Studi Regenerasi dan Produksi Protoplas Mesofil Daun Beberapa Klon Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.)

Study of Regeneration and Production of Leaves Mesophyle Protoplasts of Several Potato Cultivars

Asnawati[1], G.A. Wattimena[1], M. Machmud[2], Agus Purwito[1]

ABSTRACT

The objectives of these experiments were to obtain medium composition to enlarge leaf size for protoplast production and to obtain medium composition for plant regeneration. The result showed that the best medium to produce the larger leaves was medium MS with double concentration of macronutrients without hormone supplemented with Morel vitamins, 3% (w/v) sucrose and 7 g/l agar. This medium produced leaves with diameter of 1.44 cm comparing to control medium MS with 0.67 cm in diameter. Medium MS containing 0.1 mg/l IAA, 0.5 mg/l Zeatin and 0.5 mg/l GA_3 was able to regenerate vigorous shoots of 7 clones. Protoplast isolation of 5 clones using enzyme composition containing 0.5 % cellulase Onozuka RS, 0.05 %, pectolyase Y-23, 0.05 % MES, 9.1 % mannitol and pH 5.5, without CPW medium produced protoplast with variable yield from 10.50 x 10^5 protoplast/g leaves for Atlantic to 46.58 x 10^5 protoplast/g for BF15.

Keyword : Leaves size, Plant regeneration, Potato, Protoplast

PENDAHULUAN

Kentang merupakan tanaman sayuran dan pangan yang populer karena mempunyai rasa yang enak, nutrisi berimbang, harganya cukup tinggi, umbi relatif tidak mudah rusak dan fluktuasi harga rendah. Selain itu kentang juga merupakan bahan baku penting pada industri *french fries*, *chip* dan lain-lain. Namun demikian tanaman kentang juga dikenal sebagai tanaman yang sangat rentan terhadap hama, penyakit dan cekaman lingkungan lainnya (Purwito et al., 2002). Untuk mengatasi hal tersebut sering dilakukan manipulasi genetik, baik dengan menginduksi terjadinya variasi somaklonal atau dengan mengintroduksi gen-gen tertentu, seperti gen ketahanan terhadap penyakit.

Kultur protoplas merupakan metode yang menginduksi munculnya variasi dari dalam tanaman itu sendiri, dengan memacu terekspresinya sifat-sifat genetik yang biasanya tertutupi atau tidak muncul pada fenotipenya. Teknik ini berkembang dari prinsip totipotensi sel, dimana setiap sel mempunyai kemampuan untuk tumbuh dan berkembang pada lingkungan yang sesuai dengan membawa karakter masing-masing yang independen. Dengan mengisolasi setiap sel dari tanaman dan meregenerasikannya pada media yang sesuai, maka akan didapatkan tanaman baru yang membawa karakter masing-masing sel tersebut.

Untuk mengintroduksi gen-gen tertentu dari suatu tanaman ke tanaman lainnya dapat dilakukan dengan metode fusi protoplas. Fusi protoplas mempunyai kemampuan yang tinggi untuk merakit kultivar-kultivar baru karena dapat mengatasi ketidakmampuan dari hibridisasi seksual maupun transformasi genetik tanaman (Purwito, 1999). Selain dapat mentransfer gen-gen yang belum teridentifikasi, fusi protoplas juga dapat digunakan untuk memodifikasi dan memperbaiki sifat-sifat yang diturunkan secara poligenik. (Miliam *et al.*, 1995). Tujuan utama fusi protoplas pada tanaman kentang (*S. tuberosum*) adalah untuk (1) mengintrogresi sifat-sifat ketahanan dari species atau genus *Solanum* lain dan (2) meresintesis tingkat tetraploid untuk memaksimalkan heterosigositas (Purwito, 1999).

Mesofil daun tanaman yang dikulturkan *in vitro* paling banyak digunakan sebagai sumber protoplas pada *Solanaceae* (Menke *et al.*, 1996). Hal ini karena kondisi fisiologis dari daun tanaman dari kultur *in vitro* lebih konstan dibanding daun tanaman dari rumah kaca. Selain keseragaman daun *in vitro* lebih tinggi dan dapat tersedia setiap saat serta tidak perlu melakukan sterilisasi. Kelemahan pada daun *in vitro* kentang

1) Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Budidaya Pertanian, dan Laboratorium Seluler dan Molekuler Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi, Kampus IPB, Darmaga, Bogor,
2) Balitbio, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor.