

KARAKTERISASI MUTAN KENTANG HITAM (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) HASIL IRADIASI SINAR GAMMA YANG TOLERAN SALINITAS DAN KEKERINGAN DENGAN MENGGUNAKAN MARKA RAPD DAN ISSR

CHARACTERIZATION OF HAUSA POTATO (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) MUTANTS AS RESULT OF GAMMA-RAY IRRADIATION DROUGHT AND SALINITY TOLERANT USING RAPD AND ISSR MARKERS

Diyah Martanti, Yuyu S Poerba, Kusumadewi Sri Yulita, dan Herlina

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center, Jln. Raya Bogor, Km 46. Cibinong, Kab. Bogor
Pos-el: dee_tanti@yahoo.com

ABSTRACT

*Hausa potato (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) is one of the alternative food for people living in some part of Indonesia. However, its low level of genetic variations has become an obstacle in developing new variety. Plant breeding through mutation, e.g. irradiation of γ rays, can be assumed to improve genetic diversity. The aim of this study was to characterize tuber hausa potato mutant irradiated γ rays in salinity and drought tolerant using ISSR and RAPD markers. Five primers of ISSR and five primers of RAPD were used to amplify DNA of hausa potato mutants. Ten primers generated 95% polymorphic and 27 specific band of irradiated salt-tolerant mutants. Meanwhile, they generated 49% polymorphic and three specific band of irradiated drought-tolerant mutants. The result of the Principal Component Analysis showed that mutants were divided into three groups based on specific bands that play role in the group formation. The result showed that the ISSR and RAPD markers can be reliable to characterize mutants on hausa potatoes.*

Keywords: *Hausa potatoes (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.), Characterizing mutan, ISSR, RAPD, Salinity tolerant, Drought tolerant*

ABSTRAK

Kentang hitam (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) merupakan sumber pangan tambahan bagi sebagian masyarakat Indonesia. Akan tetapi rendahnya keragaman genetik kentang hitam menjadi kendala dalam perakitan varietas unggul. Pemuliaan tanaman dengan cara mutasi antara lain dengan iradiasi sinar γ diharapkan dapat meningkatkan keragaman genetik kentang hitam. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan karakterisasi mutan kentang hitam hasil radiasi sinar γ toleran salinitas dan kekeringan dengan menggunakan marka ISSR dan RAPD. Lima primer ISSR dan lima primer RAPD digunakan untuk mengamplifikasi DNA mutan kentang hitam. Dari sepuluh primer, dihasilkan 95% pita polimorfik dan 27 pita spesifik pada mutan hasil radiasi toleran salinitas. Kesepuluh primer tersebut menghasilkan 49% pita polimorfik dan tiga pita spesifik pada mutan hasil radiasi tahan kering. Hasil analisis komponen utama (AKU) membagi mutan ke dalam tiga kelompok berdasarkan pita spesifik yang berperan dalam pembentukan kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa marka ISSR dan RAPD dapat digunakan untuk mengarakterisasi mutan pada kentang hitam.

Kata kunci: Kentang hitam (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.), Karakterisasi mutan, ISSR, RAPD, Toleran salinitas, Toleran kekeringan

PENDAHULUAN

Kentang hitam, (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.), merupakan tanaman musiman yang menghasilkan umbi yang termasuk dalam suku *Lamiaceae*. Tanaman ini tumbuh di negara-negara Asia Tenggara (Malaysia dan Indonesia) dan Afrika tropis (Sudan dan Nigeria).¹ Umbi dapat dikonsumsi dengan cara direbus atau digoreng dan menjadi tambahan campuran makanan olahan.

Berdasarkan hasil penelitian Nugraheni dkk,² umbi kentang hitam mengandung senyawa antioksidan dan antiproliferasi yang tinggi, yaitu asam ursolik dan asam oleanolik yang dapat digunakan sebagai obat kanker. Kandungan pati umbinya lebih rendah (19,7 gram/100g) bila dibandingkan dengan singkong (32,7 gram/100g) dan ubi jalar (24,3 gram/100g) sehingga dapat digunakan sebagai makanan untuk diet.³

Pemuliaan kentang hitam secara konvensional mempunyai keterbatasan karena biji tidak terbentuk. Keragaman genetik tanaman ini pun rendah karena selalu diperbanyak secara vegetatif dengan stek atau umbi. Oleh karena itu, dibutuhkan cara lain untuk meningkatkan keragaman genetiknya yakni dengan induksi mutasi guna menghasilkan varietas baru. Pemuliaan dengan cara mutasi sering digunakan untuk meningkatkan karakter tanaman dan meningkatkan keragaman genetik pada berbagai jenis tanaman pertanian antara lain pada pisang⁴ dan ubi jalar (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.).⁵ Induksi mutasi kentang hitam telah dilakukan dengan iradiasi sinar γ dengan dosis 6; 12,5; dan 35 gray.⁶

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah marka molekuler yang relatif paling mudah dan cepat digunakan untuk berbagai tujuan, antara lain untuk identifikasi genotipe⁷ dan kultivar⁸ serta deteksi mutan pada *Rhododendron*⁹ dan sorgum¹⁰. Keuntungan utama penerapan marka RAPD ialah karena marka ini menghasilkan polimorfisme yang cukup tinggi. *Random sampling* dalam genom total dan secara teknis juga cukup cepat dan mudah dilakukan. Marka molekuler lain yang relatif mudah dan cepat digunakan, yakni *Inter-Simple Sequence Repeats* (ISSR). ISSR merupakan marka molekuler berbasis PCR, yang mengamplifikasi daerah di antara dua ulangan nukleotida pendek (mikrosatelit).¹¹

Keuntungan utama dari marka ini ialah dapat menganalisis lokus ganda dalam reaksi tunggal. ISSR telah banyak digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik dan kekerabatan genetik¹², identifikasi genotipe¹³ serta identifikasi mutan.¹⁴

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh karakterisasi sidik DNA mutan kentang hitam yang toleran salinitas dan toleran keringan hasil iradiasi sinar γ dengan menggunakan marka RAPD dan ISSR.

BAHAN DAN CARA KERJA

Dua puluh tiga sampel mutan yang telah diseleksi sebelumnya digunakan dalam penelitian ini. Ke-23 sampel tersebut terdiri dari sepuluh sampel mutan kentang hitam toleran salinitas dan sepuluh sampel mutan toleran keringan (Tabel 1) serta tiga sampel kontrol tanaman kentang tanpa perlakuan. Daun dikoleksi dari masing-masing sampel untuk isolasi DNA.

Isolasi DNA

DNA diekstrak dari 0,1 gram daun kering mutan dan kontrol kentang hitam menggunakan metode CTAB¹⁵ yang telah dimodifikasi dengan penambahan RNase 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil ekstrak DNA digunakan untuk reaksi PCR menggunakan lima primer arbitrer 10-mer RAPD (*Operon Technologies, Inc.*), yaitu OPA-13 (5'CAGCACCCAC3'), OPB-10 (5'CTGCTGGGAC3'), OPB-17 (5'AGGGAACGAG3'), OPD-8 (5'GTGTGCCCCA3') dan OPN-14 (5'TCGTGCGGGT3'), dan lima primer ISSR, yaitu UBC 807 (5'AGAGAGAGAGAGAGAGT3'), UBC 811 (5'GAGAGAGAGAGAGAGAC3'), UBC 812 (5'GAGAGAGAGAGAGA GAA3'), UBC 834 (5'AGAGAGAGAGAGAGAGYGT3') dan UBC 835 (5'AGAGAGAGAGAGAGAGAYC3').

Protokol Amplifikasi PCR

Reaksi PCR menggunakan marka RAPD dan ISSR yang telah dioptimasi. Volume reaksi total PCR adalah 15 μl yang terdiri atas 7,5 μl 1x PCR *Green Master Mix* (Promega), 1,5 μl primer 5 pmol, dan 1 μl ~10 ng DNA *template*. Amplifikasi dengan primer RAPD menggunakan *thermal cycler* (Takara) diawali dengan denaturasi

Tabel 1. Daftar Sampel yang Digunakan dalam Penelitian Ini

No.	Kode mutan tahan NaCl		No.	Kode mutan tahan PEG	
1	M150 (6)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.2.89	11	SC 557,5 (5)	Somaklon Nganjuk
2	M343 (1)	R4#Bgr2#6 Gy#y1.k6.2	12	SC 557,5 (1)	Somaklon Nganjuk
3	M76 (1)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.10.7	13	SC 38.3 (1)	Somaklon Nganjuk
4	M150 (2)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.2.89	14	SC 557.5 (3)	Somaklon Nganjuk
5	M150 (1)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.2.89	15	SC 557.5 (4)	Somaklon Nganjuk
6	M93 (1)	R1#Nganjuk#6 Gy#8.7.1	16	SC 38.3 (6)	Somaklon Nganjuk
7	M343 (7)	R4#Bgr2#6 Gy#y1.k6.2	17	SC 80 (6)	Somaklon Nganjuk
8	M79 (1)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.10.5	18	SC 557.5 (3)	Somaklon Nganjuk
9	M79 (2)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.10.5	19	SC 80 (3)	Somaklon Nganjuk
10	M150 (3)	R1#Nganjuk#12.5 Gy#14.1.2.89	20	SC 8.1 (4)	Somaklon Nganjuk

awal pada suhu 94°C selama dua menit, diikuti oleh 45 siklus yang terdiri dari fase denaturasi (94°C selama satu menit), fase penempelan (36°C selama satu menit), dan fase pemanjangan (72°C selama dua menit).¹⁶ Setelah 45 siklus selesai, proses amplifikasi PCR diakhiri dengan fase pemanjangan pada suhu 72°C selama lima menit. Adapun kondisi optimum untuk amplifikasi PCR ISSR adalah denaturasi awal pada suhu 94°C selama lima menit, diikuti oleh 30 siklus yang terdiri dari fase denaturasi (94°C selama satu menit), fase penempelan (50°C selama 45 detik), dan fase pemanjangan (72°C selama dua menit). Setelah 30 siklus selesai, proses amplifikasi PCR diakhiri dengan fase pemanjangan pada suhu 72°C selama lima menit. Produk amplifikasi dipisahkan dengan menggunakan 1,5% gel agarose pada tegangan 100 V selama 120 menit. Pita DNA divisualisasikan menggunakan UV transluminator dan ukuran fragmen ditentukan menggunakan 100 bp DNA *ladder* (Fermentas).

Analisis Data RAPD dan ISSR

Analisis data RAPD dan ISSR hanya dilakukan pada primer yang menghasilkan pita polimorfik.

Setiap pita dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas diberi skor 1 bila ada pita dan 0 bila tidak ada pita. Kedua data set tersebut digabung untuk diberi skor hingga membentuk matriks binari. Analisis komponen utama (AKU) dilakukan menggunakan MINITAB 14. Hasil AKU disajikan dalam bentuk plot dua dimensi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kentang Hitam (*Plectranthus rotundifolius*) Mutan Hasil Radiasi Sinar Gamma Toleran Salinitas

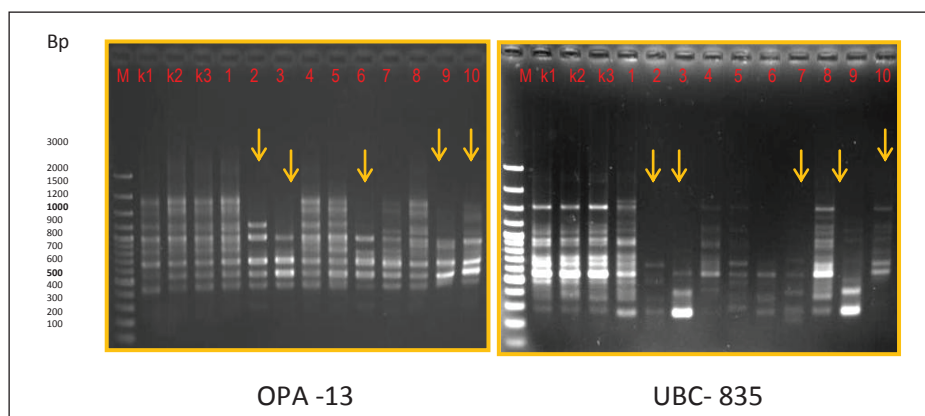
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua sampel yang dianalisis menunjukkan pola pita DNA yang berbeda pada setiap primer (Gambar 1). Hampir semua primer menghasilkan pita polimorfik 100% kecuali OPA-13 dan UBC 811 yang memiliki persentase polimorfik masing-masing sebesar 50% dan 83%. Primer OPA-13 mempunyai pita monomorfik pada ukuran 1000, 650, 550, dan 450 bp, sedangkan primer UBC 811 memiliki pita monomorfik pada ukuran 500 bp. Semua fragmen berjumlah 94 fragmen dan 89

fragmen di antaranya adalah polimorfik. Jumlah pita berkisar dari enam (UBC 811) hingga 13 (UBC 835 dan OPB 10). Ukuran pita berkisar antara 250 hingga 1900 bp dengan jumlah total seluruh pita yang dihasilkan adalah 693 pita dari sepuluh primer, meliputi sepuluh genotipe mutan hasil radiasi tahan NaCl dan tiga kontrol. Hal ini menunjukkan terjadinya polimorfisme atau perubahan genetik pada tanaman kentang setelah dilakukan radiasi sinar gamma dan diberi perlakuan NaCl untuk ketahanan terhadap garam.

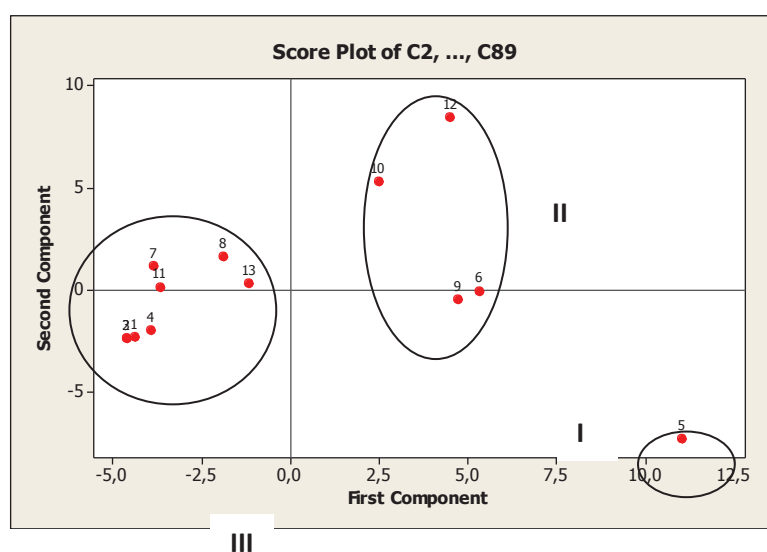
Dari sepuluh primer, sembilan primer menghasilkan 27 pita spesifik yang tidak terdapat pada kontrol. Ukuran pita spesifik berkisar antara 250 sampai 1700 bp. Primer OPB-10 menghasilkan pita spesifik paling banyak yaitu delapan pita

pada ukuran 1300 (M343(1), M343(7), M79 (2)), 1000 (M76 (1)), 850 (M79 (2)), 700 (M79 (2)), 500 (M150 (6), M343(1), M150(1)), 400 (M150 (1)), 300 (M343 (1), M76 (1), M150 (1), M93 (1)) dan 250 (M93 (1), M79 (1), M150 (3)) bp. Adapun primer OPB 17, UBC 811, dan UBC 834 menghasilkan pita spesifik paling sedikit yaitu 1 pita pada ukuran masing-masing 400 (M150 (1), M343 (7)), 600 (M150 (6), M343 (7)), dan 450 (M76 (1), M93 (1), M343 (7), M79 (2), M150 (3)) bp. Sampel M79 (2) menghasilkan pita spesifik paling banyak yaitu 10 pita spesifik pada primer OPB-10^{1300, 850, 700 bp}, OPD-8^{1300, 900, 650, 450 bp}, OPN-14^{1200, 800 bp}, UBC 834^{450 bp} dan UBC 835^{400 bp} (Lampiran 1).

Hasil analisis komponen utama (AKU) menghasilkan plot dua dimensi yang memisahkan



Gambar 1. Hasil Elektroforesis Kentang Hitam Mutan Tahan Salin Sampel No. 1–10 Hasil Radiasi Sinar Gamma Toleran Salinitas Menggunakan Primer RAPD OPA-13 dan ISSR UBC-835



Gambar 2. Plot Dua Dimensi Analisis Komponen Utama 13 Aksesori Mutan Hasil Radiasi Sinar Gamma Toleran NaCl dengan Menggunakan Marka RAPD dan ISSR

13 aksesi mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma ke dalam tiga kelompok (Gambar 2). Kelompok I terdiri atas mutan (M343 (1)), kelompok II terdiri atas mutan (M343 (7)), (M76 (1)), (M93 (1)), dan (M79 (2)); dan kelompok III terdiri atas mutan (M150 (6)), (M79 (1)), (M150 (2)), (M150 (1)), (M150 (3)) serta tanaman kontrol. Terdapat dua pita ISSR yang berperan dalam pembentukan KU I dengan nilai mutlak sebesar 0,179 yaitu pada pita ukuran 1.600 dari primer UBC 835 dan 350 bp dari primer UBC 834.

Kentang Hitam (*Plectranthus rotundifolius*) Mutan Hasil Radiasi Sinar Gamma Tahan Kekeringan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak semua sampel menunjukkan pola pita DNA yang berbeda pada setiap primer (Gambar 3). Hampir pada semua primer terdapat pita monomorfik, kecuali primer OPB-10 yang menghasilkan pita polimorfik 100%. Adapun OPD-8 menghasilkan pita yang semuanya monomorfik. Jumlah pita berkisar dari empat (OPB-17) sampai sembilan (UBC 835). Semua fragmen berjumlah 69 dengan 34 fragmen di antaranya merupakan fragmen yang polimorfik. Ukuran pita berkisar antara 250 sampai 1900 bp dengan jumlah total seluruh pita yang dihasilkan adalah 759 pita dari seluruh genotipe mutan hasil radiasi toleran PEG dan tiga kontrol.

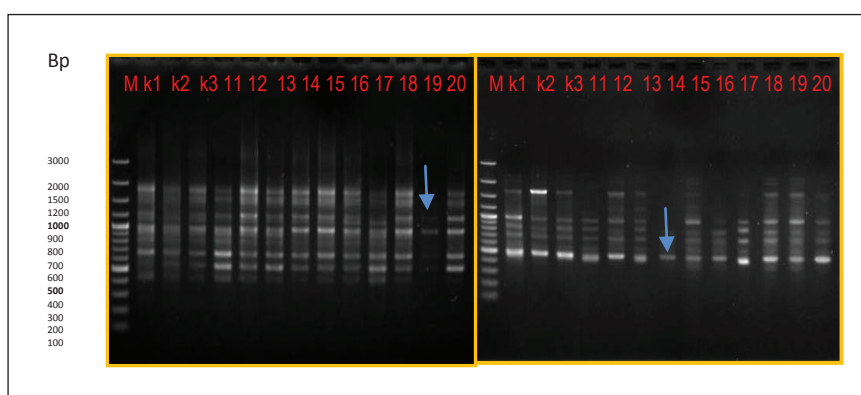
Dari sepuluh primer, hanya tiga primer yang menghasilkan empat pita spesifik yang tidak terdapat pada kontrol. Ukuran pita spesifik berkisar antara 400 sampai 800 bp. Primer OPB-

10 hanya menghasilkan satu pita spesifik yaitu ukuran 500 bp. Primer OPN-14 menghasilkan dua primer spesifik, yaitu ukuran 400 dan 800 bp. Adapun primer UBC 811 menghasilkan satu pita spesifik yaitu ukuran 600 bp. Sampel mutan SC 80 (6) menghasilkan pita spesifik paling banyak yaitu tiga pita spesifik pada primer OPN-14 ^{800, 400} bp dan UBC 811 ⁶⁰⁰ bp (Lampiran 2).

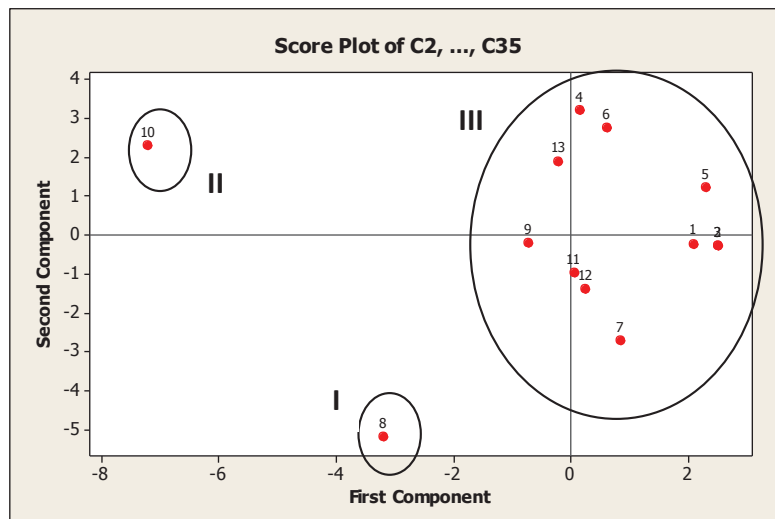
Mutan-mutan ini tidak secara konsisten mempunyai profil DNA yang berbeda dengan kontrol pada semua primer ISSR maupun RAPD. Walaupun ada mutan yang menunjukkan perbedaan dengan kontrol pada primer tertentu, tetapi mutan pada primer yang lain tidak menunjukkan perbedaan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan terjadinya polimorfisme atau perubahan genetik pada tanaman kentang setelah dilakukan radiasi sinar gamma dan diberi perlakuan PEG untuk ketahanan terhadap kekeringan sangat rendah.

Hasil analisis komponen utama (KU) menghasilkan plot dua dimensi yang memisahkan 13 aksesi mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma ke dalam tiga kelompok (Gambar 4). Kelompok I terdiri atas mutan SC 80 (6), kelompok II terdiri atas mutan SC 557.5 (4), dan kelompok III terdiri atas mutan SC 557.5 (5), SC 557.5 (1), 38.3 (1), SC 557.5 (3), SC 38.3 (6), SC 557.5 (3), SC 80 (3), SC 8.1 (4), dan tanaman kontrol. Hanya terdapat hanya satu pita dari primer ISSR yang berperan dalam pembentukan KU I dengan nilai mutlak sebesar 0,322, yakni pita ukuran 950 bp dari primer UBC 835.

Pada penelitian ini, mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma tahan salinitas menun-



Gambar 3. Hasil Elektroforesis Kentang Hitam Mutan Sampel 11–20 Hasil Radiasi Sinar Gamma Tahan Kekeringan Menggunakan Primer RAPD OPA13 dan Primer ISSR UBC 811



Gambar 4. Plot Dua Dimensi Analisis Komponen Utama 13 Aksesori Mutan Hasil Radiasi Sinar Gamma Tahan NaCl dengan Menggunakan Marka RAPD dan ISSR

jukkan polimorfisme sebesar 95% (89 fragmen) dari 94 fragmen yang dihasilkan. Adapun mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma toleran kekeringan menunjukkan polimorfisme sebesar 49% (34 fragmen) dari 69 fragmen yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan dosis radiasi sinar gamma sebesar 6 dan 12,5 gray yang telah dilakukan terhadap daun dan tangkai daun kentang hitam cukup efektif untuk meningkatkan keragaman genetik.

Dosis radiasi yang berbeda juga menimbulkan respon yang berbeda pada tanaman. Dosis radiasi yang tinggi akan menyebabkan terjadinya kerusakan kromosom, memperlambat siklus sel, menunda mitosis, dan secara keseluruhan memengaruhi regenerasi dan perkembangan tanaman. Ketika dosis dinaikkan, kerusakan tanaman meningkat. Perubahan genetik pada tanaman yang terekspos radiasi sinar gamma dapat bervariasi dari satu sel ke sel lainnya. Perbedaan ini dapat disebabkan karena adanya mekanisme perbaikan (sebelum atau selama replikasi DNA) maupun perubahan pada regulasi ekspresi gen (transkripsi atau translasi). Bahkan, di dalam kelompok tipe tanaman yang sama dengan dosis yang diberikan, pembentukan karakter genotipe dan fenotipe yang berbeda dapat terjadi.¹⁷ Polimorfisme pada individu dapat terjadi karena adanya perubahan basa nukleotida yang dapat menyebabkan tidak terjadinya amplifikasi. Amplifikasi tidak terjadi

karena adanya -ketidaksesuaian dan insersi atau delesi pada tempat penempelan primer yang dapat mengubah ukuran produk amplifikasi.¹⁶

Marka molekuler seperti *RAPD* dan *ISSR* terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi polimorfisme fragmen pada 20 aksesori mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma toleran salinitas dan toleran kekeringan. Penelitian serupa dilakukan oleh Yacyli dan Alikamanoglu¹⁷ pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) yang toleran salinitas dengan dosis radiasi sinar gamma yang efektif 20 dan 30 gray, menggunakan marka *RAPD* untuk mendeteksi polimorfisme pada mutan.

Tanaman kentang hitam mutan yang berbeda secara genotip dengan kontrol menunjukkan bahwa tanaman kentang hitam mutan tersebut memiliki sifat yang berbeda dengan kontrol. Dengan demikian, tanaman kentang hitam yang berbeda dengan kontrol berpotensi memiliki sifat unggul yang diharapkan, yaitu memiliki umbi yang besar dan berat, tahan serangan nematoda, tahan cekaman kekeringan, dan tahan salinitas. Hal ini perlu pengujian agronomi lebih lanjut.

KESIMPULAN

Pada mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma toleran salinitas, delapan primer menghasilkan 100% fragmen DNA polimorfik,

yaitu 94 fragmen DNA dengan 86 (95%) merupakan fragmen DNA polimorfik. Terdapat 27 pita spesifik yang berbeda dengan ukuran berkisar 250–1700 bp. Pada mutan kentang hitam hasil radiasi sinar gamma toleran kekeringan, hanya satu primer yang menghasilkan 100% fragmen DNA polimorfik, yaitu 69 fragmen DNA dengan 34 (49%) merupakan fragmen DNA polimorfik. Terdapat tiga pita spesifik yang berbeda tidak terdapat pada kontrol dengan ukuran berkisar 400–800 bp. Berdasarkan analisis komponen utama, kelompok I merupakan mutan yang paling berbeda karakternya dari kontrol. Dari perlakuan mutan kentang hitam, mutan M3 43(1) dan SC 80(6) merupakan mutan yang berbeda karakter genetiknya dengan tanaman kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Penelitian Biologi-LIPI yang telah memberi dana penelitian ini melalui kegiatan Kajian Genetik Plasma Nutfah Umbi-umbian Indonesia DIPA 2013. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fajarudin Ahmad, Tri Handayani, dan seluruh staf dan teknisi Lab. Kultur Jaringan yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹Primatilake, D. P. 2005. Inducing genetic variation of inula (*Solenostemon rotundifolius*) via in vitro callus culture. *J. Natn. Sci Foundation Sri Lanka* 33(2): 123–131.
- ²Nugraheni, M., U. Santoso, Suparmo, and H. Wuryastuti. 2011. Potential of *Coleus tuberosus* as an antioxidant and cancer chemoprevention agent. *Int. Food Res. J.* 18(4): 1471–1480.
- ³Tindall, H. D. 1993. *Vegetables in the Tropics*. Macmillan Press. p. 533.
- ⁴Suprasanna P., M. Sidha and G. R. Ganapathi. 2008. Characterization of radiation induced and tissue culture derived dwarf type in banana by using a SCAR marker. *Aust. J. Crop Sci.* 1(2): 47–52.
- ⁵Shin, J. M. dkk. 2011. Mutation Breeding of sweet potato by gamma-ray radiation. *Afr. J. Agri. Res.* 6(6): 1447–1454.
- ⁶Witjaksono dan A. Leksonowati. 2012. Iradiasi sinar γ pada biak tunas kentang hitam (*Solenostemon rotundifolius*) efektif untuk menghasilkan mutan. *Jurnal Biologi Indonesia* 8(1): 167–179.
- ⁷Poerba, Y. S., A. Wawo, dan K. S. Yulita. 2007. Keragaman fenotipe RAPD *Santalum album* L. di Pulau Timor bagian timur. *Berita Biologi* 8(6): 537–546.
- ⁸Malik, S. K., R. Chaudhury, O. P. Dhariwal, and R. K. Kalia. 2006. Collection and characterisation of *Citrus indica* Tanaka and *C. macroptera* Montr.: wild endangered species of north eastern India. *Genet. Resour. Crop Ev.* 53: 1485–1493.
- ⁹Atak, C., O. Celik and L. Acik. 2011. Genetic analysis of *Rhododendron* mutant using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Pak. J. Bot.*, 43(2): 1173–1182.
- ¹⁰Taryono, P. Cahyaningrum, and S. Human. 2011. The detection of mutational changes in shorgum using RAPD. *Indonesian J. Biotech.* 16(1): 66–70.
- ¹¹Zietkiewicz, E., A. Rafalski, and D. Labuda. 1994. Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176–183.
- ¹²Rucinska, A., and J. Pulchaski. 2010. Comparative molecular studies on the genetic diversity of an ex-situ garden collections and its source population of the critically endangered polish endemic plant *Cochlearia polonica* E. Froehlich. *Biodivers. Conserv.* DOI: 10.1007/s10531-010-9965-z.
- ¹³Fracaro, F. and S. Echeverrigaray. 2006. Genetic variability in *Hesperozygis ringens* Benth. (Lamiaceae), an endangered aromatic and medicinal plant of southern Brazil. *Biochem. Genet.* 44 (11/12). DOI: 10.1007/s10528-006-9044-z.
- ¹⁴Campbell, B. C., S. LeMare., G. Piperidis, and I. D. Godwin. 2011. IRAP, a retrotransposon-based marker system for the detection of somaclonal variation in barley. *Mol. Breed* 27(2): 193–206.
- ¹⁵Doyle, J. J., and J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15.
- ¹⁶Williams, J. G. K. et al. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nuc. Acids Res.* 18: 6531–6535.
- ¹⁷Yaycili, O., and S. Alikamanoglu. 2012. Induction of salt-tolerant potato (*Solanum tuberosum* L) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Turk. J. Biol.* 36: 405–412.

Lampiran 1. Ukuran Pita, Jumlah Pita, Persen Polimorfik, dan Ukuran Pita Spesifik Setiap Sampel Kentang Hitam Hasil Radiasi Sinar Gamma Tahan Salinitas dengan Menggunakan Primer RAPD dan ISSR

Primer	ukuran pita (bp)	jumlah pita													Σ total pita	Σ pita primer	Σ pita polimorfik	%	Pita spesifik (bp) (nomor sampel)
		kontrol			mutan tahan PEG														
		K1	K2	K3	M150 (6)	M343 (1)	M76 (1)	M150 (2)	M150 (1)	M93 (1)	M343 (7)	M79 (1)	M79 (2)	M150 (3)					
OPA 13	450-1900	8	8	8	5	5	8	8	5	8	7	4	7	89	8	4	50%	1300 (2,7,9), 1000 (3), 850 (9), 700 (9), 500 (1,2,5), 400 (5), 300 (2,3,5,6), 250 (6,8,10)	
OPB 10	250-1900	5	5	5	6	4	2	3	3	3	4	4	4	53	13	13	100%	1300 (2,7,9), 1000 (3), 850 (9), 700 (9), 500 (1,2,5), 400 (5), 300 (2,3,5,6), 250 (6,8,10)	
OPB 17	250-1600	7	7	7	7	3	5	7	6	4	6	4	7	77	8	8	100%	400 (5,7)	
OPD 8	400-1500	7	7	7	7	7	7	3	4	7	0	6	5	72	11	11	100%	1300 (5,8,9), 900 (9), 650 (9), 450 (5,8,9)	
OPN 14	250-1200	4	4	4	3	3	2	3	2	1	3	4	1	37	9	9	100%	1200 (9), 1100 (2), 800 (1,6,9), 400 (2), 250 (3)	
UBC 807	350-1500	7	7	7	7	0	4	9	6	6	7	5	7	79	9	9	100%	1500 (4), 1300 (4)	
UBC 811	500-1700	4	5	5	3	4	4	4	3	2	5	2	2	48	6	5	83%	600 (1,7)	
UBC 812	250-1500	7	7	7	7	0	4	8	7	0	4	8	5	68	9	9	100%	1500 (4,8), 1200 (4,7)	
UBC 834	250-1100	7	7	7	7	0	6	7	6	6	7	6	7	80	8	8	100%	450 (3,6,7,9,10)	
UBC 835	250-1700	10	10	10	11	4	3	7	6	3	4	10	6	90	13	13	100%	1700 (1), 1300 (8), 400 (3,4,6,7,9)	
jumlah total pita													693	94	89	95%			

