



Dr.sc.agr. Nurhasanah, S.P., MSi

Kepala Laboratorium Bioteknologi Tanaman

FAPERTA UNMUL

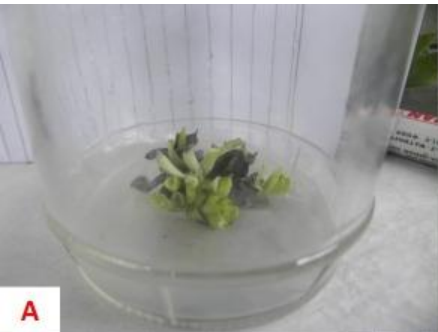
**PERAN BIOTEKNOLOGI DALAM
PERBAIKAN SIFAT TANAMAN**





BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- **Mikropropagasi**

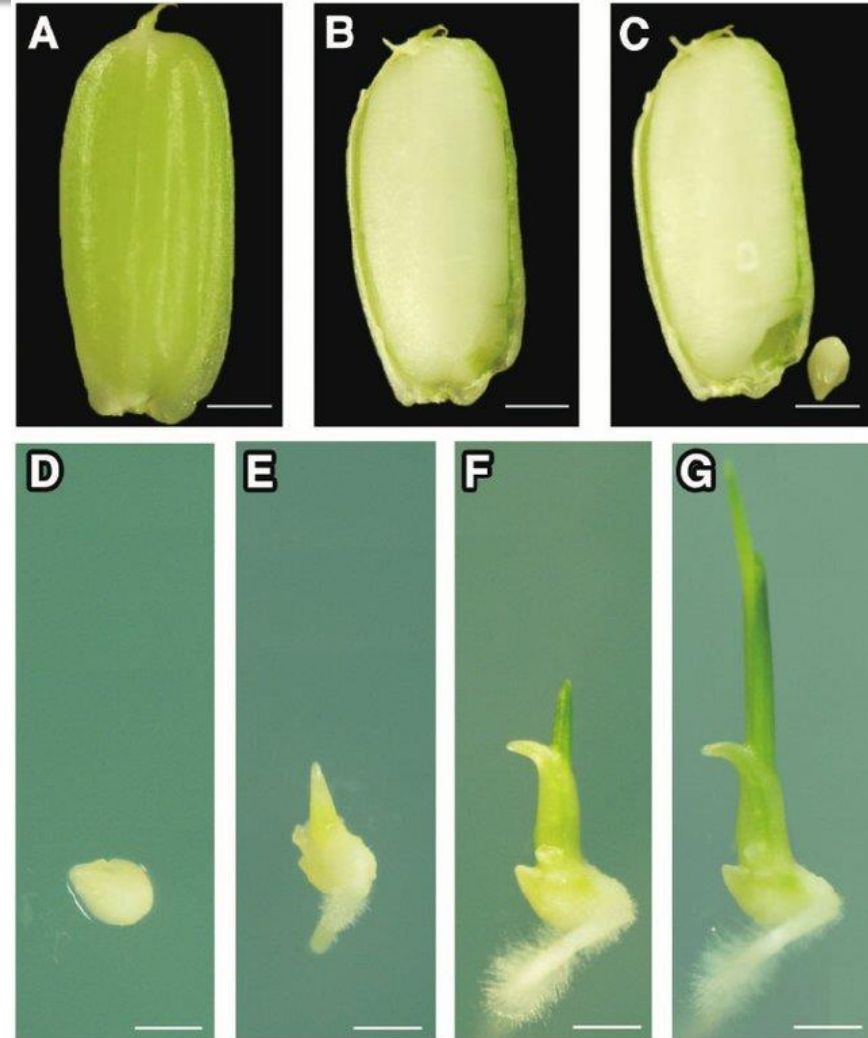


Negi and Saxena, 2011



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- Mikropropagasi
- Embryo-rescue

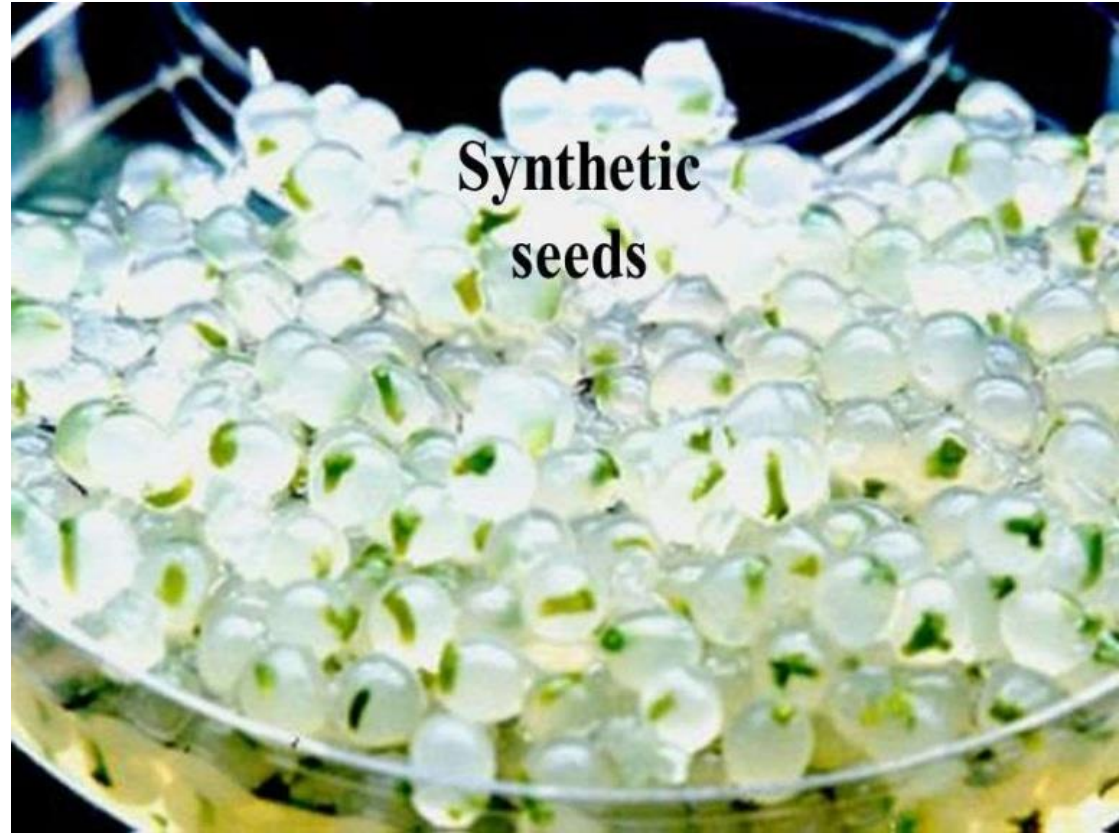


Ohnisi et al. 2011



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

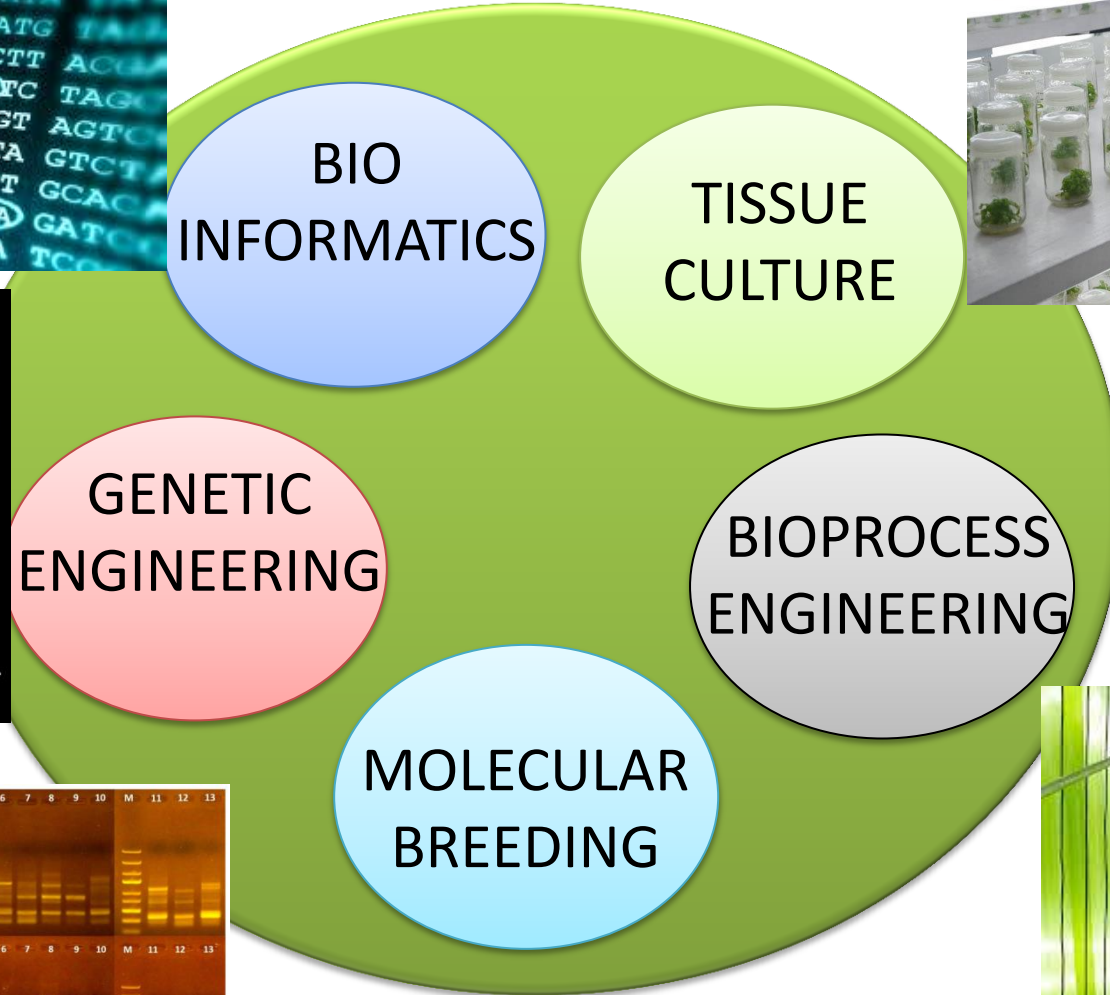
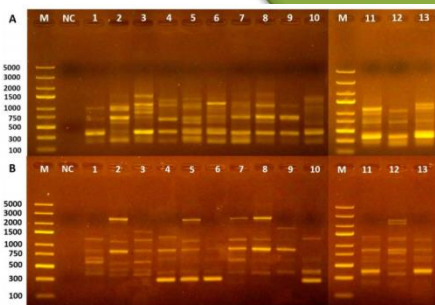
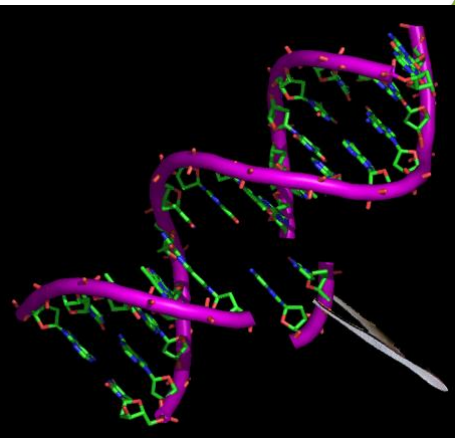
- Mikropropagasi
- Embryo-rescue
- **Artificial seeds**



<https://www.slideshare.net/SonamkzBhutia/artificial-seed-98432308>



BIOTEKNOLOGI TANAMAN



BIOTECHNOLOGY



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

Definisi Bioteknologi :

"Setiap aplikasi teknologi yang menggunakan sistem biologis, organisme hidup, atau teori turunan, untuk membuat atau memodifikasi produk atau proses untuk tujuan tertentu"

(Convention of Biological Diversity)

Defenisi Bioteknologi

"Penerapan metode saintifik untuk memanipulasi / memodifikasi organisme hidup atau sel untuk tujuan tertentu"



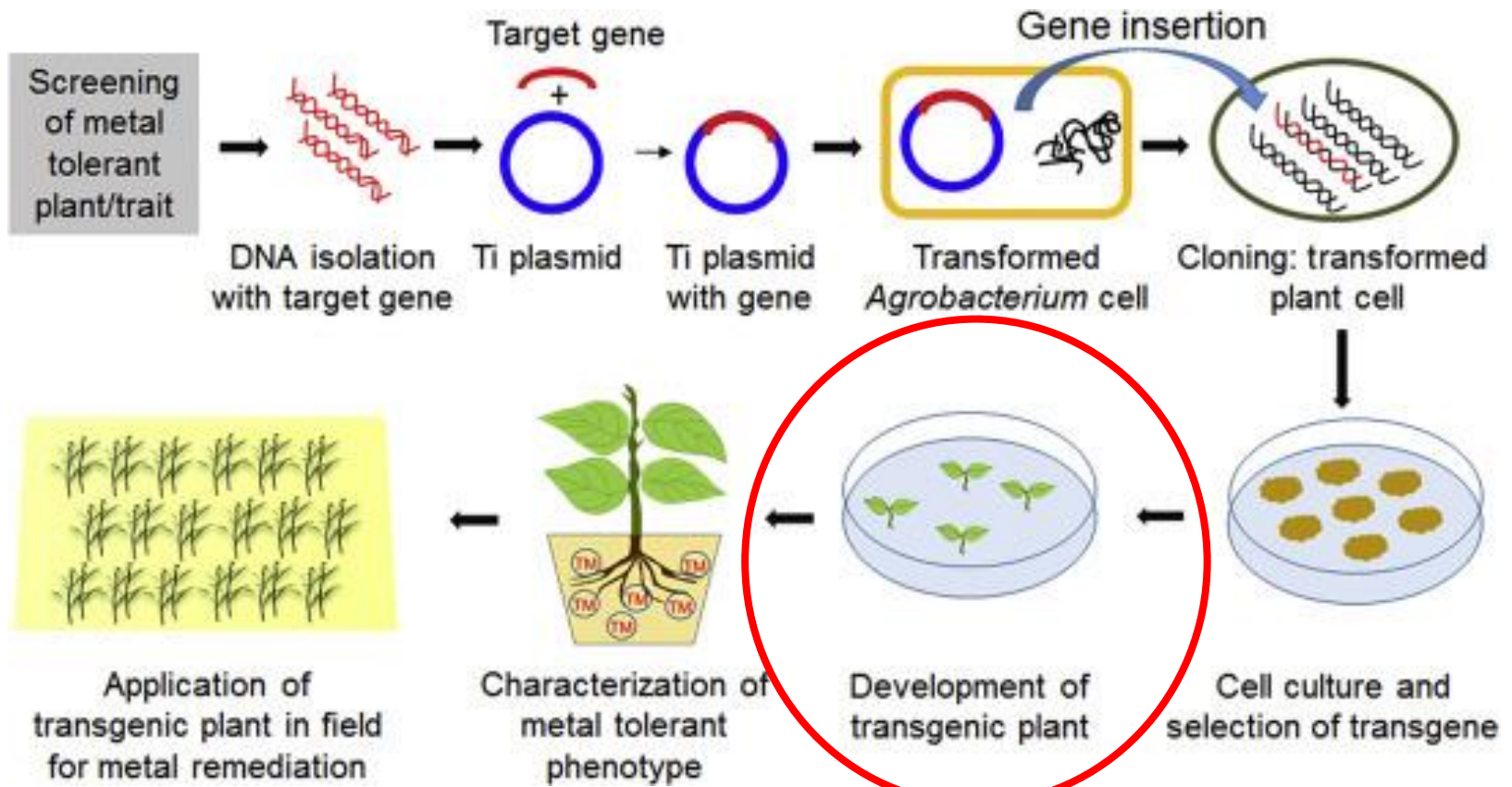
BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- Rekayasa Genetika Tanaman
- Fusi Protoplas
- Haploid and double breeding
- Variasi Somaklonal dan seleksi invitro



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

• Rekayasa Genetika Tanaman



Kumar and Prasad, 2019



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

• Rekayasa Genetika Tanaman

Jurnal Agronomi Indonesia
(Indonesian Journal of Agronomy)

Printed ISSN: 2085-2916 | Electronic ISSN: 2337-3652

Current Archives Announcements About

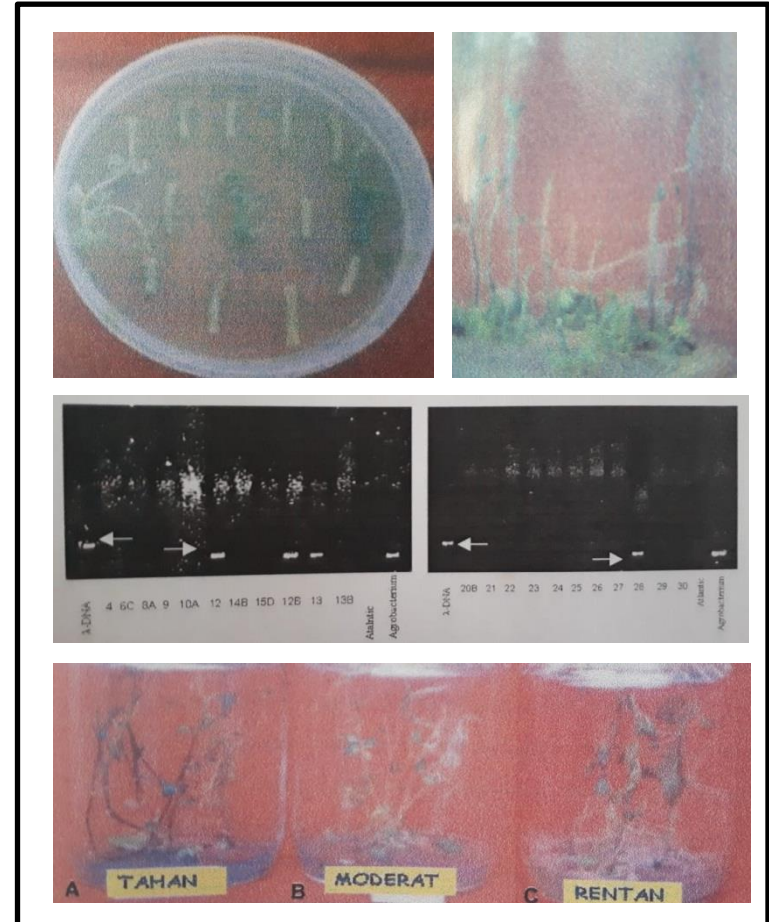
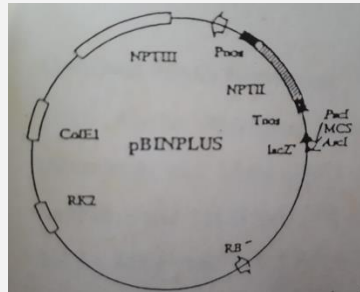
Home / Archives / Vol. 31 No. 2 (2003): Buletin Agronomi / Articles

Transformasi Genetik Tanaman Kentang cv. Atlantik Dengan Mengintroduksi Gen Hordothionin untuk Mendapatkan Ketahanan terhadap Penyakit Bakteri

, Nurhasanah
G. A. Wattimena
Agus Purwito
Ni Made Armini Wiendi
, Suharsono

PDF

How to Cite
Nurhasanah, , Wattimena, G. A., Purwito, A., Wiendi, N. M. A., & Suharsono, . (1). Transformasi Genetik Tanaman Kentang cv. Atlantik Dengan Mengintroduksi



Nurhasanah, 2002; Nurhasanah et al., 2003, Nurhasanah et al., 2006



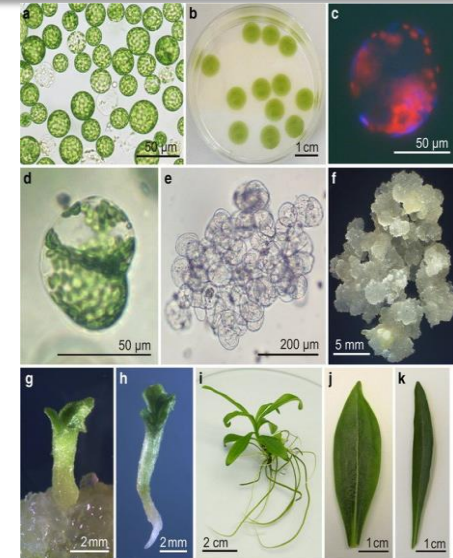
BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- Rekayasa Genetika Tanaman
- **Fusi Protoplas**
- Haploid and double breeding
- Variasi Somaklonal dan seleksi invitro



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- **Fusi Protoplas**
- Hibridisasi somatik, yaitu usaha untuk menggabung protoplasma dari dua macam sel yang berbeda berasal dari tumbuhan tingkat tinggi untuk tujuan tertentu.
- Untuk pengembangan tanaman dengan mengintroduksi karakter yang diinginkan dari tanaman liar ke dalam tanaman komersial yang sulit atau tidak mungkin dilakukan melalui persilangan secara konvensional.



Tomiczak et al (2014)

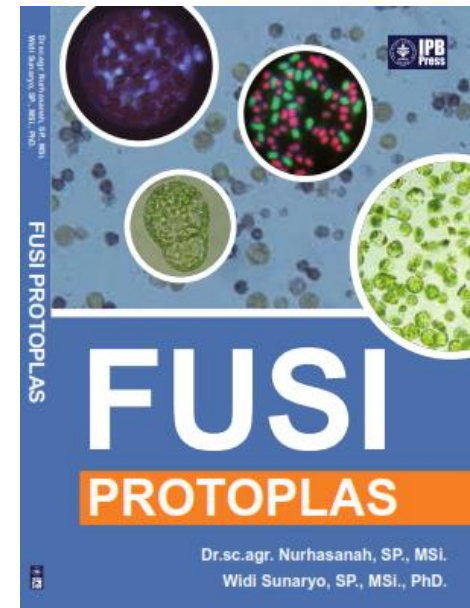




BIOTEKNOLOGI TANAMAN

• Fusi Protoplas

- Mengatasi inkompatibilitas dalam persilangan konvensional
- Peningkatan keragaman genetik
- Menghasilkan spesies tanaman baru
- Ketahanan terhadap hama dan penyakit
- Ketahanan terhadap lingkungan abiotik
- Mendapatkan tanaman steril jantan/male steril
- Manipulasi ploidi
- Produksi batang bawah dalam penyambungan
- Perbaikan sifat/karakter tanaman
- Produksi metabolit sekunder
- Perakitan galur introgresi/substitusi
- Pemetaan genom
- Rekayasa genetik pada jamur dan bakteri



Nurhasanah dan Sunaryo, 2019



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

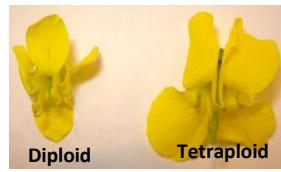
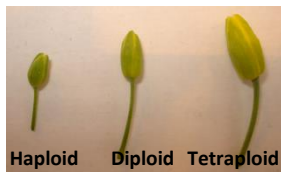
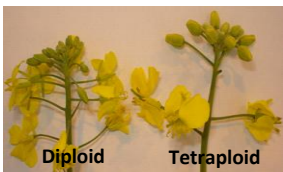
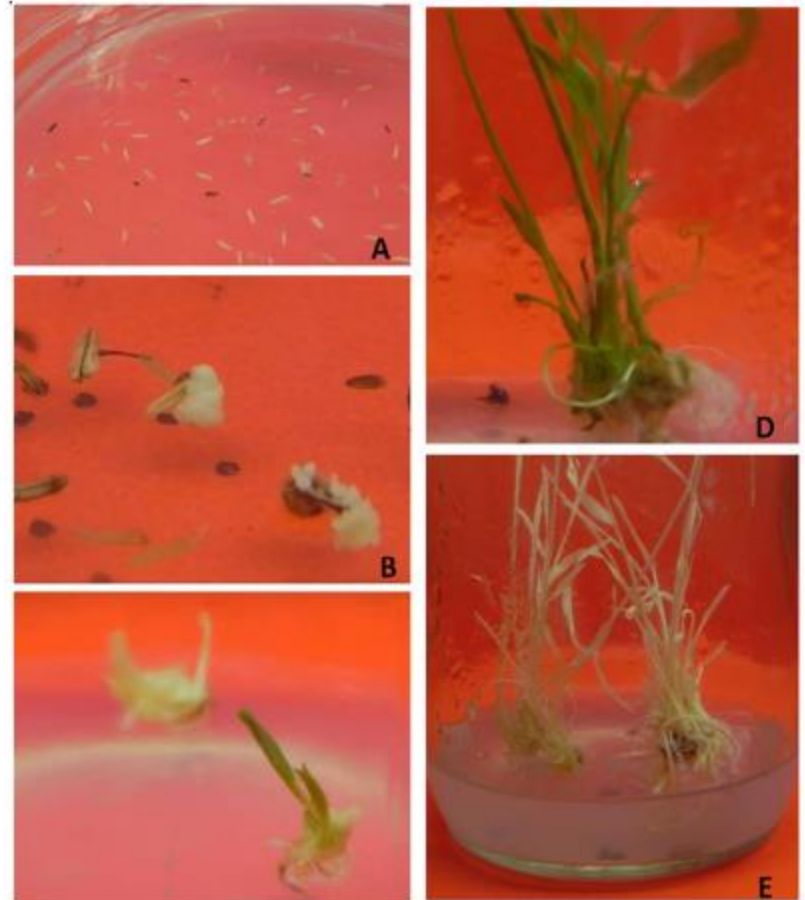
- Rekayasa Genetika Tanaman
- Fusi Protoplas
- **Haploid and double breeding**
- Variasi Somaklonal dan seleksi invitro



BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- Haploid and double breeding**

Kultur anther atau kultur polen sangat bermanfaat dalam perakitan tanaman doubled haploid, atau galur murni. Secara konvensional diperlukan 7-8 generasi selfing untuk mendapatkan tanaman galur murni.



Nurhasanah 2010; Nurhasanah 2012; Nurhasanah et al., 2015; Nurhasanah et al., 2016

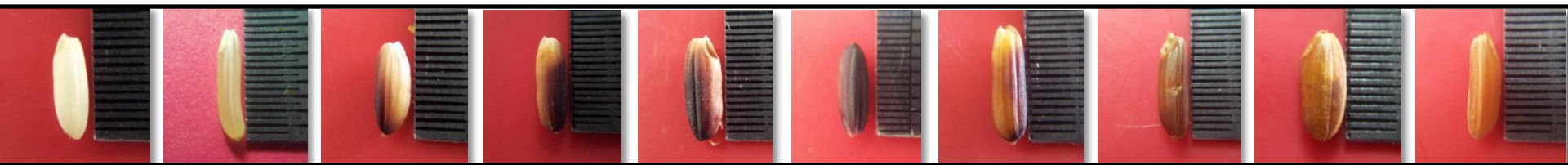
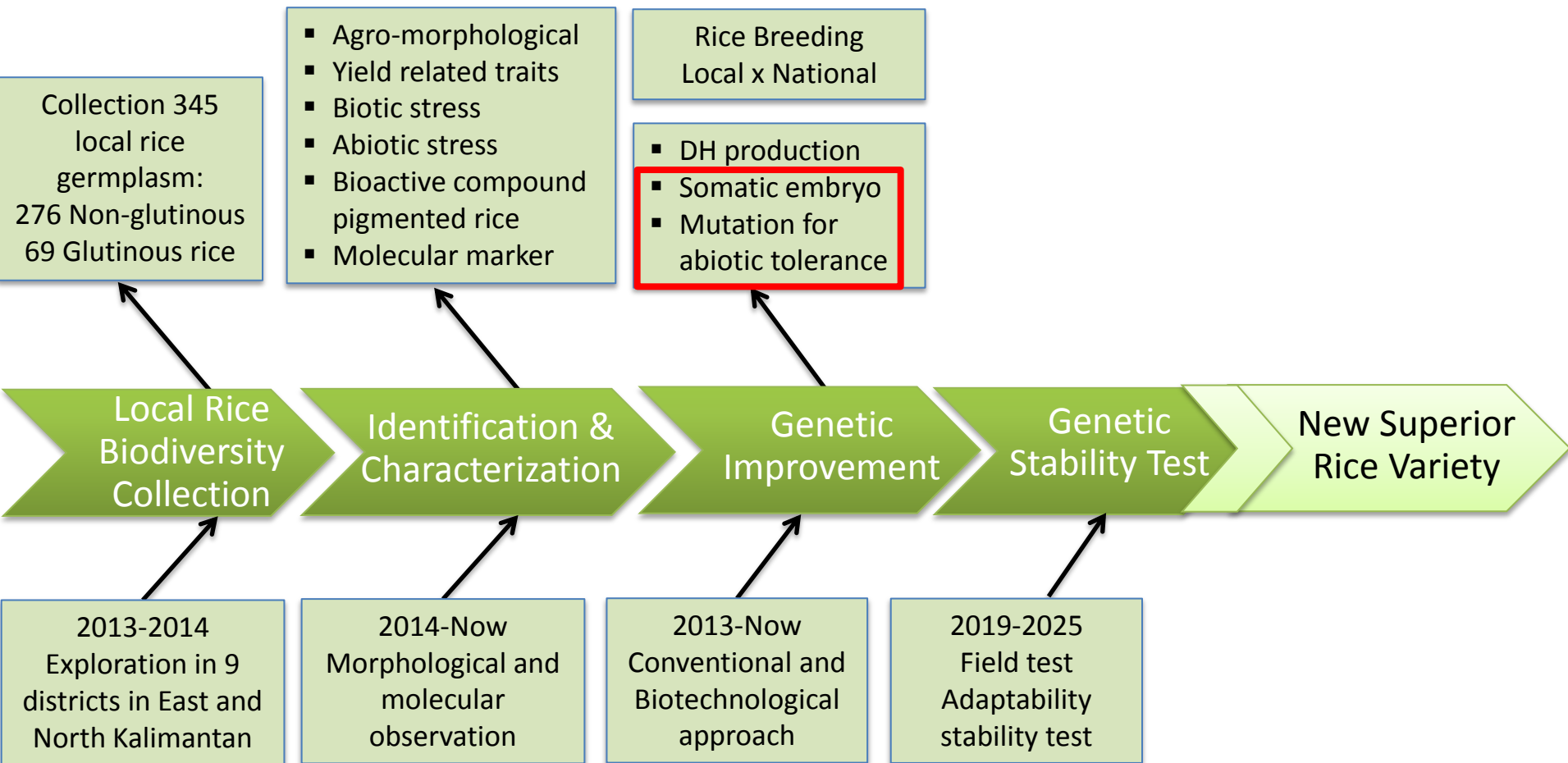


BIOTEKNOLOGI TANAMAN

- Rekayasa Genetika Tanaman
- Fusi Protoplas
- Haploid and double breeding
- **Variasi Somaklonal dan seleksi invitro**



Variasi Somaklonal dan seleksi invitro untuk ketahanan cekaman abiotik





VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO DALAM PEMULIAAN TANAMAN

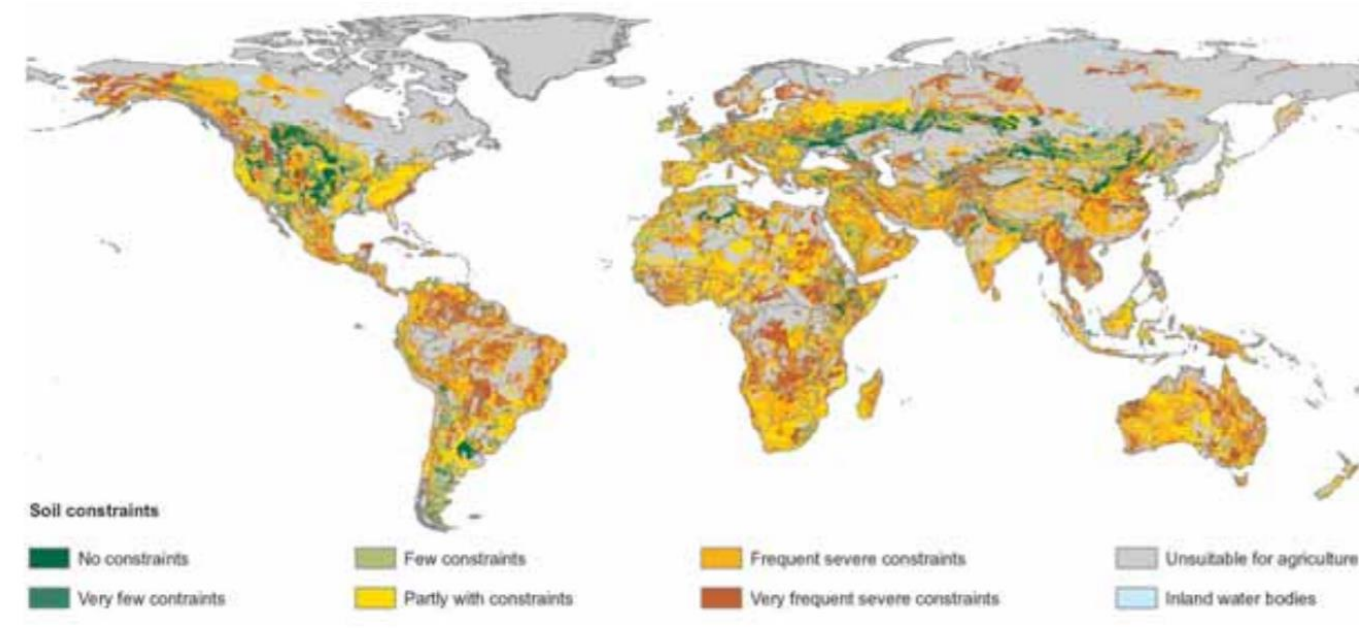
- Variasi somaklonal merupakan keragaman genetik yang dihasilkan melalui kultur jaringan.
- Variasi somaklonal pada dasarnya terjadi akibat peristiwa mutasi, yaitu perubahan suatu karakter yang diwariskan, baik pada tingkat DNA atau kromosom.
- Induksi mutasi ke arah perubahan yang diinginkan dapat dilakukan dengan menggunakan seleksi invitro.



TOLERANSI CEKAMAN ABIOTIK

FAO report stated that only 3.5% of the global land area is not affected by some environmental constraint.

Global land area with soil constraints



Land with soil constraint, including soil depth, chemical, drainage, texture and miscellaneous land

<http://www.fao.org/docrep/010/a1075e/a1075e00.htm>



VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

- Besi (Fe) adalah mikronutrien esensial untuk sel hidup.
- Tidak adanya atau kekurangan unsur ini akan menyebabkan gangguan nutrisi pada tanaman, sehingga menurunkan hasil panen dan kualitas gizi.
- Namun, selain memiliki manfaat, zat besi juga memiliki sifat toksik.





VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

- Akumulasi besi dalam konsentrasi toksik akan mengganggu penyerapan nutrisi mineral penting oleh tanaman.
- Menghambat beberapa proses metabolisme dan mengganggu perkembangan sel dan jaringan tanaman.
- Menyebabkan beberapa kondisi pertumbuhan abnormal, penurunan hasil, dan kematian tanaman.





VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

- Gejala keracunan besi dimanifestasikan sebagai bintik-bintik cokelat kecil mulai dari ujung dan menyebar ke pangkal daun yang lebih rendah.
- Dengan meningkatnya stres toksisitas zat besi, seluruh daun yang terkena terlihat berwarna coklat, diikuti dengan pengeringan daun.
- Akar menjadi pendek, kasar dan tumpul dan berwarna coklat tua.





VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

Rekomendasi untuk mengatasi keracunan besi:

- Pemupukan seimbang untuk mencegah defisiensi nutrisi,
- Meningkatkan pH tanah dengan memberi kapur atau bahan alkali lainnya.
- Penggunaan kultivar toleran dianggap sebagai pendekatan yang paling efektif untuk meningkatkan produktivitas padi di daerah yang terkena dampak.



VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

- Variasi somaklonal dan seleksi in vitro adalah salah satu pendekatan yang disarankan untuk mengembangkan plasma nutfah baru dengan karakter yang lebih baik.
- Teknik ini jauh lebih efisien dibandingkan dengan program pemuliaan konvensional atau transgenik.
- Teknik ini telah diterapkan dalam beberapa program pemuliaan padi untuk karakteristik toleransi stres abiotik.
- Seleksi in vitro akan meminimalkan variasi lingkungan dan menerapkan homogenitas penanganan stres



VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

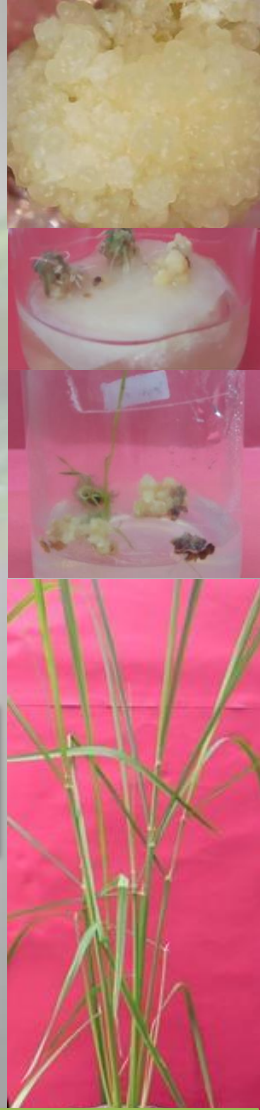
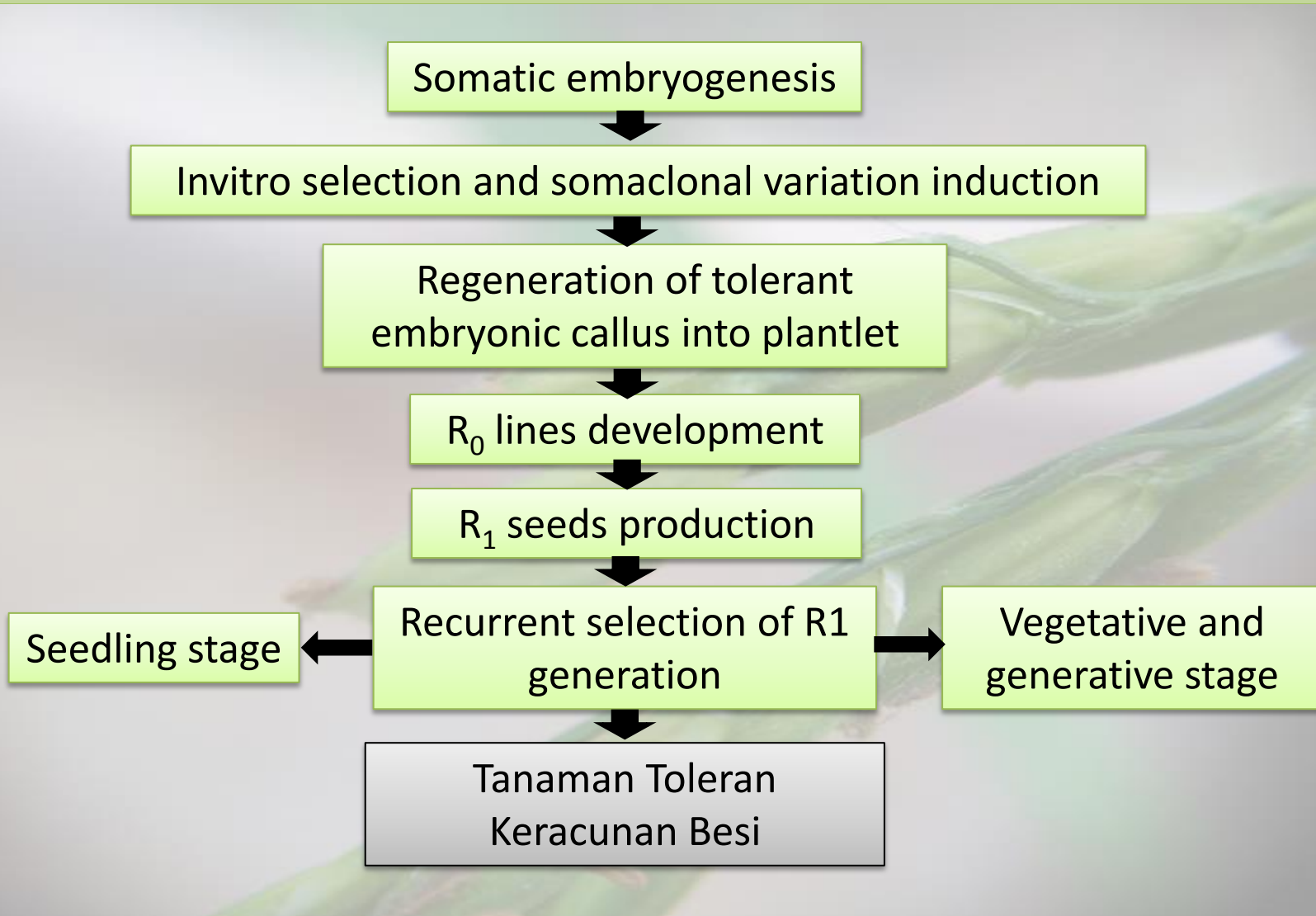
Kultivar padi lokal Kalimantan Timur:

- Serai Gunung (SG),
- Gedagai (GD),
- Mayas Pancing (MP),
- Siam (SM).





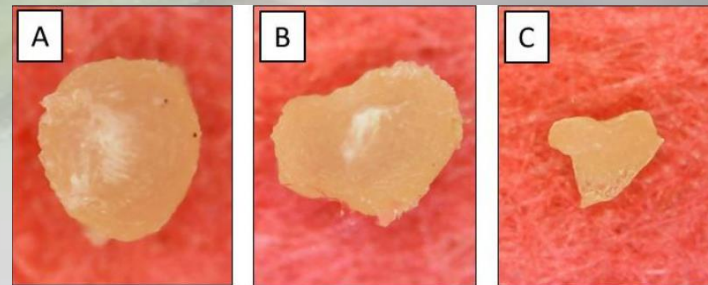
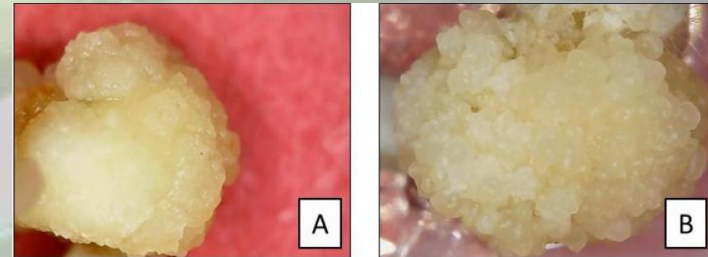
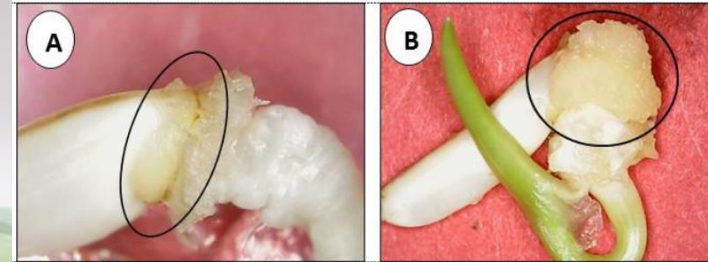
METODA





PRODUKSI EMBRIOSOMATIK

- Embryo somatik diinduksi pada media MS + 1 mg.L⁻¹ 2,4-D + 0.5 mg.L⁻¹ BAP
- Respon masing-masing kultivar berbeda terhadap induksi embriosomatik, ditunjukkan oleh laju induksi kalus dan kualitas kalus
- Waktu pembentukan kalus pertama berkisar antara 8-13 hari
- Tingkat induksi kalus bervariasi dari 60 hingga 98,5%



Nurhasanah et al. 2018



VARIASI SOMAKLONAL DAN SELEKSI INVITRO UNTUK TOLERANSI KERACUNAN BESI

- Seleksi invitro dilakukan menggunakan 0; 27.8; 55.6; 83.4, 111.2 mg.L-1 FeSO4.7H2O
- Persentase kalus hidup berkisar 53.6-92.9%.
- Terjadi penurunan persentase kalus hidup seiring dengan peningkatan konsentrasi cekaman besi.
- Kultivar Mayas Pancing memiliki persentase tertinggi kalus yang mampu bertahan hidup dalam cekaman besi.



Nurhasanah et al. 2019a



REGENERASI TANAMAN R_0

- Kemampuan regenerasi tanaman sangat dipengaruhi oleh genotip tanaman.
- Tanaman putative toleran terhadap besi berhasil didapatkan dari kultivar Siam dan Serai Gunung.
- Tanaman generasi R_0 berasal dari kalus embrionik yang toleran terhadap tiga dan empat kali lipat konsentrasi besi normal.

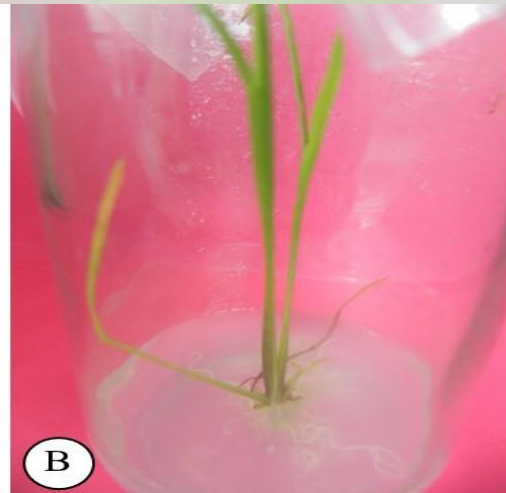
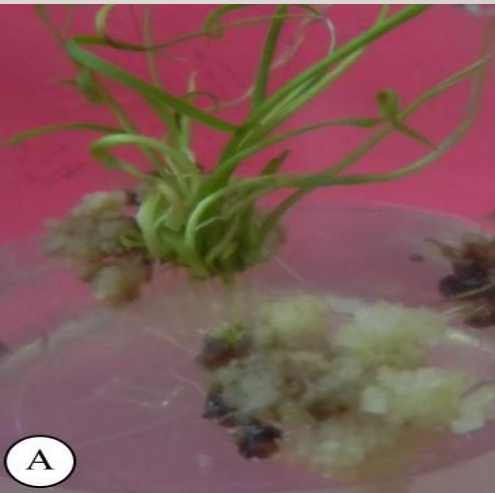


Nurhasanah et al. 2019a



PRODUKSI BENIH R_1

- Terdapat galur R_0 yang albino yang menunjukkan adanya variasi somaklonal.
- Benih generasi R_1 didapatkan dari tanaman R_0 yang berasal dari somaklon dari kultivar Siam dan Serai Gunung.





SELEKSI BERULANG TAHAP I TANAMAN GENERASI R₁

- Bibit R1 diberi cekaman keracunan besi untuk mengevaluasi stabilitas toleransinya.
- Bibit ditanam secara hidroponik dalam larutan hara Yoshida dan diperlakukan dengan cekaman tambahan 100 ppm besi ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) pada pH 4,00 selama dua minggu (Nurhasanah et al., 2019b).
- Bibit wildtype kultivar Siam dan Serai Gunung digunakan sebagai kontrol.



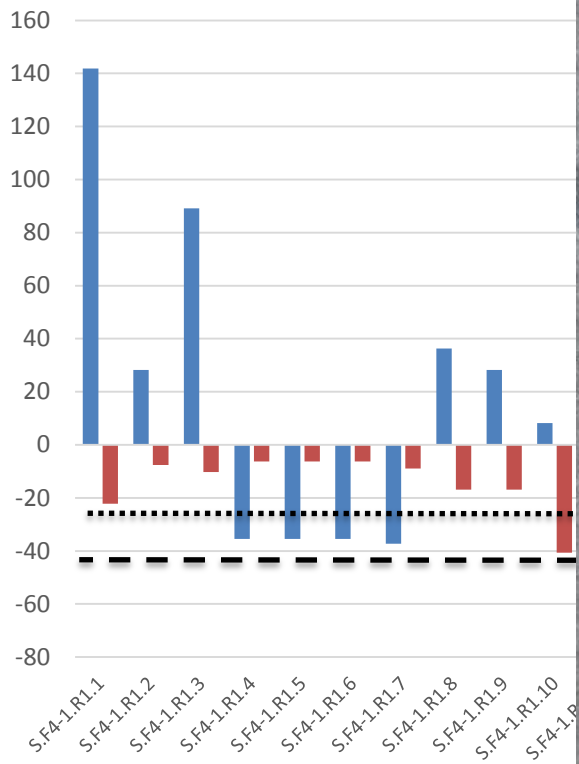
SELEKSI BERULANG TAHAP I TANAMAN GENERASI R₁

- Root tolerance index (RTI)/indeks toleransi akar adalah salah satu penanda paling penting untuk seleksi genotipe toleran terhadap cekaman logam (Wu et al. 1997; Famoso et al. 2010), termasuk besi (Rout et al. 2014; Nurhasanah et al. 2019b) .
- RTI dihitung dengan membandingkan pertumbuhan setelah dicekam / pertumbuhan normal.
- Nilai RTI lebih rendah dari 0,7 dikategorikan sebagai sensitif, lebih besar dari 0,9 sebagai toleran, dan di antara 0,7-0,9 moderat

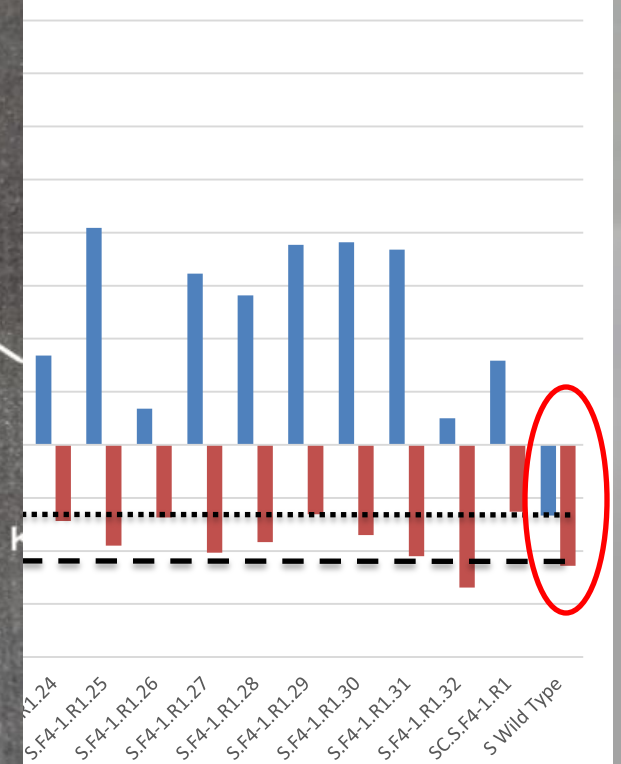


SELEKSI BERULANG TAHAP I TANAMAN GENERASI R₁

PERCENTAGE



REDUCTION





SELEKSI BERULANG TAHAP I TANAMAN GENERASI R₁

- Tipe liar (^{wt}Siam) dikategorikan sebagai **moderat** and **sensitif** berdasarkan Total Root Growth (TRG) dan Maximal Root Length (MRL).
- Three and ten R1 lines were strictly and mildly selected as tolerant.

No.	Genotype	TRG (cm)	RTI TRG	Category	MRL (cm)	RTI MRL	Category
1	S.F4-1.R1.1	26.6	2.42	Tolerant	5.9	0.78	Moderate
2	S.F4-1.R1.2	14.1	1.28	Tolerant	7	0.92	Tolerant
3	S.F4-1.R1.3	20.8	1.89	Tolerant	6.8	0.90	Moderate
4	S.F4-1.R1.4	7.1	0.65	Sensitive	7.1	0.94	Tolerant
5	S.F4-1.R1.5	7.1	0.65	Sensitive	7.1	0.94	Tolerant
6	S.F4-1.R1.6	7.1	0.65	Sensitive	7.1	0.94	Tolerant
7	S.F4-1.R1.7	6.9	0.63	Sensitive	6.9	0.91	Tolerant
8	S.F4-1.R1.8	15	1.36	Tolerant	6.3	0.83	Moderate
9	S.F4-1.R1.9	14.1	1.28	Tolerant	6.3	0.83	Moderate
10	S.F4-1.R1.10	11.9	1.08	Tolerant	4.5	0.59	Sensitive
11	S.F4-1.R1.11	14.2	1.29	Tolerant	6.9	0.91	Tolerant
12	S.F4-1.R1.12	9.9	0.90	Moderate	6.4	0.84	Moderate
13	S.F4-1.R1.13	6.5	0.59	Sensitive	6.5	0.86	Moderate
14	S.F4-1.R1.14	15.2	1.38	Tolerant	8.1	1.07	Tolerant
15	S.F4-1.R1.15	9.9	0.90	Moderate	6.9	0.91	Tolerant
16	S.F4-1.R1.16	19.1	1.74	Tolerant	6.2	0.82	Moderate
17	S.F4-1.R1.17	18.2	1.65	Tolerant	5.1	0.67	Sensitive

No.	Genotype	TRG (cm)	RTI TRG	Category	MRL (cm)	RTI MRL	Category
18	S.F4-1.R1.18	12.2	1.11	Tolerant	4.5	0.59	Sensitive
19	S.F4-1.R1.19	11.8	1.07	Tolerant	4.7	0.62	Sensitive
20	S.F4-1.R1.20	15.8	1.44	Tolerant	4.2	0.55	Sensitive
21	S.F4-1.R1.21	12.4	1.13	Tolerant	5.6	0.74	Moderate
22	S.F4-1.R1.22	21.9	1.99	Tolerant	3.5	0.46	Sensitive
23	S.F4-1.R1.23	13.6	1.24	Tolerant	4.4	0.58	Sensitive
24	S.F4-1.R1.24	14.7	1.34	Tolerant	5.4	0.71	Moderate
25	S.F4-1.R1.25	20.0	1.82	Tolerant	4.7	0.62	Sensitive
26	S.F4-1.R1.26	12.5	1.14	Tolerant	5.5	0.73	Moderate
27	S.F4-1.R1.27	18.1	1.65	Tolerant	4.5	0.59	Sensitive
28	S.F4-1.R1.28	17.2	1.56	Tolerant	4.8	0.63	Sensitive
29	S.F4-1.R1.29	19.3	1.75	Tolerant	5.6	0.74	Moderate
30	S.F4-1.R1.30	19.4	1.76	Tolerant	5	0.66	Sensitive
31	S.F4-1.R1.31	19.1	1.74	Tolerant	4.4	0.58	Sensitive
32	S.F4-1.R1.32	12.1	1.10	Tolerant	3.5	0.46	Sensitive
	SC.S.F4-1.R1	14.5	1.32	Tolerant	5.7	0.75	Moderate
	Siam ^{wt} Stress	8.06	0.73	Moderate	4.1	0.54	Sensitive
	Siam ^{wt} Normal	11			7.6		



SELEKSI BERULANG TAHAP II TANAMAN GENERASI R₁

- Seleksi lanjut dilakukan di lapangan dengan menyiramkan larutan besi ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) pada konsentrasi 100 ppm sebanyak 400 ml pertanaman setiap hari.
- Perlakuan cekaman besi dilakukan ketika tanaman berumur 2 bulan hingga panen.





SELEKSI BERULANG TANAMAN GENERASI R₁

- Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan tanaman pasca cekaman keracunan besi pada vase vegetatif dan generatif menunjukkan beberapa galur memberikan pertumbuhan yang cukup baik, dengan peningkatan tinggi tanaman 2,46%, peningkatan jumlah daun 333,33%, peningkatan jumlah anakan hingga 160%.
- Terpilih 10 galur R₁ harapan Hasil Variasi Somaklonal dan Seleksi Invitro yang Toleran Terhadap Keracunan Besi



CURRENT WORK

- Produksi benih generasi R_2
- Analisis tanaman dengan menggunakan marka molekular, serta identifikasi gen ketahanan menggunakan primer OsIRT1, (Wu et al. 2014) dan OsIRT2 (Gross et al. 2003).



TANAMAN HASIL VARIASI SOMAKLONAL YANG TELAH DILEPAS

Tanaman	Sifat baru	Nama Kutivar
Barley	Produksi meningkat dan resisten Downey mildew	AC Malone
Wheat	Perbaikan karakter agronomi dan produksi	Hezu 8
Kentang	Menghambat pencoklatan	White baron
Tomat	Resisten terhadap Fusarium	DNAP 17
Padi	Resisten terhadap Picularia (blas) dan rasa lebih enak	DAMA
Tebu	Resisten terhadap penyakit dan rendemen gula lebih tinggi dan umur genjah	ONO Co 94012
Pisang	Resiten Fusarium dan produksi buah lebih tinggi	Tai-Chiao No-1 Formusa
Amarilis	Warna merah dan kuning dalam satu bunga	Surya kiran (IARI)



Special Thanks to:

Widi Sunaryo
Bambang Supriyanto
Ramita
Nizal Kurniawan
Lusiyanto
Krisna Indra Kusuma

