

PEMULIAAN TANAMAN CEPAT DAN TEPAT MELALUI PENDEKATAN MARKA MOLEKULER

Dede Nuraida

Universitas PGRI Ronggolawe Tuban
dede.nuraida@gmail.com

Abstrak

Abstrak: Pemuliaan tanaman merupakan suatu kegiatan yang dilakukan untuk memperbaiki karakter tanaman secara baka. Pemuliaan secara konvensional biasanya dilakukan melalui seleksi terhadap karakter-karakter yang menjadi target atas dasar ciri-ciri fenotip/morfologi, namun penggunaan penanda morfologi ini kurang akurat dan tidak stabil karena karakter yang tampak bukan semata-mata menggambarkan informasi genetic tanaman tetapi sudah dipengaruhi oleh lingkungan. Seleksi yang akurat terhadap suatu karakter yang diinginkan dari tanaman adalah dengan berdasarkan pada gen yang mengendalikan karakter tersebut. Untuk itu maka identifikasi genetic dengan pendekatan molekuler sangat dibutuhkan dalam kegiatan pemuliaan ini agar memperoleh hasil yang tepat dalam waktu yang singkat.

Kata kunci: Pemuliaan, teknik konvensional, marka molekuler

A. Pendahuluan

Pemuliaan tanaman merupakan kegiatan untuk mengubah susunan genetic tanaman secara tetap (baka) sehingga memiliki sifat atau penampilan sesuai dengan tujuan yang diinginkan pelakunya/pemulianya. Seperti dikemukakan Widodo (2003) bahwa pemuliaan tanaman dapat diartikan sebagai ilmu dan seni yang mempelajari adanya pertukaran dan perbaikan karakter tanaman yang diwariskan pada suatu populasi baru dengan sifat genetic yang baru. Pemuliaan tanaman umumnya mencakup tindakan penangkaran, persilangan, dan seleksi. Dasar pengetahuan mengenai perilaku biologi tanaman dan pengalaman dalam budidaya diperlukan dalam kegiatan ini.

Dalam program pemuliaan tanaman secara konvensional biasanya seleksi terhadap karakter-karakter yang menjadi target dilakukan atas dasar seleksi fenotip/morfologi, baik secara individu maupun populasi tanaman. Penentuan karakteristik merupakan hal yang krusial dalam deskripsi tanaman. Karakteristik yang paling tua dan paling umum digunakan adalah sifat morfologi dan fisiologi, seperti bentuk batang, bentuk daun, ketahanan terhadap penyakit dan lain-lain. Kerugian menggunakan tipe ini adalah ekspresinya sangat bervariasi terhadap kondisi lingkungan. Seperti kita ketahui bersama bahwa fenotip suatu karakter dipengaruhi tidak hanya oleh factor genetic, tetapi juga oleh factor lingkungan. Oleh karena itu seleksi terhadap

suatu karakter yang didasarkan pada penampakan/fenotip memiliki banyak kekurangan, diantaranya memberikan hasil yang tidak konsisten, terutama bila karakter tersebut lebih dipengaruhi oleh factor lingkungan (heritabilitas rendah) dibandingkan factor genetic. Selain hasilnya tidak konsisten waktu yang dibutuhkan juga relative lama, seperti yang dikemukakan oleh Bennet (1993) bahwa seleksi secara konvensional akan membutuhkan waktu yang lama dan areal yang luas untuk memproduksi satu galur baru.

Oleh karena kelemahan-kelemahan yang dimiliki pada system pemuliaan melalui teknik konvensional, maka sudah saatnya teknik pemuliaan tanaman dilakukan dengan menggunakan pendekatan molekuler di mana teknik pemuliaan ini sudah melibatkan dan didasarkan pada informasi genetic.

B. Pemuliaan tanaman

Pemuliaan tanaman merupakan suatu kegiatan yang dilakukan untuk memperbaiki karakter tanaman yang diwariskan pada suatu populasi baru dengan sifat genetic baru. Produk pemuliaan tanaman adalah kultivar dengan ciri-ciri khusus sesuai dengan yang diinginkan pemulianya seperti: produksi tinggi, toleran terhadap kondisi-kondisi lingkungan yang marginal, resisten terhadap hama dan penyakit dan lain-lain. Dalam kerangka usaha pertanian (agribisnis), pemuliaan tanaman merupakan

bagian awal dari mata rantai usaha tani dan memastikan tersedianya benih atau bahan tanam yang baik dan bermutu tinggi.

Pemuliaan tanaman merupakan kegiatan yang dinamis dan berkelanjutan. Kedinamisannya dicerminkan dari adanya tantangan dan kondisi alam lingkungan yang cenderung berubah. Sebagai contoh strain pathogen yang selalu berkembang, selera konsumen terhadap pangan juga berkembang, oleh karena itu kegiatan pemuliaan pun akan terus berkembang sejalan dengan perubahan tersebut. Berkelanjutan, dapat dilihat dari kegiatannya yang sinambung dari suatu tahapan menuju tahapan berikutnya (Carsono, 2008). Pemuliaan tanaman merupakan ilmu terapan yang multidisipliner, dengan menggunakan beragam ilmu lainnya seperti genetika, sitogenetik, agronomi, botani, fisiologi, patologi, entomologi, genetika molekuler, biokimia, dan statistika (Hancock, 2006 dalam Carsono, 2008).

Pada umumnya proses kegiatan pemuliaan diawali dengan (1) usaha koleksi plasma nutfah sebagai sumber keragaman (2) identifikasi dan karakterisasi (3) induksi keragaman, misalnya melalui persilangan atau dengan transfer gen, yang diikuti dengan (4) proses seleksi (5) pengujian dan evaluasi (6) pelepasan, distribusi dan komersialisasi varietas. Teknik persilangan yang diikuti dengan proses seleksi merupakan teknik yang paling banyak dilakukan dalam inovasi perakitan kultivar unggul baru, selanjutnya, diikuti oleh kultivar introduksi, teknik induksi mutasi dan mutasi spontan yang juga menghasilkan beberapa kultivar baru (Carsono, 2008).

C. Teknik Pemuliaan Konvensional

Pada pemuliaan secara konvensional teknik persilangan yang diikuti dengan proses seleksi merupakan teknik yang paling banyak dilakukan, dalam inovasi perakitan kultivar unggul baru. Populasi dasar dengan variasi genetic yang tinggi merupakan bahan pemuliaan yang penting untuk perakitan varietas unggul. Populasi dasar yang memiliki variasi genetic tinggi akan memberikan respon yang baik terhadap seleksi, karena variasi genetic yang tinggi akan memberikan peluang besar untuk mendapatkan kombinasi persilangan yang tepat dengan gabungan sifat-sifat yang baik (Suprpto & Khairudin, 2007).

Pada pemuliaan konvensional varietas-varietas baru yang memiliki karakter sesuai dengan yang diharapkan, dirakit dengan cara menyilangkan individu-individu yang memiliki karakter unggul yang tampak secara morfologi/fenotip, tetapi informasi yang diperoleh secara fenotip ini seringkali memberikan hasil yang tidak konsisten, karena karakter yang tampak bukan semata-mata menggambarkan informasi secara genetic tetapi sudah dipengaruhi oleh lingkungan. Oleh karena itu keturunan yang diperoleh dari hasil persilangan ini sering kali mengalami perubahan karakter ke arah yang tidak diinginkan, terlebih bila karakter tersebut lebih dipengaruhi oleh lingkungan (heritabilitas rendah). Seperti yang dikemukakan oleh Prasetiyono *et al.* (2003) bahwa seleksi yang berdasarkan fenotip saja akan menemui kesulitan karena kondisi lingkungan yang bervariasi. Akibatnya, tekanan seleksi menjadi tidak merata sehingga dapat menyebabkan terjadinya kesalahan pemilihan galur.

Secara konvensional, biasanya suatu varietas tertentu diidentifikasi dan diverifikasi kemurniannya berdasarkan sifat-sifat morfologinya. Namun yang menjadi permasalahan adalah varietas-varietas yang berasal dari galur berkerabat dekat seringkali memperlihatkan karakteristik yang sama, bahkan pada kondisi yang spesifik pun kadang-kadang penampilannya sama (Pabendon, 2004) dengan demikian seleksi ini menjadi tidak akurat, oleh karena itu diperlukan teknik untuk mengidentifikasi dan memverifikasikemurnian suatu benih sehingga kualitasnya dapat terjaga. Erkilinc & Karaca (2005) pada pemuliaan kapas, menyatakan bahwa jika varietas-varietas yang ditanam tidak memiliki kemurnian genetic, maka kualitas serat yang dihasilkan akan menurun. Hasil seperti ini juga terjadi pada pemuliaan kapas nasional yang selama ini dilakukan secara konvensional, Sulistyowati & Sumartini (2009) menyatakan bahwa dalam program pengembangan kapas nasional, varietas yang digunakan cepat mengalami degradasi genetic yang berakibat terjadinya penurunan tingkat produktivitas yang sangat nyata, sehingga program pemuliaan varietas harus terus dilakukan.

Lamadji *et al* (1999, dalam Azrai 2008) lebih lanjut menyatakan bahwa seleksi berdasarkan karakter fenotipik tanaman di lapangan memiliki beberapa kelemahan yaitu (1) memerlukan waktu yang cukup lama (2)

kesulitan memilih dengan tepat gen-gen yang menjadi target seleksi untuk diekspresikan pada sifat-sifat morfologi atau agronomi (3) rendahnya frekuensi individu yang diinginkan yang berada dalam populasi seleksi yang besar (4) fenomena pautan gen antara sifat yang diinginkan sulit dipisahkan saat melakukan persilangan.

Dengan melihat kelemahan-kelemahan dari teknik pemuliaan konvensional, saat ini teknik pemuliaan tanaman sudah bergeser ke arah pendekatan molekuler agar hasil yang diperoleh tepat dan cepat.

D. Pemuliaan Tanaman Berbasis Marka Molekuler

Seleksi yang akurat terhadap suatu karakter yang diinginkan dari tanaman adalah dengan berdasarkan pada gen yang mengendalikan karakter tersebut. Untuk kepentingan ini maka informasi genetic dari suatu tanaman khususnya yang terkait dengan suatu karakter sangatlah penting. Untuk itu maka identifikasi genetic dengan pendekatan molekuler sangat dibutuhkan dalam kegiatan pemuliaan ini agar memperoleh hasil yang tepat.

Pemecahan masalah dalam pemuliaan konvensional mulai mendapat titik terang dengan ditemukannya markah/penanda molekuler. Suatu penanda (marker) adalah suatu karakter atau sifat yang dapat diturunkan atau diwariskan pada keturunannya dan dapat berasosiasi maupun berkorelasi dengan genotip tertentu, dan dapat digunakan untuk mengkarakterisasi/mendeteksi genotip tertentu. Suatu sifat yang dapat dipakai sebagai penanda apabila sifat tersebut secara tegas diwariskan pada keturunannya dan *linkage* (terkait) dengan sifat yang dikehendaki. Pengembangan markah molekuler yang terpaut (*linkage*) dengan karakter-karakter kualitas atau yang disebut dengan pendekatan QTL (Quantitative Trait Loci) untuk karakter kualitas, berpotensi sebagai jalan untuk merakit kultivar yang memiliki kualitas unggul. Lebih lanjut, bila fasilitas dan dukungan dana yang kontinyu, teknik pemuliaan molekuler lainnya dapat digunakan guna menunjang peningkatan kualitas dan daya saing yaitu transformasi gen (Carsono, 2008). Dari sejarah perkembangannya, penanda ini dapat dikelompokkan sebagai penanda morfologi, penanda sitologi, dan penanda molekuler.

Penanda molekuler dapat dibedakan menjadi penanda isozim dan penanda DNA.

Materi genetic suatu makhluk hidup terletak pada DNA, yaitu suatu rantai ganda dari nukleotida yang terdapat pada inti sel. Sekuens tiga nukleotida membentuk suatu triplet, dan suatu seri-seri spesifik dari triplet membentuk gen. Gen-gen ini secara fisik merupakan unit-unit fungsional dari hereditas. Posisi gen pada kromosom disebut lokus, dan setiap bentuk yang berbeda dari lokus spesifik disebut alel (Griffith *et al.*, 1993). Karena suatu karakter tertentu dari makhluk hidup itu terletak pada DNA, maka hasil yang diperoleh dari teknik markah molekuler ini secara total independen dari pengaruh lingkungan di mana materi tersebut ditanaman (Carsono, 2008), oleh karena itu hasil yang diperoleh akan lebih tepat. Seperti yang dikemukakan oleh Weising *et al.* (1994) beberapa keuntungan yang diperoleh dari pendekatan molekuler adalah: (1) penelitian pada tingkat genotip dapat langsung diuji dari pada tingkat fenotip (2) Bagian DNA yang berbeda, berevolusi dengan kecepatan yang berbeda sehingga bagian yang tepat dapat dipilih untuk studi selanjutnya (3) berbagai teknik berdasarkan tingkat DNA telah banyak dikembangkan dan masing-masing berpotensi menjadi penanda gen yang tepat untuk pemecahan masalah tertentu (4) dapat digunakan untuk melihat filogeni, tes parental dan pembuktian silsilah.

Teknik molekuler, khususnya dalam penggunaan marka molekuler, telah digunakan secara ekstensif oleh Negara maju. Penggunaan marka molekuler utamanya untuk memonitor variasi susunan DNA di dalam spesies serta merekayasa sumber baru variasi genetic dengan mengintroduksi karakter-karakter yang baik. Marka molekuler ini membawa informasi baru yang bermanfaat dalam menentukan variasi karakter dan organisasi dari keragaman genetic di dalam spesies. Selain kelebihan-kelebihan di atas penanda ini bersifat kodominan, tidak terpengaruh oleh factor luar, dan dapat dilakukan setiap saat tanpa harus menunggu umur tanaman tertentu, walaupun tekniknya cukup rumit dan mahal.

Penemuan markah molekuler dapat membantu kelancaran pekerjaan seleksi, penanda molekuler DNA ini dapat dikembangkan dengan cepat dan dalam jumlah yang lebih banyak. Dengan banyaknya jumlah penanda ini memungkinkan untuk membuat peta genetic dari gen-gen yang berdekatan

dengan penanda DNA tersebut. Dengan metode ini peta genetic tanaman dapat dibuat secara lebih cepat daripada pembuatan peta genetic melalui metode silang balik. Marka molekuler DNA mampu mengkarakterisasi materi genetic, menghasilkan variasi yang luas dari marka-marka baru yang menunjukkan keragaman pada berbagai level perbedaan.

Pemanfaatan markah DNA sebagai alat bantu seleksi *Marker Assisted selection* (MAS) lebih menguntungkan dibandingkan dengan seleksi secara fenotipik/morfologi, karena seleksi dengan bantuan markah molekuler didasarkan pada sifat genetic tanaman saja, tidak dipengaruhi oleh factor lingkungan. Dengan demikian, kegiatan pemuliaan tanaman menjadi lebih tepat, dan cepat. Seperi yang dikemukakan oleh Akagi *et al.* (1996) bahwa pemanfaatan peta keterpautan mikrosatelit dalam perakitan varietas baru juga dapat menghemat waktu, tenaga, dan biaya.

Dalam konteks MAS, markah berbasis DNA dapat menjadi efektif jika digunakan untuk 3 tujuan dasar, yaitu (1) identifikasi galur-galur tetua dengan tepat untuk perbaikan suatu karakter untuk tujuan khusus (2) penelusuran alel-alel yang sesuai (*favorable*) dominan atau resesif pada tiga generasi persilangan, dan (3) identifikasi individu-individu secara sesuai dengan karakter yang diinginkan di antara turunan yang bersegregasi, berdasarkan pada komposisi alelik persilangan sebagian atau seluruh genom.

Marka DNA telah digunakan secara ekstensif dalam sidik jari genotip. Peta-pola merupakan metode yang sangat tepat dan jelas dalam menjelaskan sidik jari DNA secara individual. Dari satu peta dapat diperoleh frekuensi pola pita dan jumlah pita. Peta-pola ini secara jelas mengilustrasikan frekuensi produk secara actual dan kejadian yang sama dalam studi aksesi/varietas yang lain. Metode ini yang memfasilitasi identifikasi marka spesifik pada suatu kelompok atau taksa tertentu (Powel *et al.*, 1991). Sidik jari DNA dalam amplifikasinya juga bermanfaat dalam penentuan kemurnian benih, dalam resolusi mengenai ketidakjelasan tetua, untuk proteksi secara legal dari varietas yang telah maju, dan uji genetic (Weising *et al.*, 1998). Keragaman genetic yang menggunakan marka molekuler juga telah banyak diaplikasikan di dalam studi biodiversitas, identifikasi varietas, dan analisis filogenetik (Rogstad, 1996).

Berbagai prinsip dasar dan metodologi dari marka molekuler yang dapat digunakan, menurut Gupta *et al.* (2002) dapat dikelompokkan dalam empat macam, yaitu:

1. Hibridisasi berdasarkan marka
2. PCR (Polymerase Chain Reaction) berdasarkan marka
3. Marka molekuler berdasarkan PCR yang dilanjutkan dengan hibridisasi
4. Sekuensing dan chip DNA berdasarkan marka

1. Hibridisasi Berdasarkan Marka

Dalam kelompok hibridisasi, beberapa metode yang dapat digunakan antara lain:

Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP)

Didasarkan pada polimorfisme yang muncul karena adanya basa yang mengalami substitusi, penambahan, pengurangan, dan perpindahan (traslokasi) pada genom DNA. Perubahan tersebut menyebabkan perbedaan ukuran dari fragmen restriksi yang dicerna oleh enzim restriksi tertentu. RFLP hanya mendeteksi perbedaan-perbedaan dari fragmen tersebut, dimana satu dengan lainnya berhubungan dengan homolognya dari probe molekul yang digunakan dalam hibridisasi. Probe molekul yang digunakan dalam RFLP antara lain probe genom DNA (yang diturunkan dari genom DNA) dan probe cDNA (yang diturunkan dari mRNA). Kelebihan dari RFLP adalah dapat mendeteksi sifat co-dominan, artinya dapat membedakan antara yang homosigot dan heterosigot. Selain itu dapat diperoleh homologi polimorfik. Genom-genom inti dari eukariotik mengandung pengulangan urutan basa sekitar 2-15 pasang basa yang merupakan suatu motif yang tersebar sepanjang genom yang disebut dengan dispersed repetitive DNA (drDNA) atau variable number of tandem repeats (VNTRs). Oleh karena itu urutan yang berulang ini dapat digunakan sebagai probe multilokus yang mempunyai polimorfisme berbagai lokus secara simultan.

2. PCR Berdasarkan Marka

Berdasarkan pasangan primer yang digunakan dalam teknik ini, ada 2 macam teknik yaitu:

- (1) Metode yang menggunakan sepasang primer (primer yang ditempatkan di awal dan di akhir unit transkripsi), dimana primer-primer tersebut sangat spesifik urutannya untuk

menyambungkan dirinya dengan segmen DNA. Metode PCR dengan menggunakan sepasang primer, terdiri dari STSs (Sequence-Tagged Sites) dan SCARs (sequence Characterized Amplified Regions, DALP (Direct Amplification Polymorphisme), SSRs (Simple Sequence Repeats), IFLP (Intron Fragment Length Polymorphism), ESTs (expressed Sequence Repeats), RAMP (Random Amplified Microsatellite Polymorphism), REMAP (Retroposon-Microsatellite Amplified Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism dan modifikasinya, SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism).

(2) Metode yang menggunakan primer tunggal (primer yang ditempatkan di awal unit transkripsi atau di akhir unit transkripsi). Metode PCR dengan primer tunggal meliputi: (a) AP-PCR (Arbitrary Primed PCR) (b) RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (c) DAF (DNA Amplification Fingerprinting). Persamaan dari ketiga teknik ini adalah adanya urutan acak dari primer baik yang bekerja ke arah kanan maupun ke arah kiri dari sejumlah lokus. Perbedaan dari ketiga teknik tersebut terdapat pada panjang-pendeknya primer, di mana untuk AP-PCR sekitar 20 basa nukleotida, RAPD sekitar 10 basa nukleotida, dan DAF sekitar 6-8 nukleotida. Dilaporkan bahwa hasil visualisasi dari AP-PCR dan RAPD relative sama, sehingga orang lebih menyukai RAPD karena membutuhkan primer yang lebih sedikit.

3. Marka molekuler berdasarkan PCR yang dilanjutkan dengan hibridisasi

Dilakukan dengan teknik fringer printing oligonukleotida menggunakan fragmen RAPD atau MP-PCR sebagai probe. Metode ini menggabungkan berbagai kelebihan fingerprinting oligonukleotida dari RAPD-PCR dan MP-PCR. Pada teknik ini genom DNA diamplifikasi dengan primer tunggal (kelompok ~ 10 nukleotida, sebagaimana analisis RAPD atau dengan mikrosatelit komplementer (~ 10 atau ~ 15 nukleotida) dan hasil PCR dielektroforesis, diblotting dan dihibridisasi dengan $\gamma^{32}\text{P}$ atau digoxigenin-label SSR (misalnya (CA)₈, (GA)₈, (GTG)₅, (GCGA)₄).

4. Sekuensing dan chip DNA berdasarkan marka

Kelompok marka molekuler dengan metode sekuens SNPs (Single Nucleotide

Polymorphism), dapat dilakukan dengan: (1) menggunakan gel sebagai dasar untuk mendapatkan hasil PCR untuk deteksi SNP, (2) Menggunakan bukan gel sebagai dasar mendapatkan hasil PCR untuk deteksi SNP (Gupta *et al.*, 1999). Keberadaan SNP dapat dideteksi pada RFLP atau AFLP dari hasil PCR walaupun SNP dihasilkan atau dihancurkan oleh bagian enzim restriksi yang spesifik. Metode untuk mendeteksi SNP ini pada awalnya membutuhkan gel namun terakhir ini ada juga yang tidak membutuhkan gel dalam analisisnya.

SSR (Simple Sequence Repeats) atau disebut juga marka mikrosatelit merupakan salah satu marka molekuler yang akhir-akhir ini banyak digunakan. Mikrosatelit berupa motif sederhana dari urutan basa nitrogen yang terdapat pada kromosom suatu organism. Urutan itu berulang-ulang berupa motif yang unik. Sampai sekarang ini telah banyak penanda mikrosatelit dibuat (Temnykh *et al.*, 2000). Pengulangan urutan basa pada mikrosatelit berkisar antara 4 sampai 6 motif, sekuen ini berguna sebagai sekuen konservatif. Marka ini sangat berguna

sebagai marka genetic karena bersifat: ko-dominan, sehingga dapat mendeteksi keragaman alel pada level yang tinggi, mudah dan ekonomis dalam pengaplikasiannya karena menggunakan proses PCR, terdistribusi pada seluruh kromosom, sehingga diharapkan semakin tinggi kemungkinan untuk mendapat penanda yang terpaut dengan suatu sifat tertentu. Bentuk pengulangan sekuen DNA sederhana yang berulang-ulang menjadikan marka mikrosatelit disebut Simple Sequence Repeats (SSR), Short Tandem Repeats (STRs) atau Simple Sequence Length Polymorphisme (SSLP) yang sekarang menjadi salah satu marka yang paling banyak digunakan secara luas untuk pemetaan genetic, analisis keragaman genetic, dan studi evolusi (Temnykh *et al.*, 2000). Gupta *et al.*, (1996) menyebutkan mikrosatelit tersebar di seluruh genom. Mikrosatelit kloroplas sama dengan mikrosatelit di dalam inti sel, tetapi ulangan hanya 1 pasang basa misal (T)_n. Setiap spesies biasanya memiliki ciri khas dalam pengulangan sekuen sederhana ini. Misalnya pada padi sekuen mikrosatelit ini memiliki urutan dari yang terbanyak, yaitu (GA)_n, (GT)_n, (TTG)_n, (ATT)_n, (CGG)_n, (TCT)_n, (CAG)_n, (TGG)_n, (GAT)_n, (ATC)_n, (CTT)_n dan (CATG)_n.

Analisis variasi genetik menggunakan penanda mikrosatelit adalah analog dengan metode lama yakni elektroforesis protein. Sejumlah mikrosatelit diaplikasikan, setiap penanda dideteksi sejumlah alel pada lokus genetik spesifik. Alel-alel individu mencerminkan frekuensi yang berbeda antar populasi yang berbeda. Perbedaan yang besar pada alel ini memungkinkan ketersediaan data dasar untuk pendugaan hubungan kekerabatan (Bradley *et al.*, 1998).

Penggunaan marka molekuler memiliki potensi untuk digunakan sebagai penanda dalam melakukan seleksi. Menurut Azrai (2005) Keberhasilan penggunaan suatu markah penyeleksi dalam kegiatan pemuliaan, bergantung pada tiga syarat utama yang harus dipenuhi (1) peta genetik dengan jumlah markah polimorfik yang cukup memadai, sehingga dapat mengidentifikasi QTL atau gen-gen mayor sasaran dengan akurat, (2) markah terkait erat antara QTL atau gen mayor target pada peta genetik yang sudah dikonstruksi, dan (3) kemampuan menganalisis sejumlah besar tanaman dalam waktu dan biaya secara efektif.

Untuk mengetahui korelasi antara marka molekuler dengan karakter target seleksi, maka perlu dilakukan pengujian-pengujian sebelumnya untuk meyakinkan adanya korelasi tersebut. Penyiapan atau kemurnian gen target juga sangat menentukan keberhasilan seleksi yang dilakukan. Kekeliruan dalam pelaksanaan ini akan menyebabkan kekeliruan atau bias dari program seleksi yang dilakukan.

E. Kendala yang Dihadapi

Pemuliaan tanaman berbasis molekuler masih sangat terbatas dilakukan, padahal potensi untuk merakit kultivar dengan teknik ini terbuka luas. Menurut Carsono (2008) hal ini disebabkan karena (1) terbatasnya penelitian molekuler hulu (*downstream*), baik intensitas maupun kualitasnya yang mendukung kegiatan pemuliaan molekuler, yaitu dalam bidang genomic, baik structural (penentuan sekuen DNA/struktur protein) ataupun fungsional (penentuan fungsi gen/protein dan interaksinya), seperti: Identifikasi, isolasi, dan karakterisasi sekuens DNA dari genom suatu tanaman (2) kurang tersedianya sarana dan prasarana (3) rendahnya akses terhadap jurnal-jurnal ilmiah internasional (4) sumberdaya manusia yang terlatih di bidang ini masih sedikit (5) dukungan dana masih sangat kecil dan tidak kontinyu.

Sebagai akibat dari kendala-kendala di atas maka para peneliti di Indonesia masih sangat tergantung terhadap hasil penelitian para peneliti asing, dan lembaga-lembaga asing lainnya (perusahaan bioteknologi ataupun lembaga riset internasional), yang umumnya telah dipatenkan. Kondisi seperti ini harus segera diatasi, kuncinya adalah dukungan dana riset yang besar dan kontinyu untuk penelitian-penelitian molekuler ini. Sehingga diharapkan dalam beberapa tahun ke depan, upaya merakit tanaman dengan gen-gen unggul untuk karakter tertentu dapat dilakukan sehingga akan memberikan sumbangan yang sangat besar pada bidang pemuliaan tanaman.

F. Kesimpulan

Pemuliaan tanaman dengan teknik konvensional sampai saat ini merupakan teknik pemuliaan yang banyak dilakukan, tetapi teknik tersebut memiliki banyak kelemahan di antaranya dalam hal akurasi dan waktu yang cukup lama. Oleh karena itu dalam pemuliaan tanaman dengan teknik molekuler khususnya pemanfaatan markah molekuler, perlu dikembangkan untuk mengatasi kelemahan-kelemahan tersebut sehingga kegiatan pemuliaan dapat terlaksana dengan tepat dan cepat sesuai dengan yang diharapkan, dengan demikian akan menghemat waktu, biaya, dan tenaga.

Agar kegiatan pemuliaan dengan teknik molekuler ini dapat berkembang, maka perlu adanya dukungan dana yang kontinyu untuk dilakukannya penelitian-penelitian tersebut, peningkatan sarana dan prasarana serta kesiapan sumberdaya manusia yang memadai.

DAFTAR PUSTAKA

- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki, and T. Fujimura. 1996. Microsatellite DNA Markers for Rice Chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1071-1077.
- Azrai, M. 2005. Ulasan Pemanfaatan Markah Molekuler dalam Proses Seleksi Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Agro Biogen*. Vol. 1 (1)
- Bennet, J. 1993. *Maps and Markers in Genome Analysis of Plant, Pests, and Pathogen*. Workshop Handbook. IRRI, los Banos. P. 19-30.
- Breadly, D.G., R.T. Loftus, P. Cunningham, and D.E. Machugh. 1998. *Genetic and Domestic Cattle Origin Evolutionary*

- Anthropology*. Willey-Liss, Inc. p. 79-86
- Carsono N. 2008. *Peran Pemuliaan Tanaman dalam Meningkatkan Produksi Pertanian di Indonesia*. Disampaikan dalam Seminar on Agricultural Sciences Mencermati Perjalanan Revitalisasi Pertanian, Perikanan dan Kehutanan dalam Kajian Terbatas Bidang Produksi Tanaman, Pangan. Tokyo. Januari 2008.
- Erkilinc, A., M. Karaca. 2005. Assesment of Genetic Variation in Some Cotton Varieties (*Gossypium hirsutum*) Grown in Turkey Using Mikrosatelit. *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi*. Vol. 18 (2).
- Griffiths, A.J.F., J.H. Miller, D.T. Suzuki, R.C. Lewonti, and W.M. Gelbart. 1993. *An Inrroduction to Genetic Analysis*.
- Gupta, P.K., R.K. Varshney and M. Prasad, 2002. Molecular Markers: Principles and Methodology. In: Jain, S.M., D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (Eds.). *Molecular Techniques in Crop Improvement*. p.9-54.
- Pabendon, M.C. 2004. *Pemanfaatan Marka Molekuler untuk Identifikasi Varietas Tanaman dalam Bidang Pemuliaan Tanaman*. Makalah Pribadi Tidak Diterbitkan. Bogor. Program Pasca Sarjana IPB.
- Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, and A. Rafalski. 1996. Polymorphism Revealed by Sample Sequence Repeats. *Trend Plant Sci*. Vol. 1.
- Prasetyono, J., Tasliah, H. Aswidinnoor, and S. Moeijopawiro. 2003. Identifikasi Marka Mikrosatelit yang Terpaut dengan Sifat Toleransi terhadap Keracunan Aluminium pada padi Persilangan Dupa x ITA131. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. Vol 8 (2).
- Rogstad, S.H. 1996. Assesing Genetic Diversity in Plants With Synthetic Tandem Repetitive DNA Probes. *StadlerGenet Ser*. 21:1-14
- Sulistyowati, E. and Hasnam. 2007. Kemajuan Genetik varietas Unggul Kapas Indonesia yang Dilepas Tahun 1990-2003. *Perspektif*. Vol.6 (1).
- and Sumartini. 2009. Kanaesia 10 - Kanesia 13: Empat Varietas Kapas Baru Berproduksi Tinggi. *Jurnal Littri*. Vol. 15 (1).
- Suprpto and Kairudin. 2007. Variasi Genetik, Heritabilitas, Tindak Gen dan Kemajuan Genetik Kedelai (*Glycine max Merrill*) Pada Ultisol. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. Vol. 9 (2).
- Temnykh, S., W.D. Park, N. Ayre, S. Cartinhaour, N. Hanck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii, and S.R. McCouch. 2000. Mapping and Genome Organization of Microsatellite Sequences in Rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet*. Vol 100.
- Weishing, K., H. Nybon, K. Wolft. And W. Meyer. 1995. *DNA Finger Printing in Plants and Fungi*. CRC Press. London. p.175-201.
- Widodo, I. 2003. *Penggunaan marka Molekuler pada Seleksi Tanaman*. Makalah Pribadi Tidak Diterbitkan. Program pasca sarjana. Bogor. IPB.