

Aplikasi Teknologi Mutasi dalam Pembentukan Varietas Gandum Tropis

Amin Nur dan Karlina Syahrudin
Balai Penelitian Tanaman Serealia

PENDAHULUAN

Seleksi atau pemilihan tanaman oleh manusia menjadi awal ilmu pemuliaan tanaman. Seleksi dilakukan bila ada keragaman pada populasi tanaman. Sebelum abad ke-20, seleksi tanaman menggunakan segregasi silang dan mutan-mutan alam dalam perbaikan sifat tanaman. Alam menyediakan keragaman genetik. Selain dari tanaman, persilangan alam juga terjadi dengan mutasi spontan yang tidak melibatkan campur tangan manusia. Mutasi merupakan salah satu sumber variasi genetik pada makhluk hidup. Variasi berfungsi untuk menyediakan populasi dasar untuk seleksi alam dan bagian integral dalam evolusi.

Tanaman mutan dapat menunjukkan efek besar atau kecil terhadap sifat fenotipe, bergantung pada gen yang mengalami mutasi. Banyak mutasi mungkin merusak yang menyebabkan suatu organisme menjadi kurang beradaptasi terhadap lingkungannya dan beberapa mungkin bersifat letal. Namun mutasi gen dapat menghasilkan genotipe baru yang bermanfaat melalui proses segregasi bebas dan *crossing over* antara gen. Seleksi mutasi spontan telah dimulai sejak 300 tahun SM di Cina (Harten 1998a). Di akhir abad ke-19, Hugo De Vries menemukan pola pewarisan sifat yang tidak mengikuti hukum pewarisan Mendel. Pada tahun 1901 dia menemukan mutasi sebagai mekanisme yang menghasilkan variabilitas dan menetapkannya sebagai suatu perubahan terwariskan dengan suatu mekanisme yang sangat berbeda dengan rekombinasi dan segregasi. Dia menyebut kejadian tersebut dengan istilah “mutasi” dan mempresentasikan suatu konsep integratif mengenai perubahan yang terjadi secara tiba-tiba pada suatu sifat, yang menyebabkan terbentuknya suatu spesies baru dan munculnya keragaman (Kharkwal 2012).

Konsep mutasi Hugo de Vries sebagai sumber keragaman genetik dan idenya tentang potensi tanaman mutasi untuk pemuliaan tanaman, dijadikan sebagai tonggak awal teknologi mutasi dalam disiplin ilmu pemuliaan. Hugo de Vries juga mengusulkan di dalam publikasinya pada tahun 1901 dan 1903 bahwa tipe radiasi baru seperti sinar X dan Gamma yang ditemukan oleh Konrad Van Roentgen (1895), Henry Becquerel (1896), dan Pierre serta Marie Curie (1897/1898) mungkin sangat bermanfaat untuk menginduksi mutasi buatan (Kharkwal 2012).

KATEGORI MUTASI, MUTAGEN DAN INDUKSI MUTAGENESIS

Kategori Mutasi

Mutasi digambarkan sebagai perubahan tiba-tiba pada genetik makhluk hidup yang mampu menunjukkan perubahan fenotipe tanaman dan dapat diturunkan. Sebelum tahun 1950an penelitian pemuliaan berbasis pada perubahan fenotipe. Dari pertengahan tahun 1950-an dan setelahnya, mikroskopi menyediakan observasi aberrasi pada tingkat ploidi, kariotipe dan kromosom. Saat ini mutasi dapat dideteksi pada tingkat sekuens DNA. Karena sejalan dengan material genetik, mutasi dapat ditemukan pada seluruh konstitusi selular yang membawa DNA, seperti nukleus, mitokondria, dan plastid. Klasifikasi mutasi bervariasi berdasarkan metode deteksi yang digunakan yaitu:

1. Stubbe (1938) membagi mutasi menjadi tiga kelas; 1) genom, 2) plastidom (semua plastida di sitoplasma sel), dan 3) plasmon (total sistem sitoplasmik eukariotik, mitokondria dan plastida). Mutasi genom dibagi menjadi genom, kromosom dan gen.
2. Gustafsson dan Ekberg (1977) mengkategorikan mutasi menjadi: 1) mutasi genom, 2) mutasi kromosom dan, 3) mutasi ekstra nuklear
3. Auerbach (1976) mengklasifikasikan mutasi menjadi: 1) perubahan jumlah kromosom, 2) mutasi intergenik, dan 3) mutasi intragenik.
4. Harten (1998b) mengklasifikasikan mutasi menjadi: 1) mutasi inti dan luar inti, 2) mutasi spontan dan induksi, 3) mutasi makro dan mikro, 4) mutasi fenotipe.

Klasifikasi pada Tingkat Fenotipe

Keragaman muncul pada fenotipe tanaman akibat terjadinya mutasi. Mutasi fenotipe menjadi perhatian pemulia tanaman karena mutasi menunjukkan karakter tanaman yang dapat memiliki nilai ekonomi. Pemuliaan tanaman merupakan suatu proses seleksi berdasarkan fenotipe. Populasi mutasi yang besar dapat dikembangkan dan digunakan untuk penelitian pemuliaan tanaman yang dikerjakan berdasarkan fenotipe tanaman. Pada tanaman serealia, kelas mutasi yang paling umum pada penampilan fenotipe tanaman umumnya terlihat pada warna daun, tinggi tanaman, sterilitas, dan pertumbuhan.

Klasifikasi pada Tingkat Genotipe

Genom terdiri atas set-set kromosom dasar dan sering diberi simbol spesifik. Tanaman diploid diberi simbol ganda seperti untuk Barley, *Hordeum vulgare* yaitu HH. Pada beberapa spesies genom ganda menghasilkan autoploid. Beberapa spesies poliploidy tersusun dari genom yang berbeda dan dikenal sebagai allopoloidy. Sebagai contoh, gandum durum merupakan tetraploid dengan dua genom diploid, AA BB, dan gandum heksaploid dengan tiga genom

diploid, AA BB DD. Poliploidi menjadi mekanisme evolusi pada tanaman dan telah banyak dimanfaatkan pada beberapa spesies tanaman budi daya, seperti tebu, kapas, pisang, kacang tanah, dan kentang.

Mutasi Ploidi

Mutasi ploidi tipe defisiensi termasuk pengurangan jumlah genom, seperti barley diploid (HH) menjadi barley haploid (H). Tanaman haploid dapat menghasilkan haploid ganda sehingga menghasilkan galur homozigot, yang merupakan teknologi alternatif dalam pemuliaan dan genetika tanaman pada banyak spesies. Haploid ganda dapat diperoleh dengan menginduksi embriogenesis pada sel kultur haploid, untuk menghasilkan genom ganda. Pada beberapa spesies tanaman terdapat mekanisme alami yang dapat memacu pengurangan ploidy. Sebagai contoh, gen penginduksi haploid pada jagung dan barley meningkatkan frekuensi embrio haploid pada biji (Barret *et al.* 2008, Finch 1989). Ravi dan Chan (2010) memperoleh tanaman haploid dengan teknik eliminasi genom yang dimediasi oleh centromer.

Penambahan genome, poliploidi dengan cara duplikasi (autoploid) atau penambahan genom (allopoloid) terjadi secara alami dalam proses evolusi spesies tanaman dan juga memungkinkan diinduksi secara buatan. Salah satu efek dari poliploidi adalah meningkatkan volume nukleus, yang juga meningkatkan ukuran sel, jaringan, dan organ tanaman.

Allopoloid memiliki tambahan genom berbeda yang mengandung gen-gen yang berbeda, untuk memperkaya keragaman gen dalam proses dan peluang meningkatkan heterosis (Lundqvist *et al.* 2012). Beberapa contoh tanaman poliploid adalah:

1. Triploid: pisang, semangka, dan apel.
2. Tetraploid: randu, kubis, gandum durum, kentang, dan tembakau.
3. Hexaploid: gandum terigu, oat, triticale, dan krisan.
4. Oktaploid : dahlia dan strawberi.

Mutasi Kromosom

Kromosom merupakan organ dalam nucleus sebagai tempat kedudukan gen-gen secara bersama-sama, yang juga dikenal sebagai kelompok pautan (*linkage group*). Kromosom memiliki dua lengan yang panjangnya seimbang atau tidak, yang bersatu pada centromer. Setiap spesies normalnya memiliki set kromosom standar yang disebut euploid. Genom dari euploid yang tidak normal diistilahkan aneuploid yang merupakan penambahan atau kehilangan satu atau lebih kromosom atau bagian kromosom. Duplikasi dan delesi, khususnya hilangnya bagian dari kromosom, tidak dapat ditoleransi oleh kebanyakan spesies diploid. Beberapa diploid mentoleransi penambahan kromosom, tetapi duplikasi tersebut sering menghilang selama proses meiosis. Pada generasi selanjutnya, aneuploid kembali ke euploid. Poliploid memiliki lebih banyak pengendali genetik dan tanaman aneuploid viable dapat diproduksi dari poliploid (Lundqvist *et al.* 2012).

Mutasi Gen

Mutasi gen dapat dibagi berdasarkan perubahan dalam jumlah dan komposisi gen, yang terdiri atas:

1. Mutasi jumlah copy gen

Jumlah copy gen (paralogus) dapat meningkat dan menurun oleh mutasi spontan atau induksi. Duplikasi suatu gen dapat terjadi pada lokus mana pun dalam genom meskipun kebanyakan terjadi pada kromosom homologus. Mutasi yang mempengaruhi jumlah copy gen dapat menurunkan atau meningkatkan ekspresi gen yang menghasilkan sifat tertentu. Perubahan dalam mutasi jumlah copy gen biasanya berasal dari suatu produk kesalahan perpasangan selama proses meiosis dan rekombinasi. Namun, peristiwa mutasi yang umum adalah penurunan jumlah copy gen yang efektif, disebabkan oleh mutasi titik.

2. Mutasi tak terstruktur: perubahan pada sekuens DNA

Kategori ini melibatkan perubahan dalam sekuens pasangan basa dari DNA. Mutasi juga disebabkan oleh perubahan pada daerah yang tidak dikodekan (*non coding region*) seperti promoter, intron, heterokromatin dan DNA repetitif. Mutasi gen nonstruktural yang umum terjadi adalah sebagai berikut:

- a. **Mutasi titik:** umumnya diakibatkan oleh mutagen kimia. Mutasi ini melibatkan perubahan basa tunggal dan dapat menghasilkan kodon missense (code untuk asam amino yang berbeda), silent (diam, tidak ada perubahan asam amino), dan nonsense (kodan asam amino berubah). Mutasi titik juga dikenal sebagai substitusi basa tunggal, yang berkontribusi terhadap polimorfisme nukleotida tunggal (SNP), **insersi dan delesi** satu atau lebih nukleotida. Penggabungan keduanya disebut InDel, dapat menghasilkan perubahan kodon dan frameshift pada codon reading frame dengan efek kuantitatif dan kualitatif pada produksi protein. Mutasi pada daerah spesifik gen, seperti promoter, daerah pengkodean, stop, intron dan sekuens 3' yang tidak ditranslasi, **insersi transposon**, juga dikenal sebagai mutagenesis insersi. Transposon merupakan sekuens DNA yang dapat berpindah, masuk atau keluar dari kromosom. Biasanya transposon aktif karena stres lingkungan dan aktivitasnya dapat mematikan atau mengaktifkan gen dengan masuk ke dalam gen.
- b. **Mimik mutasi:** Keadaan lingkungan tumbuh yang tidak teratur dari proses fisiologi yang beragam dapat menghasilkan mutan fenotipik. Namun hal ini bukan bersifat genetik dan dapat dibedakan dari mutasi sebenarnya dengan tidak adanya pewarisan sifat kepada keturunannya. Banyak efek epigenetik yang kurang dipahami dan istilah tersebut digunakan untuk banyak penyimpangan fisiologi yang disebabkan faktor lain yang bukan genetik. Untuk memberikan pemahaman yang baik tentang hal tersebut adalah metilasi DNA yang dapat mengganggu ekspresi gen normal. Metilasi merupakan penyimpangan yang umum terjadi pada DNA tanaman yang dibiakkan dalam kultur jaringan. Beberapa perubahan epigenetik dapat diwariskan pada saat pola metilasi tidak secara sempurna diperbaiki di gamet dan setelah fertilisasi.

Jenis Mutagen

Banyak jenis mutagen yang dapat digunakan dalam menghasilkan keragaman atau menimbulkan mutasi induksi pada tanaman. Namun secara garis besar, jenis mutagen tersebut dapat dikelompokkan kedalam dua kelompok besar, yaitu mutagen fisik (agen fisik) dan mutagen kimia (agen kimia). Kedua jenis mutagen tersebut tidak hanya berbeda dari segi bahan bakunya, namun juga memiliki efek yang berbeda.

Mutagen Fisik

Mutagen fisik dapat menyebabkan kerusakan pada molekul-molekul DNA organisme hidup. Di awal abad ke-20, penemuan kembali hasil penelitian Gregor Mendel yang dikenal sebagai genetika Mendel, sangat dekat dengan pemahaman teori bahwa mutasi, perubahan terwariskan, dan menyusun suatu individu dapat diinduksi. Mutasi induksi dapat berupa mutasi mimik spontan, yang mengendalikan evolusi dan spesiasi. Kebanyakan mutagen fisik adalah radiasi ionisasi dan telah digunakan secara luas untuk menginduksi penyimpangan hereditas dan lebih dari 70% mutan dikembangkan dari mutagenesis fisik.

Tipe dan Efek Radiasi Mutagenik

Radiasi didefinisikan sebagai energi yang berpindah dalam bentuk gelombang atau partikel. Radiasi dibagi menjadi dua kategori, yaitu radiasi elektromagnetik dan korpuskular, untuk membedakan jenis radiasi partikel dan gelombang. Radiasi elektromagnetik diklasifikasikan lebih lanjut berdasarkan sumbernya dan yang paling membedakan adalah jumlah energi yang terlibat, frekuensi dan sumbernya. Mutagen fisik yang dimaksud adalah sinar X, sinar gamma, neutron, partikel beta, partikel alfa dan proton atau deuteron. Tipe mutagen fisik, sumber, deskripsi, energi dan daya tembus disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tipe mutagen fisik, sumber, deskripsi, energi dan daya tembus.

Tipe radiasi	Sumber	Deskripsi	Energi	Daya tembus
Sinar X	Mesin sinar X	Radiasi elektromagnetik	50-300 kV	Beberapa mm sampai banyak cm
Sinar gamma	Radioisotop dan reaksi nuklir	Radiasi elektromagnetik	Sampai beberapa MeV	Banyak cm
Neutron	Reaktor nuklir dan aselerator	Partikel tidak berubah	Kurang dari 1 sampai berjuta eV	Banyak cm
Partikel beta	Radioisotop atau aselerator	Berupa elektron	Sampai beberapa MeV	Sampai beberapa mm
Partikel alfa	Radioisotop	Inti helium	2-9 mm	Sedikit mm
Proton atau deuteron	Reaktor nuklir atau aselerator	Inti hidrogen	Sampai beberapa GeV	Sampai banyak cm

Sumber: IAEA (1977).

Radiasi Ionisasi dan Nonionisasi

Berdasarkan kapasitasnya untuk menghasilkan ion, radiasi dibagi menjadi radiasi ionisasi dan non-ionisasi. Radiasi non-ionisasi kuat mempengaruhi atom, namun tidak cukup kuat mempengaruhi strukturnya. Sebaliknya, radiasi ionisasi memiliki energi yang cukup untuk secara langsung mempengaruhi struktur atom dan material, termasuk makhluk hidup. Istilah ionisasi muncul dari fakta bahwa ketika bentuk radiasi melalui suatu jaringan, selalu ada kecenderungan untuk mengeksitasi suatu elektron dari orbitnya di sekitar nukleus, sehingga menghasilkan ion sebagai proton yang terionisasi.

Untuk memahami cara kerja mutagen fisik yang berbeda, pengetahuan peran sentral atom diperlukan. Semua zat terdiri atas atom, terutama ruang. Tiga partikel atom adalah proton, neutron, dan elektron. Di tengah atom adalah neutron dan proton yang sangat kuat ikatannya dan bermuatan positif, sedangkan elektron bermuatan negatif dan berada pada orbit nukleus. Jumlah proton dalam nukleus unik dan menentukan elemen atom tersebut. Sebagai contoh, jika suatu nukleus mengandung delapan proton, maka atom tersebut adalah oksigen, dan jika mengandung 17 proton, atom tersebut adalah klorin. Jumlah neutron dalam nukleus seluruh atom dari zat tertentu tidak pasti.

Laju dosis dan satuan dosis bergantung dari besarnya aktivitas jenis radioisotop sebagai sumber pengion, salah satu contoh yang paling sering digunakan adalah Co^{60} , yaitu radioisotop yang memancarkan sinar gamma. Makin tinggi aktivitas Co^{60} makin tinggi laju dosisnya. Laju dosis adalah jumlah dosis terserap per satuan waktu (rad/detik atau Gy/detik). Satuan dosis terserap adalah rad atau gray (Gy) misalnya $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/g materi}$, $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad} = 1 \text{ joule/kg materi}$. Pengaruh laju dosis pada pemuliaan mutasi masih belum ada kesamaan pendapat. Laju dosis, satuan dosis dan lamanya penyinaran sinar gamma disajikan pada Tabel 2.

Terdapat beberapa teknik meradiasi dalam pemuliaan mutasi dengan menggunakan mutagen fisik, yaitu **radiasi akut**, teknik meiradiasi dengan laju dosis yang tinggi sehingga waktu iradiasi hanya dalam hitungan detik, menit atau beberapa jam. **Radiasi kronik** adalah teknik meiradiasi dengan laju dosis yang rendah atau sangat rendah, sehingga waktu meiradiasi dapat berhari-hari, berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun. Teknik ini hanya dapat dilakukan bila ada kebun gamma. **Radiasi berulang** adalah teknik meiradiasi dengan berulang 2-3 kali dengan dosis yang sama pada materi pemuliaan yang sama dengan selang waktu yang sama atau berbeda. **Radiasi bertahap** adalah teknik meiradiasi berulang yang dosisnya makin lama makin tinggi atau makin rendah. Dengan teknik meiradiasi bertahap ini, materi pemuliaan dapat menerima dosis iradiasi yang lebih tinggi daripada dosis iradiasi tunggal.

Tabel 2. Laju dosis iradiasi sinar gamma pada bulan Mei 2009 dengan aktivitas 1046,16976 ci.

Rad	Gy	Menit	Detik
1	10	-	43
2	20	1	26
3	30	2	9
4	40	3	12
5	50	3	35
6	60	4	18
7	70	5	1
8	80	6	44
9	90	6	27
10	100	7	10
15	150	10	45
20	200	14	20
25	250	17	55
30	300	21	30
35	350	25	5
40	400	28	40
50	500	35	50
60	600	43	0
70	700	50	10
80	800	57	20
90	900	64	30
100	1000	71	40
150	1500	107	50
200	2000	143	20
250	2500	179	10
300	3000	215	0
350	3500	250	50
400	4000	286	40
450	4500	322	30
500	5000	358	20
600	6000	430	0
700	7000	501	40
800	8000	573	20

Sumber: PATIR BATAN (2009).

Mutagen Kimia

Mutagen kimia adalah senyawa kimia yang dapat menimbulkan mutasi. Senyawa kimia mudah terurai, membentuk radikal yang aktif, dan dapat bereaksi dengan asam amino dalam DNA sehingga terjadi perubahan genetik. Jenis mutagen kimia yang sering digunakan dalam pemuliaan mutasi tanaman adalah EMS (Ethylene methane sulphonat), dES (diethyl sulphate), EI (ethyleneimine), ENU (ethyl nitroso urethane), ENH (ethyl nitroso urea), NMU (Nitroso methyl Urea), MNH (methyl nitroso urea), dan NTG (Nitrosoguanidine).

Dosis mutagen kimia

Dosis perlakuan dengan mutagen kimia sebenarnya sama dengan dosis pada perlakuan dengan radiasi fisik atau pengion yaitu ditentukan oleh konsentrasi mutagen kimia dalam larutan dan lama perlakuan. Terdapat tiga faktor yang berpengaruh terhadap hasil perlakuan dengan mutagen kimia, yaitu **konsentrasi** dengan menggunakan mutagen kimia bertanda (^{14}C -EMS²² atau ^{14}C -MMS²²), lama perlakuan, dan suhu. Penyerapan mutagen kimia dalam biji mengikuti hukum difusi selama konsentrasi mutagen lebih tinggi dari konsentrasi cairan dalam sel biji, **Lama perlakuan** adalah lama perendaman larutan mutagen kimia terkait dengan konsentrasi suhu waktu perlakuan dan kondisi fisiologis biji. **Suhu** erat kaitannya dengan waktu paruh mutagen kimia. Suhu ruang tempat perlakuan disarankan 20–25°C, sebab pada suhu ini mutagen tidak cepat terhidrolisis sehingga perlakuan dapat lebih lama berlangsung.

Objek Pelakuan Mutagen

Objek perlakuan mutasi baik menggunakan mutagen fisik (pengion) maupun mutagen kimia, materi pemuliaan mutasi dapat berupa tanaman, biji/benih, tepung sari, jaringan maristem (umbi, stek, tunas, stolon), dan sel/kultur jaringan/kallus. Objek perlakuan mutagen fisik memiliki perbedaan radiosensitivitas yang besar dari setiap bagian tanaman, bergantung pada kondisi fisiologis bagian yang diperlakukan. Objek perlakuan mutagen kimia pada umumnya berupa biji atau benih dengan merendam ke dalam larutan mutagen kimia lalu mengocok, mencuci dan menanamnya. Bagian tanaman yang lain seperti tunas, stek, tanaman dan bagian tanaman lain dapat ditumbuhkan, sukar diperlakukan dengan mutagen kimia dan hasilnya sering kurang memuaskan. Oleh karena itu, penggunaan mutagen kimia pada tanaman yang membiak vegetatif kurang dianjurkan.

APLIKASI TEKNOLOGI MUTASI PADA PEMULIAAN TANAMAN GANDUM

Pemuliaan mutasi dimulai sejak ditemukannya sinar X, gamma dan neutron 100an tahun yang lalu dan menjadi alternatif teknologi dalam perbaikan sifat utama tanaman (Ahloowalia 2001). Semula, pemulia tanaman menganggap bahwa mutasi induksi merupakan teknik pemuliaan yang kurang meyakinkan. Namun, seiring dengan berkembangnya bioteknologi, keberhasilan regenerasi sel berdasarkan teori *totipotensi sel*, dan terbentuknya variasi somaklonal, mutasi induksi merupakan alternatif teknik pemuliaan tanaman yang menjanjikan.

Penerapan mutasi induksi di Indonesia dimulai pada tahun 1967 setelah berdirinya instalasi sinar Co 60 di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi. Program pemuliaan mutasi secara intensif dimulai pada tahun 1972 dengan bantuan teknik dari International Atomic Energy Agency (IAEA) yang berpusat di Wina

(Hendratno dan Mugiono 1996). Prioritas kegiatan diarahkan pada perbaikan varietas padi, yakni umur genjah, tahan patogen, toleran kekeringan, dan kualitas beras yang disenangi konsumen.

Pemuliaan mutasi pada gandum di laboratorium Brookhaven National, Upton New York, Amerika Serikat, menggunakan biji gandum kadar air 11% dan sinar X dengan dosis 150-250 Gy sinar-X atau $8,38 \times 10^{12}$ Nth/cm² Nth. Turunan M₂ dianalisis secara kimia dan fisika, dan menghasilkan beberapa mutan yang berbeda sifat klorofilnya (Mugnozza *et al.* 1993). Perbaikan sifat gandum menggunakan iradiasi sinar gamma telah berhasil di beberapa negara, diantaranya Argentina (1 mutan), Chili (1 mutan), Cina (124 mutan), Bulgaria (2 mutan), Finlandia (1 mutan), Jepang (2 mutan), Jerman (2 mutan), Rusia (36 mutan), India (4 mutan), Hongaria (1 mutan), Irak (60 mutan), Italia (2 mutan), Swiss (1 mutan), Mongolia (3 mutan), Amerikan (3 mutan) dan Pakistan (6 mutan). Mutan gandum yang pertama tahun 1966 terhadap biji dengan iradiasi sinar X, J, α , laser, neutron cepat, EI, MNH dan sinar gamma meningkatkan produksi, umur genjah, toleran suhu dingin, tahan patogen, tahan rebah, lebih kerdil dan kualitas biji lebih baik (Cheng *et al.* 1990, Vrinten *et al.* 1999).

Mekanisme Pewarisan Gen Mutasi

Perlakuan dengan mutagen fisik (pengion) maupun mutagen kimia dapat menyebabkan mutasi karena secara langsung bereaksi dengan DNA. DNA merupakan polimer dari nukleotida yang terkait antara satu dengan yang lain melewati kelompok fosfat. Dalam struktur model DNA terdapat ikatan fosfat-gula (-P-S-P-S-) sebagai tulang punggung dan ikatan adenin – timin (A-T) dan guanin-sitosin (G-S) sebagai rantai nukleotida. Akibat mutagen dapat terjadi kesalahan penerjemahan pada rantai nukleotida sehingga terjadinya mutasi. Akibat kesalahan penerjemahan pada rantai nukleotida, atau terjadinya pemutusan kromosom menyebabkan peningkatan keragaman genetik pada individu turunan. Berdasarkan penelitian Manjaya dan Nandanwar (2007), dengan dosis penyinaran sinar gamma 250 Gy berhasil menginduksi terjadinya mutasi dan menyebabkan terjadinya keragaman genetik pada kedelai cv JS 80-21. Dosis iradiasi optimal berbeda untuk tiap kultivar kedelai yang ada.

Generasi keturunan tanaman mutan yang diperlakukan dengan mutagen disimbolkan dengan M₁, M₂, M₃, dan seterusnya untuk membedakan dengan generasi hibridisasi yang disimbolkan dengan F₁, F₂, F₃ dan seterusnya. Hanya mutan gen dominan yang terekspresikan pada generasi M₁. Mutasi pada sel somatik akan membentuk jaringan kimera, yaitu keturunan sel-sel mutan dan sel-sel normal akan membentuk jaringan genotipe dengan susunan berbeda. Tanaman M₁ biasanya bersifat kimerik, melalui pertumbuhan tanaman M₁, kesempatan kompetisi antara mutan dan nonmutan terjadi (Nasir 2002).

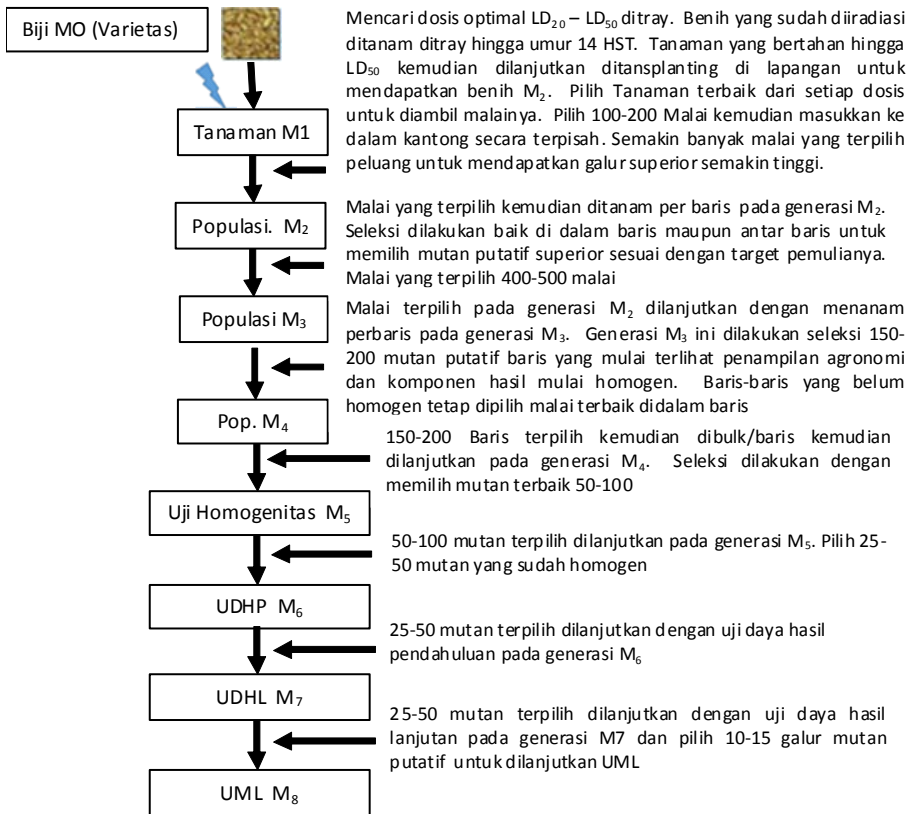
Aplikasi Teknologi Iradiasi Sinar Gamma pada Pemuliaan Mutasi Gandum Tropis

Upaya perbaikan sifat dan peningkatan keragaman genetik tanaman gandum di Indonesia selama ini hanya bertumpu pada introduksi galur-galur homosigot atau yang telah dilepas sebagai varietas di negara tertentu. Gandum pada dasarnya merupakan tanaman subtropik yang diupayakan untuk dikembangkan di daerah tropik, khususnya di Indonesia. Hal ini menjadi alasan rendahnya keragaman genetik tanaman gandum di Indonesia. Peningkatan keragaman genetik tanaman gandum yang telah diintroduksi dapat dilakukan melalui hibridisasi dan mutasi. Pada umumnya mutagen fisik dapat menyebabkan mutasi pada tahap kromosom, sedangkan mutagen kimia umumnya menyebabkan mutasi pada tahapan gen atau basa nitrogen (Aisyah 2006).

Perbaikan genetik gandum tropis melalui program pemuliaan telah berjalan dan memperlihatkan hasil yang cukup baik, berasal dari pemuliaan melalui persilangan dan pemuliaan mutasi (mutasi biji dan variasi somaklonal) (Nur *et al.* 2013a).

Pemuliaan gandum tropis dengan teknik mutasi berpeluang meningkatkan keragaman genetik dan diharapkan mampu meningkatkan potensi genetik gandum. Faktor yang mendukung keberhasilan perakitan gandum tropis toleran suhu tinggi dan berdaya hasil tinggi adalah: (1) adanya keragaman genetik yang luas; (2) respon dan mekanisme toleransi gandum terhadap lingkungan berelevasi rendah diketahui dengan jelas; (3) metode rekombinasi genetik yang tepat; (4) populasi bersegregasi; (5) metode seleksi yang tepat dalam mengidentifikasi genotipe yang diharapkan.

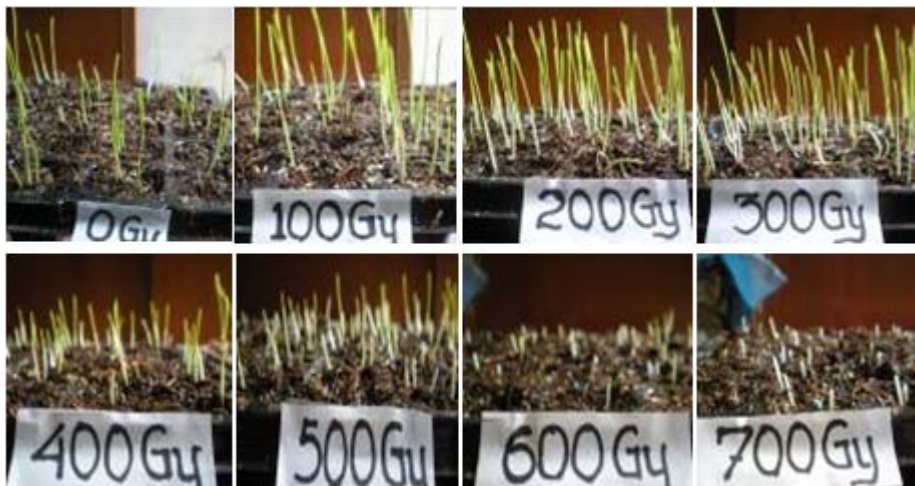
Pemuliaan mutasi gandum tropis menggunakan mutagen iradiasi sinar gamma telah diaplikasikan di Indonesia sejak tahun 1983 oleh Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN- PATIR). Dr. Knut Mikaelson, pakar pemuliaan mutasi dari Badan Tenaga Atom Internasional (IAEA), memperkenalkan benih dua varietas gandum tropis asal CIMMYT Meksiko, yaitu *Sonalika* dan *SA-75* yang telah diiradiasi. Namun saat ini terbatas untuk mendapatkan galur-galur mutan dengan daya hasil tinggi pada ketinggian > 1.000 m dpl. Dengan perlakuan mutagen iradiasi sinar gamma menghasilkan beberapa galur mutan dan satu varietas yang dilepas pada tahun 2013 dari galur mutan CBD-17 dengan nama varietas Ganesha. Penelitian mutasi gandum tropis sejak tahun 2009 diarahkan untuk mendapatkan galur-galur mutan potensial yang beradaptasi pada dataran yang lebih rendah dan toleran suhu tinggi. Penelitian pemuliaan mutasi dengan mutagen iradiasi sinar gamma diawali dengan mempelajari respons atau sensitivitas tanaman gandum terhadap iradiasi gamma untuk tujuan pemuliaan mutasi tanaman lebih lanjut (Gambar 2). Hasil penelitian menyimpulkan bahwa dosis optimal iradiasi gamma dalam pemuliaan gandum berkisar antara 200-350 Gy (Soeranto 1997, Soeranto *et al.* 2002). Dosis optimal adalah dosis iradiasi gamma yang dapat menimbulkan keragaman genetik tertinggi pada generasi kedua setelah perlakuan iradiasi (M2). Tahapan pemuliaan mutasi pada biji



Gambar 1. Tahapan pemuliaan mutasi melalui biji gandum menggunakan mutagen irradiasi sinar gamma (Nur 2013).

gandum menggunakan mutagen iradiasi sinar gamma disajikan pada Gambar 1.

Dari penelitian yang sama diketahui dosis iradiasi sinar gamma 0–700 gy memperlihatkan daya kecambah yang lebih baik pada dosis 100 gy, 200 gy dan 300 gy dibanding kontrol (tidak diiradiasi sinar gamma) (Gambar 2). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi dengan dosis rendah dapat memperbaiki perkecambahan benih dan menstimulasi perkecambahan gandum dan barley (Sheppard 1986a, Sheppard 1987b). Penelitian lainnya menggunakan dosis dengan kisaran 1-4 krad juga memberikan hasil yang sama, yaitu menstimulasi perkecambahan gandum dan barley, dimana daya berkecambah menurun dengan meningkatnya dosis radiasi. Kecenderungan yang sama juga ditunjukkan oleh karakter tinggi bibit (Khanna 1986). Dosis 400 dan 500 gy memperlihatkan pertumbuhan kecambah gandum mulai menurun dan pada umur 30 HST tidak memperlihatkan perkembangan yang lebih baik (Nur 2013).



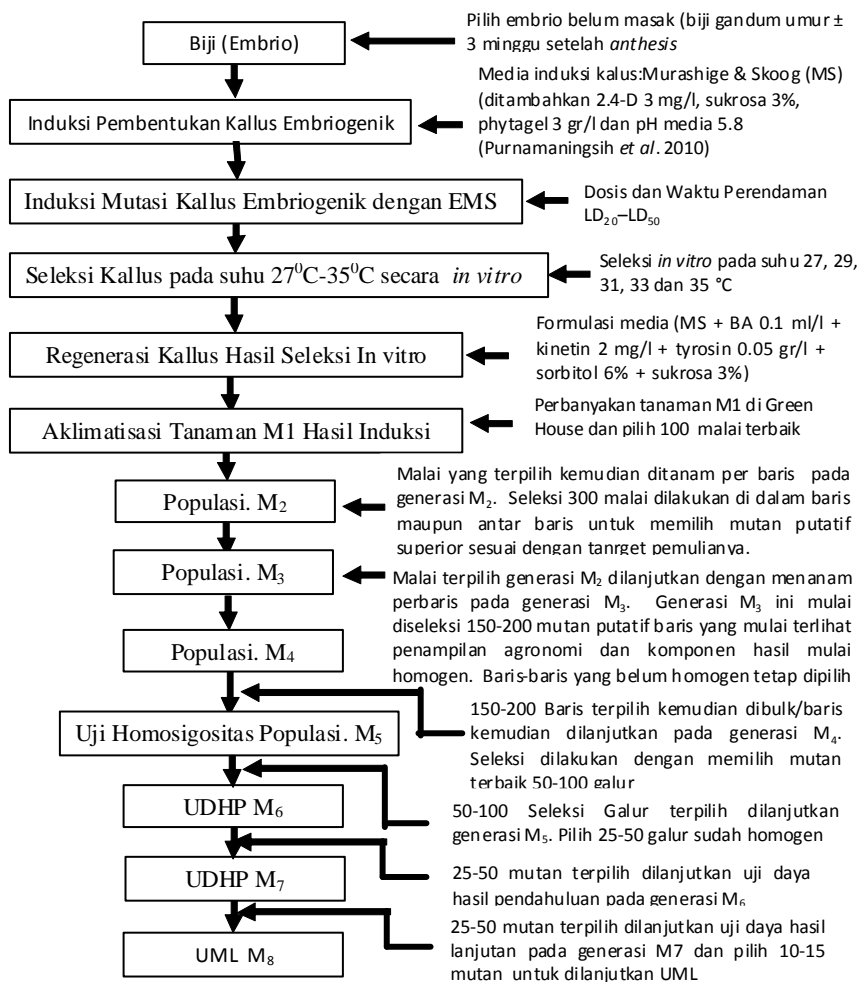
Gambar 2. Laju perkecambahan biji gandum dengan dosis iradiasi sinar gamma 0-700 gy.

Aplikasi Pemuliaan Mutasi Gandum Tropis Melalui Variasi Somaklonal.

Proses mutasi alami (spontan) biasanya sangat jarang dengan frekuensi 10^{-6} - 10^{-7} sehingga perlu mutagen untuk menginduksi frekuensi dan kecepatan mutasi tanaman. Salah satu mutagen yang paling potensial, efektif, dan banyak digunakan pada berbagai jenis organisme mulai dari virus sampai mamalia adalah mutagen kimia EMS (Ethylene methane sulphonat) (Chopra 2005, Medina *et al.* 2005, Sega 1984). EMS sering digunakan dalam penelitian karena mudah diperoleh, murah, dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Natarajan 2005). EMS pada umumnya menyebabkan mutasi titik yaitu terjadinya delesi pasangan basa tertentu dalam kromosom. Senyawa EMS merupakan senyawa alkali yang efektif sebagai mutagen untuk tanaman tingkat tinggi (Greene *et al.* 2003) dan dapat mengubah lokus tertentu tanpa menginduksi sejumlah besar mutasi yang terpaut dengan lokus tersebut. Tahapan pemuliaan mutasi gandum dengan variasi somaklonal dengan mutagen kimia EMS (Ethylene methane sulphonat) disajikan pada Gambar 3.

Keragaman somaklonal adalah keragaman genetik yang dihasilkan melalui kultur jaringan (Scowcroft 1985). Menurut Wattimena (1992), keragaman somaklonal berasal dari keragaman genetik eksplan dan terjadi dalam kultur jaringan. Keragaman pada eksplan disebabkan oleh adanya sel-sel bermutasi maupun polisomik dari jaringan tertentu. Keragaman genetik yang terjadi dalam kultur jaringan disebabkan oleh penggandaan kromosom (fusi endomitosis), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen dan sitoplasma (Evans and Sharp 1986, Ahlowalia 1986).

Keragaman somaklonal merupakan mutasi *in vitro* yang dapat ditingkatkan frekuensi mutan somaklon melalui pemberian mutagen fisik (Ahlowalia and Maluszynski 2001). Penggunaan mutagen fisik seperti iradiasi sinar gamma pada



Gambar 3. Tahapan pemuliaan mutasi gandum dengan variasi somaklonal dengan mutagen EMS.

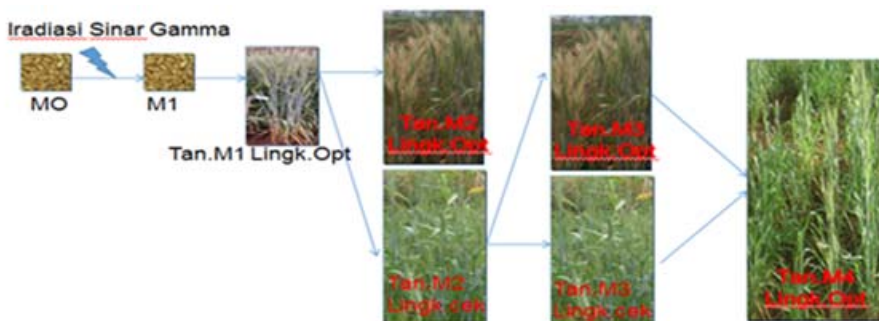
kultur *in vitro* telah dilaporkan penggunaannya dalam upaya mendapatkan keragaman somaklon dengan berbagai karakter unggul yang diinginkan (Ahloowalia 1990). Iradiasi sinar gamma dilakukan pada sel-sel yang masih aktif membelah seperti kalus karena sensitif terhadap iradiasi sinar gamma. Pemberian iradiasi sinar gamma dengan dosis 10-100 Gy pada kalus dapat meningkatkan keragaman somaklonal (Harten 1998).

Perbaikan Genetik Gandum dengan Metode *Shuttle Breeding*

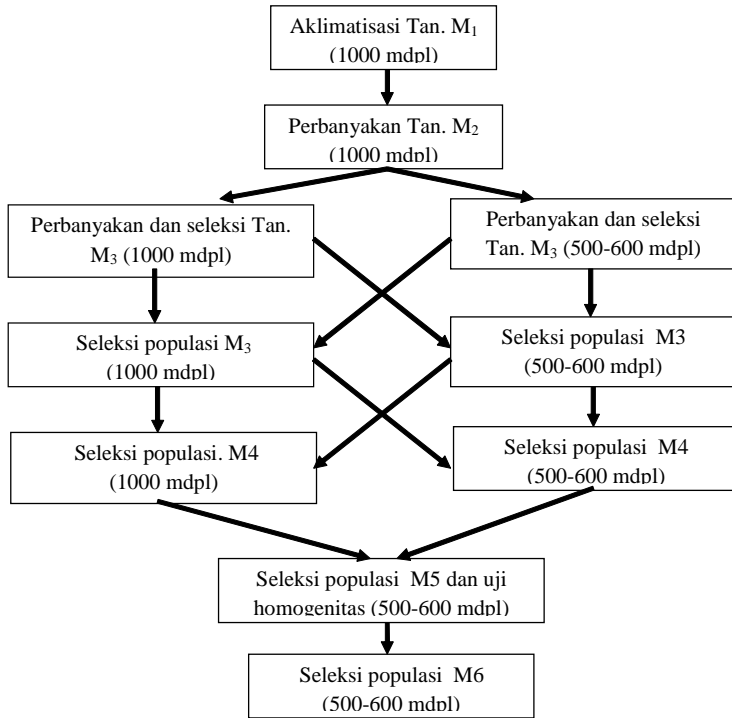
Pemuliaan dengan teknik mutasi dapat digabungkan dengan metode *shuttle breeding*, yang merupakan salah satu metode dalam program pemuliaan tanaman yang bertujuan untuk merakit varietas tanaman pada lingkungan dengan cekaman biotik maupun abiotik pada wilayah yang luas. Metode ini pada awalnya dikembangkan antarinstansi. Penelitian sejumlah materi genetik yang mempunyai potensi mengatasi masalah dikirim ke suatu wilayah, kemudian dievaluasi secara sistematis dengan melibatkan berbagai pihak. Materi genetik yang mampu bertahan dalam lingkungan seleksi selanjutnya dikembangkan, sedangkan materi genetik lainnya dikembalikan ke institusi penyelenggara pemuliaan untuk keperluan perbaikan genetik. Materi genetik yang telah diperbaiki dikirimkan kembali ke wilayah bermasalah untuk mengetahui respons seleksi tahap lanjut. Proses tersebut dapat terjadi berulang-ulang hingga diperoleh satu atau dua materi genetik yang mantap untuk mengatasi suatu masalah. Tahapan seleksi pemuliaan mutasi menggunakan biji dan variasi somaklonal dengan mutagen iradiasi sinar gamma melalui metode *shuttle breeding* disajikan pada Gambar 4 dan 5.

Kelebihan metode *shuttle breeding* dalam merakit varietas untuk lingkungan dengan cekaman tertentu menghasilkan materi genetik yang dapat digunakan dan dipertahankan jika salah satu lingkungan (cekaman sangat tinggi) menyebabkan materi genetik mati dan lingkungan optimal digunakan sebagai *backup* materi genetik. Seleksi langsung pada lingkungan dengan cekaman tertentu berpotensi memaksimalkan ekspresi gen-gen yang dapat mengendalikan daya hasil maupun daya adaptasi tanaman terhadap cekaman lingkungan (Ceccareli *et al.* 2007).

Kegiatan *shuttle breeding* menggunakan materi generasi awal dari program pemuliaan. Seleksi tahap pertama dilakukan oleh pemulia untuk memilih individu tanaman atau sekelompok tanaman yang memiliki karakter unggul berdasarkan penilaian tertentu. Seleksi selanjutnya dilaksanakan berdasarkan cekaman pada



Gambar 4. Tahapan seleksi pemuliaan mutasi menggunakan biji gandum dengan mutagen iradiasi sinar gamma melalui metode *shuttle breeding* (Nur 2015).



Gambar 5. Tahapan seleksi pemuliaan mutasi variasi somaklonal dengan mutagen iradiasi sinar gamma melalui metode *shuttle breeding*.

lingkungan target. Seleksi generasi selanjutnya dilakukan dengan mengembalikan individu pada lingkungan optimal yang bertujuan untuk perbanyakkan benih untuk seleksi yang lebih luas. Hal ini dilakukan berulang-ulang hingga didapatkan materi genetik yang betul-betul toleran terhadap lingkungan bercekaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahloowalia, B.S. 1990. In vitro radiation induced mutagenesis in potato. Kluwer Acad Pub. Dordrech. p. 39-46.
- Ahloowalia, B.S. 1986. Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement. p. 14-27. In: J. Serial (Eds). Somaclonal variation and crop improvement. Martinus Nijhoff Publisher. USA.
- Ahlowalia, B.S. and M. Maluszynski. 2001. Induced mutation A new paradigm in plant breeding. Euphytica 118:167-173.
- Aisyah, I.S. 2006. Induksi mutagen fisik pada anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.) dan pengujian stabilitas mutannya yang diperbanyak secara vegetatif [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor. Bogor. 195 hal.

- Auerbach, C. 1976. Mutation Research. Problems, Results and Perspectives. London: Chapman and Hall.
- Barret, P., M. Brinkmann, and M. Beckert. 2008. A major locus expressed in the male gametophyte with incomplete penetrance is responsible for in situ gynogenesis in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 117:581-594.
- Ceccareli, S., Erskine, Humblin, and Brando. 2007. Genotype by environment interaction and international breeding program. <http://www.icrisat.com> [2 juni 2012].
- Cheng, X.Y., M.W. Gao, Z.Q. Liang, and K.Z. Liu. 1990. Effect of mutagenic treatments on somaclonal variation in wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breeding* 105:47-52.
- Chopra, V. 2005. Mutagenesis: Investigating the process and processing the outcome for crop improvement. *Current Sci.* 89:353-359.
- Evans, D.A. and W.R. Sharp. 1986. Somaclonal and gametoclonal. *In: Evans, D.A., W.R. Sharp, and P.V. Ammirato (Eds.). Hand Book of Plant Cell Culture. Vol. 4 Mc. Miilan Publ. Co., New York. p. 87-132.*
- Finch, R.A. 1989. The hap gene causes facultative pseudogamy in barley. *Barley Genetics Newsletter* 13:4-6.
- Greene, E.A., C.A. Codomo, N.E. Taylor, J.G. Henijoff, B.J. Till, S.H. Reynolds, L.C. Enns, C. Burtner, J.E. Johnson, A.R. Odden, L. Comal, and S. Henikoff. 2003. Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse- genetics screen in *Arabidopsis*. *Genetics* 164:731-740.
- Gustafsson, A. and I. Ekberg. 1977. Types of mutation. Manual on mutation breeding. Technical reports no.119. Vienna: IAEA. p.107-123.
- Harten, A.M.V. 1998a. Mutation Breeding Theoty and Practical Aplications. Cambridge University Press.
- Harten, A.M.V. 1998b. Nature and types of mutations. Mutation Breeding. Theory and Practical applications. Cambridge: Cambridge University Press. p.64-110.
- Hendratno and Mugiono. 1996. Present status of plant mutation breeding in Indonesia Plan Mutation breeding in Asia. Proc. Oh Plant Mutation Breeding Seminar. Beijing. p. 21-37.
- Khanna, V.K. 1986. Effect of gamma radiation on seedling growth and cell division in wheat and Triticale. *Acta Bot. Lndica.* 14:43-49.
- Kharkwal, M.C. 2012. A brief history of plant mutagenesis. *Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Joint FAO/IAEA Programme. British Library, London, UK.*
- Lundqvist, U., J.D. Franckowiak, and B.P. Forster. 2012. Mutation Categories. *Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Joint FAO/IAEA Programme. British Library, London, UK.*
- Manjaya, J.G. and R.S. Nandanwar. 2007. Genetic improvement to soybean vanety JS 80-21 through induced mutations. *Plant Mutation Reports* 1(3):36-40.
- Medina, F.I.S., E. Amano, and S. Tano. 2005. Mutation Breeding Manual. Japan. Forum for Nuclear Cooperation in Asia (FNCA).
- Miflin, B. 2000. Crop improvement in the 21st century. *J Exp Bot* 51:1-8.
- Mugnozza, G.T.S., F.D. Amato, S. Avanzi, D. Bagnara, M.C. Belli, A. Bozzimi, A. Brunori, T. Cervigni, M. Devreux, B. Donini, B. Giorgi, G. Martoni, L.M. Monti, E. Moschini, and C. Mosconi. 1993. Mutation breeding for durum wheat (*Triticum aurgidum* sp). Durum improvement in Italy. *Mutation Breeding Rev.* 10:1-28.

- Nasir, M. 2002. Bioteknologi molekuler: teknik rekayasa genetik tanaman. Penerbit PT Citra Aditya Bakti. Bandung.
- Natarajan, A.T. 2005. Chemical mutagenesis from plants to human. *Curr. Sci.* 89:312-317.
- Nur, A. 2015. Perbaikan genetik gandum tropis toleran suhu tinggi dan permasalahan pengembangannya pada dataran rendah. *Jurnal penelitian dan pengembangan pertanian* 34(1):19-30.
- Nur, A., M. Azrai, H. Subagio, H. Soeranto, Ragapadmi, Sustiprajitno dan Trikoesoemaningtyas. 2013a. Perkembangan Pemuliaan Gandum Di Indonesia. *Jurnal Inovasi Teknologi Pertanian* 8(2): 97-105.
- Nur A. 2013b. Adaptasi Tanaman Gandum (*Triticum aestivum* L.) Toleran Suhu Tinggi Dan Peningkatan Keragaman Genetik Melalui Induksi Mutasi Dengan Menggunakan Iradiasi Sinar Gamma[Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Purnamaningsih, R., I. Mariska, dan E. Gati. 2010. Perakitan gandum adaptif daerah tropis melalui keragaman somaklonal dan seleksi in vitro. Laporan Hasil Penelitian Konsorsium Gandum. p. 21.
- Ravi, M. and S.W.L Chan. 2010. Haploid plants produced by centromere-mediated genome elimination. *Nature.* 464:615-619.
- Scowcroft, W.R., S.A. Ryan, R.L.S. Brettle, and P.J. Larkin. 1985. Somaclonal variation in crop improvement. Proc. Inter-Centre Seminar on International Agricultural Research Centre (IARCs) and Biotechnology. Biotechnology in International Agricultural Research. Los Banos Manila. April 23-27, 1984. p. 99-109.
- Sega, G.A. 1984. A review of the genetic effects of ethylmethanesulfonate. *Mutat Res* 134(2-3):113-142.
- Sheppard, S.C. and W.G. Evenden. 1986a. Factors controlling the response of field crops to very low doses of gamma radiation of the seed. *Canad. J Plant Sci.* 66:431-441.
- Sheppard, S.C. and P.J. Regiting. 1987b. Plant effects: factors controlling the hormesis response in irradiated seed. *Health Phys.* 52:599-605.
- Soeranto, H., Carkum, dan Sihono. 2002. Perbaikan varietas tanaman gandum melalui pemuliaan mutasi. Makalah Pertemuan Koordinasi Penelitian dan Pengembangan Gandum. Direktorat Serealia DEPTAN, 3-4 Sept 2002.
- Soeranto, H. 1997. Perbaikan adaptasi tanaman gandum tropis melalui program pemuliaan mutasi induksi. Prosiding Simposium dan Kongres III PERIPI Bandung, 24-25 Sep. 1997. ISBN 979-95503-0-0.
- Stubbe, H. 1938. Genmutation I. Allgemeiner Teil. *Handbuch der Vererbungswissenschaft.* Band II F. Berlin: Verlag von Gebrüder Bornträger.
- Vrinten, P., T. Nakamura, and M. Yamamori. 1999. Molecular characterization of waxy mutations in wheat. *Mol. Gen Genet.* 261:463-471.
- Wattimena, G.A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. p. 308.

