

Keragaman Genetika Empat Belas Aksesori Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Berdasarkan Marka SSR dan STS (Genetic Diversity of Fourteen Potato Accessions Based on SSR and STS Markers)

Kristianto Nugroho^{1*}, Reflinur¹, Puji Lestari¹, Ida Rosdianti¹, Rerenstradika T. Terryana¹,
Kusmana², dan I Made Tasma¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: nugrohoxkristianto@gmail.com

²Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Jl. Tangkuban Perahu 517, Kotak Pos 8413, Lembang 40391 Indonesia

Diajukan: 7 April 2015; Direvisi: 21 Mei 2015; Diterima: 29 Juni 2015

ABSTRACT

Potato is one of high economically horticultural plant. The increasing of national consumption of potato becomes a challenge for potato breeders. The success of breeding programs is depending on availability of genetic diversity. The aim of this research was to analyze the genetic diversity of fourteen accessions of potato by using SSR and STS markers. PCR analysis was scored as biner data and the collected data was analyzed using NTSYS and PowerMarker. The result showed that there were 63% polymorphic (12 markers) of total markers. As many as 60 alleles with the size of 200–500 bp were identified by a range of 2–9 alleles per locus. The polymorphism level was 0.59 (0.36–0.74). Result also showed the average of major allele frequency was 49.42% (35.71–63.64%). Nine markers which have polymorphism level more than 0.5 could be used to detect genetic diversity of potato. The average of genetic diversity index was 0.65. Cluster analysis showed that 14 accessions of potato were split in two groups (coefficient 0.70). The first groups consisted of Atlantik, GM 05, Granola Kembang Merbabu 17, and the second groups consist of Repita, Maglia, Medians, CIP397078.7, CIP392781.1, Margahayu, Granola, CIP394613.139, Amabile, and Tenggo. The information of genetic diversity of this germplasm could be used as a preliminary basis for choosing crossing parents in potato breeding in Indonesia.

Keywords: Potato (*Solanum tuberosum* L.), SSR, STS, genetic diversity.

ABSTRAK

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Meningkatnya kebutuhan konsumsi kentang nasional menjadi tantangan bagi pemulia kentang. Tersedianya sumber keragaman genetika merupakan prasyarat keberhasilan program pemuliaan suatu varietas. Penelitian ini bertujuan menganalisis keragaman genetika empat belas aksesori kentang menggunakan marka *simple sequence repeats* (SSR) dan *sequence-tagged sites* (STS). Hasil analisis *polymerase chain reaction* (PCR) diberi skor sebagai data biner. Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak NTSYS dan PowerMarker. Hasil penelitian menunjukkan dari 19 marka yang digunakan terdapat 12 marka (63%) yang bersifat polimorfik. Sebanyak 60 alel berukuran antara 200–500 bp dengan kisaran 2–9 alel per lokus berhasil dideteksi. Nilai *polymorphic information content* (PIC) menunjukkan rerata sebesar 0,59 dengan nilai tertinggi 0,74 (RGH-SSR 21) dan nilai terendah 0,36 (RGH-SSR 30). Rerata frekuensi alel utama adalah 49,42% dengan nilai terendah 35,71% (STG-0016) dan nilai tertinggi 63,64% (RGH-SSR 40). Terdapat 9 marka dengan nilai PIC >0,5 yang dapat digunakan untuk mendeteksi keragaman genetika aksesori kentang. Keragaman aksesori kentang tersebut cukup tinggi, seperti yang direfleksikan oleh nilai rerata diversitas gen, yaitu 0,65. Hasil analisis kluster menunjukkan bahwa keempat belas aksesori kentang tersebut mengelompok menjadi dua kelompok utama pada koefisien 0,70. Kelompok pertama terdiri atas varietas Atlantik, GM 05, Granola Kembang, dan Merbabu 17, sedangkan kelompok kedua terdiri atas varietas Repita, Maglia, Medians, CIP 397078.7, CIP 392781.1, Margahayu, Granola, CIP 394613.139, Amabile, dan Tenggo. Informasi keragaman genetika plasma nutfah tersebut dapat menjadi dasar awal untuk pemilihan tetua persilangan dalam pemuliaan kentang di Indonesia.

Kata kunci: Kentang (*Solanum tuberosum* L.), SSR, STS, keragaman genetika.

PENDAHULUAN

Kentang merupakan salah satu tanaman hortikultura yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Selain mengandung karbohidrat, kentang mengandung protein, lemak, dan mineral sehingga sangat prospektif untuk dikembangkan sebagai pengganti beras dalam rangka diversifikasi pangan. Pada tahun 2013, Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat luas panen tanaman kentang di Indonesia mencapai 70.187 ha, meningkat 4.198 ha dari tahun sebelumnya. Untuk memenuhi kebutuhan umbi kentang dengan luasan lahan tersebut, pada tahun 2013 dibutuhkan umbi kentang sebanyak 126.337 ton. Kebutuhan umbi kentang ini meningkat sebesar 5,98% dari tahun sebelumnya (BPS, 2013; Setiadi, 2009). Meningkatnya kebutuhan kentang ini perlu didukung oleh program pemuliaan melalui pembentukan varietas baru yang memiliki kualitas dan kuantitas produksi yang lebih baik. Untuk mendukung program ini, karakterisasi tanaman calon tetua persilangan sangat penting dilakukan sehingga dapat diperoleh keturunan yang benar-benar memiliki sifat yang diinginkan.

Selama ini, karakterisasi varietas kentang di Indonesia lebih banyak didasarkan pada fenotipe atau keragaan morfologis, yang seringkali sulit membedakan individu-individu dengan tingkat kekerabatan yang cukup dekat. Selain itu, karakter fenotipe merupakan hasil interaksi antara genotipe dengan lingkungan sehingga seringkali sulit dibedakan apakah suatu karakter bersifat genetis atau lebih banyak dipengaruhi oleh lingkungan. Marka molekuler dapat mengatasi masalah tersebut karena dapat langsung menandai gen tertentu sehingga dapat membantu seleksi karakter yang diinginkan dalam program pemuliaan tanaman. Marka molekuler yang saat ini banyak digunakan secara luas adalah marka *simple sequence repeats* (SSR) dan *sequence-tagged sites* (STS) (Chawla, 2002).

SSR merupakan sekuen berulang yang jumlahnya melimpah pada genom semua organisme eukariotik (Chawla, 2002). SSR secara tandem terdiri atas 1–5 nukleotida yang jumlah pengulangannya memperlihatkan perbedaan genetika antar individu (Ghislain *et al.*, 2004). Marka SSR didesain sebanyak 20 bp (kiri dan kanan) mengapit sekuen pendek tersebut. Kelebihan marka ini adalah bersifat kodominan, mampu mendeteksi keragaman alel yang tinggi, berdasarkan teknik PCR, dan tidak perlu penggunaan radioisotop yang berbahaya karena ukuran polimorfisme di antara alel-alel cukup besar sehingga dapat terlihat pada gel agarosa (Chawla, 2002). Penggunaan marka SSR dalam mengidentifikasi keragaman genetika pada tanaman telah banyak dilakukan, antara lain

pada tanaman kentang (Barandalla *et al.*, 2006; Ghislain *et al.*, 2004; Schneider dan Douches, 1997;), cabai (Hanáček *et al.*, 2009; Kwon *et al.*, 2005), tomat (Bredemeijer *et al.*, 2002; Ruiz *et al.*, 2005), mangga (Zainudin *et al.*, 2010, dan jarak pagar (Saptadi *et al.*, 2011).

Menurut Gupta *et al.* (2002), STS merupakan marka berbasis PCR yang terdiri atas sekuen pendek dan khas, yang mampu mengidentifikasi satu atau lebih lokus spesifik. Marka ini diperoleh melalui proses sekuensing fragmen hasil RAPD, RFLP, AFLP, atau gen yang ukurannya telah diketahui (Bahagiawati, 2011). STS merupakan marka yang penting untuk mengonversi peta genetika menjadi peta fisik dan mampu mengisolasi gen yang spesifik berdasarkan informasi sekuen (Brar, 2002). Kelebihan marka ini menurut Bahagiawati (2011) antara lain bersifat kodominan, reproduksibilitas lebih tinggi dibanding dengan RAPD, mampu mendeteksi polimorfisme, dan menghasilkan amplifikasi yang stabil dan berulang-ulang. Penggunaan marka STS telah dilakukan oleh Sanchez *et al.* (2000) untuk menyeleksi tiga gen terpaut ketahanan hawar bakteri pada padi dan Lestari *et al.* (2012) untuk mengidentifikasi padi dengan palatabilitas tinggi.

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis keragaman genetika 14 aksesori kentang menggunakan marka molekuler SSR dan STS. Informasi keragaman genetika yang diperoleh dapat digunakan sebagai informasi awal dalam kegiatan pemuliaan tanaman kentang.

BAHAN DAN METODE

Materi Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini terdiri atas 14 aksesori kentang yang meliputi 11 varietas kentang komersial Indonesia dan 3 aksesori introduksi dari *International Potato Center* (CIP) yang dikoleksi oleh Balitsa (Tabel 1). Dari sebanyak 19 marka yang digunakan dalam penelitian ini, terdapat 15 marka SSR hasil eksplorasi dari studi sebelumnya (Bakker *et al.*, 2011; Ghislain *et al.*, 2009) dan 4 marka STS yang didesain berbasis gen pada genom kentang (Tabel 2). Desain marka baru dibuat berdasarkan hasil sekuensing pada genom kentang yang telah dilakukan sebelumnya. Satu marka, yaitu marka StSTSa2, didesain berdasarkan sekuen yang terkait dengan sifat ketahanan terhadap cekaman abiotik kekeringan, suhu tinggi, suhu rendah, dan salinitas. Dua marka lain, yaitu StSTV1 dan StSTV3, terkait dengan sifat ketahanan terhadap *potato virus X* (PVX) dan *potato leaf roll virus* (PLRV), sedangkan marka StSTV2 terkait dengan sifat ketahanan terhadap *potato virus Y* (PVY).

Tabel 1. Deskripsi empat belas plasma nutfah tanaman kentang yang digunakan dalam penelitian.

Nama varietas	Bentuk daun	Warna daun	Warna batang	Bentuk umbi	Warna kulit umbi	Warna daging umbi	Keterangan	Ketahanan terhadap cekaman biotik/abiotik
Atlantik	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Putih	Putih	I	Toleran suhu tinggi, toleran NSK ras A, toleran PVX
Granola Kembang	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Kuning keputihan	Kuning	IL	-
Repita	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Krem	Putih agak krem	IL	Resisten busuk daun
Merbabu 17	Oval	Hijau tua	Hijau	Oblong	Kuning berbintik	Kuning	IL	Toleran busuk daun
Medians	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Kuning	Putih	IL	Toleran busuk daun
GM 05	Jorong	Hijau	Hijau	Oval	Kuning	Kuning terang	IL	-
CIP 397078.7*	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Kuning	Kuning	I	Toleran suhu tinggi
Maglia	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Kuning	Putih	IL	Toleran busuk daun
CIP 394613.139*	Oval	Hijau gelap	Hijau	Bulat	Merah	Kuning	I	Toleran suhu tinggi
CIP 392781.1*	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Kuning	Kuning Terang	I	Toleran suhu tinggi
Margahayu	Jorong	Hijau	Hijau	Bulat-oval	Krem pucat	Kuning	IL	Toleran busuk daun
Granola	Oval	Hijau	Hijau	Oval	Kuning-putih	Kuning	IL	Adaptasi luas, toleran PLRV, PVA, PVY
Amabile	Oval	Hijau	Hijau sedikit garis ungu	Oval	Kuning	Putih	IL	Toleran busuk daun
Tenggo	Bangun bulat telur	Hijau	Hijau	Bulat	Kuning pucat	Krem	IL	Toleran busuk daun

*Aksesori introduksi dari CIP, Peru. I = introduksi, IL = *improved line*.

Sumber: Kusmana, komunikasi pribadi.

Tabel 2. Daftar primer yang digunakan dalam penelitian.

Nama primer	Forward	Reverse	Referensi	Jenis marka	Ukuran alel (bp)	Map location
RGH SSR 1	TATCACTAGCGGGACGAACC	CGCAAGGCTTTAAAAACGTC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	VI-b
RGH SSR 4	GGGTCGATGATCCATTTATTG	CCCTTTTGTCCATATCAGTTG	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	XI-a
RGH SSR 8	GAATTTTCTCCACTGGCAGC	TCCAAGGAAACAAAACCTTGACC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	VI-b
RGH SSR 11	TTACCTTCTGGAAAACATGCAC	TCACCATGAACCCTATTTTGAG	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	V-d
RGH SSR 19	ATGCTCGTTTGAAGCTGACC	CTAAGCAAGGTGGGAAGCAG	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	X-b
RGH SSR 21	ATTGGACGTTGCTCCTATGG	CGCCGATCCTAGATCAATTC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	VI-a
RGH SSR 25	TCCGGGAGAATTAGACGATG	TTTATGGGGAGCAGTTGAGG	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	XI-e
RGH SSR 30	TTGCGTTCAGCTCACTCAAG	CACCAATTTGGGTTCCGAAAG	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	VI-b
RGH SSR 35	GCCAGACAGCAGATGAAAGC	CCTTCAAGAATTGCAGAAACAG	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	I-b
RGH SSR 37	GCTTTAGAAGGAAGACAACACG	CCATGTAGACGTCCCAGAATC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	-
RGH SSR 40	TTGCCGGATGTTACTACTAACC	ATATGGGACACACGTGCAAC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	V-d
RGH SSR 42	AATTCTGGTTGGCTGGAATG	AGATAAGGGATGATTTTGGGC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	VII-c
RGH SSR 48	AATTCCTTTGAAATTTGGCCCC	CACACCCAACAATCTTTCCC	Bakker <i>et al.</i> (2011)	SSR	-	XII-b
STI0014	AGAAACTGAGTTGTGTTGGGA	TCAACAGTCTCAGAAAACCCCTCT	Ghislain <i>et al.</i> (2009)	SSR	125–157	IX-fg
STG0016	AGCTGCTCAGCATCAAGAGA	ACCACCTCAGGCACTTCATC	Ghislain <i>et al.</i> (2009)	SSR	137–174	Ig
StSTSa2	ACTAGTGACTTCCAGGTTCT	TATGTGTACAGACCCCAATTT	Desain baru	STS	246	-
StSTSV1	TTAAACCATAGCTGCGGAAT	CCTTAACCTCTGCAACCTTT	Desain baru	STS	199	-
StSTSV2	GAGGCATCATAAATCGGACT	TATCCGGCAGAGGTTTAATC	Desain baru	STS	206	-
StSTSV3	GGTGGGAATTGGAGTAACAT	TTACTGGTGAATGAAGGTG	Desain baru	STS	221	-

Isolasi DNA

DNA diisolasi menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,5 g potongan daun kentang dimasukkan ke dalam tabung mikro 2 ml diikuti dengan penambahan 750 μ l bufer ekstraksi yang mengandung Tris-HCl 100 mM (pH 8,0), NaCl 1,4 M, EDTA 20 mM (pH 8,0), *cetyl trimethyl ammonium bromide* (CTAB) 2% (w/v), *polyvinyl pyrrolidone* (PVP) 2% (w/v), dan natrium disulfid 0,38% (w/v). Penggerusan kemudian dilakukan dengan bantuan alat *TissueLyser* (Qiagen™, Germany) selama 15 menit. Selanjutnya, campuran di dalam tabung tersebut diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit dan dihomogenkan dengan cara dibolak-balik setiap 5

menit. Selanjutnya, ditambahkan 750 μ l larutan kloroform : isoamil alkohol (24 : 1) ke dalam tabung mikro, diikuti dengan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 600 μ l supernatan yang terbentuk kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikro 1,5 ml, diikuti dengan penambahan 60 μ l Natrium asetat 3 M (pH 5,2) dan 600 μ l isopropanol dingin. Campuran kemudian didiamkan di dalam lemari pendingin bersuhu -20°C selama 1 jam. Setelah itu, dilakukan sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit. Supernatan lalu dibuang, sedangkan pelet yang terbentuk dibilas dengan 200 μ l etanol 70%. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi kembali selama 5 menit pada

kecepatan 12.000 rpm. Supernatan kemudian dibuang dan pelet yang telah bersih dikeringanginkan selama semalam. Pelet yang telah kering dilarutkan dalam 50 μ l larutan TE (Tris 10 mM [pH 8,0], EDTA 1 mM), dan ditambah 2 μ l RNase 10 mg/ml (Invitrogen, USA). Larutan DNA stok tersebut kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.

Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Kentang

Uji kuantitatif larutan stok DNA kentang dilakukan dengan menggunakan alat nanodrop spektrofotometer (Thermo Scientific™, USA). Uji kualitatif larutan stok DNA kentang dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa 1%. Hasil elektroforesis kemudian diamati di bawah sinar UV di dalam *UV Transilluminator* (UVP, UK).

Analisis PCR

Untuk analisis PCR, setiap sampel diamplifikasi dalam total reaksi 20 μ l yang mengandung 20 ng DNA *template*, bufer 10 \times (Kapa Biosystems, USA), dNTP *mix* 10 mM (Kapa Biosystems, USA), primer *forward* dan *reverse* 0,5 μ M, dan enzim *Taq* polimerase DNA (Kapa Biosystems, USA) 5U/ μ l. Reaksi PCR dilakukan dengan mesin PCR (Bio-Rad, USA) dengan kondisi PCR sebagai berikut. Denaturasi awal dilakukan pada suhu 94°C selama 4 menit, diikuti oleh sebanyak 35 siklus proses denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, tahap penempelan primer pada suhu 55°C selama 30 detik, dan tahap perpanjangan basa pada suhu 72°C selama 45 detik. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap akhir perpanjangan basa pada suhu 72°C selama 7 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis pada gel agarosa 4% atau poliakrilamida 8% untuk analisis lebih lanjut.

Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan skoring pita DNA yang muncul pada hasil elektroforesis, baik pada agarosa 4% maupun poliakrilamida 8%. Pita-pita yang terlihat pada gel dianggap sebagai satu alel. Pita-pita DNA yang memiliki laju migrasi yang sama diasumsikan sebagai lokus yang homolog. Pada laju migrasi yang sama, setiap pita yang tampak diberi nilai 1, sedangkan pita yang tidak tampak diberi nilai 0 sehingga hasil skoring pita berupa data biner. Data hasil skoring dianalisis dengan menggunakan program *sequential agglomerative hierarchial and nested* (SAHN)-UPGMA (*unweighted pair-group method with arithmetic*) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1 (Rohlf, 2000). Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram. Selanjutnya, data hasil skoring juga dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *PowerMarker* 3.25 (Liu dan Muse, 2005) untuk mengetahui nilai frekuensi alel

utama, diversitas genetika, dan *polymorphic information content* (PIC) yang dihasilkan oleh marka-marka yang digunakan dalam penelitian ini.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Polimorfisme

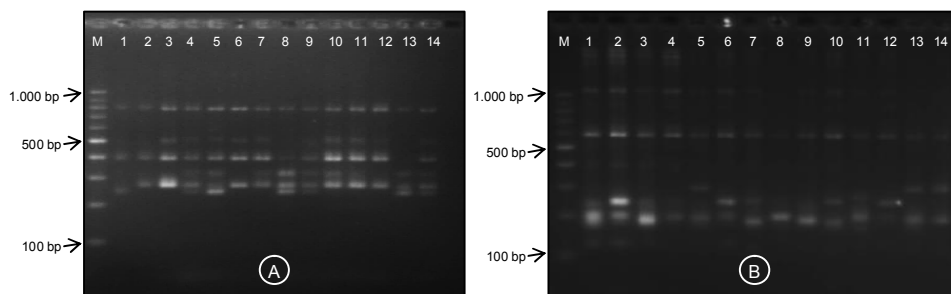
Pada penelitian ini telah disurvei tingkat polimorfisme 14 plasma nutfah kentang menggunakan 19 marka. Berdasarkan hasil analisis, sebanyak 12 marka memperlihatkan polimorfisme pada genotipe yang diuji (Tabel 3). Sebanyak tujuh marka yang digunakan, yaitu RGH-SSR 19, RGH-SSR 25, RGH-SSR 37, RGH-SSR 42, StSTSV2, StSTSV3, dan StStA2, bersifat monomorfik. Hasil amplifikasi DNA yang diperoleh berukuran antara 200–500 pasang basa (bp) (Gambar 1). Pita-pita yang ukurannya terletak di atas 500 bp tidak diikuti dalam analisis selanjutnya karena target dari marka yang digunakan bukanlah pita-pita yang tersebut. Adanya pita yang terletak di atas ukuran target diduga akibat tipe kromosom kentang yang tetraploid ($2n = 4X = 48$) sehingga pola pita yang dihasilkan menjadi lebih banyak. Marka *resistance gene homologue* (RGH) yang tersebar di seluruh kromosom pada genom kentang ternyata mampu menunjukkan polimorfisme kentang yang diteliti pada studi ini. Marka RGH merupakan marka yang dikembangkan berdasarkan *genome wide genetic map* NB-LRR terkait ketahanan penyakit pada tanaman kentang (Bakker *et al.*, 2011).

Keragaman genetika yang cukup tinggi dapat dideteksi dari empat belas aksesi kentang yang digunakan dalam penelitian ini. Sebanyak 60 alel terdeteksi berdasarkan 12 marka polimorfik. Rerata jumlah alel dari marka SSR hasil amplifikasi sebanyak 5 alel per marka dengan kisaran antara 2–9 alel per lokus. Jumlah alel yang terdeteksi pada penelitian ini masih lebih rendah dibanding dengan penelitian Barandalla *et al.* (2006) yang menganalisis 41 kultivar kentang asal Pulau Tenerife Spanyol, terdeteksi 67 alel dengan kisaran antara 1–6 alel per lokus SSR yang digunakan. Namun demikian, rerata jumlah alel yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi daripada penelitian Kandemir *et al.* (2010) yang menganalisis 15 varietas kentang asal Anatolia Turki dan berhasil mendeteksi 3,75 alel per marka berukuran 77–240 bp dengan kisaran 2–6 alel per lokus SSR. Ukuran alel yang diperoleh pada penelitian ini memiliki kisaran antara 120 bp hingga 500 bp. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Ghislain *et al.* (2004) menggunakan 24 marka dan 31 genotipe kentang menghasilkan kisaran ukuran alel antara 75–325 bp.

Rerata frekuensi alel utama yang dihasilkan adalah 49,42% dengan nilai terendah 35,71% (STG-

Tabel 3. Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, dan tingkat polimorfisme (PIC) yang dihasilkan dari empat belas varietas kentang.

Marka	Jumlah alel	Kisaran ukuran alel (bp)	Frekuensi alel utama	Diversitas gen	PIC
RGH-SSR 1	4	200–309	0,54	0,64	0,59
RGH-SSR 4	5	123–271	0,43	0,72	0,67
RGH-SSR 8	4	173–276	0,54	0,63	0,58
RGH-SSR 11	3	102–133	0,50	0,56	0,47
RGH-SSR 21	9	213–500	0,43	0,76	0,74
RGH-SSR 30	2	120–162	0,62	0,47	0,36
RGH-SSR 35	8	243–324	0,39	0,76	0,72
RGH-SSR 40	3	220–229	0,64	0,49	0,41
RGH-SSR 48	4	185–232	0,50	0,66	0,60
STI-0014	5	123–170	0,46	0,67	0,61
STG-0016	8	142–214	0,36	0,79	0,76
StSTSV1	5	129–263	0,54	0,62	0,56
Jumlah	60				
Rerata	5		0,49	0,65	0,59

**Gambar 1.** Hasil elektroforesis empat belas varietas kentang pada gel agarosa 4% menggunakan marka SSR. A = RGH-SSR 21, B = RGH-SSR 8. M = DNA *ladder* 100 bp (Vivantis, Malaysia), 1 = Atlantik, 2 = Granola Kembang, 3 = Repita, 4 = Merbabu 17, 5 = Medians, 6 = GM 05, 7 = CIP 397078.7, 8 = Maglia, 9 = CIP 394613.139, 10 = CIP 392781.1, 11 = Margahayu, 12 = Granola, 13 = Amabile, 14 = Tenggo.

0016) dan nilai tertinggi 63,64% (RGH-SSR 40). Nilai diversitas gen yang tertinggi ditunjukkan oleh marka STG 0016, yaitu 0,79, sedangkan nilai diversitas gen terendah ditunjukkan oleh marka RGH SSR 30, yaitu 0,47. Rerata nilai diversitas gen adalah 0,65. Nilai PIC yang merefleksikan tinggi rendahnya polimorfisme yang dihasilkan oleh 12 marka berkisar dari 0,36 sampai 0,76 dengan rerata 0,59. Nilai PIC terendah (0,36) dihasilkan oleh marka RGH SSR 30 dan nilai tertinggi (0,76) dihasilkan oleh marka STG 0016. Sementara itu, penelitian Barandalla *et al.* (2006) menghasilkan nilai PIC dengan kisaran antara 0 hingga 0,74.

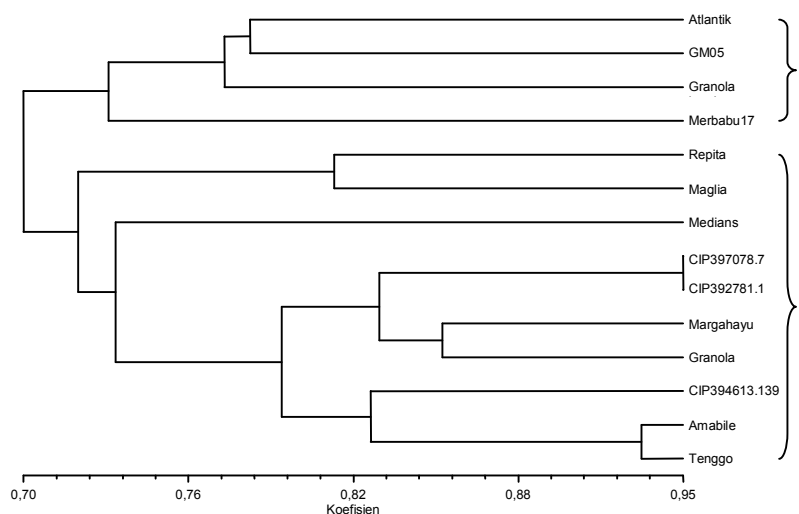
Selanjutnya, dari 12 marka yang polimorfik, sebanyak 9 marka menunjukkan nilai PIC >0,5 dan sisanya sebanyak 3 marka menunjukkan nilai PIC <0,5 (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa kesembilan marka tersebut merupakan marka yang informatif dan sangat bermanfaat untuk membedakan aksesori-aksesori kentang. DeWoody *et al.* (1995) menyatakan bahwa marka molekuler yang memiliki nilai PIC >0,5 merupakan marka yang efisien dalam mendiskriminasi genotipe-genotipe dan sangat berguna dalam mendeteksi tingkat polimorfisme pada lokus tersebut. Berdasarkan nilai PIC yang diperoleh, terdapat sembilan

marka yang dapat diaplikasikan lebih lanjut dalam mendukung program pemuliaan tanaman kentang, yaitu RGH SSR 1, RGH SSR 4, RGH SSR 8, RGH SSR 21, RGH SSR 35, RGH SSR 48, STI-0014, STG-0016, dan StSTSV1.

Jumlah primer yang potensial pada penelitian ini lebih banyak dibanding dengan hasil Schneider dan Douches (1997), yaitu dari 7 primer SSR yang digunakan pada 40 kultivar kentang di Amerika Utara, diperoleh 5 marka yang menunjukkan polimorfisme. Sementara, Kandemir *et al.* (2010) memperoleh hasil dari 16 marka yang digunakan terdapat 5 marka yang dapat digunakan untuk membedakan 15 kultivar kentang asal Anatolia, Turki.

Analisis Filogeni

Berdasarkan analisis kluster dengan menggunakan perangkat NTSYS, keempat belas plasma nutfah kentang tersebut memisah menjadi dua kelompok kekerabatan pada koefisien kesamaan 0,70 (Gambar 2). Kelompok pertama terdiri atas varietas Atlantik, GM 05, Granola Kembang, dan Merbabu 17, sedangkan kelompok kedua terdiri atas varietas Repita,



Gambar 2. Dendrogram empat belas varietas kentang hasil analisis kluster dengan metode UPGMA menggunakan program NTSYS berdasarkan pola pita SSR dan STS menggunakan dua belas marka.

Maglia, Medians, CIP 397078.7, CIP 392781.1, Margahayu, Granola, CIP 394613.139, Amabile, dan Tenggo. Dua kluster utama berdasarkan total marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini menggambarkan kekerabatan yang jauh antara kedua grup aksesi kentang, namun secara genetik aksesi yang berada dalam kluster yang sama lebih dekat kekerabatannya.

Varietas Atlantik dilaporkan tahan Nematoda Sista Kentang (NSK), toleran PVX, namun sangat rentan terhadap penyakit busuk daun, layu bakteri, dan degenerasi benih yang cepat karena virus (Kusmana dan Basuki, 2004). Varietas Maglia, Medians, dan Amabile merupakan varietas yang dibentuk dari hasil persilangan varietas Atlantik sebagai tetua betina dengan klon-klon introduksi dari CIP yang memiliki karakter tahan busuk daun dan produktivitas tinggi (Kusmana, 2012). Klon CIP 397078.7, CIP 392781.1, dan CIP 394613.139 direkomendasikan oleh CIP sebagai klon toleran untuk suhu tinggi. Klon CIP397078.7 beserta varietas Ping 06 dan Atlantik dilaporkan toleran terhadap cekaman suhu tinggi (Handayani *et al.*, 2013). Klon CIP 397078.7, CIP 392781.1, CIP 394613.139, dan beberapa klon lainnya telah dilakukan uji adaptasi pada ekosistem dataran medium Kabupaten Majalengka, Subang, Sukamandi, dan Cianjur, serta telah didaftarkan sebagai VUB kentang medium toleran suhu tinggi dengan nama Olympus Agrihorti (Balitbangtan, 2015).

Marka SSR dan STS yang digunakan dalam penelitian ini mampu membedakan antara progeni dan tetuanya. Varietas GM 05 pada kelompok satu merupakan hasil persilangan varietas Granola dengan Michigan Pink (SK Menteri Pertanian Nomor 2079 Tahun 2009). Analisis dendrogram menunjukkan bahwa

varietas Granola terdapat pada kelompok kedua. Granola merupakan varietas introduksi asal Jerman Barat yang telah lama dibudidayakan di Indonesia. Granola memiliki ketahanan terhadap PVA dan PVY, namun rentan terhadap serangan layu bakteri (*Pseudomonas solanacearum*) dan busuk daun (*Phytophthora infestans*) (Setiawati *et al.*, 2007), sedangkan Michigan Pink merupakan varietas introduksi asal Amerika Serikat yang memiliki ketahanan terhadap penyakit busuk daun (*P. infestans*). Analisis dendrogram menunjukkan bahwa varietas GM 05 berada pada kelompok yang berbeda dengan tetuanya, yaitu varietas Granola, namun berdasarkan matriks kesamaan genetik keduanya memiliki kesamaan sebanyak 82% (Tabel 4). GM 05 merupakan varietas yang memiliki ketahanan terhadap serangan busuk daun (*P. infestans*), diduga sifat ini diwariskan dari tetua Michigan Pink, namun warna daging umbi GM 05 berwarna kuning mirip seperti tetua Granola.

Marka SSR dan STS yang digunakan dalam penelitian ini juga mampu mengelompokkan dua aksesi introduksi asal CIP, yaitu CIP 397078.7 dan CIP 392781.1. Kedua aksesi tersebut berada pada subkelompok yang sama dalam dendrogram dan memiliki nilai matriks kesamaan genetik 0,95 (Tabel 4). Sementara itu, satu aksesi introduksi lain, yaitu CIP 394613.139, memisah dari kedua aksesi tersebut dan mengelompok dengan varietas Amabile dan Tenggo. Aksesi CIP 394613.139 potensial untuk dikembangkan di Indonesia karena memiliki kesamaan genetik yang tinggi dengan dua varietas komersial yang telah dilepas di pasaran. Aksesi tersebut diharapkan mampu beradaptasi dengan baik saat dikembangkan di Indonesia. Sementara itu, varietas Repita berada da-

Tabel 4. Nilai matriks kesamaan genetika empat belas varietas kentang.

Varietas	Atlantik	Granola Kembang	Repita	Merbabu17	Medians	GM05	CIP397078.7	Maglia	CIP394613.139	CIP392781.1	Margahayu	Granola	Amabile	Tenggo
Atlantik	1,00													
Granola kembang	0,76	1,00												
Repita	0,75	0,75	1,00											
Merbabu17	0,71	0,75	0,69	1,00										
Medians	0,59	0,63	0,64	0,71	1,00									
GM05	0,78	0,78	0,76	0,73	0,67	1,00								
CIP397078.7	0,75	0,64	0,69	0,76	0,67	0,75	1,00							
Maglia	0,66	0,59	0,81	0,64	0,69	0,71	0,82	1,00						
CIP394613.139	0,68	0,58	0,63	0,66	0,78	0,69	0,80	0,75	1,00					
CIP392781.1	0,68	0,68	0,69	0,73	0,68	0,73	0,95	0,78	0,80	1,00				
Margahayu	0,76	0,73	0,68	0,81	0,73	0,75	0,85	0,73	0,81	0,81	1,00			
Granola	0,78	0,71	0,73	0,73	0,67	0,82	0,82	0,75	0,80	0,84	0,85	1,00		
Amabile	0,63	0,63	0,65	0,65	0,77	0,64	0,75	0,81	0,82	0,79	0,77	0,75	1,00	
Tenggo	0,64	0,68	0,66	0,73	0,81	0,69	0,80	0,78	0,83	0,83	0,81	0,80	0,93	1,00

lam kelompok kedua bersama dengan ketiga aksesori introduksi asal CIP. Repita merupakan hasil persilangan tetua CIP 382121.25 dengan 575049 (SK Menteri Pertanian Nomor 473 Tahun 2005). Varietas Repita dilepas Balitbangtan pada tahun 2005 yang hingga saat ini merupakan satu-satunya varietas kentang di Indonesia yang tahan terhadap penyakit busuk daun (*P. infestans*) sehingga varietas ini sering digunakan sebagai sumber ketahanan busuk daun dan dijadikan sebagai bahan tetua persilangan (Kusmana, komunikasi pribadi).

Marka pada penelitian ini juga mampu membedakan dua varietas dengan nama yang hampir serupa, yaitu Granola dan Granola Kembang. Menurut SK Menteri Pertanian Nomor 81 Tahun 2005, varietas Granola Kembang merupakan hasil seleksi tipe simpang (*off type*) dari varietas Granola. Varietas Granola Kembang berasal dari Pasuruan, Jawa Timur. Matriks kesamaan genetika menunjukkan terdapat 71% kesamaan di antara keduanya (Tabel 4). Menurut Ilyas (2010), tanaman tipe simpang dapat berasal dari keberadaan gen resesif dalam heterozigot, yang muncul saat tanaman heterozigot mengalami segregasi untuk karakter yang dipengaruhi oleh gen tertentu dalam siklus produksi berikutnya. Selain itu, menurut Ilyas (2010), tipe simpang juga dapat muncul akibat adanya tanaman *volunteer* (tanaman sisa musim sebelumnya) sehingga menyebabkan terjadinya penyerbukan yang tidak dikehendaki.

Berdasarkan matriks kesamaan genetika (Tabel 4), terdapat dua plasma nutfah, yaitu varietas Granola Kembang dan aksesori CIP 394613.139, yang memiliki nilai kesamaan genetika paling rendah, sebesar 0,58. Kedua plasma nutfah tersebut berpotensi untuk dijadikan tetua karena memenuhi salah satu syarat dalam penentuan tetua, yaitu kedua tetua memiliki jarak genetika yang jauh sehingga dapat menghasilkan keragaman genetika tinggi pada keturunannya.

KESIMPULAN

Di antara 19 marka yang digunakan pada penelitian ini, sebanyak 12 marka bersifat polimorfik dan dapat mendeteksi variasi 14 aksesori kentang. Marka polimorfik tersebut dapat mendeteksi 60 alel dengan kisaran 2–9 alel per lokus dengan rerata 5 alel per marka. Rerata nilai diversitas gen yang dihasilkan adalah 0,65 dan rerata nilai frekuensi alel utama yang dihasilkan adalah 49,42%. Nilai PIC yang diperoleh berkisar antara 0,36 dan 0,76 dengan rerata 0,59. Di antara 12 marka polimorfik tersebut, sebanyak 9 marka memiliki nilai PIC >0,5 sehingga dapat digunakan untuk analisis keragaman genetika tanaman kentang. Berdasarkan hasil analisis kluster, 14 plasma nutfah kentang mengelompok menjadi dua kelompok utama pada koefisien kemiripan genetika 0,70.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui Proyek Genom BB Biogen, APBN TA 2014 (1798.012.011). Penulis menyampaikan terima kasih kepada Tim Penelitian Genom BB Biogen dan Balitsa yang terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahagiawati. 2011. Peran markah molekuler dalam pemuliaan tanaman. Sinar Tani Edisi 16–22 Maret 2011, No. 3397, Tahun XLI.
- Bakker, E., T. Borm, P. Prins, E. van der Vossen, G. Uenk, M. Arens, J. de Boer, H. van Eck, M. Muskens, J. Vossen, G. van der Linden, R. van Ham, R. Klein-Lankhorst, R. Visser, G. Smant, J. Bakker, and A. Goverse. 2011. A genome-wide genetic map of NB-LRR disease resistance loci in potato. *Theor. Appl. Genet.* 123:493–508.
- Balitbangtan. 2015. Makalah usulan pendaftaran varietas kentang Olympus Agrihorti. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian. Jakarta.

- Barandalla, L., J.I. Ruiz de Galarreta, D. Rios, and E. Ritter. 2006. Molecular analysis of local potato cultivars from Tenerife Island using microsatellite markers. *Euphytica* 152:283–291.
- Badan Pusat Statistik. 2013. Luas panen, produksi, dan produktivitas kentang 2009–2013. Badan Pusat Statistik. http://bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=3&tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬ab=62. (diakses 18 November 2014).
- Brar, D.S. 2002. Molecular marker assisted breeding. In S.M. Jain, D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (eds.) *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherland. p. 55–83.
- Bredemeijer, M., J. Cooke, W. Ganal, R. Peeters, P. Isaac, Y. Noordijk, S. Rendell, J. Jackson, S. Roder, K. Wendehake, M. Dijcks, M. Amelaine, V. Wickaert, L. Bertrand, and B. Vosman. 2002. Construction and testing of a microsatellite containing more than 500 tomato varieties. *Theor. Appl. Genet.* 105:1019–1026.
- Chawla, H.S. 2002. *Introduction to plant biotechnology*. 2nd edition. Science Publishers, Inc. New Hampshire, US.
- DeWoody, J.A., R.L. Honeycutt, and L.C. Skow. 1995. Microsatellitemarkers in white-tailed deer. *J. Hered.* 86:317–319.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.
- Ghislain, M., D.M. Spooner, F. Rodriguez, F. Villamon, J. Nunez, C. Vasquez, R. Waugh, and M. Bonierbale. 2004. Selection of highly informative and user friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato. *Theor. Appl. Genet.* 108:881–890.
- Ghislain, M., J. Nunez, M. del Rosario Herrera, J. Pignataro, F. Guzman, M. Bonierbale, and D.M. Spooner. 2009. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Mol. Breed.* 23:377–388.
- Gupta, P.K., R.K. Varshney, and M. Prasad. 2002. Molecular markers: Principles and methodology. In S.M. Jain, D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (eds.) *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherland. p. 9–54.
- Hanáček, R., T. Vyhnánek, M. Rohrer, J. Cieslarová, and H. Stavčíková. 2009. DNA polymorphism in genetic resources of red pepper using microsatellite markers. *J. Hort. Sci.* 36(4):127–132.
- Handayani, T., P. Basunanda, R.H. Murti, dan E. Sofiani. 2013. Perubahan morfologi dan toleransi tanaman kentang terhadap suhu tinggi. *J. Hort.* 23(4):318–328.
- Ilyas, S. 2010. Ilmu dan teknologi benih, teori dan hasil-hasil penelitian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kandemir, N., G. Yilmaz, Y.B. Karan, and D. Borazan. 2010. Development of a simple sequence repeat (SSR) marker set to fingerprint local and modern potato varieties grown in central Anatolian Plateau in Turkey. *Afr. J. Biotechnol.* 9(34):5516–5522.
- Kusmana. 2012. Uji adaptasi klon kentang hasil persilangan varietas Atlantik sebagai bahan baku kripik kentang di dataran tinggi Pangalengan. *J. Hort.* 22 (4):342–348.
- Kusmana dan R.S. Basuki. 2004. Produksi dan mutu umbi klon kentang dan kesesuaiannya sebagai bahan baku kentang goreng dan kripik kentang. *J. Hort.* 14(2):246–252.
- Kwon, Y.S., J.M. Lee, G.B. Yi, S.I. Yi, K.M. Kim, E.H. Soh, K.M. Bae, E.K. Park, I.H. Song, and B.D. Kim. 2005. Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. *Mol. Cells* 19(3):428–435.
- Lestari, P., A. Risliawati, dan H.J. Koh. 2012. Identifikasi dan aplikasi marka berbasis PCR untuk identifikasi varietas padi dengan palatabilitas tinggi. *J. AgroBiogen* 8(2):69–77.
- Liu, K. and S.V. Muse. 2005. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics Research Center, North Carolina State University, Raleigh.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpC: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version: 2.1. Exeter Software, New York.
- Ruiz, J.J., S. Garcia-Martinez, B. Pico, M. Gao, and C.F. Quiros. 2005. Genetic variability and relationship of closely related spanish traditional cultivars of tomato as detected by SRAP and SSR markers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 130(1):88–94.
- Sanchez, A.C., D.S. Brar, N. Huang, Z. Li, and G.S. Khush. 2000. Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial blight resistance genes in rice. *Crop Sci.* 40(3):792–797.
- Saptadi, D., R.R.S. Hartati, A. Setiawan, B. Heliyanto, dan Sudarsono. 2011. Pengembangan marka *simple sequence repeat* untuk *Jatropha* spp. *J. Litri* 17(4):140–149.
- Schneider, K. and D.S. Douches. 1997. Assesment of PCR-based simple sequence repeats to fingerprints North American potato cultivars. *Am. Potato J.* 74:149–160.
- Setiadi. 2009. *Budidaya kentang, pilihan Berbagai Varietas dan Pengadaan Benih*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Setiawati, W., R. Murtiningsih, T. Handayani, dan G.A. Sopha. 2007. *Katalog teknologi inovatif sayuran*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Zainudin, A., Maftuchah, C. Martasari, dan T.J. Santoso. 2010. Keragaman genetik beberapa kultivar mangga berdasarkan penanda molekuler mikrosatelit. *Kongres III Komisi Daerah Sumber Daya Genetik*.