

TEKNIK PERSILANGAN BUATAN

**Dr. Ir. Rahmi Yuniarti, MS¹⁾, Prof. Dr. Ir. Sriani Sujiprihati, MS²⁾,
Dr. Ir. Muhamad Syukur, MS³⁾**

¹⁾ Lektor Kepala Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian UNRI
rahmi_djamalan@yahoo.com

²⁾ Guru Besar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB

³⁾ Lektor Kepala Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB

PENDAHULUAN

Hibridisasi (persilangan) adalah penyerbukan silang antara tetua yang berbeda susunan genetiknya. Pada tanaman menyerbuk sendiri hibridisasi merupakan langkah awal pada program pemuliaan setelah dilakukan pemilihan tetua. Umumnya program pemuliaan tanaman menyerbuk sendiri dimulai dengan menyilangkan dua tetua homozigot yang berbeda genotipenya. Pada tanaman menyerbuk silang, hibridisasi biasanya digunakan untuk menguji potensi tetua atau pengujian ketegaran hibrida dalam rangka pembentukan varietas hibrida. Selain itu, hibridisasi juga dimaksudkan untuk memperluas keragaman.

Tujuan utama melakukan persilangan adalah (1) Menggabungkan semua sifat baik ke dalam satu genotipe baru; (2) Memperluas keragaman genetik; (3). Memanfaatkan vigor hibrida; atau (4) Menguji potensi tetua (uji turunan). Dari keempat tujuan utama ini dapat disimpulkan bahwa hibridisasi memiliki peranan penting dalam pemuliaan tanaman, terutama dalam hal memperluas keragaman. Seleksi akan efektif apabila populasi yang diseleksi mempunyai keragaman genetik yang luas.

JENIS-JENIS PERSILANGAN

Berdasarkan pengelompokan tanaman yang digunakan dalam persilangan, hibridisasi dibedakan menjadi:

1. Hibridisasi intravarietas, yaitu persilangan yang dilakukan antara tanaman yang varietasnya sama.
2. Hibridisasi intervarietas, yaitu persilangan yang dilakukan antara tanaman yang varietasnya berbeda dalam spesies yang sama. Hibridisasi ini disebut juga hibridisasi intraspesifik.
3. Hibridisasi interspesifik, yaitu persilangan antara tanaman dari dua spesies yang berbeda, dalam genus. Hibridisasi ini disebut juga hibridisasi intragenerik. Jenis persilangan ini telah dilakukan untuk memindahkan gen ketahanan terhadap hama dan penyakit, atau toleransi terhadap kekeringan pada varietas tanaman gandum, tomat, tebu, dan lain-lain.

4. Hibridisasi intergenerik, yaitu persilangan yang dilakukan antar tanaman dari genus yang berbeda. Beberapa contoh tanaman hasil persilangan ini adalah *Raphanobrassica*, *Rabbage*, *Maize-teosinte*, *sugarcane-sorghum*, dan lain-lain. Hibridisasi ini juga biasa digunakan untuk memindahkan sifat ketahanan penyakit, hama dan kekeringan dari genus tanaman liar ke tanaman budi daya.

Hibridisasi intravarietas dan intervarietas relatif mudah dilakukan karena kedua tetua mempunyai genom yang sama sehingga tidak muncul banyak hambatan (*barier*). Hibridisasi ini (terutama hibridisasi intervarietas) adalah jenis hibridisasi yang umum dilakukan dalam program pemuliaan tanaman. Hibridisasi interspesifik dan intergenerik disebut juga persilangan kerabat jauh. Keberhasilan persilangan kerabat jauh sangat tergantung pada dekat tidaknya hubungan spesies yang disilangkan. Secara umum semakin jauh hubungan kekerabatan antara kedua tanaman yang digunakan dalam persilangan, akan semakin kecil peluang untuk mendapatkan tanaman F1 yang normal.

Dalam pelaksanaannya, persilangan kerabat jauh tidak mudah dilakukan karena adanya kendala alami seperti benih hibrid yang lemah dan tidak mampu bertahan hidup, serta tanaman F1 yang diperoleh menjadi steril. Sejauh ini penghalang yang dijumpai dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu (1) hambatan sebelum terjadinya pembuahan (*pre-fertilization barrier*), berupa kegagalan dalam perkecambahan serbuk sari atau lambatnya pertumbuhan tabung serbuk sari, dan (2) hambatan sesudah terjadinya pembuahan (*post-fertilization barrier*), antara lain aborsi embrio saat masih muda dan terjadinya eliminasi kromosom. Kegagalan perkembangan embrio menjadi biji dewasa merupakan fenomena paling umum dijumpai pada persilangan kerabat jauh. Ketidakmampuan untuk tumbuh yang terjadi pada persilangan kerabat jauh disebabkan oleh (1) adanya mekanisme yang bisa mempengaruhi perkembangan zigot sejak pembelahan sel pertama hingga pembuahan bahkan hingga diferensiasi akhir organ reproduktif dan pembentukan gamet, (2) adanya aksi gen spesifik, tidak ada keserasian antara inti dan sitoplasma atau antara embrio dan endosperm dari spesies yang digunakan dalam persilangan.

Berbagai penghalang tersebut menyebabkan rendahnya tingkat keberhasilan dalam persilangan kerabat jauh. Keberhasilan persilangan (*crossability*) pada beberapa kombinasi persilangan dibatasi oleh kemampuan dalam pembentukan biji (*seed set*), yang tergantung pada genom kedua tetua. Perbedaan genom tetua menyebabkan hambatan dalam pembuahan maupun setelah pembuahan.

Beberapa prinsip dianjurkan untuk dipahami, agar pemilihan spesies kerabat liarnya efisien. Dalam pemilihan kerabat liar sebagai tetua dalam persilangan kerabat jauh, kriteria yang relevan untuk digunakan, antara lain :

1. Derajat kekerabatannya: biasanya spesies yang sangat dekat kekerabatannya dengan tanaman budidaya lebih diutamakan karena jaminan keberhasilan persilangan, transfer gen dapat berlangsung secara normal. Kekerabatan yang jauh hanya direkomendasikan bila memang gen yang dituju hanya ada

pada sumber tersebut. Persilangan kerabat sangat jauh biasanya menghadapi masalah barrier persilangan.

2. Tingkat ploidi: untuk transfer gen interspesifik maka tingkat ploidi yang paling efisien adalah tingkat diploid, karena pada tingkat poliploidi sifat-sifat yang tidak dikehendaki akan hilang dari populasi dengan proses yang lambat.
3. Tingkatan, stabilitas dan pewarisan sifat-sifat yang dituju: para pemulia menghendaki agar sifat yang dituju memiliki tingkatan yang tinggi, stabilitas yang besar dan pewarisannya sederhana. Sifat resistensi terhadap hama atau penyakit dengan pewarisan sifat yang sederhana dan tingkat resistensi tinggi biasanya terkait dengan instabilitas dari resistensi tersebut sedangkan resistensi yang mantap sulit ditangani karena genetiknya adalah poligenik.

FAKTOR PENTING DALAM PERSILANGAN

Untuk meningkatkan keberhasilan hibridisasi buatan, hal-hal penting yang diperhatikan adalah (1) pemilihan tetua dalam hubungannya dengan tujuan dilakukannya persilangan, (2) pengetahuan tentang morfologi dan metode reproduksi tanaman, (3) waktu tanaman bunga (waktu bunga mekar/tanaman berbunga), dan (4) keadaan cuaca saat penyerbukan.

Pemilihan Tetua

Ada lima kelompok sumber plasma nutfah yang dapat dijadikan tetua persilangan yaitu: (a) varietas komersial, (b) galur-galur elit pemuliaan, (c) galur-galur pemuliaan dengan satu atau beberapa sifat superior, (d) spesies introduksi tanaman dan (e) spesies liar. Peluang menghasilkan varietas unggul yang dituju akan menjadi besar bila tetua yang digunakan merupakan varietas-varietas komersial yang unggul yang sedang beredar, galur-galur murni tetua hibrida, dan tetua-tetua varietas sintetik. Varietas-varietas tersebut merupakan sumber plasma nutfah yang paling baik bagi sifat-sifat penting tanaman, dan pada umumnya para pemulia menggunakan sumber ini sebagai bahan tetua dalam programnya. Sudah barang tentu tetua-tetua yang digunakan memiliki latar belakang genetik yang jauh berbeda, bila tidak demikian maka peluang untuk memperoleh keragaman genetik sifat yang dituju pada populasi turunannya akan menjadi kecil.

Para pemulia pada proses seleksi lanjut akan memiliki galur-galur elit yang membawa sifat-sifat unggul. Galur-galur tersebut pada tahapan siap untuk dilepas sebagai varietas. Identifikasi sifat-sifat unggul pada galur-galur elit oleh para pemulia akan sangat bermanfaat bagi para pemulia sendiri. Penggunaan galur-galur elit tersebut sebagai tetua akan meningkatkan secara potensial kemajuan genetik per tahun. Pada umumnya galur-galur elit pemulia sangat terbatas untuk dapat dipertukarkan dan tergantung kepada kebijakan pemulia ataupun kepada kebijakan kelembagaan di mana pemulia bekerja.

Introduksi spesies-spesies yang ditanam juga merupakan sumber materi tetua yang sangat baik. Banyak pemulia menggunakan sumber materi tetua ini dalam program pemuliaannya. Spesies introduksi digunakan sebagai materi tetua karena memiliki sifat baik yang dituju, sekalipun memiliki sifat lainnya yang tidak baik.

Sering dialami seorang pemulia gen atau gen-gen pengendali sifat yang dituju tidak dapat dijumpai, baik pada tanaman koleksi sendiri, koleksi nasional, maupun koleksi spesies tanaman dunia pada. Dalam keadaan semacam itu para pemulia dapat mempertimbangkan kerabat-kerabat liar tanaman budidaya, yang tumbuh liar di berbagai pusat-pusat penyebaran di dunia, sebagai sumber gen. Ekspedisi untuk mencarinya perlu dilakukan. Pada umumnya spesies liar tersebut akan banyak memiliki sifat-sifat yang tidak disukai manusia, tetapi mungkin membawa gen-gen yang dituju, misalnya gen ketahanan terhadap hama/penyakit, ketahanan terhadap lingkungan cekaman berat dan lain-lain. Penggunaan spesies liar sebagai salah satu tetua dalam program pemuliaan memerlukan pengetahuan dan teknologi hibridisasi interspesifik dan pengetahuan wilayah-wilayah sumber keanekaragaman plasma nutfah.

Pengetahuan tentang Organ Reproduksi dan Tipe Penyerbukan

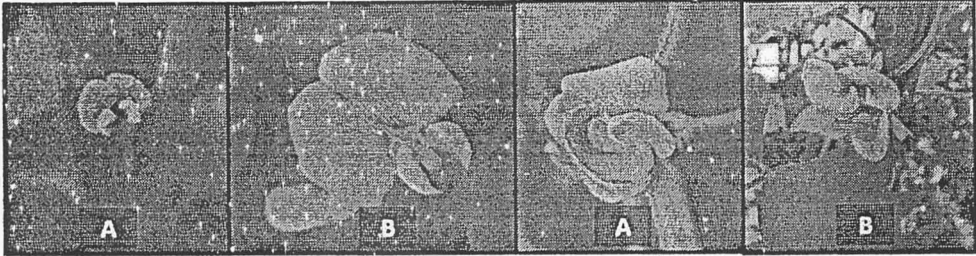
Untuk dapat melakukan penyerbukan silang secara buatan, hal yang paling mendasar dan yang paling penting diketahui adalah organ reproduksi dan tipe penyerbukan. Dengan mengetahui organ reproduksi, kita dapat menduga tipe penyerbukannya, apakah tanaman tersebut menyerbuk silang atau menyerbuk sendiri. Karakteristik berikut dapat dijadikan acuan untuk menduga tipe penyerbukan tanaman:

1. Tanaman menyerbuk sendiri dicirikan oleh struktur bunga sebagai berikut:
 - a. bunga tidak membuka
 - b. waktu antesis dan reseptif bersamaan atau berdekatan
 - c. butir polen luruh sebelum bunga mekar
 - d. stamen dan pistil ditutupi oleh bagian bunga walaupun bunga telah mekar
 - e. pistil memanjang segera setelah polen masak
2. Tanaman Menyerbuk silang dicirikan oleh struktur bunga sebagai berikut :
 - a. secara morfologi, bunganya mempunyai struktur tertentu
 - b. waktu antesis dan reseptif berbeda
 - c. inkompatibilitas atau ketidaksesuaian alat kelamin
 - d. adanya bunga monoecious dan dioecious

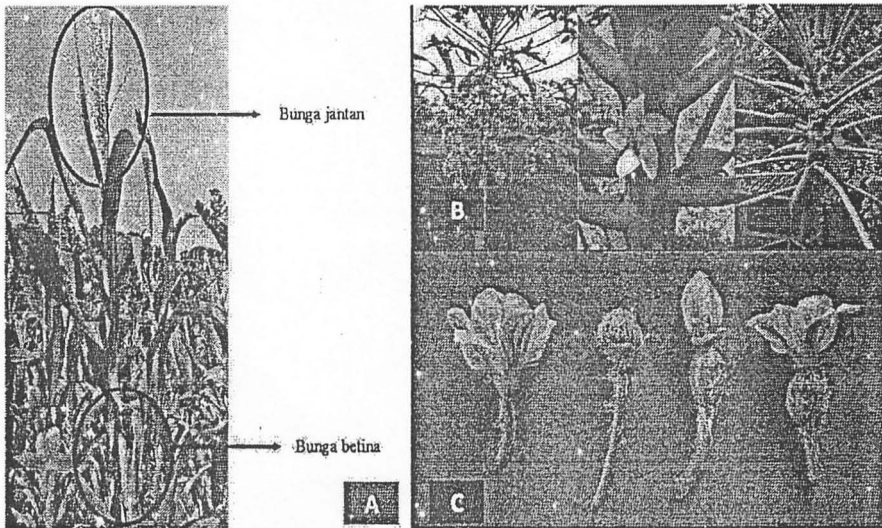
Waktu Tanaman Berbunga

Dalam melakukan persilangan harus diperhatikan: (1) penyesuaian waktu berbunga. Waktu tanam tetua jantan dan betina harus diperhatikan supaya saat anthesis dan reseptif waktunya bersamaan, (2) waktu emaskulasi dan penyerbukan. Pada tetua betina waktu emaskulasi harus diperhatikan, seperti pada bunga kacang tanah, padi harus pagi hari, bila melalui waktu tersebut polen telah jatuh ke stigma. Juga waktu penyerbukan harus tepat ketika stigma reseptif. Jika antara waktu antesis bunga jantan dan waktu reseptif bunga betina tidak

bersamaan, maka perlu dilakukan sinkronisasi. Caranya dengan membedakan waktu penanaman antara kedua tetua, sehingga nantinya kedua tetua akan siap dalam waktu yang bersamaan. Untuk tujuan sinkronisasi ini diperlukan informasi tentang umur tanaman berbunga.



Gambar 1. Stamen dan pistil bunga tertutupi oleh struktur bunga pada tanaman menyerbuk sendiri. (A) kedelai, (B) kacang tanah, (C) kacang hijau, (D) kacang panjang. (Sumber: Syukur et al. (2009))



Gambar 2. Bunga monoecious dan dioecious pada tanaman menyerbuk silang. (A) Jagung, (B) Pepaya, (C) Semangka

Cuaca Saat Penyerbukan

Cuaca sangat besar peranannya dalam menentukan keberhasilan persilangan buatan. Kondisi panas dengan suhu tinggi dan kelembaban udara terlalu rendah menyebabkan bunga rontok. Demikian pula jika ada angin kencang dan hujan yang terlalu lebat.

TEKNIK HIBRIDISASI BUATAN

Pada garis besarnya persilangan mencakup kegiatan (1) persiapan, (2) kastrasi, (3) emaskulasi, (4) Isolasi, (5) pengumpulan serbuk sari, (6) penyerbukan dan (7) pelabelan.

Persiapan

Sebagai persiapan untuk melakukan kastrasi dan penyerbukan silang perlu disediakan alat-alat antara lain : pisau kecil yang tajam, gunting kecil, pinset dengan ujung yang runcing, jarum yang panjang dan lurus, alkohol (75-85%) atau spiritus dalam botol kecil untuk mensterilkan alat-alat tersebut, wadah untuk tempat benang sari, sikat kecil untuk mengeluarkan serbuk sari dari benang sari, kuas untuk meletakkan serbuk sari di atas kepala putik dan kaca pembesar untuk memeriksa kebersihan kepala putik.

Untuk membungkus bunga sebelum dan sesudah dilakukan penyerbukan dapat dipakai kantong dari kain, kelambu, kantong plastik yang telah diberi lubang-lubang kecil untuk pernafasan (peredaran udara) atau isolatif, sesuai dengan ukuran bunga.

Selain itu perlu disediakan label dari kertas yang tebal dan kedap air. Label-label tersebut diberi nomor urut menggunakan pensil atau bolpoint yang tintanya tidak luntur karena air. Untuk keperluan penyerbukan silang antara jenis-jenis tertentu sebaiknya kertas label mempunyai warna tertentu, misalnya untuk persilangan A X B warna labelnya merah, untuk A X C warna labelnya putih, untuk D X B warnanya hijau dan seterusnya dengan warna lain.

Kastrasi

Kastrasi adalah kegiatan membersihkan bagian tanaman yang ada di sekitar bunga yang akan diemaskulasi dari kotoran, serangga, kuncup-kuncup bunga yang tidak dipakai serta organ tanaman lain yang mengganggu kegiatan persilangan. Membuang mahkota dan kelopak juga termasuk kegiatan kastrasi. Kastrasi umumnya menggunakan gunting, pisau atau pinset.

Emaskulasi

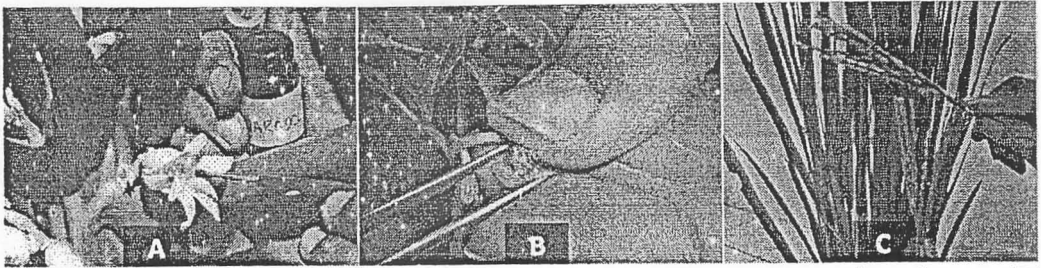
Emaskulasi adalah kegiatan membuang alat kelamin jantan (stamen) pada tetua betina, sebelum bunga mekar atau sebelum terjadi penyerbukan sendiri. Emaskulasi terutama dilakukan pada tanaman berumah satu yang hermaphrodit dan fertil. Cara emaskulasi tergantung pada morfologi bunganya. Beberapa metode emaskulasi yang umum digunakan adalah :

1. Metode Kliping atau Pinset

Pada umumnya kuncup bunga dibuka dengan pinset atau dipotong dengan gunting, kemudian anter atau stamen dibuang dengan pinset. Cara ini mudah dilakukan pada tanaman yang bunganya relatif besar, misalnya cabai, kedelai, tomat dan tembakau. Cara emaskulasi ini praktis, murah dan mudah dilakukan, namun kemungkinan rusaknya putik dan pecahnya anter sangat besar, sehingga terjadinya penyerbukan sendiri sangat besar.

Adapun cara melakukan emaskulasi menggunakan metode ini adalah sebagai berikut :

- a. Setelah dipilih bunga yang akan digunakan sebagai betina, bagian ujung kuncup bunga dipotong dengan pisau silet atau gunting, sehingga kepala putiknya kelihatan jelas dari atas. Pekerjaan ini harus dilakukan dengan hati-hati jangan sampai putiknya turut terpotong atau rusak.



Gambar 5. Berbagai cara penyerbukan buatan. (A) menggunakan kuas, (B) menggunakan pinset, (C) mengguncangkan bunga jantan di atas bunga betina. (Sumber: Yuniarti (2007), Syukur et al (2009))

PENDETEKSIAN KEBERHASILAN PERSILANGAN BUATAN

Keberhasilan suatu persilangan buatan dapat dilihat kira-kira satu minggu setelah dilakukan penyerbukan (Gambar 6). Jika calon buah mulai membesar dan tidak rontok maka kemungkinan telah terjadi pembuahan. Sebaliknya, jika calon buah tidak membesar atau rontok maka kemungkinan telah terjadi kegagalan pembuahan. Keberhasilan penyerbukan buatan yang kemudian diikuti oleh pembuahan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah kompatibilitas tetua, ketepatan waktu reseptif betina dan antesis jantan, kesuburan tanaman serta faktor lingkungan. Kompatibilitas tetua terkait dengan gen-gen yang terkandung pada tetua jantan dan betina. Waktu reseptif betina dan antesis jantan dapat dilihat ciri morfologi bunga. Bunga yang terbaik adalah bunga yang akan mekar pada hari tersebut. Sementara itu, faktor lingkungan yang berpengaruh pada keberhasilan persilangan buatan adalah curah hujan, cahaya mahatari, kelembaban dan suhu. Curah hujan dan suhu tinggi akan menyebabkan rendahnya keberhasilan persilangan buatan.

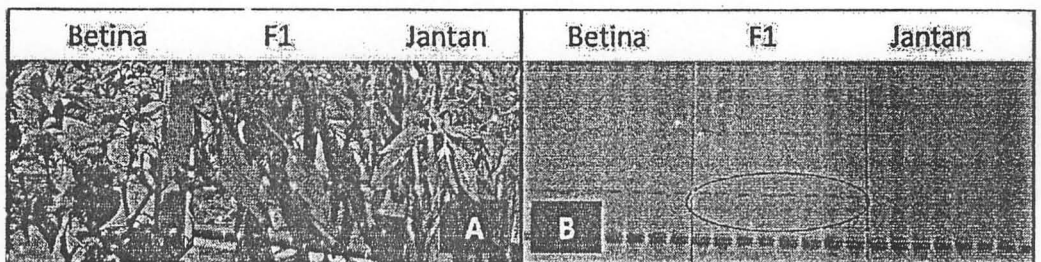
Pada persilangan buatan tanaman hermaphrodit atau juga tanaman lainnya, biji yang dihasilkan belum tentu merupakan hasil persilangan buatan. Bisa jadi biji tersebut merupakan hasil selfing (untuk bunga hermaphrodit) atau hasil persilangan tanaman lain (karena proses isolasi yang tidak sempurna). Hal tersebut dapat dideteksi dengan bantuan penanda, baik berupa penanda morfologi maupun penanda molekuler. Sifat kualitatif tanaman dapat digunakan sebagai penanda

Sebagai contoh buah muda cabai ada yang berwarna hijau tua, hijau muda, kuning atau ungu. Buah muda cabai dapat digunakan sebagai penanda morfologi. Jika cabai dengan buah berwarna hijau tua disilangkan dengan cabai dengan buah berwarna ungu maka akan menghasilkan F1 dengan buah berwarna ungu (Gambar 7a). Jika buah F1 yang dihasilkan tidak berwarna ungu maka kemungkinan terjadi selfing atau penyerbukan dari serbuk sari cabai lain. Hal yang sama dapat digunakan untuk penanda molekuler. Gambar 7b. memperlihatkan bahwa dengan menggunakan penanda molekuler, cabai F1 merupakan hasil persilangan antara tetua betina dengan tetua jantan. morfologi.

Pada biji tanaman yang ada pengaruh metaxenia seperti jagung, keberhasilan persilangan buatan sudah dapat dideteksi tanpa menanam F1. Jagung yang seharusnya mempunyai warna biji putih jika diserbuki dengan serbuk sari jagung dengan warna biji kuning akan berwarna kuning. Contoh lain adalah jagung manis jika diserbuki oleh jagung tidak manis akan menghasilkan biji-biji yang tidak manis.



Gambar 6. Persilangan buatan yang berhasil. (A) Buah cabai 1 minggu setelah penyerbukan, (B) Buah semangka 5 hari setelah penyerbukan (Sumber: Syukur et al (2009)).



Gambar 7. Identifikasi keberhasilan persilangan. (A) menggunakan penanda morfologi, (B) menggunakan penanda molekuler. (Sumber: Sujiprihati et al (2008), Syukur et al (2009))

DAFTAR PUSTAKA

- Sujiprihati, S., M. Syukur, dan R. Yuniarti. 2008. Pemuliaan tanaman. Bagian Genetika dan Pemuliaan Tanaman. Departemen Agronomi dan Hotikultura IPB. Bogor. 356 hal.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, dan R. Yuniarti. 2009. Teknik pemuliaan tanaman. Bagian Genetika dan Pemuliaan Tanaman. Departemen Agronomi dan Hotikultura IPB. Bogor. 284 hal.

Yunianti, R. 2007. Analisis Genetik Pewarisan Sifat Ketahanan Cabai (*Capsicum annum* L.) terhadap *Phytophthora capsici* Leonian. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, IPB. Bogor. 125 hal.