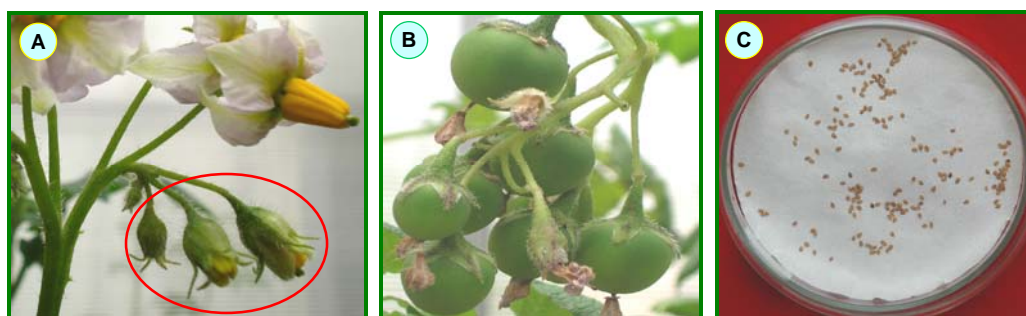
Beberapa varietas *S. tuberosum* hanya menghasilkan sedikit bunga atau bahkan tidak dapat berbunga, sehingga menjadi salah satu kendala dalam persilangan. Keberhasilan inisiasi pembungaan dan perkembangannya dipengaruhi oleh fluktuasi lingkungan, seperti intensitas cahaya dan temperatur (Cutter 1978). Penyerbukan dilakukan pada bunga dari tetua betina pada satu atau dua hari sebelum mekar (Gambar 1A). Satu minggu setelah penyerbukan, bakal buah membesar dan menghasilkan beris yang berwarna hijau, berbentuk bulat dengan diameter 2,5 cm (Gambar 1B). Biji yang sudah diproses berwarna krem, berukuran kecil dengan diameter $\pm 0,5$ mm (Gambar 1C).

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

(Hawkes 1994). Atlantic, Granola, transgenik Katahdin SP904 dan SP951 adalah varietas kentang budi daya dengan tingkat ploidi yang sama (tetraploid, $2n = 4x = 48$) yang secara seksual kompatibel untuk dijadikan tetua dalam persilangan.

Persilangan antara Atlantic dan Granola dengan tanaman transgenik Katahdin menghasilkan beberapa beris dan biji. Jumlah bunga yang dapat disilangkan dari Atlantic lebih banyak dibandingkan Granola, yaitu 123 dan 201, masing-masing untuk persilangan dengan transgenik Katahdin SP904 dan SP951 (Tabel 1). Namun demikian, persentase terbentuknya beris lebih tinggi dari persilangan Granola dengan transgenik Katahdin SP904 maupun SP951, yaitu masing-masing sebesar 79,55% dan 84,44%. Rata-rata jumlah biji per beris yang dihasilkan berkisar antara 81,16 dan 139,58. Beberapa tanaman varietas Granola dilaporkan tidak menghasilkan bunga. Keberhasilan terjadinya pembungaan, lamanya periode pembungaan, dan respon perilaku pembungaan terhadap kondisi lingkungan sangat bergantung pada varietas kentang (Eastham dan Sweet 2002).

Tidak semua bunga yang disilangkan dapat menghasilkan beris dan dipanen. Ketika bunga diserbuki oleh tepungsari, terdapat kecenderungan bahwa bunga akan gugur sehingga tidak bisa menghasilkan beris. Untuk mencegah gugurnya bunga, dilakukan penyemprotan dengan 2,4-D 0,2% pada dua atau tiga hari setelah penyerbukan. Berbagai perubahan degeneratif dapat terjadi pada tahap yang berbeda selama per-



Gambar 1. Proses persilangan tanaman kentang. A = bunga kentang umur satu atau dua hari sebelum mekar, B = beris (buah kentang hasil persilangan), C = biji kentang.

Tabel 1. Persilangan tanaman kentang transgenik Katahdin SP904 dan SP951 yang membawa gen *RB* dengan tanaman non transgenik Atlantic dan Granola.

Persilangan	Jumlah bunga yang dapat disilangkan	Jumlah beris yang terbentuk	Jumlah beris yang dipanen	Jumlah biji	Jumlah biji per beris
Atlantic x SP904	123	71 (57,72%)	71	9910	139,58
Atlantic x SP951	201	83 (41,29%)	77	6563	85,23
Granola x SP904	44	35 (79,55%)	35	3290	94
Granola x SP951	45	38 (84,44%)	37	3003	81,16

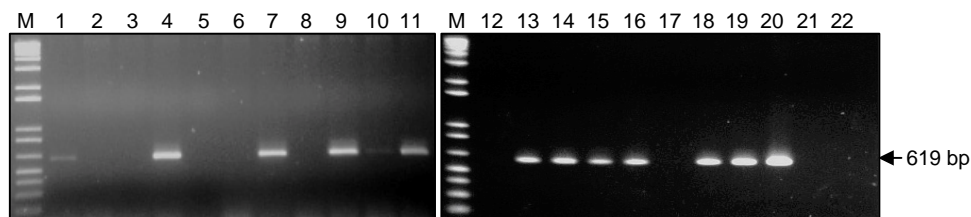
Angka dalam kurung merupakan persentase beris yang terbentuk dari seluruh bunga yang disilangkan.

kembangan tunas bunga dan bakal buah, yang selanjutnya dapat berakibat pada rendahnya kapasitas pembentukan beris dan biji (Cutter 1978). Setiap buah kentang mengandung 500 bakal biji, tetapi yang dapat berkembang menjadi biji hanya berkisar antara 10-300 bakal biji (Cutter 1978). Persilangan yang dilakukan pada kentang tetraploid, seperti varietas Blondie, Carmine, dan Tollocan menghasilkan 27 beris dari 56 bunga yang disilangkan (48,2%) dengan rata-rata 111,6 biji per beris (Carputo *et al.* 1997). Persilangan antara kentang budi daya dari seri *Tuberosa* dengan varietas tetraploid, seperti Atlantic, Langlade, Kennebec, Ontario, menghasilkan 96 beris atau 16% dari 600 polinasi yang dilakukan, dengan jumlah biji 3.623 atau rata-rata 37,7 biji per beris (Jackson dan Hanneman 1996). Carputo *et al.* (1998) melaporkan bahwa dari kombinasi persilangan kentang tetraploid LT-5, LT-7, AVRDC-1287.19, Tollocan, dan Carmine diperoleh pembentukan beris kentang antara 25-45% dengan 255,7-273,3 biji per beris.

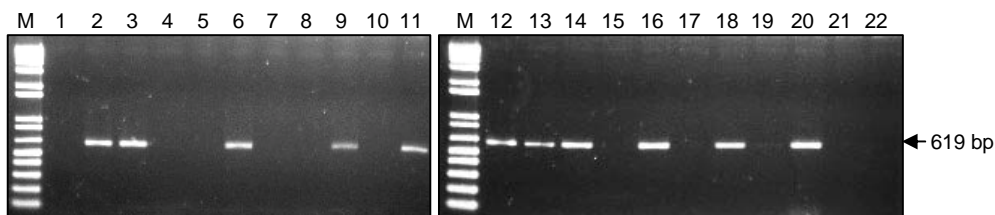
Analisis PCR Gen *RB*

Persilangan antar varietas tetraploid menghasilkan heterosigositas yang tinggi, sehingga populasi segregasi telah diperoleh pada generasi F_1 dan dapat dilakukan evaluasi atau seleksi (Howard 1978, Bradshaw 2007). Progeni F_1 yang dihasilkan dari penelitian ini dievaluasi secara molekuler untuk melihat adanya integrasi gen ketahanan (*RB*). Analisis PCR gen *RB* menggunakan primer 1-5 (5'-CTCATTTTACCCCTACAA-3') dan primer 3-5 (5'-CGCAAAACCTGGGAAAAT-3') pada beberapa sampel progeni hasil persilangan antara Atlantic x transgenik Katahdin SP904, Atlantic x transgenik Katahdin SP951, Granola x transgenik Katahdin SP904, dan Granola x transgenik Katahdin SP951, masing-masing ditampilkan pada Gambar 2, 3, 4, dan 5.

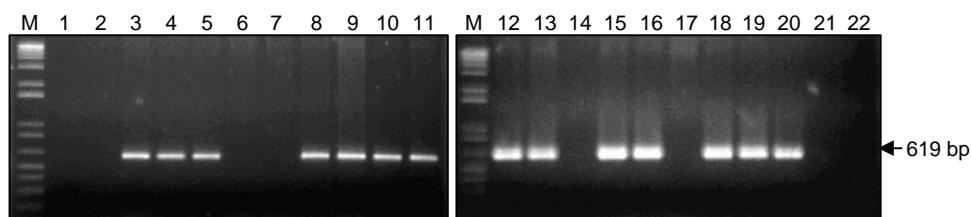
Selanjutnya, hasil amplifikasi gen *RB* menggunakan primer cf1 (5'-TAAGCATGAGTTGGAATAAC T-3') dan primer cr1 (5'-CGGTCAGAAGAGGATAAG GGA-3') ditampilkan pada Gambar 6. Pada beberapa sampel galur yang dievaluasi, amplifikasi menghasilkan pita DNA berukuran 619 bp dan 840 bp. Hal ini menunjuk-



Gambar 2. Hasil amplifikasi PCR (*N-term end*) untuk deteksi integrasi gen *RB* pada progeni F_1 Atlantic x transgenik Katahdin SP904. M = 1 Kb DNA ladder, 1-19 = progeni F_1 Atlantic x Katahdin SP904, 20 = tetua tahan (Katahdin SP904), 21 = tetua peka (Atlantic), 22 = H_2O .



Gambar 3. Hasil amplifikasi PCR (*N-term end*) untuk deteksi integrasi gen *RB* pada progeni F_1 Atlantic x transgenik Katahdin SP951. M = 1 Kb DNA ladder, 1-19 = progeni F_1 Atlantic x Katahdin SP951, 20 = tetua tahan (Katahdin SP951), 21 = tetua peka (Atlantic), 22 = H_2O .



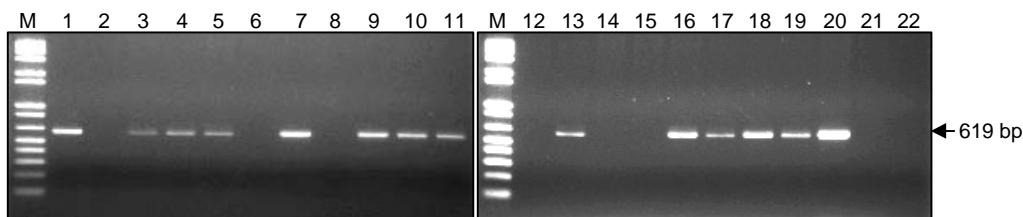
Gambar 4. Hasil amplifikasi PCR (*N-term end*) untuk deteksi integrasi gen *RB* pada progeni F_1 Granola x transgenik Katahdin SP904. M = 1 Kb DNA ladder, 1-19 = progeni F_1 Granola x Katahdin SP904, 20 = tetua tahan (Katahdin SP904), 21 = tetua peka (Granola), 22 = H_2O .

kan bahwa progeni yang dievaluasi positif mengandung gen *RB* yang diintegrasikan dari tanaman transgenik Katahdin sebagai tetua tahan dalam persilangan. Dengan teknik PCR, sekuen DNA gen target yang diapit oleh primer oligonukleotida spesifik dapat diamplifikasi sebanyak pengulangan siklus dalam proses PCR tersebut, sehingga keberadaannya terdeteksi dalam genom tanaman (Chee *et al.* 1991).

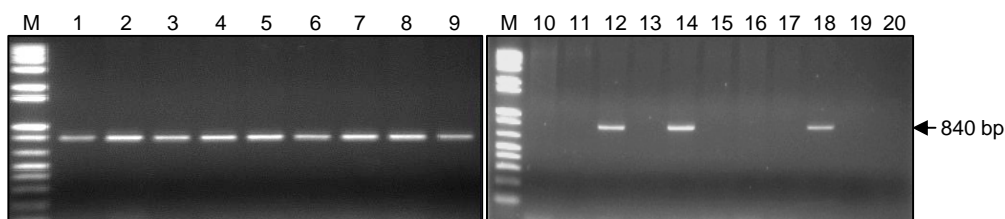
Sebanyak 554 progeni F₁ yang dihasilkan dari ke empat kombinasi persilangan dievaluasi untuk melihat segregasi gen *RB*. Persilangan antara Atlantic x transgenik Katahdin SP904 maupun SP951, dan persilangan Granola x transgenik Katahdin SP904 maupun SP951 masing-masing menghasilkan 65, 77, 47, dan 71 progeni F₁ yang membawa gen *RB* yang berasal dari tetua transgenik (Tabel 2). Rasio segregasi yang diharapkan secara teori adalah 1 : 1 untuk progeni yang membawa gen dan yang tidak membawa gen. Berdasarkan uji khi kuadrat (χ^2) pada keempat kombinasi persilangan, maka rasio segregasi yang diperoleh sesuai dengan nisbah 1 : 1.

Kentang adalah tanaman ototetraploid, sehingga jika alel-alel A dan a bersegregasi, maka kemungkinan

akan terjadi lima genotipe berbeda, yaitu AAAA (*quadruplex*), AAAa (*triplex*), AAaa (*duplex*), Aaaa (*simplex*), dan aaaa (*nulliplex*). Hal ini berbeda dengan populasi tanaman diploid yang hanya menghasilkan tiga kemungkinan genotipe untuk satu lokus genetik, yaitu AA, Aa, dan aa (Stoskopf *et al.* 1993, Bradshaw 1994). Di samping itu, pola segregasi dalam pewarisan tetrasomik pada otopoliploid lebih kompleks, karena terdapat lebih dari dua kromosom homolog yang dapat berpasangan selama meiosis (Ronfort *et al.* 1998). Analisis *Southern Blot* menunjukkan bahwa gen *RB* terintegrasikan dengan satu kopi pada genom tanaman transgenik (Kuhl *et al.* 2007). Alel *RB* dominan yang mengendalikan ketahanan dinyatakan dalam konfigurasi *simplex* (*RBrbrbrb*) pada genom tetraploid kentang transgenik. Komponen tetua Atlantic dan Granola yang rentan terhadap hawar daun mempunyai komposisi alelik pada lokus *RB* sebagai *rbrbrbrb*. Segregasi marka PCR dalam persilangan ini sesuai dengan model *simplex* (*RBrbrbrb*) x *nulliplex* (*rbrbrbrb*), sehingga secara teoritis, rasio segregasi pada progeni F₁-nya adalah 1 : 1.



Gambar 5. Hasil amplifikasi PCR (*N-term end*) untuk deteksi integrasi gen *RB* pada progeni F₁ Granola x transgenik Katahdin SP951. M = 1 Kb DNA ladder, 1-19 = progeni F₁ Granola x Katahdin SP951, 20 = tetua tahan (Katahdin SP951), 21 = tetua peka (Granola), 22 = H₂O.



Gambar 6. Hasil amplifikasi PCR (*C-term end*) untuk deteksi integrasi gen *RB* pada progeni F₁ Granola x transgenik Katahdin SP951. M = 1 Kb DNA ladder, 1-17 = progeni F₁ Granola x Katahdin SP951, 18 = tetua tahan (Katahdin SP951), 19 = tetua peka (Granola), 20 = H₂O.

Tabel 2. Segregasi gen *RB* dengan analisis PCR pada progeni F₁ yang dievaluasi.

Persilangan	Rasio segregasi yang diperoleh		Rasio segregasi yang diharapkan:		χ^2
	Ada gen <i>RB</i>	Tidak ada gen <i>RB</i>	Ada gen <i>RB</i>	Tidak ada gen <i>RB</i>	
Atlantic x SP904	65	78	71,5	71,5	1,18
Atlantic x SP951	77	84	80,5	80,5	0,30
Granola x SP904	47	56	51,5	51,5	0,78
Granola x SP951	71	76	73,5	73,5	0,18

Genotipe Atlantic: *rbrbrbrb*, Granola, *rbrbrbrb*; Katahdin SP904: *RBrbrbrb*, Katahdin SP951: *RBrbrbrb*.

Penelitian yang dilakukan oleh Colton *et al.* (2006) menunjukkan bahwa dari total progeni kentang yang dievaluasi ketahanannya terhadap penyakit hawar daun, menghasilkan 25-50% progeni yang positif mengandung gen *RB*, yang berarti menunjukkan rasio segregasi dari 1 : 3 sampai 1 : 1. Segregasi marka DNA *HI* pada tanaman kentang untuk ketahanan terhadap patotipe Ro1 *Globodera rostochiensis* pada progeni F₁ Tabor x Mira menunjukkan 50,22% mengandung gen *HI* dan 49,78% tidak mengandung gen *HI*, sedangkan persilangan Ornella x Mira menghasilkan 56,16% progeni F₁ dengan gen *HI* dan 43,84% tidak membawa gen *HI* (Skupinova *et al.* 2002).

Persilangan antar varietas komersial tetraploid secara teoritis akan menghasilkan keragaman genetik yang tinggi untuk banyak karakter. Setiap tanaman semai (*seedling*) mempunyai potensi untuk menjadi suatu varietas baru (Howard 1978). Dalam hal persilangan antara kultivar Atlantic atau Granola dengan transgenik Katahdin diharapkan akan terkumpul sifat-sifat unggul dari kedua tetua persilangan. Katahdin adalah varietas kentang komersial di Amerika Serikat yang sudah dilepas sejak tahun 1932, mempunyai umbi yang berbentuk bulat dan berwarna putih (Douches *et al.* 1996). Granola adalah varietas introduksi dari Jerman dan sudah dilepas pada tahun 1975, serta menjadi pilihan utama petani karena berdaya hasil tinggi, berumur pendek, dan memiliki adaptasi yang luas, serta toleran terhadap penyakit layu bakteri (Simatupang *et al.* 1996) dan tahan terhadap virus kentang A (PVA) dan virus kentang Y (PVY) (NIVAA 1997). Tanaman kentang Atlantic diintroduksi dari Amerika Serikat dan dilepas tahun 1978. Varietas ini banyak diminati karena memiliki mutu olahan yang tinggi dan rasa yang enak (Basuki *et al.* 2005) serta tahan terhadap virus kentang X (PVX) (NIVAA 1997).

Galur-galur yang telah positif mengandung gen *RB* tersebut perlu dievaluasi ketahanannya terhadap penyakit hawar daun, baik di rumah kaca maupun di lapangan uji terbatas (LUT) dan diseleksi lebih lanjut untuk evaluasi berbagai karakter morfologinya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis integrasi menunjukkan bahwa progeni F₁ yang memunculkan pita DNA berukuran 619 bp dan 840 bp positif mengandung gen *RB* yang berasal dari tanaman kentang transgenik Katahdin SP904 maupun SP951.

Persilangan antara kentang kultivar Atlantic dengan kentang transgenik Katahdin SP904 atau SP951, serta persilangan kultivar Granola dengan Katahdin

SP904 atau SP951, masing-masing menghasilkan 65, 77, 47, dan 71 progeni F₁ yang membawa gen *RB* dan 78, 84, 56, dan 76 yang tidak membawa gen *RB*. Rasio segregasi ini sesuai dengan nisbah 1 : 1 berdasarkan uji khi kuadrat (χ^2).

Galur-galur yang positif mengandung gen *RB* perlu diuji lebih lanjut ketahanannya terhadap penyakit hawar daun di rumah kaca dan di LUT serta perlu diseleksi lebih lanjut berbagai karakter morfologinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada USAID-Agricultural Biotechnology Support Project (ABSP) II melalui proyek *The Development of Transgenic Potato Resistant to Late Blight Disease in Indonesia* dan *Participatory Assessment of Agricultural Technology Project* (PAATP) yang telah memberikan sebagian biaya penelitian dan beasiswa program doktor di Program Studi Agronomi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., C.W. Mims, and M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons, New York. 737 p.
- Basuki, R.S., Kusmana, dan A. Dimiyati. 2005. Analisis daya hasil, mutu, dan respon pengguna terhadap klon 380584.3, TS-2, FBA-4, I-1085, dan MF-II sebagai bahan baku keripik kentang. *Jurnal Hortikultura* 15(3): 160-170.
- Bradshaw, J.E. 1994. Quantitative genetics theory for tetrasomic inheritance. *In* Bradshaw, J.E. and G.R. Mackay (Eds.). *Potato Genetics*. CAB International, London. p. 71-99.
- Bradshaw, J.E. 2007. The canon of potato science: Tetrasomic inheritance. *Potato Research* 50:219-222.
- Carpato, D., A. Barone, T. Cardi, A. Sebastiano, and L. Frusciante. 1997. Endosperm balance number manipulation for direct *in vivo* germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:12013-12017.
- Carpato, D., P. Garreffa, M. Mazzei, L. Monti, and T. Cardi. 1998. Fertility of somatic hybrids *Solanum commersonii* (2x, 1EBN) (+) *S. tuberosum* haploid (2x, 2EBN) in intra and inter-EBN crosses. *Genome* 41:776-781.
- Colton, L.M., H.I. Groza, S.M. Wielgus, and J. Jiang. 2006. Marker-assisted selection for the broad-spectrum potato late blight resistance conferred by gene *RB* derived from a wild potato species. *Crop Sci.* 46:589-594.

- Cooke, D.E.L., V. Young, P.R.J. Birch, R. Toft, F. Gourlay, J.P. Day, S.F. Carnegie, and J.M. Duncan. 2003.** Phenotypic and genotypic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Scotland (1995-97). *Plant Pathol.* 52:181-192.
- Cutter, E.G. 1978.** Structure and development of the potato plant. *In* Harris, P.M (Ed.). *The Potato Crop: The Scientific Basis for Improvement.* Chapman and Hall, London. p. 71-139.
- Chee, P.P., R.F. Drang, and J.L. Slightom. 1991.** Using polymerase chain reaction to identify transgenic plants. *J. Plant Mol. Biol.* 20:1928-1931.
- Douches, D.S., D. Maas, K. Jastrzebski, and R.W. Chase. 1996.** Assessment of potato breeding progress in the USA over the last century. *Crop Sci.* 36:1544-1552.
- During, K. 1996.** Genetic engineering for resistance to bacteria in transgenic plants by introduction of foreign genes. *Mol. Breed.* 2:297-305.
- Eastham, K. and J. Sweet. 2002.** Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. *Environmental Issue Report* 28:10-14.
- Fulton, T.M., J. Chunwongse, and S.D. Tanksley. 1995.** Microprep protocol for extraction of DNA from plants. *Plant Mol. Biol. Rep.* 13(3):207-209.
- Halterman, D.A., L.C. Kramer, S. Wielgus, and J. Jiang. 2008.** Performance of transgenic potato containing the late blight resistance gene *RB*. *Plant Disease* 92(3): 339-343.
- Hariyadi dan Y. Koentjoro. 1996.** Penampakan galur-galur kentang (*Solanum tuberosum* L.) resisten terhadap penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans* Mont.de Bary). *Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman IV.* UPN Veteran, Surabaya. 24-25 Mei 1996. hlm. 241-248.
- Hawkes, J.G. 1994.** Origin of cultivated potatoes and species relationships. *In* Bradshaw, J.E. and G.R. Mackay (Eds.). *Potato Genetics.* CAB International, London. p. 3-42.
- Helgeson, J.P., J.D. Pohlman, S. Austin, G.T. Haberlach, S.M. Wielgus, D. Ronis, L. Zambolim, P. Tooley, J.M. McGrath, R.V. James, and W.R. Stevenson. 1998.** Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: A new source of resistance to late blight. *Theor. Appl. Genet.* 96:738-742.
- Howard, H.W. 1978.** The production of new varieties. *In* Harris, P.M. (Eds.). *The Potato Crop, The Scientific Basis for Improvement.* Chapman and Hall, London. p. 607-625.
- Jackson, S.A. and R.E. Hanneman Jr. 1996.** Potential gene flow between cultivated potato and its wild tuber-bearing relatives: Implications for risk assessment of transgenic potatoes. <http://www.isb.vt.edu/brarg/brasym96/jackson96.htm>.
- Kuhl, J.C., K. Zarka, J. Coombs, W.W. Kirk, and D.S. Douches. 2007.** Late blight resistance of *RB* transgenic potato lines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132(6):783-789
- Kusmana dan R. Basuki R. 2004.** Produksi dan mutu umbi klon kentang dan kesesuaiannya sebagai bahan baku kentang goreng dan keripik kentang. *Jurnal Hortikultura* 14(4):246-252.
- Latta, R.G., Y.B. Linhart, D. Fleck, and M. Elliot. 1998.** Direct and indirect estimates of seed versus pollen movement within a population of ponderosa pine. *Evolution* 52:61-67.
- Lozoya-Saldana, H., C. Belmar-Diaz, J.M. Bradeen, and J.P. Helgeson. 2005.** Characterization of *Phytophthora infestans* isolates infecting transgenic and somatic hybrid potatoes resistant to the pathogen in the Toluca Valley, Mexico. *Amer. J. Potato Res.* 82:79.
- Naess, S.K., J.M. Bradeen, S.M. Wielgus, G.T. Haberlach, J.M. Mc Grath, and J.P. Helgeson. 2000.** Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theor. Appl. Genet.* 101:697-704.
- Niewohner, J., F. Salamini, and C. Gebhardt. 1995.** Development of PCR assays diagnostic for RFLP marker alleles closely linked to alleles *Gro1* and *H1*, conferring resistance to the root cyst-nematode *Globodera rostochiensis* in potato. *Mol. Breed.* 1:65-78.
- NIVAA. 1997.** Netherlands Catalogue of Potato Varieties. The HAGUE-RIVRO, Wageningen.
- Ronfort, J., E. Jenczewski, T. Bataillon, and F. Rousset. 1998.** Analysis of population structure in autotetraploid species. *Genetics* 150:921-930.
- Simatupang, S., L. Hutagalung, T. Sembiring, dan F.A. Bahar. 1996.** Adaptasi varietas kentang di dataran medium Kabupaten Simalungun Sumatera Utara. *Jurnal Hortikultura* 6(3):249-254.
- Song, J., J.M. Bradeen, S.K. Naess, J.A. Raasch, S.W. Wielgus, G.T. Haberlach, J. Liu, H. Kuang, S. Austin-Phillips, C.R. Buell, J.P. Helgeson, and J. Jiang. 2003.** Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:9128-9133.
- Skupinova, S., P. Vejl, P. Sedlak, and J. Domkarova. 2002.** Segregation of DNA markers of potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) resistance against Ro1 pathotype *Globodera rostochiensis* in selected F₁ progeny. *Rostlinna Vyroba* 48:480-485.
- Stoskopf, N.C., D.T. Tomes, B.R. Christie. 1993.** *Plant Breeding Theory and Practice.* Westview Press, London. p. 73-84.
- Umaerus, V. and M. Umaerus. 1994.** Inheritance of resistance to late blight. *In* Bradshaw, J.E. and G.R. Mackay (Eds.). *Potato Genetics.* CAB International, London. p. 365-401.