

Artikel Review: Regenerasi Tanaman Pepaya Hasil Transformasi dengan Gen ACC Oksidase Antisense

Alda Viona, Muhammad Ghiffari, Resti Fevria

*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang*

Email: restifevria@fimipa.unp.ac.id

ABSTRAK

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu tanaman yang penting di daerah tropis dan sub tropis. Di Indonesia pepaya sangat populer karena pepaya dapat dipergunakan untuk berbagai keperluan antara lain buahnya dapat dikonsumsi sebagai buah segar, daunnya dapat digunakan sebagai sayuran dan juga mengandung papain dan chymopapain yang dapat dipergunakan dalam pembuatan makanan, obat-obatan dan industri tekstil. Tujuan dari percobaan ini adalah untuk menginduksi pembentukan akar pada biakan pepaya hasil transformasi dengan gen ACC oksidase antisense. Proses transformasi genetik dapat menyebabkan berkurangnya daya regenerasi jaringan sehingga formulasi media yang digunakan sebelum proses transformasi tidak dapat digunakan pada tanaman hasil transformasi. Masalah yang dihadapi pada biakan pepaya hasil transformasi dengan gen ACC oksidase antisense adalah persentase pembentukan akar yang rendah, terbentuknya kalus pada bagian pangkal batang dan adanya penguningan dan perontokan daun. Dengan menggunakan 24 formulasi media diperoleh bahwa penggunaan media dasar MS 1/2 dengan penambahan paclobutrazol 0.5 mg/l dapat menginduksi pembentukan akar sebesar 80%, menghambat pembentukan kalus dan menekan penguningan dan perontokan daun.

Kata kunci : Pepaya (*Carica papaya* L.), Regenerasi, Transformasi

PENDAHULUAN

Pepaya (*Carica papaya* L.) tipe sedang dan kecil sudah sangat digemari oleh masyarakat Indonesia sejak satu dekade silam. Keunggulan pepaya dengan tipe sedang dan kecil diantaranya memiliki ukuran yang hanya setengah dari pepaya biasa sehingga dapat dikonsumsi sekali habis dan didukung dengan rasanya yang manis (Sobir, 2009). Permintaan buah pepaya tipe ini semakin meningkat seiring dengan meningkatnya pendapatan dan kesadaran masyarakat terhadap manfaat pepaya bagi kesehatan tubuh.

Pepaya merupakan buah tropika yang berasal dari Amerika bagian selatan dan telah banyak dibudidayakan di Indonesia. Perbanyakan pepaya umumnya dilakukan dengan cara generatif menggunakan benih karena lebih mudah dibandingkan dengan metode perbanyakan lainnya. Namun demikian, perbanyakan generatif ini menyebabkan terjadinya segregasi sehingga sifat yang diwariskan ke generasi berikutnya menjadi berbeda dengan tetuanya (Al-Shara et al., 2018). Selain itu, pepaya merupakan tanaman trioecious yang memiliki tiga variasi tipe bunga, yaitu jantan, betina, dan hermafrodit. Tipe bunga pepaya

yang ditumbuhkan melalui benih, baru dapat ditentukan setelah berumur 6 bulan (Roy et al., 2012), sehingga peluang didapatkannya tanaman hermafrodit belum dapat diketahui. Oleh karena itu, diperlukan metode perbanyak klonal yang dapat mempertahankan genetik dan tipe bunga pepaya.

Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT) telah melakukan pengembangan varietas tanaman pepaya unggul sejak tahun 2000. Terdapat beberapa kultivar unggul yang telah dihasilkan diantaranya Caliso dan Callina. Pepaya Caliso yang merupakan salah satu kultivar unggulan lokal asal Kalimantan yang masuk dalam kategori ukuran buah kecil (19.5-21.4 cm) dan Callina merupakan varietas unggulan nasional yang termasuk dalam kategori buah ukuran sedang (23-24 cm).

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu tanaman yang penting di daerah tropis dan sub tropis. Di Indonesia pepaya sangat populer karena pepaya dapat dipergunakan untuk berbagai keperluan antara lain buahnya dapat dikonsumsi sebagai buah segar, daunnya dapat digunakan sebagai sayuran dan juga mengandung papain dan chymopapain yang dapat dipergunakan dalam pembuatan makanan, obat-obatan dan industri tekstil.

Regenerasi tanaman merupakan salah satu tahap penting yang menentukan keberhasilan proses transformasi genetik. Menurut Petri dan Burgos (2005) keberhasilan regenerasi tanaman transforman bersifat spesifik genotipe, dimana metoda regenerasi pada satu kultivar akan berbeda dengan kultivar lainnya. Regenerasi tanaman dapat dilakukan melalui dua jalur yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Dalam perbaikan tanaman jalur embriogenesis somatik lebih disukai karena tanaman yang diperoleh berasal dari satu sel sehingga kemungkinan untuk memperoleh tanaman transforman lebih besar.

Regenerasi tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan melalui induksi tunas (organogenesis) atau induksi embrio somatik (embriogenesis somatik). Teknik kultur jaringan yang dapat menginduksi embrio somatik lebih diinginkan karena dapat berasal dari satu sel pada jaringan somatik yang perkembangannya serupa dengan embrio normal. Regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik mudah diregenerasikan menjadi embrio bipolar, yaitu mempunyai dua kutub yang langsung sebagai bakal tunas dan akar.

Faktor yang mempengaruhi regenerasi tanaman secara *in vitro* telah dilaporkan antara lain: spesies tanaman, tekanan osmotik pada medium (konsentrasi sukrosa), intensitas cahaya, dan konsentrasi zat pengatur tumbuh pada medium (Lai et al. 2000, Prahardini dan Sudaryono 1992, Sunyoto et al. 2002). Menurut Ritchie dan Hodges (1993) komposisi media merupakan kondisi yang penting dalam kultur tanaman secara *in vitro*. Komponen media meliputi unsur hara makro, mikro, sumber karbon, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Setiap genotipe tanaman memiliki respon pertumbuhan yang berbeda meskipun ditumbuhkan pada media kultur yang sama, demikian juga dengan sumber eksplan tanaman sehingga diperlukan optimasi kondisi yang sesuai untuk masing-masing genotipe dan sumber eksplan.

Teknik regenerasi pepaya secara *in vitro* dapat dilakukan dengan berbagai sumber eksplan, di antaranya embrio zigotik muda (Fitch et al. 1990), kalus hipokotil (Fitch et al. 1992, 1993) dan kalus petiol (Yang et al. 1996). Dalam penelitian tersebut efisiensi induksi embrio somatik berbeda-beda antara beberapa penelitian. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan variasi umur eksplan dan genotipe yang digunakan. Namun pada umumnya, media yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog 1962), dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) untuk induksi pembentukan kalus, sedangkan untuk regenerasinya diperkaya dengan BAP dan GA3

Regenerasi secara *in vitro* menggunakan jaringan muda (embrionik) sangat mudah untuk menghasilkan kalus. Fitch et al. (1993) melaporkan bahwa faktor-faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan regenerasi kalus antara lain adalah spesies tanaman, asal eksplan, macam dan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Kenaikan konsentrasi sukrosa pada media induksi yang diperkaya 2,4-D 4,5 μM dapat meningkatkan persentase pembentukan kalus embriogenik pepaya Kapoho. Komposisi tersebut mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap spesies pepaya lain serta macam eksplan yang diregenerasikan (Ollitrault et al. 1996).

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah *artikel review*. Dengan artian apa penelitian ini peneliti mengumpulkan sejumlah artikel yang meneliti mengenai Regenerasi Tanaman Pepaya Hasil Transformasi Dengan GEN ACC Oksidase Antisense.

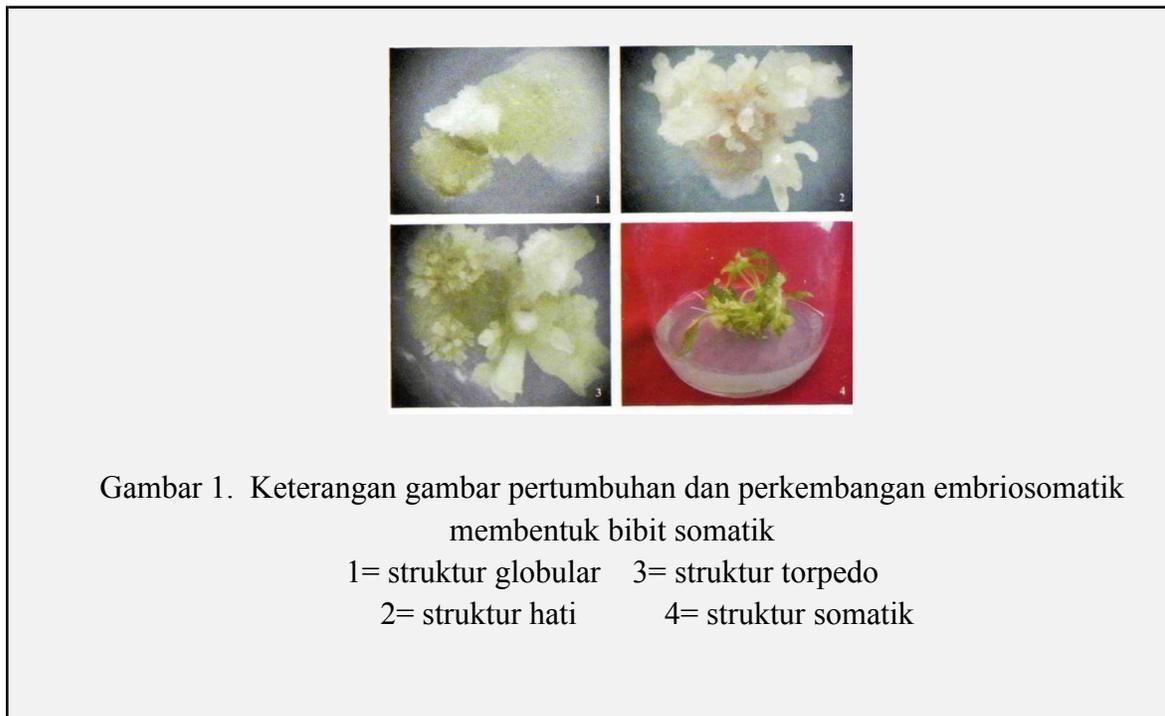
Pencarian artikel dibantu mesin pencari digital yaitu *Google scholar* dan *publish or perish*. Setelah ditemukan sejumlah artikel tahap penyeleksian dilakukan secara manual dengan memperhatikan kriteria sebagaimana arah penelitian yang sedang dikaji, maka penelitian yang relevan dengan topic Regenerasi Tanaman Pepaya Hasil Transformasi dengan gen ACC oksidase antisense. Data tersebut dikumpulkan melalui teknik *literature review* yaitu melalui teknik membaca. Setelah melakukan serangkaian analisis maka peneliti menemukan sebanyak lima artikel yang sesuai dengan topik yang sedang diteliti yang dapat dilihat pada tabel hasil

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian purnamaningsih, dkk dilakukan 3 tahap percobaan pertama bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan media MS dan pengenceran garam makro hingga Vi dari informasi dasar (MS $\frac{1}{2}$) kombinasi dengan penambahan kinetin 0.1 mg/l serta sukrosa pada taraf 2 dan 3%. Kedua untuk mengetahui pengaruh penggunaan media dasar MS dan WPM dikombinasikan dengan IAA dan AgNO₃. Sedangkan percobaan ketiga

bertujuan untuk mengetahui penggunaan media dasar MS dan DKW dengan penambahan IAA serta dikombinasikan dengan paclobutrazol dan arginin.

Kalus embriogenik yang ditransformasi dapat beregenerasi setelah dipindahkan pada media M4C atau P6. Foto 1 memperlihatkan proses pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik membentuk bibit somatik. Namun demikian walaupun dapat membentuk bibit somatik, ternyata tidak semua bibit tersebut dapat membentuk tunas yang normal (Foto 2), sedangkan tunas yang tumbuh normal menghadapi masalah penguningan dan perontokan dan sulit membentuk akar (Foto 3).



Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan regenerasi tanaman adalah ketersediaan sumber karbohidrat. Bagi tanaman yang dibiakkan melalui kultur jaringan karbohidrat berfungsi sebagai sumber karbon yang diperlukan untuk menghasilkan energi, juga sebagai osmotikum. Sukrosa merupakan bentuk gula yang langsung dapat diserap atau dipergunakan oleh sel. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pengenceran garam makro dan penggunaan sukrosa sebagai sumber karbohidrat dapat meningkatkan pembentukan akar. Hasil penelitian Haque et al, (2003) menunjukkan bahwa penggunaan media dasar MS dengan penambahan sukrosa 6% dapat menginduksi pembentukan akar pada tanaman bawang putih. Selanjutnya *Baksha et al* (2003) mempergunakan media MS A + NAA 5 mg/l + sukrosa 50 g/l untuk menginduksi perakaran pada tanaman tebu melalui kultur jaringan. Walaupun hasil-hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa penggunaan sukrosa dapat meningkatkan keberhasilan pembentukan akar, akan tetapi tampaknya hal ini

tidak dapat dipergunakan untuk meningkatkan pembentukan akar pada tanaman pepaya transgenik, dimana peningkatan konsentrasi sukrosa menyebabkan tumbuhnya kalus yang cukup besar pada bagian pangkal batang walaupun konsentrasi garam makro telah dikurangi hingga menjadi 1/10 dari formulasi dasar, selain itu juga terjadi perontokan daun. Terbentuknya kalus ini dapat mengurangi keberhasilan dalam proses aklimatisasi (pemindahan planlet dari dalam botol ke dalam polibag di rumah kaca).

Hasil penelitian Bare dan Mehta (1983) pada tanaman *Commiphora wightii* dan Swamy et al. (1992) pada tanaman *Dalbergia latifolia* menggunakan L- glutamin dengan konsentrasi 100 - 500 mg/l. Sedangkan pada tanaman pulai (*Alstonia scholaris*) penambahan $AgNO_3$ 5 mg/l dan arginin 100 mg/l dapat menekan/mengurangi penguningan dan perontokan daun (Purnamaningsih et al, 1998). Menurut Sommer dan Coldos (1981) untuk menginduksi perakaran lebih baik digunakan kandungan total ion yang rendah. Dengan formulasi tersebut dapat mengurangi tumbuhnya kalus pada bagian pangkal tunas yang dapat menghambat terbentuknya akar. Jumlah akar yang sedikit sering menghambat keberhasilan aklimatisasi. Pengenceran garam makro pada media dasar dikombinasikan dengan IAA diharapkan dapat memacu pembentukan akar sebab pengurangan konsentrasi garam makro terutama ion nitrogen dapat mengurangi biosintesis komponen organik yang berperan dalam menginduksi pertunasan. Hasil yang diperoleh dari percobaan 2 ini berlainan dengan hasil-hasil penelitian diatas. Pemakaian media dasar WPM tidak dapat meningkatkan pembentukan akar, selain itu tunas mempunyai batang yang sangat kurus daun-daun yang kecil. Diduga hal ini disebabkan karena kandungan unsur hara yang rendah sehingga energi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan biakan menjadi terbatas.

Formulasi media MS dengan paclobutrazol 0.5 mg/l dapat menginduksi pembentukan akar tertinggi. Zat penghambat paclobutrazol telah banyak digunakan untuk memacu pembentukan akar berbagai tanaman (Davies et al, 1985). Hasil penelitian Purnamaningsih dan Gati (1997) menunjukkan bahwa penggunaan paclobutrazol 1 mg/l dapat menginduksi pembentukan akar pada tanaman pule pandak. Biakan yang ditanam pada media yang mengandung paclobutrazol umumnya mempunyai tunas dan daun yang lebih hijau, selain itu tunas lebih tegar. Kandungan klorofil yang meningkat karena penggunaan paclobutrazol telah pula dilaporkan oleh Pinhero dan Fletcher (1994). Pengenceran garam makro MS sampai 1/10 dari formulasi dasar pada media yang mengandung paclobutrazol dapat membentuk akar hampir 3 kali lebih banyak dibandingkan media MS penuh + paclobutrazol 0,5 mg/l.

PENUTUP

Proses transformasi genetik dapat menyebabkan berkurangnya daya regenerasi jaringan sehingga formulasi media yang digunakan sebelum proses transformasi tidak dapat digunakan pada tanaman hasil transformasi. Masalah yang dihadapi pada biakan pepaya

hasil transformasi dengan gen ACC oksidase antisense adalah persentase pembentukan akar yang rendah, terbentuknya kalus pada bagian pangkal batang dan adanya penguningan dan perontokan daun. Dengan menggunakan 24 formulasi media diperoleh bahwa penggunaan media dasar MS 1/2 dengan penambahan paclobutrazol 0.5 mg/l dapat menginduksi pembentukan akar sebesar 80%, menghambat pembentukan kalus dan menekan penguningan dan perontokan daun.

REFERENSI

- Baksha R, Alam R, Karim MZ, Mannan Sk A, Podder BP and Rahman ABMM. 2003. Effect of auxin, sucrose and pH level on in vitro rooting of callus induced microshoots of sugarcane (*Saccharum officinale*). *Journal of Biological Sciences* 3(10), 915-920.
- Damyanti D, Sudarsono, Ika M, M Herman. 2007. Regenerasi Pepaya melalui Kultur In Vitro. *Jurnal AgroBiogen* 3(2); 49-54.
- Davies TD, Sankhala N, Walser RH and Upadhyaya A. 1985. Promotion of adventitious root formation on cuttings by paclobutrazol. *Hort. Sci.* 20 (5) , 883-884.
- Fajri R, Darda E, Diny D. 2021. Sterilisasi dan Pertumbuhan In Vitro Tunas Aksilar Pepaya Kultivasi Callina dan Caliso. *J. Agron. Indonesia.* 49(1); 75-81.
- Haque MS, Tomikichi W and Hattori K. 2003. Effect of sucrose, mannitol and KH₂PO₄ on proliferation of root tip derived shoots and subsequent bulblet formation in garlic. *Asian Journal of Plant Science* 2(12), 903-908.
- Hutami S, Mariska I, Purnamaningsih R, Herman M, Damayanti D and Utami TIR. 2002. Regeneration of papaya (*Carica papaya* L.) d
- Pauziah M, Ravindranthan P, Kwok CY, Bakar UA, Pillai V, Fatt LP, and Daud HM. 2003. Contained field, evaluation of delayed ripening transgenic eksotika papaya. Coordination meeting of Papaya Biotechnology Network of SEAsia. Bangkok, 15-16 Desember.
- Petri C and Burgos L. 2005. Advances and future perspectives in fruit tree transformation. *BwRos(a),cebas. csis. es.*
- Pinhero RG, and Fletcher RA. 1994. Paclobutrazol and ancimidol protect corn seedling from high and low temperature stress. *Plant Growth Reg.* 15, 47-53.
- Purnamaningsih R, Mariska I, Gati EL, dan Rahayu S. 1998. Penekanan masalah penguningan pada daun pulai. *Plasma Nutfah* III (1), 1-7. Komisi Nasional Plasma Nutfah. Departemen Pertanian.
- Purnamaningsih R. dan Gati EL. 1997. Penyimpanan dan regenerasi pule pandak melalui kultur in vitro. *Prosiding Seminar Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia.* Surabaya, 12-14 Maret, 252-160. Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia.

Sutanto A, M. A. Aziz. 2006. Induksi dan Regenerasi Embriogenesis Somatik Pepaya. J. Hort. Vol. 16. No. 2.

through somatic embriogenesis. Proceeding of 2nd Indonesian Biotechnology Conference, Yogyakarta, 23 - 26 Oktober 2001, 622-629.

Wardani FF, Darda E, Diny D, Joko RW. 2019. Perbanyak Pepaya (*Carica papaya* L.) 'Sukma' In Vitro dari Eksplan Tunas Pucuk sebagai Respon terhadap BA dan NAA. J. Agron. Indonesia 47(2) ; 203-209.