

Sidik Jari DNA 88 Plasma Nutfah Ubi Jalar di Indonesia Berdasarkan Delapan Penanda SSR

Nurul Hidayatun*, Chaerani, dan Dwinita W. Utami

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: nurulhi23@yahoo.com

Diajukan: 22 Maret 2011; Diterima: 22 Agustus 2011

ABSTRACT

DNA Fingerprinting of Indonesian 88 Sweet Potato Germplasm Based on Eight SSR Markers. Nurul Hidayatun, Chaerani, and Dwinita W. Utami. Indonesia possesses a great number of sweet potato varieties. Understanding the diversity and distribution of this genetic resource is essential for its management and future use. The objective of this study was to elaborate the molecular character as DNA finger print of Indonesian sweet potato germplasm. Eight fluorescent labeled SSR primers were used to amplify DNA of 88 sweet potato accessions consisting of improved varieties and landraces collected from 7 islands in Indonesia. The amplified products were detected using capillary electrophoresis method in CEQ Genetic Analysis System machine. A total of 135 alleles ranging from 8 to 36 alleles per locus with an average of 17 alleles were generated. Each accession had a unique microsatellite finger print marked by specific combination of 11 to 22 alleles in 8 SSR loci. Dendrogram generated by UPGMA based on simple matching coefficients produced 4 nonspecific groups at 80% similarity. The groups revealed the possibilities that the accessions were distributed from similar genetic resources.

Keywords: Sweet potato, DNA fingerprinting, SSR marker.

ABSTRAK

Sidik Jari DNA 88 Plasma Nutfah Ubi Jalar di Indonesia Berdasarkan Delapan Penanda SSR. Nurul Hidayatun, Chaerani, dan Dwinita W. Utami. Indonesia memiliki sejumlah besar varietas ubi jalar. Pemahaman mengenai keragaman dan penyebaran sumber daya genetik ubi jalar penting untuk pengelolaan dan pemanfaatannya di masa depan. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengkaji secara lebih mendalam karakter molekuler sebagai sidik jari DNA sumber daya genetik ubi jalar di Indonesia. Delapan primer SSR berlabel fluoresen digunakan untuk menggandakan DNA dari 88 akses ubi jalar yang terdiri atas varietas unggul dan lokal yang dikoleksi dari 7 pulau di Indonesia. Produk penggandaan pada mesin PCR dideteksi menggunakan metode elektroforesis kapiler pada mesin CEQ Genetic Analysis System. Sebanyak 135 alel dengan kisaran 8 sampai 36 alel per lokus dan rata-rata 17 alel per lokus terdeteksi. Tiap akses memiliki sidik jari SSR unik yang ditandai dengan kombinasi spesifik dari 11 sampai 22 alel pada 8 lokus SSR. Dendrogram yang dibangun menggunakan UPGMA ber-

dasarkan koefisien *simple matching* menghasilkan 4 kelompok yang tidak spesifik pada tingkat kesamaan 80%. Pengelompokan menunjukkan kemungkinan bahwa akses-aksesi tersebut tersebar dari sumber daya genetik yang sama.

Kata kunci: Ubi jalar, sidik jari DNA, marka SSR.

PENDAHULUAN

Ubi jalar banyak dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Berbagai karakteristik dan keunggulan ubi jalar menjadikan komoditas ini dipandang potensial untuk mendukung keamanan dan kelangsungan pangan, khususnya di negara berkembang (Huaman, 2002). Selain mempunyai nilai kalori relatif tinggi, ubi jalar juga mengandung karbohidrat, protein, serat, lemak, beta-karoten, berbagai asam amino, vitamin, dan berbagai unsur, seperti Ca, Mg, P, Fe, Na, dan K (Duke, 1983). Khusus pada ubi jalar ungu terdapat anti oksidan yang tinggi (Teow *et al.*, 2007). Ubi jalar juga mempunyai kemampuan hidup di lahan marginal dan toleran terhadap beberapa hama dan gulma.

Indonesia mempunyai tingkat keragaman genetik plasma nutfah ubi jalar yang tinggi dan merupakan salah satu dari 15 negara produsen utama ubi jalar dunia (Campilan, 2009). Di sebagian wilayah Papua, ubi jalar menjadi makanan pokok dan mencukupi 90% kebutuhan pangan sehari-hari. Wilayah ini merupakan pusat keragaman sekunder ubi jalar dunia (Yen, 1974 *dalam* Mok dan Schmiediche, 1998). Keragaman genetik yang tinggi ini bernilai penting dalam kaitannya dengan program pemuliaan tanaman, sehingga ubi jalar perlu dikonservasi untuk menghindari terjadinya erosi genetik.

Konservasi yang menjamin ketersediaan plasma nutfah disertai dengan informasi karakteristik, jumlah, dan distribusi keragaman genetik sangat berguna sebagai dasar pengembangan dan pemanfaatan plasma nutfah. Metode karakterisasi yang akurat sangat bermanfaat dalam pembentukan koleksi inti (*core collection*) sebagai upaya peningkatan efisiensi pengelolaan plasma nutfah.

Pemanfaatan penanda molekuler untuk karakterisasi plasma nutfah memberikan hasil yang lebih cepat, efektif, akurat, dan tidak bias oleh faktor lingkungan. Dalam pengelolaan plasma nutfah penanda molekuler semakin banyak digunakan untuk studi keragaman genetik, uji stabilitas dan integritas aksesori, dan evaluasi hubungan kekerabatan taksonomi (Rao, 2004). Penerapan metode ini dalam analisis plasma nutfah telah mampu mengidentifikasi adanya duplikasi aksesori dalam koleksi, sehingga dapat mengurangi jumlah aksesori yang harus dikelola (Rao, 2004; Elameen *et al.*, 2008). Selain itu, penanda molekuler juga dapat dimanfaatkan untuk identifikasi varietas untuk tujuan perlindungan varietas tanaman (Huaman dan Zhang, 1997). Penanda molekuler juga semakin banyak digunakan dalam pemanfaatan sumber daya genetik (Rao, 2004).

Simple Sequence Repeats (SSR) atau mikrosatelit, sangat berguna untuk berbagai analisis genetik seperti untuk memahami evolusi genom, analisis hubungan filogenetik antar taksa, pemetaan genetik, sidik jari DNA, dan pemetaan fisik. Saat ini, pemanfaatan SSR untuk studi keragaman genetik telah dilakukan pada banyak jenis tanaman (Brown dan Kresovich, 1996). Kelebihan SSR dibandingkan dengan penanda molekuler lain, yaitu penanda ini menghasilkan polimorfisme yang tinggi, bersifat kodominan, dan analisisnya hanya membutuhkan sampel DNA dalam jumlah yang relatif sedikit. SSR dapat mendeteksi jumlah alel dan tingkat heterosigositas yang tinggi dalam populasi. Karena diwariskan menurut Hukum Mendel, maka selain untuk penghitungan keragaman genetik dan pemetaan genetik, penanda ini juga dapat digunakan untuk seleksi genom hasil introgresi, penanda gen (*gen tagging*), dan seleksi galur pemuliaan tanaman berbasis penanda (*Marker Assisted Selection/MAS*) (Brown dan Kresovich, 1996).

Di Indonesia penggunaan penanda molekuler untuk penelitian ubi jalar belum banyak dilakukan (Hidayatun, 2005). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik dan mengeksplorasi profil/karakter DNA plasma nutfah ubi jalar Indonesia. Informasi mengenai keragaman genetik ubi jalar akan bermanfaat dalam usaha perbaikan genetik, upaya perlindungan varietas, dan peningkatan efisiensi pengelolaan plasma nutfah.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan 88 aksesori ubi jalar yang terdiri atas 8 aksesori ubi jalar varietas unggul, 6

aksesori klon harapan, dan 74 aksesori varietas lokal yang berasal dari berbagai wilayah (9 aksesori dari Banten, 18 dari Jawa Barat, 6 dari Jawa Tengah, 11 dari Sumatera, 1 dari Kalimantan, 5 dari Sulawesi Selatan, 7 dari Bali, 10 dari Nusa Tenggara Timur, 1 dari Manokwari, dan 6 aksesori dari Wamena). Varietas lokal dan varietas unggul diambil dari koleksi BB-Biogen Bogor, sedangkan klon harapan diperoleh dari Balai Penelitian Kacangkacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang.

Informasi dan sekuen dari 8 pasang primer SSR yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil penelusuran pustaka mengenai penggunaan SSR pada ubi jalar (Buteler *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2000; CIP, 2004). Sekuen dari 6 primer SSR dimodifikasi dengan tambahan 18 basa nukleotida pada ujung 5' (Tabel 1). Tambahan basa nukleotida ini merupakan sekuen primer universal M13 yang berfungsi sebagai adapter untuk penempelan primer universal M13 berlabel fluoresen dengan produk amplifikasi PCR dengan primer SSR (Chaerani *et al.*, 2009). Semua primer pesan dari Invitrogen Corporation, Carlsbad, USA.

Isolasi DNA

Tunas-tunas muda dari tanaman koleksi di KP Cikeumeuh dan KP Pacet diambil dan dikeringkan dalam oven. Setelah kering daun digerus hingga menjadi bubuk halus. Sebanyak 25 mg bubuk diekstraksi DNA-nya menggunakan metode dari Tanaka dan Nakatani (2001). Metode ini menggunakan larutan CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) sebagai buffer lisis, *chloroform isoamyl-alcohol* (24 : 1) sebagai pemisah DNA dari komponen protein, dan RNase sebagai pemurni DNA dari komponen RNA. Pemurnian lanjut dilakukan menggunakan etanol 70% dingin. DNA yang diperoleh dilarutkan dalam 100 µl TE. Pengukuran konsentrasi DNA dilakukan dengan membandingkan intensitas pita DNA sampel yang dimigrasikan bersama-sama dengan beberapa konsentrasi DNA λ baku dalam gel agarosa 1%. Untuk konsentrasi kerja, DNA diencerkan menjadi 10 ng/µl.

Amplifikasi Fragmen SSR dan Elektroforesis

Penggandaan DNA dilakukan dalam mesin PCR Engine Tetrad® 2 Peltier Thermal Cycler MJ Research. Komposisi larutan PCR dan kondisi PCR yang digunakan tergantung pada jenis primer (Tabel 1).

Deteksi fragmen hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis sistem kapiler dalam mesin Beckman Coulter CEQ 8000 Genetic Analysis System. Sebuah jendela penangkap sinyal pada mesin ini mendeteksi fragmen hasil amplifikasi berdasarkan kekuatan sinyal fluoresennya. Elektroforesis dilakukan secara

Tabel 1. Daftar primer SSR, kondisi PCR, dan panel *multiload*ing.

Primer dan warna pelabelnya	Panel <i>multi-loading</i>	Primer <i>forward</i> (5' ke 3')	Primer <i>reverse</i> (5' ke 3')	Ukuran alel (pb)	Reaksi PCR	Program PCR
ASUSP1 (D4)	1	TGT AAA ACG ACG GCC AGT ¹ GAC AAC GTA ACA TAC AGC ACC C	GAG GTT TGG AAG TAG GGT AGG AAG AC	125-150	1 ²	A ⁴
IB03 (D4)	1	TGT AAA ACG ACG GCC AGT AGT GTA GAG TTG AAG AGC GAG CA	CCA TAG ACC CAT TGA TGA AG	255-274	1	A
IB21 (D3)	1	TGT AAA ACG ACG GCC AGT GAT CGA GGA GAA GCT CCA CA	GCC GGC AAA TTA AGT CCA TC	171-207	1	A
IB324 (D2)	1	TGT AAA ACG ACG GCC AGT TTT GGC ATG GGC CTG TAT T	GTT CTT CTG CAC TGC CTG ATT C	137-156	1	A
ASUSP3 (D2)	2	TGT AAA ACG ACG GCC AGT CGT ATT CCT CGT CCG GTC TCC TCG	GCA GGG GCA TTT TCG TCA TTA ACA TC	155-270	1	A
ASUSP6B (D4)	2	TGT AAA ACG ACG GCC AGT CAG CCC ATA CAA ACT CAA ATC CAA C	CAT AGT CCA TGC TCG ATT GGC TTT CG	143-171	1	A
ASUSP16 (D4)	2	CCC ACA ACA TCT CCG CCT AC	CCC GCC ACT TCA TAC TCT CTT CAC TC	83-132	2 ³	B ⁵
IB316 (D3)	2	CAA ACG CAC AAC GCT GTC	CGC GTC CCG CTT ATT TAA C	123-147	2	B

¹Sekuen primer universal M13 yang berfungsi sebagai adapter penempelan primer M13 berlabel fluoresen dengan produk PCR primer SSR; ²1× buffer PCR, 0,25 mM dNTP, 2,5 mM MgCl₂, 0,15 µM primer *forward*, 0,35 µM primer *reverse*, 0,35 µM primer M13 berlabel fluoresen, 0,5 U *Taq*Polymerase, dan 25 ng DNA; ³1× buffer PCR, 0,3 mM dNTP, 0,75 mM MgCl₂, 0,3 µM primer *forward*, 0,3 µM primer *reverse*, 0,75 U *Taq*Polymerase, dan 20 ng DNA; ⁴5 menit denaturasi pada suhu 94°C diikuti dengan 30 siklus tahapan yang terdiri dari 30 detik denaturasi pada suhu 94°C, 45 detik penempelan primer pada suhu 55°C, 45 detik perpanjangan basa pada suhu 72°C, diikuti dengan 8 siklus tahapan yang terdiri dari 30 detik denaturasi pada 94°C, 45 detik penempelan primer pada suhu 53°C, 45 detik perpanjangan basa pada suhu 72°C, dan diakhiri dengan satu siklus perpanjangan basa pada suhu 72°C selama 10 menit; ⁵*touchdown* PCR: 4 menit denaturasi pada suhu 95°C diikuti dengan 13 siklus tahapan yang terdiri dari 45 detik denaturasi pada suhu 95°C, 45 detik penempelan primer pada suhu 61,5°C, 30 detik perpanjangan basa pada suhu 72°C dengan penurunan suhu 0,5°C per siklusnya, diikuti dengan 27 siklus tahapan yang terdiri dari 45 detik denaturasi pada 95°C, 45 detik penempelan primer pada suhu 55°C, 30 detik perpanjangan basa pada suhu 72°C, dan diakhiri dengan satu siklus perpanjangan basa pada suhu 72°C selama 5 menit.

*multiload*ing, yaitu dengan memuat beberapa produk PCR dari beberapa primer secara bersama-sama dalam satu sumur. Penyusunan set panel *multiload*ing mengacu pada warna dan kisaran ukuran alel yang dihasilkan dari masing-masing primer (Chaerani *et al.* 2009). Volume masing-masing hasil PCR yang dicampur dalam set *multiload*ing ditentukan berdasarkan pada kekuatan sinyal pelabel fluoresen yang diperoleh dari hasil optimasi (Hidayatun, 2005).

Koleksi Data

Keluaran dari program CEQ 8000 *Genetic Analysis System* berupa grafik dengan puncak-puncak (*peaks*) yang menunjukkan hasil amplifikasi. Setiap satu puncak yang representatif dianggap sebagai satu fragmen. Dengan mengikuti terminologi umum SSR sebagai penanda multialelik, setiap pasang primer dianggap sebagai satu lokus dan satu puncak dianggap sebagai satu alel. Identifikasi dan skoring alel dilakukan secara otomatis menggunakan "CEQ *Fragment Analysis software*" yang menghasilkan data fragmen berikut ukuran panjang basanya (pb). Data kontinyu yang dihasilkan dikelompokkan berdasarkan kategori yang mengacu pada motif ulangan (*repeat*) SSR yang diapit oleh setiap pasang primer SSR. Selanjutnya data dikonversi ke dalam sistem biner, yaitu skor '1' menyatakan kemunculan alel dan '0' untuk ketidakhadiran

alel. Data hilang (*missing data*) dinyatakan sebagai '-9'.

Analisis Kemiripan dan Analisis Gerombol (*Cluster Analysis*)

Analisis gerombol dilakukan untuk mengetahui pengelompokan antar aksesori ubi jalar. Dari data biner dibuat data matriks kemiripan (*similarity*) yang mencerminkan jarak taksonomis atau jarak genetik antar aksesori. Sebagai satu unit taksonomi, setiap aksesori dibandingkan dengan aksesori lain berdasarkan keberadaan alel yang dimilikinya. Penghitungan tingkat kemiripan antar aksesori dilakukan berdasarkan koefisien *simple matching* (Sokal dan Michener, 1958 dalam Sokal dan Sneath, 1962). Data matriks kemiripan ini dikelompokkan menggunakan prosedur SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical Nested clustering method*) menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method based on Arithmetic mean*). Kedua prosedur ini terdapat dalam *NTSYS-pc* ver. 2.01.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Primer SSR

Analisis terhadap 88 aksesori ubi jalar menggunakan 8 SSR mendapatkan 135 alel dengan rata-rata 17

alel per lokus SSR. Enam puluh satu alel (45%) di antaranya merupakan alel berfrekuensi $\leq 5\%$ dari seluruh aksesi (alel jarang). Primer ASUSP3 menghasilkan jumlah alel tertinggi (36), sedangkan IB324 terendah (Tabel 2).

Tiap pasang primer menghasilkan perbedaan kisaran ukuran dan jumlah alel yang teramplifikasi. Dalam penelitian ini terlihat kecenderungan adanya korelasi positif antara jumlah alel total dalam satu lokus dengan jumlah alel jarang yang terdeteksi pada setiap aksesi yang dianalisis. ASUSP3 dan ASUSP16 yang memiliki kisaran ukuran alel terluas (berturut-turut 115 dan 49 pb) menghasilkan jumlah alel total (36 dan 29 alel) dan jumlah alel jarang terbanyak (15 dan 12 alel). Kedua lokus ini juga menghasilkan 1-6 alel per aksesi ubi jalar (Tabel 3).

Nilai PIC (*Polymorphic Information Content*) yang menunjukkan tingkat kemampuan dari penanda SSR untuk membedakan antar aksesi yang diteliti, tingkat heterosigositas, dan keragaman genetik, sulit ditentukan pada spesies poliploid seperti ubi jalar. Frekuensi alel per lokus dalam kasus lokus multialelik tidak dapat dihitung meskipun penanda yang digunakan bersifat kodominan, karena dosis setiap alel tidak dapat ditentukan (De Silva *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2000). Karena keterbatasan tersebut, Zhang *et al.* (2000) menghitung heterosigositas aktual sebagai persentase aksesi yang heterosigot dari seluruh aksesi yang diteliti pada tiap-tiap lokus. Mengacu dari model perhitungan heterosigositas tersebut, diketahui primer ASUSP3 dan ASUSP16 dalam penelitian ini menghasilkan lokus dengan tingkat heterosigositas yang tinggi, berturut-turut 99 dan 96% (Tabel 2). Primer lain yang juga menghasilkan heterosigositas tinggi adalah primer IB316 dan IB21, berturut-turut 92 dan 68%. Sementara itu, primer ASUSP1, ASUSP6B, dan IB324 menghasilkan jumlah alel total dan alel jarang yang relatif sedikit dengan tingkat heterosigositas yang rendah ($< 13\%$).

Kekayaan Alel Ubi Jalar Indonesia

Setiap aksesi ubi jalar memiliki 11-22 alel dengan kombinasi yang beragam dari kedelapan lokus SSR yang diamati, dan pada setiap aksesi ditemukan 1-6 alel per lokus (Tabel 3, Gambar 1). Tingginya jumlah alel yang dihasilkan (135) menunjukkan kekayaan alel aksesi ubi jalar Indonesia dan mendukung pernyataan bahwa Indonesia merupakan salah satu pusat keragaman sekunder ubi jalar dunia. Fenomena yang sama juga terdeteksi oleh Hidayatun (2005) yang menganalisis 96 aksesi ubi jalar dengan 9 primer SSR dan mendeteksi sebanyak 118 alel. Tingginya jumlah alel pada ubi jalar dipengaruhi oleh tingkat ploidi dan pola persilangannya. Ubi jalar adalah spesies heksaploid (mempunyai 6 set kromosom), sehingga dalam satu lokus dapat ditemukan 1-6 alel.

Jumlah alel yang terdeteksi menunjukkan heterosigositas dari aksesi yang dianalisis. Kondisi munculnya satu alel mengindikasikan sifat homosigot, sedangkan ditemukannya lebih dari satu alel mengindikasikan sifat heterosigot pada suatu lokus tertentu. Sebagai contoh, Gambar 1 menunjukkan varietas Kuning yang homosigot pada lokus ASUSP1 dan IB324, dan heterosigot pada lokus IB21 dan IB03.

Kedelapan lokus yang diamati dalam penelitian ini dapat mendeteksi heterosigositas ubi jalar dengan tingkat antara 8 hingga 99% (Tabel 2). Yen (1982) menyatakan bahwa secara alami ubi jalar bersifat heterosigot, sehingga dalam satu lokus ditemukan lebih dari satu alel. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Karuri *et al.* (2010) bahwa 89 aksesi ubi jalar Kenya yang dianalisis dengan 6 primer SSR menunjukkan kisaran heterosigositas antara 20-100%.

Selain karena tingkat ploidinya yang tinggi, sifat serasi silang (*outcrossing, self incompatible*) menyebabkan ubi jalar secara alami bersifat heterosigot. Menurut Yen (1982), walaupun pada umumnya perbanyakan ubi jalar dilakukan secara vegetatif, kemung-

Tabel 2. Variasi ukuran dan jumlah alel pada 8 lokus SSR yang ditemukan dalam 88 aksesi ubi jalar.

Lokus	Kisaran ukuran alel (pb)	Jumlah alel	Alel dominan (pb) dan persentase frekuensinya ¹	Jumlah dan persentase alel jarang ²	Heterosigositas aktual (%) ³
ASUSP1	125-170	11	136 (77%)	9 (75%)	8,0
IB03	255-274	16	274 (66%)	5 (31%)	95,3
IB21	171-207	10	203 (56%)	4 (40%)	68,3
IB324	137-178	8	147 (52%)	4 (50%)	12,6
ASUSP3	155-270	36	172 (60%)	15 (41%)	98,9
ASUSP6B	140-171	10	153 (32%)	6 (60%)	10,0
ASUSP16	83-132	29	84 (61%)	12 (41%)	95,5
IB316	123-147	15	130 (50%)	6 (40%)	92,0

¹Alel dominan adalah alel dalam satu lokus tertentu yang dimiliki oleh $>30\%$ aksesi yang diteliti; ²Alel jarang adalah alel dalam satu lokus tertentu yang dimiliki oleh $\leq 5\%$ aksesi yang diteliti; ³Dihitung berdasarkan persentase aksesi heterosigot dari seluruh aksesi yang diteliti pada sebuah lokus.

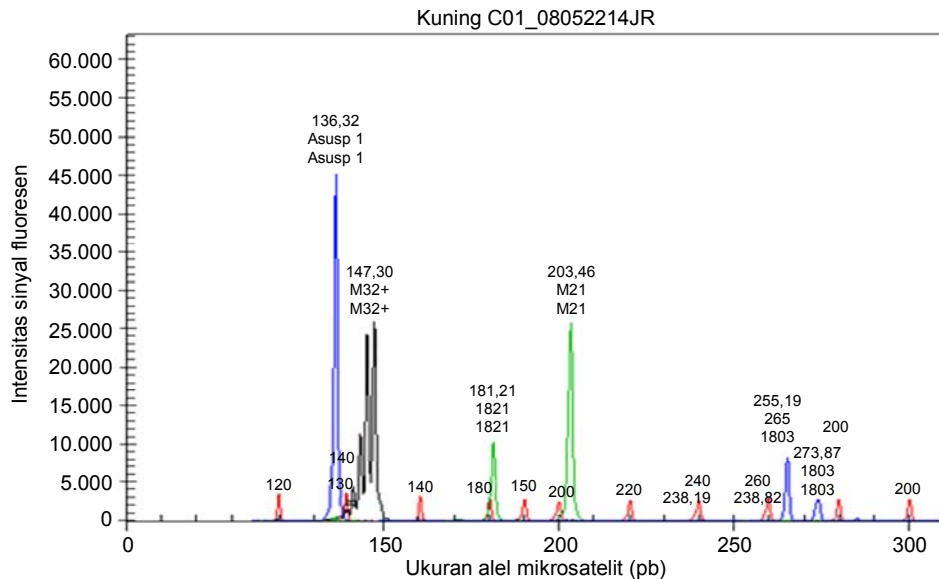
Tabel 3. Jumlah alel yang dimiliki oleh masing-masing aksesori ubi jalar pada 8 lokus SSR.

Nama aksesori	Kelompok/asal	Jumlah alel pada tiap lokus							Total alel per aksesori
		ASUSP1	ASUSP3	ASUSP6B	ASUSP16	IB03	IB21	IB316	
Boko	VUN ¹	1	4	1	3	3	2	3	18
Borobudur	VUN	1	4	1	4	2	2	3	18
Cangkuang	VUN	1	6	1	3	3	1	4	21
Kalasan	VUN	1	4	1	3	3	1	3	17
Kidal	VUN	1	3	1	4	3	2	3	17
Prambanan	VUN	1	4	1	3	1	1	1	13
Sari	VUN	1	4	0	5	2	2	1	16
Sewu	VUN	1	5	1	3	4	2	2	19
Ac Merah	Klon ²	1	6	1	4	2	3	1	22
Ac Putih	Klon	1	4	1	6	1	2	3	19
Ir Melati	Klon	1	4	1	3	2	2	3	18
Bogor Merah	Klon	1	4	1	5	5	2	3	22
Racik Kuning	Klon	2	4	1	2	3	2	4	19
Sawentar	Klon	1	3	1	3	3	2	3	17
Mantang Bayabon	Banten	1	3	2	2	1	0	1	11
Mantang Ceubug	Banten	1	3	1	1	2	2	2	13
Mantang Jambu	Banten	2	5	1	4	2	0	3	18
Mantang Racik	Banten	1	3	0	3	2	2	2	15
Mantang Waluh	Banten	1	5	1	2	3	1	3	17
Ubi Jalar Hijau	Banten	1	4	1	4	3	2	2	18
Ubi Jalar Merah	Banten	1	4	0	5	3	1	3	18
Ubi Jalar Putih	Banten	1	4	2	3	2	2	3	18
Ubi Jalar Ungu	Banten	1	3	1	4	3	2	3	18
Boled Kuning	Jawa Barat	1	2	1	3	2	1	2	13
Bulhok	Jawa Barat	1	3	1	2	3	1	2	14
Ciceh 32	Jawa Barat	2	3	0	6	2	2	3	19
Deli	Jawa Barat	1	4	1	3	4	2	2	18
Jahe	Jawa Barat	1	4	0	3	3	1	3	16
Jonggol	Jawa Barat	2	4	1	2	2	2	3	17
Lampeneng	Jawa Barat	1	2	0	3	2	2	3	14
Lombok	Jawa Barat	1	4	1	3	3	2	1	16
Mantang Merah	Jawa Barat	1	4	1	2	3	2	3	17
Selo Bali	Bali	1	4	1	3	4	2	3	19
Selo Banyuwangi	Bali	1	4	2	4	3	1	2	18
Selo Bun	Bali	1	5	0	3	2	2	3	17
Selo Dadag	Bali	1	4	1	3	4	1	4	20
Selo Gunung Kawi	Bali	1	3	1	3	2	2	3	16
Selo Klemen	Bali	1	4	1	3	3	2	2	17
Selo Metir	Bali	1	4	1	4	2	2	3	18
Bakok	Nusa Tenggara Timur	1	5	1	3	3	2	2	18
Bao	Nusa Tenggara Timur	1	5	1	1	2	2	3	16
Betong	Nusa Tenggara Timur	1	4	1	3	3	2	2	17
Ijeng	Nusa Tenggara Timur	1	3	1	4	2	2	3	17
Jangga	Nusa Tenggara Timur	1	6	1	2	2	2	4	19
Mentik	Jawa Barat	1	5	1	3	2	2	2	19
Nadri	Jawa Barat	2	5	1	3	3	1	3	19
No. 1	Jawa Barat	1	6	2	3	3	2	3	22
No. 113	Jawa Barat	1	4	1	4	3	2	4	20
No. 8	Jawa Barat	1	3	1	3	4	2	3	18
Papola	Jawa Barat	1	4	2	3	2	2	2	17
Roti	Jawa Barat	1	5	1	3	2	2	1	16
Sanggabuana	Jawa Barat	1	4	1	3	3	1	3	17
Unknown	Jawa Barat	1	4	1	2	3	1	3	16
Bestek Mangkokan	Jawa Tengah	1	3	1	4	3	1	3	17
Bogol Merah	Jawa Tengah	1	3	1	3	1	2	2	14
Ganteng	Jawa Tengah	1	4	1	2	3	2	2	16
L. Purbalingga	Jawa Tengah	1	2	1	4	2	0	2	13
Patangpuluhan	Jawa Tengah	1	3	1	3	3	3	3	18
Super	Jawa Tengah	2	4	1	3	3	1	2	17
Si Botol	Sumatera Utara	1	3	1	1	5	1	3	16
Gowi Doma	Sumatera Barat	1	4	1	3	2	0	2	14
Gowi Dumaduma	Sumatera Barat	1	3	1	3	3	2	2	17
Gowi Jari 2	Sumatera Barat	1	5	1	3	2	2	1	16
Gowi Mayo	Sumatera Barat	1	3	1	4	2	1	3	16
Gowi Siaali	Sumatera Barat	1	5	1	1	2	2	1	14
Gowi Sinali 5	Sumatera Barat	1	3	1	4	2	1	2	15
Gowi Sowo	Sumatera Barat	1	5	1	3	4	1	2	19
Goidohene 2	Sumatera	1	3	1	3	2	0	2	14
Markunah	Sumatera	1	4	1	3	0	2	3	15
Unknown Sumatera	Sumatera	1	5	1	4	3	1	2	19
Lokal Samarinda-3	Kalimantan	1	4	0	3	3	1	3	16
Lammelamba Keboh	Kalimantan	1	4	1	2	3	2	2	16
Mangole Pakau	Sulawesi Selatan	1	4	1	2	3	2	2	16
Ubi Ambon	Sulawesi Selatan	1	3	1	4	2	1	3	16
Ubi Merah	Sulawesi Selatan	1	5	2	6	3	1	2	21
Ubi Jalar 234	Sulawesi Selatan	1	5	1	3	3	2	3	19
Kempo	Nusa Tenggara Timur	1	4	1	4	2	2	3	18
Koja	Nusa Tenggara Timur	1	5	1	2	3	2	2	17
Manegot	Nusa Tenggara Timur	1	4	1	3	3	2	2	17
Telo	Nusa Tenggara Timur	1	3	3	2	3	2	2	17
Wunut	Nusa Tenggara Timur	1	5	1	3	3	1	2	17
Bekau Genenav	Manokwari	2	4	1	3	3	1	2	16
Hosit	Wamena	1	5	1	3	2	2	2	17
Ilival	Wamena	1	5	1	3	3	0	3	17
Kila	Wamena	1	4	2	3	3	2	2	18
Kua kue	Wamena	1	1	1	4	0	1	2	11
Kuning	Wamena	1	3	1	2	2	2	2	14
Musan	Wamena	1	4	1	4	3	2	0	17

¹VUN = Varietas Unggul Nasional, ²Klon = klon harapan hasil pemuliaan dari Balitkabi, Malang.

kinan terjadinya hibridisasi masih terpelihara, sehingga potensi terjadinya varian baru masih tinggi. Terutama pada wilayah di mana ubi jalar teradaptasi secara luas seperti di Papua, variasi alel yang tinggi lebih mungkin disebabkan oleh adanya persilangan yang terjadi secara kebetulan, dibandingkan penyebab lain, seperti mutasi somatik, pertukaran varietas antar area dan asal introduksi. Tingkat ploidi ubi jalar dan sifat serasi silang menyumbang pada tingginya heterosigositas yang kemudian difiksasi melalui propagasi secara vegetatif.

Pada penelitian ini tidak ditemukan penyempitan atau penurunan variasi alel yang merupakan fenomena yang umum terjadi sebagai akibat dari seleksi terus menerus dalam kegiatan pemuliaan. Varietas unggul dan klon harapan ubi jalar memiliki kisaran jumlah alel yang cukup tinggi (13-22 alel) dan tidak jauh berbeda dari jumlah alel yang dimiliki oleh varietas lokal (11-22 alel). Bahkan dari tiga aksesori yang memiliki jumlah alel tertinggi (22 alel), dua di antaranya merupakan klon harapan, yaitu Ac Merah dan Bogor Merah. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat penurunan variasi



Gambar 1. Elektroforegram aksesi Kuning yang dianalisis dengan empat primer SSR ASUSP1 (warna biru, 136 pb), IB324 (hitam, 145 pb), IB21 (hijau, 182 dan 204 pb), dan IB03 (biru, 265 dan 273 pb).

alel pada varietas unggul masih relatif rendah atau bahkan mungkin tidak terjadi. Program pemuliaan pada ubi jalar yang biasa dilakukan dengan sistem persilangan terbuka (*open pollination*) dengan memanfaatkan tetua yang beragam dan sistem silang ganda (*polycross breeding*) memungkinkan ikut dipertahankannya keragaman genetik varietas baru yang dihasilkan. Diketahui bahwa varietas unggul Indonesia merupakan hasil persilangan bebas dari klon-klon induk varietas lokal maupun klon turunan dari tanaman hasil introduksi (Suhartina, 2005).

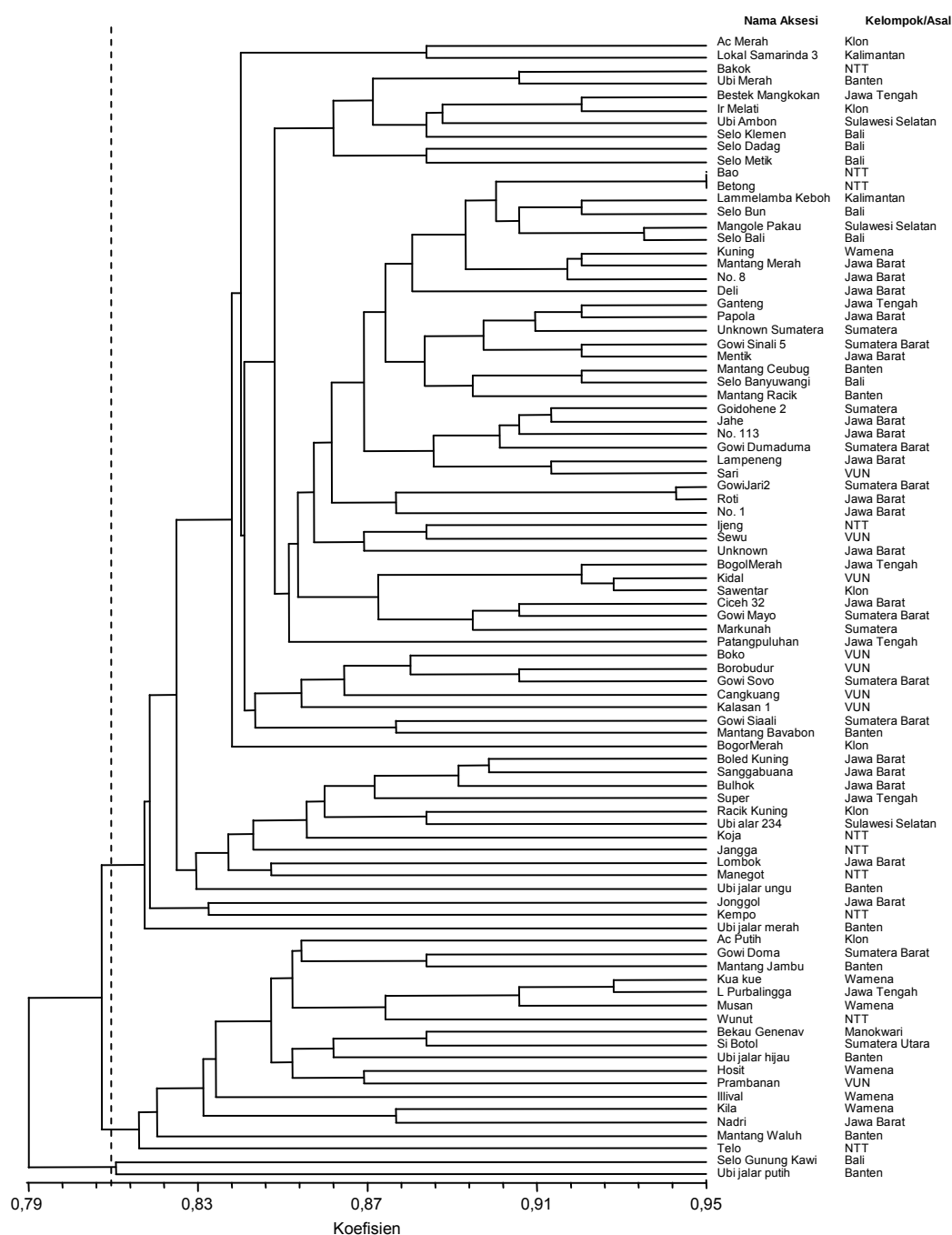
Keragaman Genetik dan Sidik Jari Ubi Jalar Indonesia

Setiap aksesi mempunyai identitas yang unik dan tidak ditemukan adanya aksesi yang identik. Tabel 3 menunjukkan bahwa setiap aksesi mempunyai kombinasi alel yang berbeda dari aksesi lainnya. Kombinasi alel yang unik ini menjadi identitas atau sidik jari dari masing-masing aksesi ubi jalar Indonesia. Selain kombinasi alelnya, keberadaan alel jarang pada setiap aksesi menyumbang keunikan pada komposisi alel yang dimilikinya. Dari seluruh alel yang terdeteksi, hampir setengah (45%) dari total alel yang diperoleh merupakan alel jarang.

Analisis gerombol juga menunjukkan keunikan dari setiap aksesi yang diteliti. Identitas setiap aksesi dan posisinya dalam dendrogram disusun dan ditentukan oleh kombinasi alel yang dimilikinya. Pada tingkat kemiripan 80% ke-88 aksesi ubi jalar terbagi dalam 4 klaster yang terdiri atas 2 klaster minor, yang masing-

masing beranggotakan hanya satu aksesi dan 2 klaster umum yang beranggotakan 86 aksesi lainnya. Kedua klaster umum ini membentuk beberapa subklaster. Pada tingkat kemiripan 95% hampir semua aksesi berdiri sendiri (Gambar 2). Aksesi Bao dan Betong (keduanya berasal dari Nusa Tenggara Timur) memiliki tingkat kemiripan yang sangat tinggi, dengan koefisien kesamaan sebesar 0,95 (data tidak diperlihatkan) dan tampak menempati satu garis yang sama pada dendrogram.

Alel-alel yang spesifik untuk suatu kelompok/wilayah tertentu tidak ditemukan di antara ke-88 genotipe. Hasil analisis gerombol juga menunjukkan bahwa secara keseluruhan tidak ada klaster atau subklaster yang secara jelas memisahkan aksesi ubi jalar berdasarkan kelompok/wilayah asalnya. Hal ini berarti bahwa kekayaan alel masing-masing kelompok/wilayah tinggi akan tetapi tidak jauh berbeda dengan kelompok/wilayah yang lain. Fenomena ini juga terlihat pada profil dendrogramnya yang menunjukkan bahwa pada tingkat kemiripan 80% aksesi ubi jalar terbagi menjadi hanya 4 klaster yang tidak dapat dibedakan berdasarkan kelompok atau asal wilayahnya. Kemiripan alel antar wilayah tersebut dimungkinkan oleh kesamaan asalnya. Berdasarkan karakter morfologi (Kurniawan, 2002) dan karakter DNA SSR-nya (Hidayatun, 2005) diduga bahwa Papua merupakan salah satu pusat asal atau jalur awal distribusi ubi jalar Indonesia. Mengacu pada Yen (1982), dimungkinkan bahwa di wilayah Papua terjadi pengayaan variasi genetik yang menyebabkan kekayaan alel yang tinggi, akan tetapi setelah terdistribusi pada berbagai wilayah



Gambar 2. Pengelompokan 88 aksesori ubi jalar berdasarkan 8 penanda SSR yang dianalisis dengan metode UPGMA dan koefisien kemiripan *simple matching*.

di Indonesia peningkatan variasi genetik kurang terdeteksi mengingat area pertanaman di luar Papua yang relatif lebih sempit dan penerapan sistem budi daya propagasi vegetatif.

Secara umum terlihat adanya variasi genetik yang tinggi antar genotipe, akan tetapi relatif rendah antar kelompok aksesori. Fenomena ini juga ditemui dalam

beberapa koleksi ubi jalar di Kenya (Karuri *et al.*, 2010), Brazil (Veasey *et al.*, 2008), dan Tanzania (Elameen *et al.*, 2008). Tingginya variasi genetik antar genotipe, yang ditunjukkan oleh jumlah kandungan alelnya, berkaitan dengan sifat heterosigositas ubi jalar, sedangkan rendahnya variasi genetik antar kelompok aksesori ditunjang oleh propagasi secara vegetatif.

KESIMPULAN

1. Primer ASUSP3, ASUSP16, IB316, dan IB03 menghasilkan lokus dengan tingkat heterosigositas yang tinggi (>90%) dan dapat digunakan sebagai pembedanya dari ubi jalar yang cenderung bersifat heterosigot.
2. Aksesori-aksesori ubi jalar Indonesia memiliki identitas unik pada 8 lokus SSR yang diteliti.
3. Kemiripan alel pada ubi jalar dari berbagai wilayah Indonesia diduga karena kesamaan asalnya. Variasi genetik yang tinggi merupakan sifat alami ubi jalar yang cenderung heterosigot dikarenakan tingkat ploidi dan sifat serasi silangnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Dr. Muhammad Jusuf dari Balitkabi, Malang atas bantuannya berupa informasi dan materi genetik ubi jalar. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Sujarno, Ma'sumah, dan Siti Yuriah atas bantuannya dalam koleksi sampel dan persiapan DNA. Penelitian didanai APBN 2007 nomor proyek 3209.0/018-09.0/XII/2007.1525.0460.A5.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, S.M. and S. Kresovich. 1996. Molecular characterization for plant genetic resources. p. 80-97. In A.H. Paterson (ed.) *Genome Mapping in Plants*. R.G Landes Company and Academic Press, Inc.
- Buteler, M., R.L. Jaret, and D.R. La Bonte. 1999. Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploid *Ipomoea*. *Theor. Appl. Genet.* 99:123-132.
- Campilan, D. 2009. Sweetpotato in Southeast Asia: assessing the primary functions of a secondary crop Part II. p. 469-478. In G. Loebenstein and G. Thottappilly (eds.) *The Sweetpotato* Springer Science and Business Media.
- Chaerani, N. Hidayatun, dan D.W. Utami. 2009. Pengembangan set multiplex penanda DNA SSR untuk analisis variasi genetik padi dan kedelai. *J. AgroBiogen* 5(2):57-64.
- CIP. 2004. Application for financial support in SP1 commissions and research: Application of molecular marker for gene pool division and heterosis estimation under drought stress condition in sweet potato. <http://www.generationco.org>. [April 2004].
- De Silva, H.N., A.J. Hall, E. Rikkerink, M.A. McNeillage, and L.G. Fraser. 2005. Estimation of allele frequencies in polyploids under certain patterns of inheritance. *Heredity* 95:327-334.
- Duke, J.A. 1983. *Handbook of energy crops*. Purdue University. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke-energy/dukeindek.html>. [Desember 2005].
- Elameen, A., S. Fjellheim, A. Larsen, O.A. Rognli, L. Sundheim, S. Msolla, E. Masumba, K. Mtunda, and S. S. Klemstad. 2008. Analysis of genetic diversity in a sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Tanzania as revealed by AFLP. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 55:397-408.
- Hidayatun, N. 2005. Pemanfaatan penanda SSR untuk studi keragaman genetik ubi jalar Indonesia. Tesis S2. Program Studi Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. 63 hlm.
- Huaman, Z. 2002. Botany, origin, evolution and biodiversity of the sweet potato. In *Sweet Potato: Sweet Potato Germplasm Management. Training manual sect 1-2*. CIP, Lima, Peru. p. 1-11.
- Huaman, Z. and D. Zhang. 1997. Sweetpotato. In D. Fuccillo, L. Sears, and P. Stapleton. (eds.) *Bio-diversity in Trust: Conservation on Use of Plant Genetic Resources in CGIAR*. Cambridge University Press, Cambridge, USA. p. 29-38.
- Karuri, H.W., E.M. Ateka, R. Amata, A.B. Nyende, A.W.T. Muigai, E. Mwasame, and S.T. Gichuki. 2010. Evaluating diversity among Kenyan sweet potato genotypes using morphological and SSR markers. *J. Agric. Biol.* 12:33-38.
- Kurniawan, H. 2002. Diversitas genetik plasma nutfah ubi jalar (*Ipomoea batatas* (L.) Lamb.) asal Indonesia berdasarkan analisis kluster karakter fenotipik. Tesis S2. Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Tanaman Bidang Kajian Utama Pemuliaan Tanaman. Universitas Padjadjaran, Bandung. 111 hlm.
- Mok, I.G. and P. Schmiediche. 1998. Collecting, Characterizing, and Maintaining Sweetpotato Germ-plasm in Indonesia. International Potato Center (CIP), ESEAP Regional Office, Bogor, Indonesia. <http://www.papuaweb.org/dlib/tema/ubi/mok-schmiediche-1998-germplasm.pdf>. [Mei 2011].
- Rao, N.K. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African J. Biotech.* 3(2):136-145.
- Sokal, R. and P.H.A. Sneath. 1962. *Principles of Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman. Co. San Francisco. London. 359 p.
- Suhartina. 2005. Deskripsi Varietas Unggul Kacangkacangan dan Umbi-umbian. Balai Penelitian Tanaman Kacangkacangan dan Umbi-umbian. Malang. hlm. 139-153.
- Tanaka, M. and M. Nakatani. 2001. Protocol for RAPD analysis of sweet potato. Apresiasi Introduksi Analisa DNA Ubi Jalar. Bogor, 6-7 Agustus 2001. hlm 1. (tidak dipublikasi).

- Teow, C.C., V. Truong, R.F. McFeeters, R.L. Thompson, K.V. Pecota, and G.C. Yencho. 2007. Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry* 103:829-838.
- Veasey E.A., A. Borges, M.S. Rosa, J.R. Queiroz-Silva, E.A. Bressan, and N. Peroni. 2008. Genetic diversity in Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Solanales, Convolvulaceae) landraces assessed with microsatellite markers. *Gen. Mol. Biol.* 31(3):725-733.
- Yen, D.E. 1982. Sweet potato in historical perspective. *In* R.L. Villareal and T.D. Grigs (eds.) *Sweet Potato. Proceeding of the First International Symposium*. AVRDC Publication. No. 82-172. Tainan. Taiwan.
- Zhang, D.P., D. Carbajulca, L. Ojeda, G. Rossel, S. Milla, C. Herrera, and M. Ghislain. 2000. Microsatellite analysis of genetic diversity in sweet potato varieties from Latin America. CIP Program Report. CIP Lima, Peru.
-