

SELEKSI UBI KAYU BERDASARKAN MARKA MOLEKULER

Enny Sudarmonowati, Dody Priadi, Nurhaidar Rahman, Santi Sugiharti, Hani Fitriani, Hartati, Nurhamidar Rahman, dan Jitno Rijadi

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. Jalan Raya Bogor Km.46. Cibinong 16911

ABSTRAK

Primer RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) yang berhasil digunakan untuk mengamplifikasi genotip ubikayu untuk analisis keterkaitan dengan komposisi pati pada tahun 2007 adalah OPB-3, OPB-13, OPH-1 dan OPF-19. Jumlah genotip yang berhasil diamplifikasi bervariasi antara 2 hingga 61, terbanyak dengan menggunakan OPB-3, diikuti oleh OPH-1. Total primer RAPD yang sudah berhasil diidentifikasi dan berpotensi sebagai penanda genetik kandungan amilosa/amilopektin sejak 2004/2005 adalah 11. Analisis berdasarkan AFLP masih perlu dioptimasi karena hasil yang diperoleh menggunakan primer P11-IRD700 belum optimal. Regenerasi embrio somatik menghasilkan banyak embrio berbentuk tabung sehingga sulit menghasilkan planlet. Pemanenan generasi kedua tanaman yang berasal dari kultur jaringan genotipe yang mempunyai kadar amilosa/amilopektin unggul menunjukkan variasi pada jumlah umbi, total berat basah umbi, ukuran umbi. Berdasarkan pengamatan morfologi pada generasi ketiga tanaman yang berasal Keseragaman meningkat pada generasi kedua dibanding generasi pertama dan kedua dari induk yang diperbanyak secara kultur jaringan pada genotip-genotip unggul hasil seleksi awal. Hasil persilangan buatan masih rendah yaitu 11,11% yang disebabkan beberapa hal antara lain curah hujan yang tinggi saat awal persilangan.

Kata kunci: ubi kayu (*Manihot esculenta*), amilosa, amilopektin, DNA, RAPD, AFLP, pati, embriogenesis somatik

PENDAHULUAN

Ubi kayu yang mempunyai kandungan amilosa atau amilopektin tertentu diperlukan dalam jumlah yang tinggi selain kandungan pati yang tinggi. Selain sebagai sumber pangan alternatif, kebutuhan ubi kayu untuk industri non pangan juga semakin tinggi. Kebutuhan industri berbasis pati ubi kayu semakin meningkat karena keterbatasan ketersediaan sumber pati lain seperti pati kentang dan diversifikasi produk. Permintaan produk dengan standar kualitas yang lebih tinggi menyebabkan industri memerlukan pati dengan spesifikasi tertentu seperti amilosa tinggi atau amilopektin tinggi. Untuk memperoleh genotip yang mempunyai sifat tersebut, diperlukan perbaikan sifat yang mengkombinasikan seleksi terhadap genotip-genotip lokal di Kebun Koleksi Puslit Bioteknologi-LIPI dibandingkan dengan varietas-varietas unggul dan genotip introduksi yang digunakan industri dan petani, dengan teknik molekuler. Penggunaan teknik molekuler bertujuan untuk mempercepat proses seleksi karena dapat mengidentifikasi penanda genetik yang berkaitan dengan karakter yang diinginkan. Penanda yang spesifik hanya dapat diperoleh bila penanda yang dibandingkan cukup banyak sehingga diperlukan identifikasi penanda-penanda dari genotip-genotip tersebut. Penanda genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) untuk dapat memberikan informasi awal yang bermanfaat dalam proses perbaikan genetik ubi kayu. Penelitian yang sebelumnya telah menghasilkan tiga primer polimorfik yang kemungkinan berkorelasi dengan komposisi pati pada beberapa genotip serta tiga primer baru yang pada beberapa genotip menghasilkan pita polimorfik, akan digunakan lebih lanjut untuk investigasi penanda DNA koleksi ubi kayu lainnya. Semakin banyak genotip yang

dapat diamplifikasi dengan menggunakan lebih banyak primer, akan semakin akurat kandidat penanda yang berkaitan dengan karakter yang diinginkan.

Penanda RAPD telah digunakan pada beberapa jenis tanaman seperti talas (Xixiang *et al.*, 2000), lentil (Reamon-Buttner *et al.*, (1996) dan Vigna (Kaga *et al.*, 1996). Pada ubi kayu genotip dari Amerika Selatan dan Afrika, penanda RAPD juga sudah digunakan untuk dikaitkan dengan ketahanan terhadap mosaik virus yang merupakan masalah utama di negara tersebut.

Perbanyak ubi kayu genotip yang berkarakter unggul dimaksudkan untuk mengembangkan teknik perbanyak yang sesuai, untuk mengetahui respon masing-masing genotip terhadap teknik perbanyak baik secara konvensional maupun secara *in vitro*, serta variasi genetik yang ditimbulkan bila perbanyak melalui kultur jaringan (*in vitro*) serta kestabilan variasi setelah beberapa generasi turunan. Selain multiplikasi tunas, pendekatan pembiakan *in vitro* lain yang dilakukan adalah embriogenesis somatik karena dalam kondisi yang optimal, teknik ini dapat menghasilkan bahan tanaman lebih banyak serta merupakan bahan yang paling ideal untuk perbaikan sifat melalui transformasi genetik.

Tujuan penelitian adalah (1) Memperoleh primer yang lebih banyak yang lebih sesuai untuk dijadikan penanda DNA yang berkorelasi dengan kandungan amilosa tinggi atau dengan yang berkandungan amilosa rendah pada ubi kayu, (2) Konfirmasi genotip lokal superior yang diseleksi pada tahun sebelumnya, (3) Membiakkan genotip lokal superior melalui stek, multiplikasi tunas *in vitro* dan “*friable embryogenic callus*”,

Sedangkan sasaran penelitian adalah (1) Minimal 3 primer acak RAPD baru yang sesuai yang dihasilkan untuk identifikasi korelasi komposisi pati dan penanda genetic, (2) Sebanyak minimal 3 genotip lokal superior

yang dikonfirmasi hasil dan komposisi pati di lapang, (3) Bahan tanaman untuk propagasi konvensional dan *in vitro* (tunas pucuk dan kalus embriogenik) dihasilkan untuk propagasi masal dan perbaikan genetik.

BAHAN DAN CARA KERJA

Tempat penelitian

Penelitian umumnya dilakukan di laboratorium Genetika Molekuler, Bidang Biologi Molekuler. Penanaman hasil *in vitro* dilakukan di rumah kaca dan Kebun Penelitian, sedangkan pemeliharaan koleksi dilakukan di Kebun Koleksi Puslit Bioteknologi-LIPI di Cibinong, Bogor. Persilangan buatan juga dilakukan di Kebun Koleksi, Puslit Bioteknologi-LIPI.

Ekstraksi DNA

DNA genotip ubi kayu koleksi diekstraksi dengan menggunakan metoda prosedur Gilies (1997) yang dimodifikasi yang dikembangkan di laboratorium yang telah dilaporkan pada Laporan Teknis 2004-2006. Ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Puslit Bioteknologi-LIPI.

Primer dan kondisi analisis RAPD

Primer yang dicoba dan digunakan untuk analisis yaitu OPB-3, OPB-13, OPH-1, OPH-17 dan OPF-19. Kondisi PCR yaitu pra PCR 94°C selama 3 menit dilanjutkan dengan 40 siklus dengan kondisi denaturasi 94°C, selama 12 menit, *annealing* pada suhu 35°C selama 24 detik, dan *extension* pada 72°C selama 2 menit, serta dilanjutkan dengan pasca PCR 72°C selama 7 menit.

Fragmen hasil amplifikasi dipisahkan pada 1.5% gel agarose menggunakan buffer TAE 1x. Visualisasi dilakukan menggunakan UV transiluminator dan produk amplifikasi dan didokumentasikan menggunakan kamera dan film Polaroid.

Analisis data terhadap pita yang divisualisasi pada agarose menggunakan software

Analisis data dilakukan dengan program software computer SPSS dan POPGENE versi 1.0 dan NTSYS yang berdasarkan ada tidaknya pita DNA pada gel agarose. Dendogram dikonstruksi berdasarkan masing-masing primer RAPD dan dibandingkan dengan gabungan beberapa primer. Analisis diskriminan dilakukan terhadap 59 sampel ubi kayu yang dikelompokkan berdasarkan kadar amilosa (rendah, sangat rendah, sedang, tinggi dan sangat tinggi)

Estimasi kadar pati dan Ekstraksi pati

Estimasi kadar pati dilakukan berdasarkan berat dalam air yang dibandingkan dengan berat di udara menggunakan nilai konversi. Ekstraksi pati dilakukan secara manual dengan menggunakan parutan dan kain kasa dan analisis kandungan pati dilakukan berdasarkan

metoda standar internasional yang dikembangkan oleh Horwitz (1990).

Sterilisasi, Media dan kondisi tumbuh tanaman in vitro dan induksi embriogenik kalus

Setelah daun pucuk ubi kayu dipisahkan dari batangnya kemudian dicuci dengan air mengalir dengan detergen selama 30 menit. Kemudian pucuk direndam dengan larutan HgCl₂ (0,05%) selama 3-4 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril hingga bersih dari sterilan yang masih menempel. Sterilisasi dengan HgCl₂ dilakukan secara aseptik di dalam laminar air flow. Daun pucuk yang telah disterilkan kemudian dipisahkan menurut ukurannya dan kemudian ditanam pada media perlakuan.

Lobe daun muda Adira 4, Iding, Rawi, Menti, Gebang, berukuran 1-3, 3-5 dan lebih besar dari 5 mm yang diisolasi dari tanaman di rumah kaca dan *in vitro* dibiakkan pada media induksi.

Stage I MS yang mengandung 8 mg/l 2,4-D mengulang yang dilakukan pada Triwulan I dan II dibandingkan dengan media sebelumnya yaitu 6 atau 10 mg/l pikloram, 6 mg/l NAA, 4 µM CuSO₄ dan 4% sukrosa, namun Media Stage II bervariasi yaitu 0.1 picloram + 0.01 mg/l NAA (MS-), 0,01 mg/l 2,4-D (MSII), 0.1 mg/l 2,4-D (MSIIA) atau 1.0 mg/l 2,4-D (MSIIB). Hal ini dilakukan karena penelitian terdahulu yang menggunakan 0.01 mg/l 2,4D (MS-) menyebabkan kalus embriogenik yang dihasilkan menjadi tidak terlalu berkembang karena konsentrasi 2,4-D terlalu rendah sedangkan kalus yang diperoleh masih dalam taraf awal. Lama inkubasi pada media tahap I adalah 2, 3 atau 4 minggu. Media multiplikasi tunas adalah MS tanpa zat pengatur tumbuh yang mengandung 2-4% sukrosa dan 0.8% agar Oxoid.

Semua kultur tanaman diinkubasi dan dipelihara di ruang kultur dengan suhu 25±1 °C dan lama penyinaran 16 jam. Pengamatan pertumbuhan stek dari tanaman asal kultur jaringan (turunan kedua) dan penanaman kembali stek turunan ketiga genotip-genotip superior di lapang

Pengamatan morfologi enam genotip ubi kayu (Adira 4, Menti, Rawi, Darul Hidayah, Tim-tim 29, Iding) stek dari induk hasil kultur jaringan dilanjutkan mencakup pengamatan terhadap warna daun muda dan tua, warna tangkai daun, warna batang muda dan tua, tinggi, jumlah cabang, ada tidaknya cabang bunga, tingkatan cabang bunga, ketahanan terhadap hama dan penyakit tertentu.

Sebelum panen dilakukan pengamatan morfologi lanjutan seperti tinggi, warna batang muda dan tua,

warna daun muda dan tua, bentuk daun, dan warna tangkai daun, sebelum panen juga diamati cabang bunga dan level cabang bunga serta ukuran daun terbesar dan terkecil. Parameter yang diamati adalah (dibedakan ukuran umbi kecil, sedang dan besar) per tanaman, ukuran umbi terbesar (panjang dan lebar), warna kulit luar dan dalam umbi, perkiraan kandungan pati dan berat kering (berdasarkan berat umbi di udara dan di air), warna daging mentah dan setelah masak umbi, warna umbi setelah disimpan beberapa hari, kandungan pati berdasarkan ekstraksi umbi.

Membuat populasi pemuliaan (breeding population) melalui persilangan buatan

Persilangan buatan dilakukan untuk membuat populasi pemuliaan menghasilkan F1 dan F2 atau BC (*Back Cross*) yang individunya akan dianalisis secara molekuler untuk memperoleh penanda genetik yang

berkaitan dengan kandungan amilosa/amilopektin. Oleh karena pada tahun 2007 jumlah individu yang berbunga di Cibinong relatif lebih banyak dibandingkan tahun-tahun sebelumnya, maka persilangan buatan dapat dilakukan di Cibinong, walaupun beberapa individu di kebun koleksi cukup tinggi dibandingkan bila tanaman ditanam di daerah dengan ketinggian 700-800 m di atas permukaan laut seperti di Batu, Malang. Persilangan buatan dilakukan dua kali. Persilangan pertama yang dipimpin oleh staf BALITKABI, Malang gagal disebabkan terlalu banyak air berasal dari hujan yang masuk ke plastik pembungkus beberapa hari setelah persilangan. Persilangan kedua dilakukan untuk memecahkan masalah pada persilangan pertama yaitu menggunakan kain kasa sebagai pembungkus. Pencatatan individu yang disilangkan dilakukan pada buku kecil khusus persilangan. Pengamatan dilakukan sejak persilangan dilakukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi genotip berdasarkan marka genetik

1. RAPD

Primer baru yang dapat mengamplifikasi DNA ubi kayu yaitu OPB-3, OPB-13, OPH-1 dan OPF-19 dengan demikian total primer yang berpotensi sebagai penanda genetik yang berkaitan dengan kandungan amilosa/amilopektin mencapai 11 sejak tahun 2004/2005. Gambar 1 memperlihatkan pita-pita DNA berbagai genotip ubi kayu yang diamplifikasi dengan primer OPB-3 dan OPH-1.

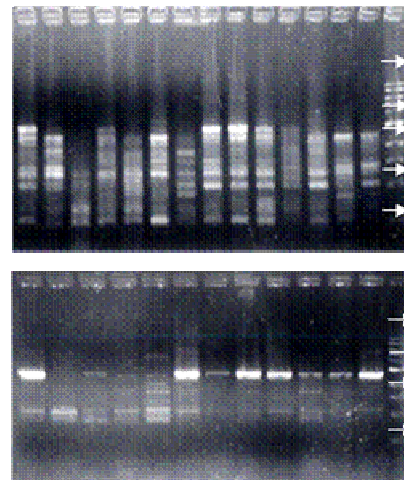
2. Analisis AFLP

Gambar 2 menunjukkan pita yang belum memisah baik pada optimasi AFLP ubi kayu menggunakan pasangan primer P11-IRD700. Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil yang belum optimal antara lain primer yang digunakan kemungkinan belum sesuai karena primer yang digunakan berbeda dengan yang pernah digunakan sebelumnya. Kemungkinan diperlukan optimasi prosedur untuk disesuaikan dengan kondisi “*setting*” yang baru. Akan dilakukan optimasi prosedur yang melibatkan primer dan konsentrasi reaksi yang digunakan.

Induksi kalus embriogenik dan regenerasi

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa eksplan dalam berbagai ukuran (1-3, 3-5 dan >5mm) setelah diinkubasi pada media MSI selama 4 minggu tidak dapat membentuk kalus. Eksplan genotip Adira IV, Rawi dan Menti yang berukuran 1-3 dan 3-5 mm yang diinkubasi pada media MS+ dapat membentuk kalus dengan persentase yang rendah 8,3 – 23,0 % tetapi tidak satupun kalus embriogenik. Pada genotip Menti kalus terbentuk hanya pada eksplan yang berukuran 3-5 mm (8,3%). Eksplan yang berukuran >5 mm semuanya tidak dapat membentuk kalus (Tabel 2 dan 3).

Kalus embriogenik atau kalus embriogenik yang telah berkecambah (Adira IV ukuran 3-5 mm dan Rawi 1-3 mm) hasil penelitian sebelumnya pada media MSII ditransfer ke media MSIIA setelah sebelumnya dipisahkan dari kalus non embriogenik di sekitarnya. Pada media tersebut kalus di subkultur setiap 2-3 minggu sekali sambil dipisahkan dari kalus non embriogenik yang kembali terbentuk.



Gambar 1. Hasil analisis RAPD pada ubi kayu menggunakan primer OPB-03 (atas) dan OPH-01 (bawah).

Keterangan :

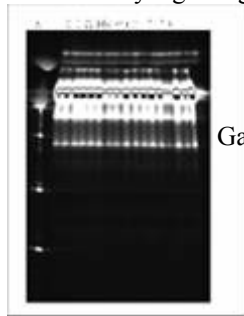
OPB-3

Kiri-kanan : Lane 1. Kabu-kabu, 2. Selengen, 3. Genjamfu, 4. Belo Lamban, 5. Belo Ketan, 6. Darul Hidayah, 7. DayoIV, 8. Batu raja, 9. Bic106, 10. 10012, 11. Samunah, 12. Pandemi, 13. Malaysia, 14. Bic285, 15. M 1Kb DNA ladder

OPH-1

Kiri-kanan: Lane 1. Kabu-kabu, 2. Selengen, 3. Genjamfu, 4. Belo Lamban, 5. Belo Ketan, 6. Darul Hidayah, 7. DayoIV, 8. Batu raja, 9. Bic106, 10. 10012, 11. Samunah, 12. Pandemi, 13. M 1Kb DNA ladder

Hingga saat ini pada kedua genotip tersebut belum terjadi perkembangan selanjutnya dari bentuk kecambah. Demikian pula kalus non embriogenik yang ditransfer dari media MSII ke media MSIIB tidak dapat membentuk kalus embriogenik. Penampilan genotip Adira IV dan Rawi setelah ditransfer ke media MSIIA dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4. Gambar 5 menunjukkan perkembangan embrio somatik pada media MS- yang mengandung 0,01 mg/l 2,4-D.



Gambar 2. Identifikasi sifat berdasarkan AFLP menggunakan primer P11-IRD700

Tabel 1. Jumlah genotip yang dapat diamplifikasi oleh primer pada periode 2004/2005-2007

No.	Primer RAPD	Jumlah genotip yang dapat diamplifikasi '04/'05	Jumlah genotip yang dapat diamplifikasi '06	Jumlah genotip yang dapat diamplifikasi '07
	1 primer			
1	OPB-10	0	43	
2	OPE-05	16	54	
3	OPE-15	96	99	
4	OPE-20	9	46	
5	OPF-04	31	31	
6	OPF-13	35	35	
7	OPH-17	35	58	1
8	OPB-3			61
9	OPB-13			28
10	OPH-1			58
11	OPF-19			2
	Kombinasi			
12	OPB-10,OPE-05, OPE-15,OPE-20, OPF-04,OPF-13, OPH-17		4	
13	OPB-10,OPE-05, OPE-15,OPE-20, OPF-04,OPH-17		13	
14	OPB-10,OPE-05, OPE-15,OPE-20, OPH-17		32	
15	OPE-05,OPE-15, OPE-20, OPH-17		35	
16	OPE-05,OPE-15, OPH-17		44	
17	OPE-05,OPE-15, OPE-20		41	
18	OPE-15,OPH-17		55	
19	OPE-15,OPE-20		44	
20	OPE-05, PE-15		53	
21	OPB-10, PE-15		42	

Uji kestabilan hasil generasi ketiga dari induk asal kultur jaringan

Pemanenan yang dilakukan pada umur 10 bulan menunjukkan perbedaan total berat umbi segar, jumlah

dan ukuran umbi. Pengamatan morfologi 6 genotip ubi kayu (Adira 4, Menti, Rawi, Darul Hidayah, Tim-tim 29, Iding) stek dari induk hasil kultur jaringan. Dibandingkan tanaman induk hasil kultur jaringan, pertumbuhan stek dari tanaman induk tersebut, yang dicerminkan dengan pertumbuhan daun yang lebih hijau dan lebat. Agar pertumbuhan seperti yang dipraktikkan petani ubi kayu, setelah berumur 2 bulan, cabang-cabang ubi kayu dibuang sehingga hanya tersisa dua batang termasuk batang utama. Secara umum, pertumbuhan stek yang berasal dari nomor yang sama, terlihat seragam kecuali individu nomor tertentu. Hasil juga menunjukkan bahwa generasi kedua lebih seragam dibandingkan generasi pertama. Perbandingan tinggi tanaman, hasil dan jumlah umbi generasi 1 dan 2 dapat dilihat pada Gambar 6.

Table 2. Pengaruh 8 mg/l 2,4-D yang ditambahkan pada media Stage-I pada tiga genotip superior

Genotypes	Leaf lobes (mm)	Stage-I Media composition	Explant producing initial embryogenic callus (%)
Iding	1-3	8 mg/l 2,4-D	11.1*
	3-5	8 mg/l 2,4-D	88.9*
	> 5	8 mg/l 2,4-D	37.5*
Adira 4	1-3	8 mg/l 2,4-D	30.8*
	3-5	8 mg/l 2,4-D	66.7*
	>5	8 mg/l 2,4-D	25.0*
Gebang	1-3	8 mg/l 2,4-D	13.3*
	3-5	8 mg/l 2,4-D	0.0
	>5	8 mg/l 2,4-D	75.0*

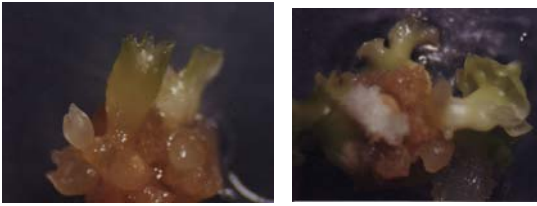
Tabel 3. Persentase kalus ubi kayu yang diinduksi selama 4 minggu pada media I dan MS+

Genotip	Media	Persentase pembentukan kalus (%)		
		1-3 mm	3-5 mm	>5 mm
Adira IV	MS I	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	MS +	8,7 (0,0)	23,0 (0,0)	0,0 (0,0)
Gebang	MS I	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	MS +	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
Rawi	MS I	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	MS +	12,5 (0,0)	16,7 (0,0)	0,0 (0,0)
Iding	MS I	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	MS +	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
Menti	MS I	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	MS +	0,0 (0,0)	8,3 (0,0)	0,0 (0,0)

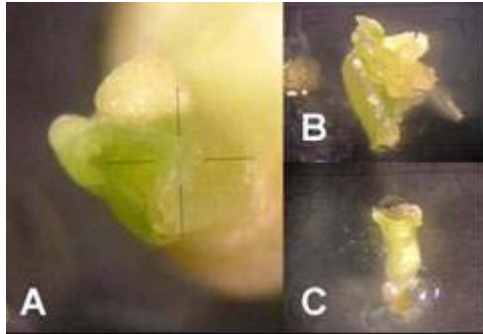
Keterangan : angka di dalam kurung adalah kalus embriogenik

Persilangan buatan sifat unggul

Keberhasilan persilangan buatan masih rendah yaitu 11.11%, namun demikian potensi untuk menyilangkan di dataran rendah dapat menjadi acuan di masa mendatang yang sebelumnya hanya dapat dilakukan di daerah diatas 700 m dpl.



Gambar 3. Pendewasaan embrio somatik Adira 4 (kiri) dan Gebang (kanan) pada media Stage-2 yang mengandung 0.01 mg/l 2,4-D

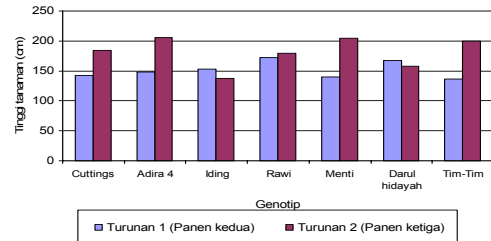
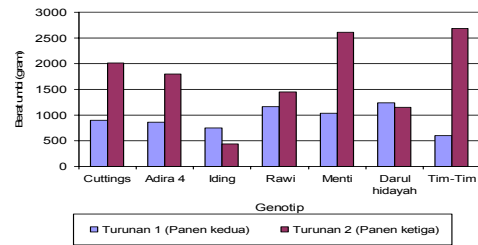
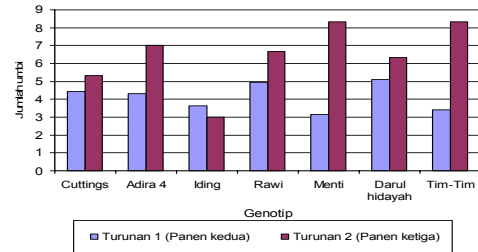


Gambar 4. Penampilan genotip Adira IV berukuran 3-5 mm yang ditransfer ke media MSIIA. A. Sebelum dipisahkan, B dan C. Setelah dipisahkan dari kalus friable



Gambar 5. Penampilan genotip Rawi berukuran 1-3 mm yang ditransfer ke media MSIIA. A dan B Sebelum dipisahkan, C dan D Setelah dipisahkan dari kalus Friable

Walaupun bukan tetua Iding yang berhasil disilangkan namun penguasaan teknik akan diperdalam untuk dapat melakukan hal yang sama di masa mendatang. Buah hasil silangan alami pada Odang (6) dan Gading (5) dikumpulkan dan dimonitor terus untuk kemudian dipanen. Daftar genotip yang disilangkan dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.



Gambar 6. Perbedaan tinggi tanaman, berat basah umbi dan jumlah umbi ubi kayu pada generasi satu dan dua dari induk asal kultur jaringan

Tabel 4. Persilangan ubi kayu yang dilakukan pada tanggal 24 Mei 2007

No.	Betina	Jantan	Keterangan
1.	Pandemir	Belo	2
2.	Pandemir	#	Open pollination
3.	Pandemir	Adira 1	6
4.	Odang	Adira 4	1
5.	Pandemir	Adira 1	2
6.	Iding	Adira 1	2
7.	Adira 1	#	Open pollination
8.	Odang	Adira 1	4
9.	Odang	Ketan	4
10.	Odang	Karet	4

Tabel 5. Persilangan ubi kayu yang dilakukan pada tanggal 11 Juli 2007

No.	Betina	Jantan	Keterangan
1.	Ketan	Iding	2 kasa pohon sama
2.	Pandemir	Iding	1 kasa
3.	Pandemir	Timtim	1 kasa
4 & 6	Baturaja	Adira IV	2 kasa pohon sama
5.	Pandemir	Iding	1 kasa
7.	Belo Mentega	Iding	1 kasa
8.	Lelen	Iding	1 kasa

KESIMPULAN

Primer OPB-3, OPB-13 dan OPH-1 berpotensi untuk digunakan lebih lanjut untuk memperoleh penanda genetik yang berkaitan dengan kandungan amilosa dan amilopektin yang diinginkan.

Induksi embriogenesis somatik dan regenerasinya sangat dipengaruhi komposisi media pada Stage 1 dan Stage 2, serta lama inkubasi di media induksi. Banyaknya embrio somatik berbentuk tabung yang sulit diregenerasi menghasilkan planlet mengindikasikan

perlu menggunakan zat pengatur tumbuh lain untuk mengurangi abnormalitas.

Hasil pada generasi kedua semakin seragam dan lebih tinggi dibandingkan induknya yang berasal dari kultur jaringan dan generasi pertama. Penampilan morfologi generasi ketiga lebih seragam dibandingkan generasi pertama pada genotip-genotip unggul hasil seleksi yang dicoba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kegiatan penelitian ini didanai oleh Proyek Penelitian Bioteknologi, LIPI tahun anggaran 2006. Ucapan terima kasih ditujukan pada Sdr. Nanang

Taryana, Minan dan Mawi yang telah membantu kegiatan di lapang dan kepada Sdr. Wahyuni untuk kegiatan analisis genetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Colombo C, Second G & Charrier A. 2004. Genetic relatedness between cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and *M. flabellifolia* and *M. peruviana* based on both RAPD and AFLP markers.
- Gillies ACM, Cornelius JP, Newton AC, Navaro N, Hernandez M & Wilson J. 1997. Genetic variation in Costa Rica populations of tropical timber species *Cedrela odorata* L. assessed using RAPDs. *Molecular Ecology* 6:1113-1115.
- Horwitz W. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. Thirteenth Edition. Association of Official Analytical Chemist. Washington.
- Kaga A, Tomooka N, Egawa Y, Hosaka K & Kamijima O. 1996. Species relationships in the subgenus *Ceratotropis* (genus *Vigna*) as revealed by RAPD analysis. *Euphytica* 88: 17-24.
- Reamon-Buttner SM, Wricke G & Frese L. 1996. Interspecific relationship and genetic diversity in wild beets in section *Corrolinae* genus *Beta* : isozyme and RAPD analyses. *Genet. Res. Crop Evaluation*. 43: 261-274.
- Sharma SK, Knox MR & Ellis THN. 1996. AFLP analysis of the diversity and phylogeny of *Lens* and its comparison with RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 93: 751-758.
- Thormann CE, Ferreira ME, Camargo LEA, Tivang JG & Osborn TC. 1994. Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationship within and among cruciferous species. *Theor. Appl. Genet.* 88: 973-980.
- Xixiang, Li, S. Di, Z. Dewei, Y. Yongping, X. Jianchu, Z. Mingde, P. Eyzaguirre & W.G. Ayad. 2000. A study on the ethnobotany and genetic diversity of taro in Yunnan, China. Twelfth Symposium of the International Society for Tropical Root Crops (ISTRC) Potential Root Crops for Food and Industrial Resources. Tsukuba, Japan, September 10-16, 2000.