

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) termasuk famili Fabaceae dengan genus *Glycine*. Indonesia merupakan negara ketiga terbesar dari sudut areal tanaman kedelai yaitu 1,4 juta ha setelah China (8 juta ha) dan India (4,5 juta ha). Dari sisi produksi kedelai, Indonesia menduduki peringkat keenam terbesar di dunia setelah AS, Brazil, Argentina, China dan India (Agribisnis Online, 2001). Berdasarkan data Departemen Pertanian bahwa produksi kedelai pada tahun 2006 sebanyak 747.611 ton, tahun 2007 terjadi penurunan 608.363 ton dan pada tahun 2008 pemerintah menargetkan produksi kedelai naik minimal 20% dari produksi tahun 2007 (Hirawan, 2008).

Namun usaha peningkatan produksi kedelai di Indonesia terkendala oleh adanya serangan hama penggerek polong (*Etiella zinckenella*, Tr.). Hama penggerek polong atau *Etiella zinckenella* (Treitschake) adalah hama penting pada kedelai. Kehilangan produksi dapat mencapai hingga 80%, dan biji kedelai yang berasal dari polong yang terserang mutunya menurun atau bahkan tidak laku dijual. Menurut Priyatiningasih (2008) bahwa larva instar yang baru keluar dari telur langsung menggerek masuk ke dalam polong sehingga mengakibatkan penurunan hasil dan mutu biji.

Berbagai upaya telah dilakukan untuk penanganan masalah serangan hama penggerek polong namun masih sulit dikendalikan. Rata-rata luas areal serangan mencapai 11 ha setiap tahun dengan kehilangan hasil berlisar 20-40% bahkan sampai 90% bila tidak dilakukan pengendalian. Cara-cara penanggulangan hama penggerek polong selama ini dilakukan oleh petani adalah pergiliran tanaman, tanaman serentak dan pengendalian dengan insektisida. Pengendalian dengan insektisida sulit dilakukan karena perilaku instar pertama yang baru keluar dari telur segera menggerek masuk ke dalam polong dan tinggal di dalam polong (Pardal *et al*, 2004; Priyatiningasih *et al*, 2008).

Pengendalian secara kimia yang selama ini dilakukan belum memberikan hasil yang memuaskan dan tidak ramah lingkungan akibat residu yang ditimbulkannya. Penggunaan varietas kedelai yang tahan hama penggerek polong merupakan sebuah alternatif pengendalian hama yang lebih murah, aman dan efektif terhadap lingkungan, namun masih menghadapi kendala dengan belum ditemukannya sumber gen ketahanan (Nurdin *et al*, 1984 *cit* Pardal *et al.*, 2004).

Hingga saat ini belum ada cara pengendalian yang efektif dan efisien terhadap pengendalian hama penggerek polong. Alternatif pengendalian yang potensial adalah penggunaan varietas kedelai yang tahan hama penggerek polong. Namun perakitan varietas kedelai tahan melalui persilangan konvensional menghadapi kendala karena belum ditemukannya varietas kedelai yang benar-benar tahan terhadap hama penggerek polong untuk digunakan sebagai sumber gen ketahanan (Pardal *et al.*, 2004). Rekayasa genetik dengan mengekspresikan gen ketahanan hama *Bt* sedang diupayakan (Chaidamsari, 2005), namun adanya penolakan terhadap produk pangan transgenik karena menggunakan gen dari bakteri, telah melemahkan upaya rekayasa genetik tersebut. Meskipun gen *Bt* maupun protein yang disandinya aman dikonsumsi manusia (Schnepf *et al.*, 1998; de Maagd *et al.*, 2001).

Untuk mencari alternatif baru pada tanaman kedelai hasil transgenik yang dapat diterima masyarakat maka perlu memanfaatkan potensi gen ketahanan yang terdapat pada tanaman lain seperti gen ketahanan pada kakao. Peluang pemanfaatan gen ketahanan tersebut sangat memungkinkan seperti proteinase inhibitor (*PIN*) yang memiliki peranan penting dalam sistem pertahanan tanaman terhadap predator dan patogen (Lawrence & Koundal, 2002). *PIN* diharapkan dapat membantu upaya perakitan maupun seleksi varietas kedelai di Indonesia.

Untuk mencari alternatif baru pada tanaman kedelai maka perlu memanfaatkan potensi gen ketahanan yang terdapat pada tanaman lain seperti proteinase inhibitor (*PIN*) pada tanaman kakao yang memiliki peranan penting dalam sistem pertahanan tanaman terhadap predator dan patogen. Proteinase Inhibitor merupakan protein yang berhubungan dengan ketahanan tanaman terhadap hama terutama serangga-serangga yang mengunyah. Biasanya terdapat di biji pada buah. Gen penyandi protein ini akan terinduksi akibat adanya perlukaan yang disebabkan oleh lingkungan luar (Koiwa *et al.*, 1997). Gen *proteinase inhibitor* selain sebagai sistem proteksi alami bagi tanaman juga mempunyai fungsi sebagai regulasi endogen proteinase dan sebagai protein penyimpanan

Gen *proteinase inhibitor* (*PIN*) merupakan gen yang dapat menghasilkan senyawa antinutrisi yang dapat menghambat kerja enzim proteolitik (proteinase) di dalam perut serangga (Ryan, 1990). Protein penghambat akan mengganggu sistem pencernaan makanan serangga sehingga serangga yang memakan tanaman yang mengekspresikan

gen ini akan mengganggu sistem pencernaan, terhambat pertumbuhan dan akhirnya mati akibat tingkat penghambatan yang tinggi. Proteinase inhibitor pada kakao merupakan golongan *serine proteinase inhibitor* (tripsin dan kimotripsin inhibitor) dan telah menunjukkan keefektifannya menghambat perkembangan larva beberapa jenis *Lepidoptera*. Keberhasilan penggunaan gen proteinase inhibitor dalam transformasi antara lain pada padi (Xu *et al.*, 1996), ubi jalar (Newell *et al.*, 1995), dan tembakau (Jhonson *et al.*, 1990). Gen *TcPIN* diduga dapat menghambat pertumbuhan hama penggerek polong yang berasal dari buah kakao karena gen *TcPIN* menyandi protein inhibitor berukuran 21 kDa dengan homologi yang cocok dengan inhibitor tripsin pada kedelai (kumitz) dari proteinase inhibitor (Tai *et al.*, 1991). Apabila gen ini berhasil ditransfer ke dalam kromosom tanaman dan mampu diekspresikan dengan baik, maka serangga yang memakan tanaman tersebut akan terganggu sistem pencernaannya, terhambat pertumbuhan dan akhirnya mati.

Sebelum gen target ditransfer ke tanaman, molekul DNA rekombinan terlebih dahulu dikonstruksi, melalui tahapan pengklonan gen. Tahap ini mencakup ligasi, transformasi, dan PCR koloni. Vektor kloning merupakan molekul DNA yang dapat bereplikasi secara mandiri dan dapat digunakan sebagai pembawa molekul materi genetik lain yang tidak mempunyai kemampuan untuk bereplikasi sendiri di dalam sel. Vektor kloning (plasmid) umumnya membawa satu atau sejumlah gen yang dapat berupa gen pembawa sifat resisten terhadap antibiotika, penyandi enzim restriksi, atau penyandi enzim yang terlibat dalam pembentukan toksin atau antibiotika. Sebagian besar percobaan pengklonan menggunakan bakteri *Escherichia coli* sebagai inang sehingga vektor yang tersedia untuk bakteri ini jumlah dan ragamnya paling tinggi serta dapat digunakan untuk mengekspresikan gen asing dalam rangka memproduksi protein tertentu yang bernilai komersial dalam skala besar (Artika, 2008). Setelah tahapan kloning selesai, maka plasmid diisolasi dan dimurnikan. Pemurnian plasmid dilakukan supaya didapatkan plasmid DNA yang membawa gen target dalam keadaan murni terbebas dari kontaminan

DNA vektor adalah molekul DNA yang dapat bereplikasi secara mandiri dan dapat digunakan sebagai pembawa molekul DNA lain yang tidak memiliki kemampuan bereplikasi sendiri di dalam sel. DNA yang sering digunakan adalah plasmid bakteri.

