



KERAGAMAN MORFOLOGI DAN MOLEKULER UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) HASIL PERBANYAKAN *IN VITRO*

Morphological and Molecular Diversity of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Resulted from *In Vitro* Propagation

Fajri Hartanti¹, Miftahudin², N Sri Hartati^{3*}

¹Biologi Tumbuhan, Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Sains, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

³Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor, Indonesia

Email: hartati12@yahoo.com

ABSTRACT

In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on medium containing plant growth regulator (PGR) may induce morphological variation. This study aimed to analyze the morphological and genetic diversity of 13 genotypes of cassava resulted from *in vitro* propagation and stem cuttings based on 11 vegetative characters and 7 ISSR markers. Morphological and genetic characters were scored and used for clustering using NTSYS-pc 2.11a. Roti control and Adira 4 control genotypes that were *in vitro* propagated without PGR addition showed different morphological characters with Roti variant and FEC-25 genotypes that were *in vitro* propagated with the addition of PGR. Morphological and molecular characters of 13 genotypes showed high diversity. Clustering analysis based on morphological characters classified the *in vitro* propagated and control plants into four groups at 45.6% similarity. Clustering analysis based on molecular characters classified the plants into three groups at 66.0% similarity.

Keywords: cassava, diversity, *in vitro*, ISSR, morphology

ABSTRAK

Perbanyakan tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) secara *in vitro* menggunakan zat pengatur tumbuh (ZPT) diyakini dapat menginduksi variasi morfologi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman morfologi dan molekuler dari 13 genotipe ubi kayu hasil perbanyakan *in vitro* dan perbanyakan dengan stek batang berdasarkan 11 karakter vegetatif dan 7 penanda ISSR. Karakter morfologi dan molekuler diskor untuk analisis kelompok menggunakan program NTSYS-pc 2.11a. Genotipe Roti kontrol dan Adira 4 kontrol yang merupakan hasil perbanyakan *in vitro* tanpa penambahan ZPT menunjukkan perbedaan variasi morfologi dengan genotipe Roti varian dan FEC-25 yang merupakan tanaman hasil perbanyakan dengan penambahan ZPT. Hasil analisis pada 13 genotipe menunjukkan adanya keragaman yang tinggi. Hasil analisis kelompok berdasarkan penanda morfologi memisahkan antara genotipe hasil perbanyakan secara *in vitro* yang ditambah ZPT dengan tanaman kontrolnya ke dalam 4 kelompok dengan nilai koefisien similaritas 45,6%. Hasil analisis kelompok berdasarkan penanda molekuler memisahkan antara genotipe hasil perbanyakan secara *in vitro* yang ditambah ZPT dengan tanaman kontrolnya ke dalam 3 kelompok dengan nilai koefisien similaritas 66,0%.

Kata Kunci: *in vitro*, ISSR, keragaman, morfologi, ubi kayu

PENDAHULUAN

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan bahan makanan pokok nomor tiga setelah padi dan jagung. Bagian tanaman ubi kayu yang dimanfaatkan sebagai bahan makanan adalah umbinya. Umbi ubi kayu memiliki nilai nutrisi berupa karbohidrat, protein, lemak, Fe, Zn, natrium, kalium, magnesium (Oluwaniyi dan Oladipo 2017), dan beta karoten (Adetoro et al. 2018; Hartati et al. 2012). Selain dimanfaatkan sebagai bahan makanan, ubi kayu dapat pula digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dan sebagai pakan ternak (Ademiluyi dan Mepba 2013; Wanapat dan Kang 2015). Konsumsi dan pemanfaatan ubi kayu yang cukup banyak menyebabkan tanaman ini banyak dibudidayakan di berbagai daerah, diantaranya Lampung, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Jawa Barat (BPS 2016).

Perbanyakan ubi kayu yang dilakukan secara generatif menggunakan biji mampu menghasilkan variasi genetik yang tinggi, tetapi umumnya perbanyakan tanaman ubi kayu dilakukan secara vegetatif menggunakan stek batang (Shigaki 2016). Perbanyakan tanaman secara vegetatif lainnya dapat dilakukan melalui teknik kultur *in vitro*. Teknik perbanyakan secara *in vitro* telah digunakan pada ubi kayu menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan beberapa zat pengatur tumbuh (ZPT) (Khumaida dan Fauzi 2013) dan media MS tanpa ZPT dengan modifikasi jenis pematid juga telah dicoba pada ubi kayu (Priadi et al. 2008).

Zat pengatur tumbuh 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) telah banyak digunakan dalam beberapa studi untuk melihat adanya variasi pada tanaman. Contohnya antara lain pemberian ZPT 2,4-D dengan konsentrasi 1, 2, dan 4 mg/L diberikan pada tanaman kentang varietas Cardinal, Diamant, dan Asterix yang dikoleksi pada Tuber Crops Research Centre (TCRC), Bangladesh Agricultural Research Institute (BARI) di Gazipur, Bangladesh. Ketiga konsentrasi 2,4-D yang diberikan mampu menumbuhkan kalus pada semua varietas kentang, namun hanya 4 mg/L 2,4-D yang menunjukkan adanya variasi pada pertumbuhan kalus (Hoque dan Morshad

2014). Pada penelitian lain yang telah dilakukan, perbanyakan bibit ubi kayu secara *in vitro* pada media MS ditambah dengan 0,5 mg/L Benzyl Amino Purin (BAP) pada genotipe Roti dan hasilnya menunjukkan adanya variasi morfologi. Perubahan morfologi pada planlet kultur *in vitro* terjadi sampai subkultur ke-9. Perbedaan yang secara signifikan mudah terlihat adalah warna tangkai daun yang berbeda dengan tanaman asal. Tanaman hasil kultur *in vitro* yang memiliki variasi morfologi selanjutnya disebut sebagai Roti varian (Hartati et al. 2012). Genotipe lain telah dicoba, adalah Adira 4 yang memiliki morfologi berbeda setelah disubkultur beberapa kali dalam media MS yang ditambah dengan 0,5 mg/L Picloram. Tanaman ubi kayu Adira 4 yang memiliki morfologi yang berbeda dengan tanaman asalnya selanjutnya disebut FEC-25 (Fitriani et al. 2014).

Munculnya variasi pada tanaman ubi kayu hasil perbanyakan secara *in vitro* dengan penambahan ZPT diduga dapat menambah variasi keragaman sumber daya genetik yang bermanfaat dalam upaya perakitan varietas baru. Selanjutnya, perlu dilakukan evaluasi morfologi dan molekuler tanaman hasil perbanyakan *in vitro* di lapang. Salah satu upaya untuk mengetahui keragaman morfologi adalah dengan melakukan deskripsi dan karakterisasi terhadap tanaman hasil perbanyakan *in vitro*. Pengkajian keragaman lebih lanjut dapat dilakukan dengan penanda molekuler. Beberapa penanda molekuler seperti RAPD (*Randomly Amplified Polymorphism DNA*) (Mahmood et al. 2010), ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) (Vidal et al. 2015), SSR (*Simple Sequence Repeat*) (Khan et al 2012) telah digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi keragaman genetik yang berpotensi variasi somaklonal pada tanaman hasil mikropropagasi.

Hasil analisis deskripsi, karakterisasi, dan pengelompokan genotipe dapat digunakan sebagai data dasar untuk membantu pengembangan koleksi inti dan plasma nutfah yang selanjutnya akan membantu program pengembangan varietas dan perakitan varietas baru berdasarkan sifat unggul yang ditentukan.

Tabel 1. Nama dan asal daerah 13 genotipe ubi kayu

No.	Genotipe/Symbol tanaman /sampel	Asal Daerah/Koleksi	Metode Perbanyakan
1	Adira4 (Adira4)	Cibinong, Bogor	Stek batang
2	Adira4 kontrol (Adirak4)	Cibinong, Bogor	Stek batang hasil <i>in vitro</i> tanpa ZPT
3	FEC-25 (FEC25)	Wageningen, Belanda	Stek batang hasil <i>in vitro</i> dengan ZPT (Picloram)
4	Roti (Roti)	LIPI, Bogor	Stek batang
5	Roti kontrol (Rotik)	LIPI, Bogor	Stek batang hasil <i>in vitro</i> tanpa ZPT
6	Roti varian (Rotiv)	LIPI, Bogor	Stek batang hasil <i>in vitro</i> dengan ZPT (BAP)
7	Adira1 (Adira1)	Bogor	Stek batang
8	Mentega1 (Ment1)	Singaparna, Tasikmalaya	Stek batang
9	Mentega2 (Ment2)	Sariwangi, Tasikmalaya	Stek batang
10	Ubi Kuning (Ubik)	NTT	Stek batang
11	Gebang (Gebang)	Cibinong, Bogor	Stek batang
12	Lombok2 (Lomb2)	Lombok	Stek batang
13	Iding (Iding)	Nagrak, Sukabumi	Stek batang

Hasil analisis deskripsi, karakterisasi, dan pengelompokan genotipe dapat digunakan sebagai data dasar untuk membantu pengembangan koleksi inti dan plasma nutfah yang selanjutnya akan membantu program pengembangan varietas dan perakitan varietas baru berdasarkan sifat unggul yang ditentukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman morfologi dan genetik 13 genotipe ubi kayu yang diperbanyak dengan stek biasa dan hasil perbanyakan secara *in vitro* yang selanjutnya diharapkan dapat digunakan untuk program pemuliaan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Agustus 2014 hingga Juni 2018. Pengamatan morfologi dilakukan di kebun plasma nutfah, Cibinong Science Center – Botanical Garden (CSC-BG) Pusat Penelitian Bioteknologi, sedangkan analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler dan Modifikasi Jalur Biosintesis Tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), serta Laboratorium Fisiologi dan Biologi Molekuler Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.

Bahan tanaman

Bahan tanaman yang diperoleh dari koleksi kebun plasma nutfah Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI yang digunakan berasal tiga belas genotipe ubi kayu terdiri dari stek hasil perbanyakan *in vitro* tanpa perlakuan ZPT, stek hasil perbanyakan *in vitro* dengan perlakuan ZPT 0,5 mg/L BAP dan Pikloram, dan hasil perbanyakan dengan stek batang sebagai pembanding (Tabel 1).

Penanaman dan karakterisasi morfologi

Analisis keragaman 13 genotipe ubi kayu yang berasal dari berbagai daerah di Indonesia dan hasil kultur *in vitro* ditanam di kebun Koleksi Plasma Nutfah Pusat Penelitian (Puslit) Bioteknologi – LIPI, Cibinong Science Center (CSC) – Botanical Garden (CSC-BG) (Tabel 1). Penanaman untuk evaluasi morfologi di lapang dilakukan pada tahun 2014. Sumber bibit yang digunakan berupa batang tanaman dewasa berukuran ± 5 cm sebagai sumber stek yang sebelumnya ditanam di kebun pembibitan. Jarak tanam adalah 80 x 100 cm. Jumlah tanaman yang dianalisis sebanyak 4 tanaman untuk setiap genotipe yang diambil dari 4 blok berbeda.

Karakterisasi morfologi dilakukan berdasarkan Panduan Pengujian Individual Kebaruan, Keunikan, Keseragaman, dan Kestabilan Ubi Kayu Kementerian Pertanian (PPVT 2007) dengan sebelas karakter morfologi (Tabel 2).

Tabel 2. Karakter morfologi yang digunakan untuk identifikasi keragaman 13 genotipe ubi kayu

No.	Jenis Karakter Morfologi	Jenis Variasi
1	Sudut cabang	1) 0°, 2) < 25°, 3) 35–50°, 4) > 65°
2	Warna batang bagian bawah	1) Hijau abu, 2) Abu-abu, 3) Cokelat terang, 4) Cokelat kekuningan, 5) Silver
3	Bentuk lobus	1) Lanset, 2) Lanset eliptik, 3) Pendurate
4	Jumlah lobus	1) 5 lobus, 2) 7 lobus, 3) 9 lobus
5	Warna tulang daun bagian atas	1) Hijau kekuningan, 2) Merah muda, 3) Merah
6	Warna tangkai daun bagian atas di batang bagian atas	1) Hijau, 2) Hijau muda, 3) Merah dengan warna hijau dekat batang, 4) Merah, 5) Hijau dengan spot merah ditangkai tengah, 6) Hijau kekuningan, 7) Merah semburat kuning, 8) Hijau dengan merah keunguan dekat daun
7	Warna tangkai daun bagian bawah di batang bagian tengah	1) Hijau, 2) Hijau kemerahan, 3) Hijau muda, 4) Merah, 5) Hijau kekuningan, 6) Merah kekuningan
8	Warna kulit luar umbi	1) Krem, 2) Cokelat terang, 3) Cokelat gelap
9	Warna lapisan kortek umbi	1) Pink, 2) Krem
10	Warna daging umbi	1) Putih, 2) Agak kuning, 3) Kuning
11	Jumlah lekukan umbi	1) Tidak ada, 2) Sedikit, 3) Sedang, 4) Banyak

Analisis kualitatif dan kuantitatif DNA

Isolasi DNA dilakukan menggunakan metode *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB). Pengujian kualitatif dilakukan dengan memvisualisasikan pada agarosa 1% yang ditambah dengan 5 μ L *peqgreen* kemudian dielektroforesis pada tangki berisi Tris base EDTA (TBE) selama 55 menit pada 100 V. Selanjutnya, divisualisasikan pada geldoc. Rasio kemurnian DNA terhadap

kontaminasi protein dan konsentrasinya diuji menggunakan nanospektrofotometer (*Genequant* 1300) yang diukur dengan perbandingan panjang gelombang 260/280 nm (λ 260/ λ 280).

Amplifikasi polimorfisme ISSR

Sampel DNA hasil isolasi kemudian diamplifikasi menggunakan 7 primer ISSR (Tabel 3). Total volume reaksi amplifikasi DNA adalah 13 μ L, dengan rincian 6 μ L Thermo Scientific DreamTaq green PCR master Mix (2x), 6 μ L ddH₂O, 2 μ L primer 1 μ M, dan 3 μ L dari 50 ng sampel DNA. Reaksi amplifikasi dengan kondisi sbb: predenaturasi pada 94°C selama 5 menit, diikuti 35 siklus, denaturasi pada 94°C selama 30 detik, *annealing* hasil optimasi pada suhu 45,7–49,7°C selama 45 detik; ekstensi pada 72°C selama 45 detik; dan ekstensi akhir pada 72°C selama 5 menit, terminasi pada suhu 15°C selama 5 menit. Alat yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA 13 genotipe ubi kayu adalah PCR ESCO Swift™ Maxi model SWT-MY-BLC-7 (Korea). Produk PCR selanjutnya dielektroforesis dan divisualisasikan pada UV-transiluminator (Wisedoc Germany).

Analisis data

Hasil karakterisasi morfologi dan molekuler berdasarkan penanda ISSR diskor untuk analisis keragaman genetik dan analisis kelompok. Perhitungan nilai similaritas dihitung berdasarkan koefisien kemiripan data kualitatif. Nilai similaritas digunakan untuk mengkonstruksi dendrogram berdasarkan *unweighted pair group method with arithmetic mean* (UPGMA) menggunakan program NTSYS-pc 2.11a, sedangkan diagram analisis komponen utama (PCA) menggunakan Past3.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiga variasi bentuk lobus daun yang ditemukan pada 13 genotipe ubi kayu yang diamati, adalah lanset, lanset eliptik, dan *pendurate*. Variasi bentuk lobus daun yang paling berbeda ditemui pada genotipe Gebang dengan bentuk *pendurate*, sedangkan genotipe lainnya berbentuk lanset hingga lanset eliptik. Tiga variasi warna pada warna tulang daun bagian atas, yaitu hijau kekuningan, merah muda, dan merah.

Tabel 3. Urutan sekuen DNA primer terpilih yang menghasilkan produk PCR polimorfik

Sekuen Primer (5'-3')	Annealing (°C)	Ukuran Fragmen	JP	JPP	PPP %
(GA)9T	48,7	750–1625	6	3	50,0
(CT)8T	48,7	500–1400	5	4	80,0
(GT)8T	48,7	675–1700	6	2	33,3
(AG)8T	45,7	500–1000	4	2	50,0
(AG)8C	45,7	675–1400	5	4	80,0
(AC)8T	45,7	450–1100	4	3	80,0
(AC)8YA	49,7	250–1300	5	3	60,0
Total			35	21	433,33
Rata-rata			5	3	62

Genotipe yang memiliki warna hijau kekuningan pada tulang daun bagian atas, adalah Adira 4, Adira 4 kontrol, Roti, Roti kontrol. Genotipe dengan warna merah muda pada tulang daun bagian atas ditemukan pada FEC-25. Genotipe dengan warna merah pada tulang daun bagian atas, adalah Mentega 2, Adira 1, Ubi kuning, dan Lombok 2. Empat genotipe lainnya, yaitu Roti varian, Gebang, Iding, dan Mentega 1 memiliki warna tulang daun bagian atas merah muda dan merah.












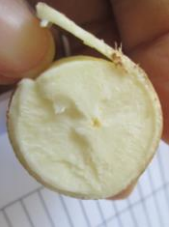














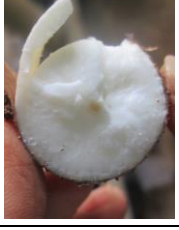


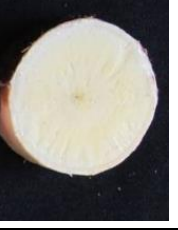





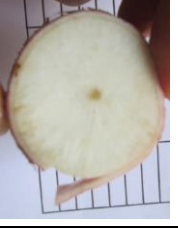



Variasi karakter tangkai daun terdapat pada warna tangkai daun bagian atas di batang bagian atas dan warna tangkai daun bagian bawah di batang bagian tengah (Gambar 1). Berdasarkan hasil pengamatan warna tangkai daun bagian atas di batang bagian atas berbeda dengan warna tangkai daun pada bagian yang lainnya. Hal ini disebabkan pada tangkai daun di batang bagian atas belum dewasa, masih ada perubahan warna. Warna tangkai daun yang bervariasi dapat dijadikan sebagai pembeda antar genotipe (Laila et al. 2015). Perbedaan warna tangkai daun bagian atas di batang bagian atas salah satunya ditemui pada genotipe Roti varian dengan warna tangkai daun merah kehijauan, sedangkan genotipe Roti kontrol berwarna hijau muda.

Sudut pada batang yang memiliki cabang bervariasi antara 36-70 derajat. Genotipe Roti kontrol, FEC-25, Adira 1, Mentega 1, dan Mentega 2 memiliki tipe percabangan satu dan dua, sehingga genotipe tersebut ada yang memiliki sudut cabang dan ada yang tidak. Variasi warna terdapat pada batang bagian bawah (Gambar

1). Variasi warna batang bagian bawah pada genotipe FEC-25, Roti kontrol, Roti, Roti varian, Ubi kuning, Mentega 1, Mentega 2, Lombok 2, dan Gebang adalah cokelat terang. Genotipe Adira 1 memiliki warna batang bagian bawah cokelat kekuningan. Genotipe Iding memiliki warna batang bagian bawah berwarna silver. Genotipe Adira 4 dan Adira 4 kontrol memiliki batang bagian bawah berwarna hijau abu-abu dan beberapa berwarna abu-abu.

Permukaan kulit luar umbi pada genotipe Adira 4, Roti kontrol, Roti varian, Adira 4 kontrol, Adira 1, Lombok 2, Gebang berwarna cokelat gelap, sedangkan genotipe FEC-25, Ubi kuning, Roti, Mentega 1, Iding, dan genotipe Mentega 2 berwarna krem. Variasi warna lapisan kortek yang teridentifikasi adalah *pink* dan krem. Lapisan kortek berwarna *pink* terdapat pada genotipe Adira 4, Adira 4 kontrol, Iding, sedangkan genotipe lainnya memiliki lapisan kortek berwarna krem. Pengamatan terhadap warna daging umbi menunjukkan bahwa terdapat 3 variasi warna, yaitu putih, agak kuning, dan kuning (Gambar 1).

Keragaman ubi kayu yang teridentifikasi pada 13 genotipe yang diuji menunjukkan adanya variasi morfologi. Variasi morfologi juga ditemukan pada 181 aksesori ubi kayu yang berasal dari seluruh pulau di Indonesia yang diidentifikasi berdasarkan 19 karakter morfologi (Laila et al. 2015). Lebih lanjut Derso dan Mahmud (2018) melaporkan adanya variasi warna pada daun, tangkai daun, ujung daun, dan permukaan kulit luar batang yang ditemukan pada empat varietas ubi kayu di Ethiopia.

Genotip	Karakter			Genotip	Karakter		
	Warna Tangkai	Warna Batang	Warna Umbi		Warna Tangkai	Warna Batang	Warna Umbi
Adira-4				Adira-1			
Adira-4 kontrol				Mentega-2			
FEC-25				Ubi kuning			
Roti				Gebang			
Roti-kontrol				Lombok-2			
Roti-varian				Iding			
Mentega-1							

Gambar 1. Variasi morfologi 13 genotipe ubi kayu hasil *in vitro* dan kontrol

Karakter warna tangkai daun juga menjadi karakter penting dalam membedakan antar 43 aksesi ubi kayu koleksi plasma nutfah di Ghana (Asare et al. 2011) dan digunakan sebagai karakter spesifik yang dapat membedakan 11 genotipe ubi kayu (Sudarmonowati et al. 2008). Sedangkan hasil penelitian Zago et al. (2017) 37 dari 38

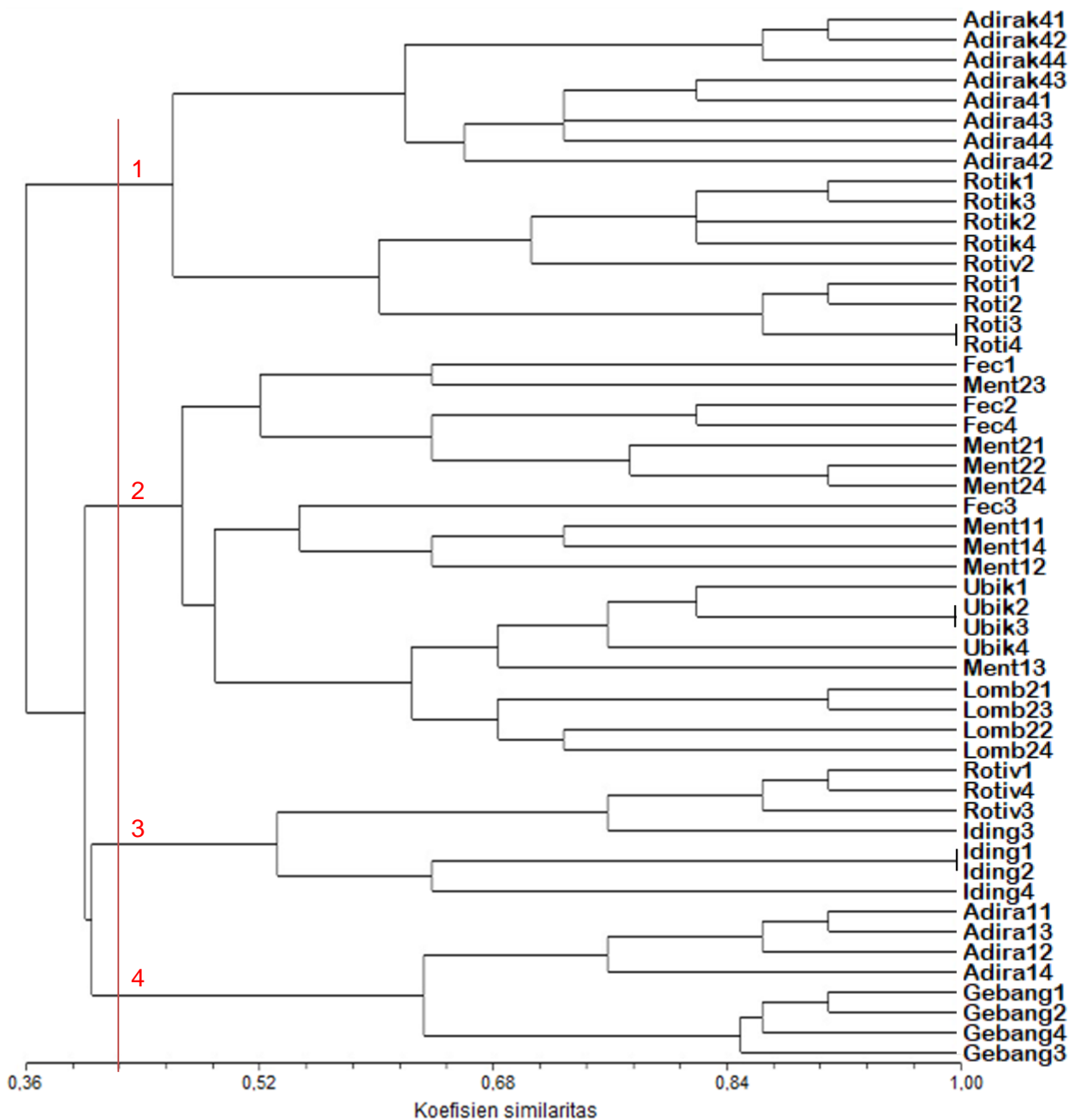
penanda morfologi yang digunakan untuk menganalisis aksesori ubi kayu di State of Mato Grosso, Brazil menunjukkan variasi.

Pengamatan terhadap variasi morfologi ubi kayu hasil perbanyakan *in vitro* pada genotipe Roti kontrol, Roti varian, Adira 4 kontrol, dan FEC-25 telah dilakukan pada penanaman pertama oleh peneliti di Laboratorium Genetika Molekuler dan Modifikasi Jalur Biosintesis Tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI (Fitriani et al. 2014). Hasil pengamatan morfologi ke-4 genotipe pada penanaman kedua secara

umum sama dengan hasil pengamatan yang telah dilakukan pada musim tanam pertama. Hal ini menunjukkan bahwa variasi yang ditimbulkan akibat pemberian ZPT stabil pada 2 periode penanaman menggunakan stek batang.

Analisis kelompok 13 genotipe ubi kayu

Hubungan kemiripan pada 13 genotipe berdasarkan 11 karakter morfologi memiliki nilai koefisien similaritas 36–100%. Dendrogram menunjukkan 4 kelompok utama memiliki nilai koefisien similaritas 45,6%

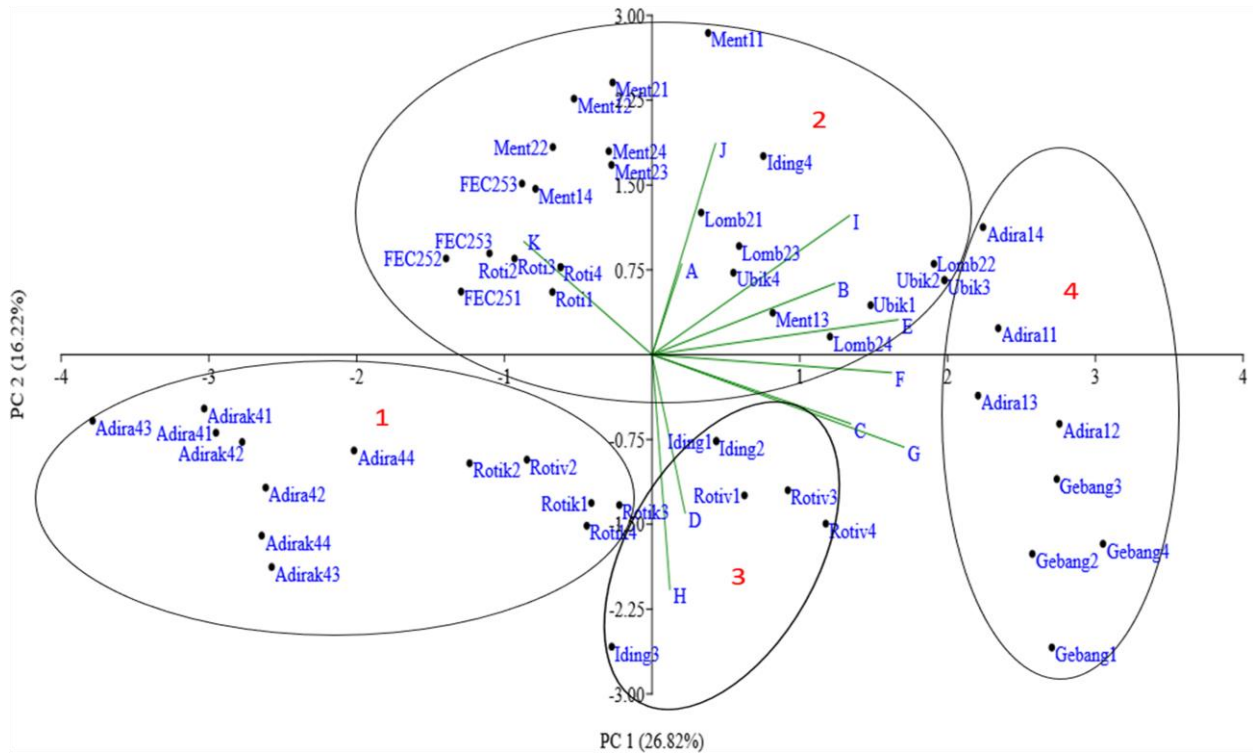


Gambar 2. Dendrogram 13 genotipe ubi kayu hasil *in vitro* dan kontrol berdasarkan 11 karakter morfologi yang dikonstruksi menggunakan UPGMA-NTSYS 2.11a

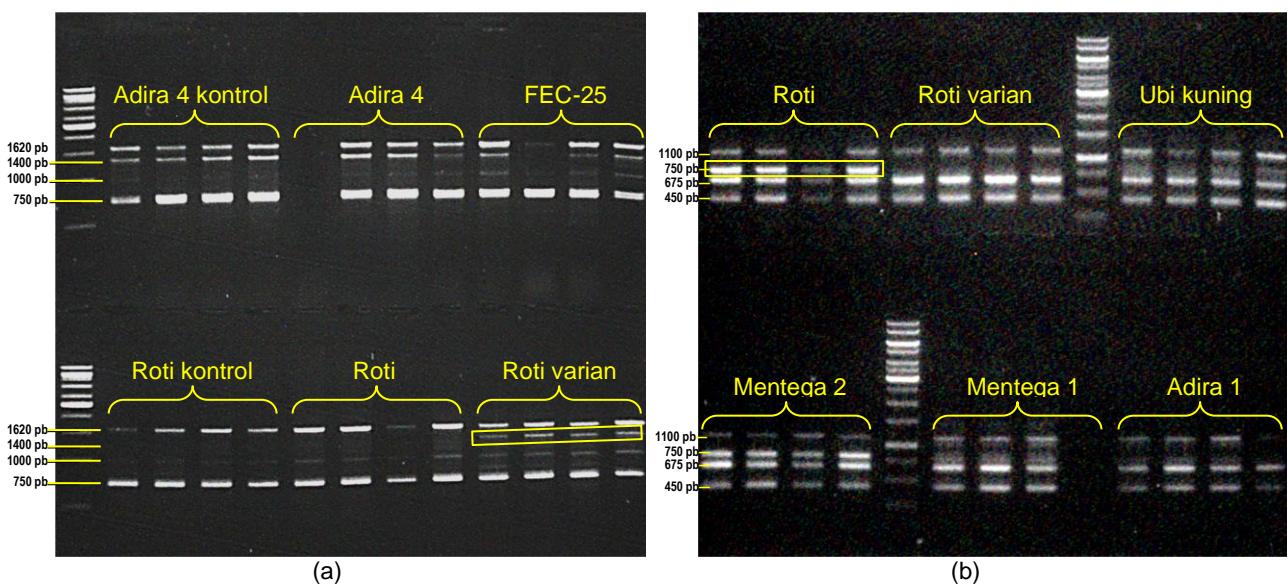
(Gambar 2). Kelompok 1 terdiri atas 4 genotipe dan satu tanaman dari roti varian. Kelompok 2 terdiri atas 5 genotipe (FEC-25, Mentega 1, Mentega 2, Ubi kuning, Lombok 2). Kelompok 3 terdiri atas 2 genotipe (Adira 1 dan Gebang). Kelompok 4 terdiri atas

genotipe Iding dan 3 tanaman dari genotipe Roti varian.

Hasil analisis dendrogram menunjukkan bahwa genotipe FEC-25 (Kelompok 2) terpisah dengan genotipe Adira 4 ataupun Adira 4 kontrol (kelompok 1). Hal yang sama terjadi pada genotipe Roti varian (kelompok



Gambar 3. PCA 13 genotipe ubi kayu hasil *in vitro* dan kontrol berdasarkan 11 karakter morfologi yang dikonstruksi menggunakan Past3. A: Sudut cabang, B: Warna batang bagian bawah, C: Bentuk lobus, D: Jumlah lobus, E: Warna tulang daun bagian atas, F: Warna tangkai daun bagian atas di batang bagian atas, G: Warna tangkai daun bagian bawah di batang bagian tengah, H: Warna kulit luar umbi, I: Warna lapisan korteks umbi, J: Warna daging umbi, K: Jumlah lekukan umbi

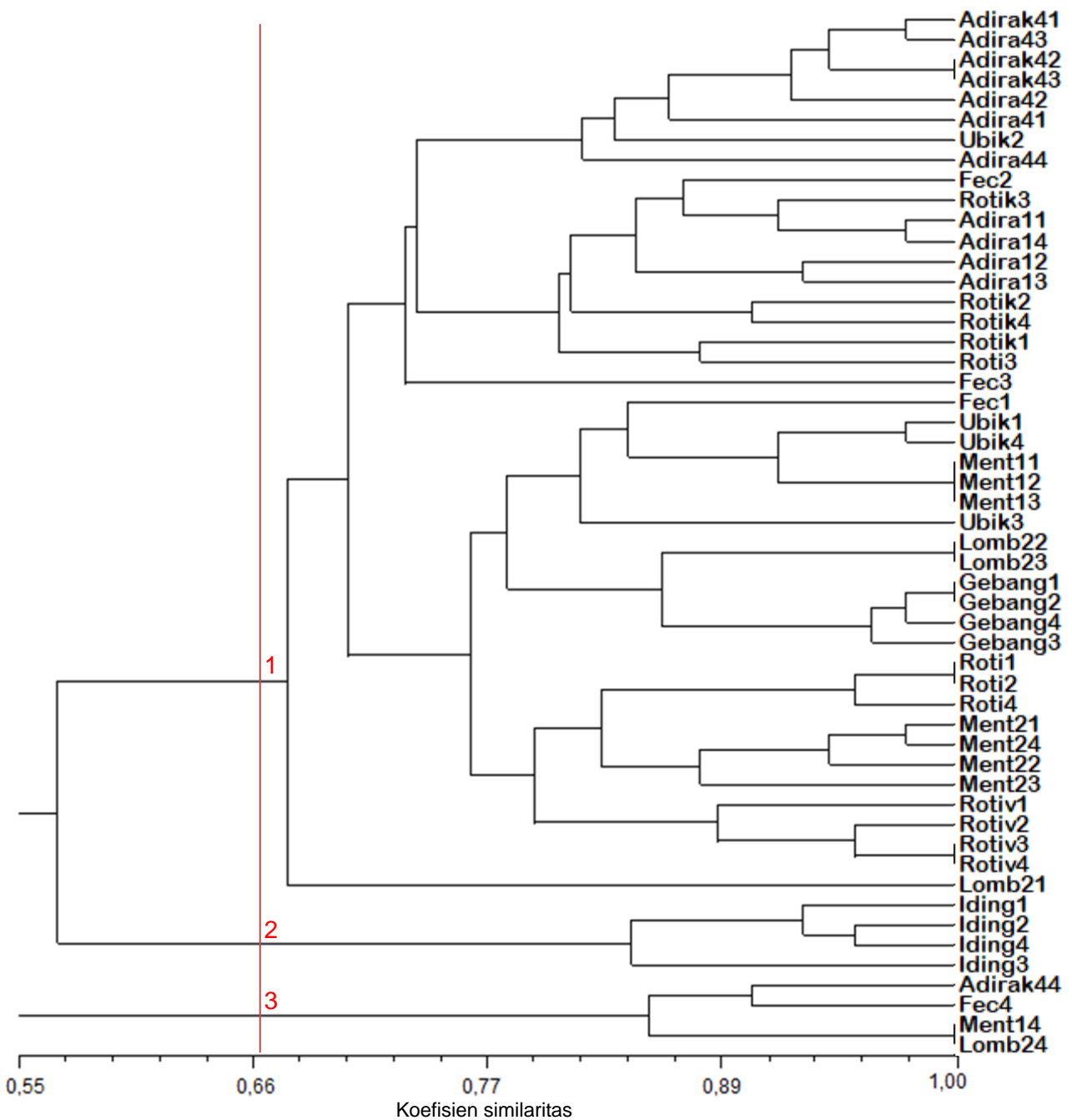


Gambar 4. Profil pita DNA hasil amplifikasi dengan primer (GA)9T (a) dan (AC)8T (b) pada 6 genotipe ubi kayu hasil perbanyakan secara *in vitro*

4) yang terpisah dengan genotipe Roti kontrol dan Roti (kelompok 1). Hasil ini dapat terjadi karena adanya perbedaan karakter kualitatif pada daun, batang, dan umbi. Genotipe FEC-25 dan Roti varian berbeda secara morfologi dengan tanaman asalnya. Secara morfologi genotipe FEC-25 berbeda dengan genotipe Adira 4 kontrol disebabkan karena karakter warna batang bagian bawah, warna kulit luar umbi, dan warna lapisan kortek. Genotipe Roti varian berbeda dengan genotipe Roti kontrol disebabkan karena perbedaan pada

karakter warna tangkai daun dan warna permukaan atas tulang daun. Persamaan karakter antara genotipe FEC-25 dengan genotipe Roti kontrol dan Roti adalah karakter bentuk lobus.

Berdasarkan hasil dendogram, pengelompokan genotipe ubi kayu tidak dipengaruhi oleh asal daerah, karena tidak adanya relevansi dan konsistensi. Genotipe yang berasal dari Bogor, seperti Adira 4, Adira 1, dan Gebang tidak terdapat dalam satu kelompok yang sama, sedangkan



Gambar 5. Dendogram 13 genotipe ubi kayu hasil *in vitro* dan kontrol berdasarkan 7 primer ISSR yang dikonstruksi menggunakan UPGMA-NTSYS 2.11a

genotipe Mentega 1 dan Mentega 2 berasal dari daerah Tasikmalaya terdapat dalam kelompok yang sama.

Hasil analisis kelompok pada 13 genotipe berdasarkan penanda morfologi menunjukkan rentang nilai similaritas yang luas 36–100% (Gambar 2). Rentang nilai similaritas luas juga terdapat pada beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu nilai koefisien similaritas 0,87–1,00 pada 93 aksesori ubi kayu dari Malawi yang dikarakterisasi dengan 12 karakter (Benesi et al. 2010). Sedangkan studi keragaman genetik dan jarak genetik pada ubi kayu di Indonesia yang berpotensi sebagai bahan makanan, industri dan biofuel berdasarkan karakter morfologi memiliki nilai variasi setinggi 49,82% (Laila et al. 2015). Hasil penelitian lainnya menyatakan bahwa nilai koefisien disimilaritas Euclidean pada 43 aksesori ubi kayu plasma nutfah di Ghana berkisar antara 0,00–0,43 yang diidentifikasi berdasarkan 19 karakter morfologi (Asare et al. 2011), lebih lanjut nilai koefisien disimilaritas pada 11 genotipe ubi kayu yang dianalisis berdasarkan 6 karakter morfologi berkisar antara 0,00–0,25 (Sudarmonowati et al. 2008).

Hasil analisis PCA membagi 13 genotipe ubi kayu dengan nilai PC 1 dan PC 2 berturut-turut sebesar 26,82 dan 16,22% (Gambar 3). Diagram PCA berdasarkan 11 ciri morfologi yang telah diamati pada 13 genotipe ubi kayu menunjukkan bahwa keseluruhan genotipe masih mengelompok seperti yang digambarkan dendrogram. *Eigen value* menunjukkan rasio antara variasi yang dapat dijelaskan dan tidak dijelaskan dalam model.

Perubahan atau variasi morfologi pada genotipe Roti varian dan FEC-25 yang terinduksi oleh penggunaan ZPT diharapkan berkorelasi positif terhadap peningkatan daya hasil, mutu, dan produksinya. Namun, diperlukan evaluasi dan pengamatan lebih lanjut untuk memastikannya. Potensi variasi morfologi perlu dilestarikan sebagai sumber keragaman genetik yang dapat digunakan dalam dasar perbaikan tanaman ubi kayu.

Polimorfisme marka ISSR

Lima belas primer ISSR telah digunakan untuk kajian polimorfisme marka ISSR pada 13 genotipe ubi kayu dan diperoleh 7 primer ISSR yang menghasilkan

pita polimorf dengan kisaran ukuran 250–1700 pb (Tabel 3). Keragaman genetik pada ubi kayu telah dievaluasi pada 13 genotipe dengan 7 primer ISSR menghasilkan pola pita yang cukup jelas dan berukuran 250–1700 pb dengan jumlah pita bervariasi dari 4 hingga 6 pita DNA untuk setiap jenis (Gambar 4). Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa 17 jenis tanaman ubi kayu yang ditanam oleh petani di Mato Grosso State Utara, Brazil menggunakan 15 primer ISSR menghasilkan pola pita dengan jumlah pita bervariasi 5 – 12 pita DNA untuk setiap jenisnya (Tiago et al. 2016).

Secara genetik apabila dibandingkan pola pita yang terbentuk, tanaman hasil perbanyakan *in vitro* memiliki perbedaan dengan tanaman kontrolnya. Hasil amplifikasi DNA dengan primer ISSR (GA)9T pada genotipe roti varian memiliki pola pita berbeda dengan genotipe kontrolnya pada ukuran 1400 pb (Gambar 4a) dan ukuran 750 pb berdasarkan primer ISSR (AC)8T pada ukuran 750 pb (Gambar 4b).

Penggunaan penanda molekuler telah digunakan untuk mengetahui keragaman secara cepat dan efisien. Penanda molekuler mikrosatelit telah digunakan untuk mengetahui keragaman genotipe ubi kayu koleksi Brazil (Mezette et al. 2013), koleksi Puerto Rico (Rojas et al. 2011), dan untuk mengetahui stabilitas tanaman ubi kayu hasil perbanyakan organogenesis (Osena et al. 2017). Lebih lanjut penanda molekuler ISSR juga telah digunakan untuk mengetahui tingkat keragaman tanaman ubi kayu hasil mikropropagasi (Vidal et al. 2015). Penanda molekuler ISSR lebih spesifik dapat digunakan untuk menentukan diversitas genetik pada populasi ubi kayu di Angola (Afonso et al. 2019). Penanda ISSR juga dapat digunakan untuk mengetahui hubungan antara karakter morfologi dengan agronomi ubi kayu aksesori Congolese untuk program pembibitan (Mamba-Mbayi et al. 2014).

Keragaman genetik

Hubungan kemiripan pada 13 genotipe berdasarkan 7 penanda ISSR memiliki nilai koefisien similaritas 55–100%. Dendrogram menunjukkan 3 kelompok utama memiliki nilai koefisien similaritas 66% (Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa dendrogram yang terbentuk bersesuaian dengan PCA dengan

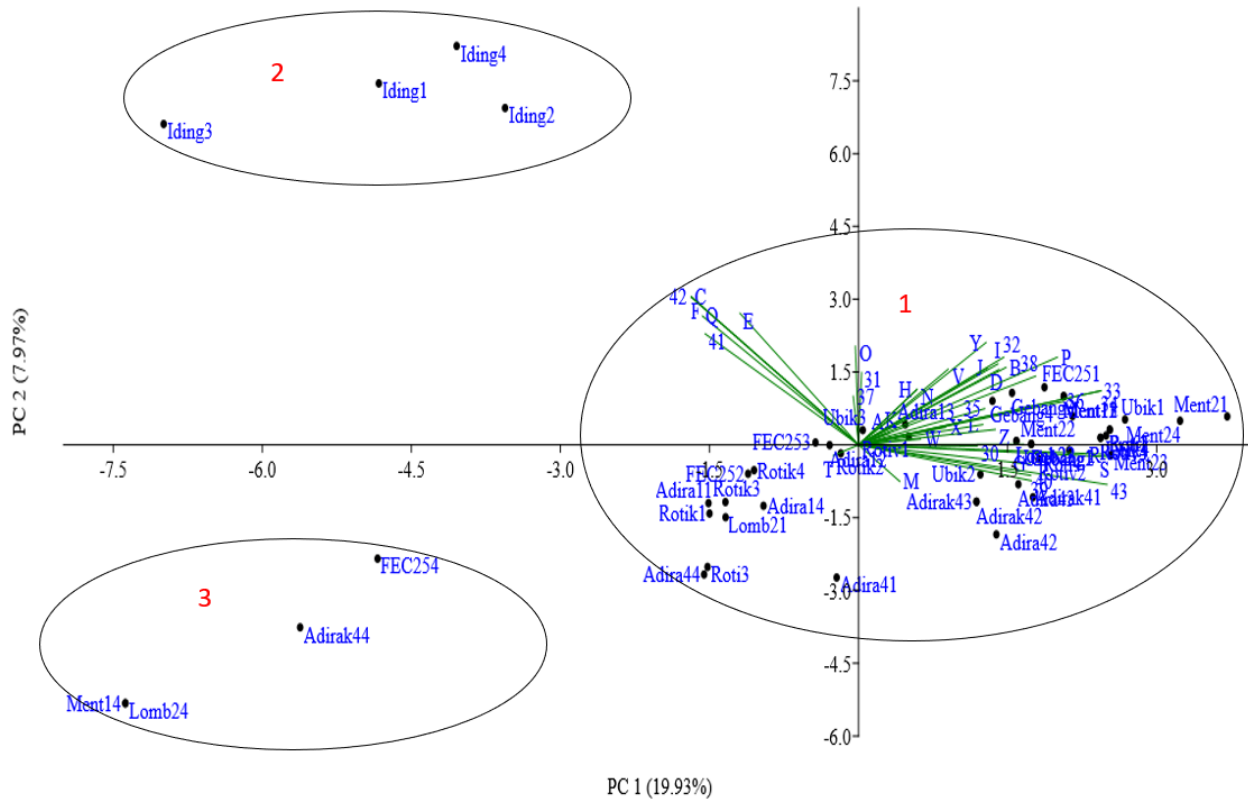
jumlah kelompok 3. Hasil analisis PCA berdasarkan nilai *Eigen value* membagi 13 genotipe ubi kayu dengan nilai PC 1 sebesar 48,09% dan PC 2 sebesar 9,91% mendukung hasil dendrogram. Hasil pengelompokan PCA yang terbentuk terdiri dari tiga, yaitu kelompok 1 (12 genotipe selain yang tertera pada kelompok 2 dan 3), kelompok 2 (genotipe Iding), dan kelompok 3 (1 tanaman dari genotipe FEC-25, Adira 4 kontrol, Mentega 1, dan Lombok 2) (Gambar 6).

Hasil analisis dendrogram menunjukkan persentase koefisien similaritas dengan rentang 55–100% (Gambar 5). Hasil analisis dendrogram tersebut menunjukkan bahwa genotipe hasil perbanyakan *in vitro* tidak semua sampelnya terdapat dalam satu kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa genotipe hasil perbanyakan *in vitro* memiliki variasi secara genetik. Namun, harus diuji

kestabilan dan pada sampel tanaman dan jumlah penanda yang lebih banyak, karena penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tanaman ubi kayu hasil organogenesis yang diamplifikasi menggunakan penanda molekuler mikrosatelit memiliki pola pita monomorfik dan memiliki nilai kesamaan genetik yang tinggi, yaitu 95–100% (Osen et al. 2017).

KESIMPULAN

Ubi kayu genotipe Roti varian dan FEC-25 hasil perbanyakan secara *in vitro* dengan penambahan ZPT maupun tanaman hasil perbanyakan secara vegetatif dengan stek batang memiliki variasi morfologi dan variasi genetik. Variasi morfologi yang tinggi ditandai dengan besarnya rentang nilai koefisien similaritas pada 13 genotipe (36–100%) dan



Gambar 6. PCA 13 genotipe ubi kayu hasil *in vitro* dan kontrol berdasarkan 7 primer ISSR yang dikonstruksi menggunakan Past3. A: ISSR (GA)9T 500 pb, B: ISSR (GA)9T 750 pb, C: ISSR (GA)9T 875 pb, D: ISSR (GA)9T 1000 pb, E: ISSR (GA)9T 1200 pb, F: ISSR (GA)9T 1300 pb, G: ISSR (GA)9T 1400 pb, H: ISSR (GA)9T 1625 pb, I: ISSR (CT)8T 500 pb, J: ISSR (CT)8T 1000 pb, K: ISSR (CT)8T 1100 pb, L: ISSR (CT)8T 1300 pb, M: ISSR (CT)8T 1400 pb, N: ISSR (GT)8T 675 pb, O: ISSR (GT)8T 750 pb, P: ISSR (GT)8T 1000 pb, Q: ISSR (GT)8T 1400 pb, R: ISSR (GT)8T 1500 pb, S: ISSR (GT)8T 1625 pb, T: ISSR (GT)8T 2000 pb, U: ISSR (AG)8T 500 pb, V: ISSR (AG)8T 600 pb, W: ISSR (AG)8T 875 pb, X: ISSR (AG)8T 1000 pb, Y: ISSR (AG)8C 675 pb, Z: ISSR (AG)8C 750 pb, 1: ISSR (AG)8C 1000 pb, 2: ISSR (AG)8C 1100 pb, 3: ISSR (AG)8C 1400 pb, 4: ISSR (AC)8T 450 pb, 5: ISSR (AC)8T 675 pb, 6: ISSR (AC)8T 750 pb, 7: ISSR (AC)8T 1100 pb, 8: ISSR (AC)8YA 350 pb, 9: ISSR (AC)8YA 500 pb, 10: ISSR (AC)8YA 750 pb, 11: ISSR (AC)8YA 900 pb, 12: ISSR (AC)8YA 1000 pb, 13: ISSR (AC)8YA 1100 pb, 14: ISSR (AC)8YA 1300 pb

variasi genetik ditunjukkan dengan nilai koefisien similaritas (55–100%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari kegiatan DIPA Tematik Pusat Penelitian Biologi LIPI tahun anggaran 2014 dan DIPA Tematik Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI tahun anggaran 2015. Terima kasih diucapkan kepada seluruh peneliti dan teknisi Laboratorium Genetika Molekuler dan Modifikasi Jalur Biosintesis Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI atas bantuan teknis selama di Laboratorium serta kepada Bapak Nanang Taryana dan Nawawi untuk pemeliharaan tanaman di lapang. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIRJEN DIKTI) atas Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPPDN) Calon Dosen 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Ademiluyi FT, Mepba HD (2013) Yield and properties of ethanol biofuel produced from different whole cassava flours. *ISRN Biotechnol*:1–6. doi: 10.5402/2013/916481.
- Adetoro NA, Ogunbayo SA, Akinwale MO (2018) Evaluation of agronomic performance of beta-carotene rich (yellow flashed) cassava varieties in Nigeria. *J Plant Breed Crop Sci* 10:273–280. doi: 10.5897/JPBCS2018.0731
- Afonso SDJ, Moreira RFC, da Silva Ledo CA, Ferreira CF, da Silva Santos V, Muondo PA (2019) Genetic structure of cassava populations (*Manihot esculenta* Crantz.) from Angola assessed through (ISSR) markers. *Afr J Biotechnol* 18:144–154. doi: 10.5897/AJB2018.16720
- Asare PA, Galyuon IKA, Sarfo JK, Tetteh JP (2011) Morphological and molecular based diversity studies of some cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) germplasm in Ghana. *Afr J Biotechnol* 10:13900–13908. doi: 10.5897/AJB11.929
- Benesi IRM, Labuschagne MT, Herselman L, Mahungu N (2010) Ethnobotany, morphology and genotyping of cassava germplasm from Malawi. *J Biol Sci* 10:616–623. doi: 10.3923/jbs.2010.616.623
- BPS (2016) Luas panen ubi kayu menurut propinsi (ha), 1993–2015. Badan Pusat Statistik. <https://www.bps.go.id/dynamic/table/2015/09/09/879/luas-panen-ubi-kayu-menurut-provinsi-ha-1993-2015.html>. Diakses 11 Januari 2016
- PPVT (2007) Panduan pengujian individual kebaruan, keunikan, keseragaman, dan kestabilan. Departemen Pertanian Republik Indonesia, Jakarta
- Derso C, Mahmud A (2018) Study on morphological characters of four cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties as cultivated in Fafen district, Ethiopian Somali Regional State. *Asian J Biotechnol Bioresour Technol* doi: 10.9734/AJB2t/2018/42717
- Fitriani H, Hartati NS, Sudarmonowati E, Rahman N, Supatmi, Fatoni A (2014) Perbanyak bibit dan evaluasi produksi ubi kayu varian *in vitro* dan mutan hasil radiasi. Laporan Teknik, Pusat Penelitian Biologi – LIPI
- Hartati NS, Fitriani H, Supatmi, Sudarmonowati E (2012) Karakter umbi dan nutrisi tujuh genotip ubi kayu (*Manihot esculenta*). *Agricola* 2:101–111. doi: 10.35724/ag.v2i2.107
- Hoque ME, Morshad MN (2014) Somaclonal variation in potato (*Solanum tuberosum* L.) using chemical mutagen. *The Agriculturists* 12:15–25. doi: 10.3329/agric.v12i1.19572
- Khan FA, Afzal A, Javed MA, Iqbal Z, Iftikhar R, Wattoo JI (2012) *In vitro* regeneration, detection of somaclonal variation and screening for mosaic virus in sugarcane (*Saccharum* spp.) somaclones. *Afr J Biotechnol* 11:10841–10850. doi: 10.5897/AJB11.4073
- Khumaida N, Fauzi AR (2013) Induksi tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) var Adira 2 secara *in vitro*. *J Agron Indones* 41:133–139. doi: 10.24831/jai.v41i2.7518
- Laila F, Zanetta CU, Waluyo B, Amien S, Kurniawan A (2015) Early identification of genetic diversity and distance from Indonesia cassava potential as food, industrial and biofuel based on morphological characters. *Energy Procedia* 65:100–106. doi: 10.1016/j.egypro.2015.01.039
- Mahmood T, Nazar N, Abbasi BH, Khan MA, Ahmad M, Zafar M (2010) Detection of somaclonal variation using RAPD fingerprinting in *Silybum marianum* (L.).

- J Med Plant Res 4:1822–1824. doi: 10.5897/JMPR10.060
- Mamba-Mbayi G, Nkongolo KK, Narendrula R, Djim PT, Kalonji-Mbuyi A (2014) Molecular relatedness and morpho-agronomic characteristics of Congolese accessions of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) for breeding purpose. *Biotechnol J Int* 4:551–565. doi: 10.9734/BBJ/2014/7423
- Mezette TF, Blumer CG, Veasey EA (2013) Morphological and molecular diversity among cassava genotypes. *Pesq Agropec Bras* 48:510–518. doi: 10.1590/S0100-204X2013000500007
- Oseno G, Amugune NO, Nyaboga EN (2017) Genetic stability of cassava plants regenerated through organogenesis using microsatellite markers. *J Plant Sci* 5:19–28. doi: 10.11648/j.jps.20170501.13
- Oyenyika SA, Adeloye AA, Adesina BO, Akinwande FF (2019) Physicochemical properties of flour and starch from two cassava varieties. *Agrosearch* 19:28–45. doi: 10.4314/agrosh.v19i.3
- Priadi D, Fitriani H, Sudarmonowati E (2008) Pertumbuhan *in vitro* tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) pada berbagai bahan pematat alternatif pengganti agar. *Biodiversitas* 9:9–12. doi: 10.13057/biodiv/d090103
- Rojas MM, Correa AM, Siritunga D (2011) Molecular differentiation and diversity of cassava (*M. esculenta*) taken from 162 locations across Puerto Rico and assessed with microsatellite markers. *AoB Plants*:1–13. doi: 10.1093/aobpla/plr010
- Shigaki T (2016) Cassava: The nature and uses. In: Caballero B, Finglas PM, Toldrá F (ed) *Encyclopedia of food and health*. Academic Press, Oxford, pp 687–693. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00124-0
- Sudarmonowati E, Hartati NS, Sugiharti S, Rahman N, Fitriani H, Hartati, Wahyuni (2008) Seleksi tanaman unggul menggunakan marka RAPD. Laporan Teknik, Pusat Penelitian Biologi – LIPI
- Tiago AV, Rosi AAB, Tiago PV, Carpejani AA, Silva BM, Hoogerheide ESS, Yamashita OM (2016) Genetic diversity in cassava landraces grown on farm in Alta Floresta-MT, Brazil. *Genet Mol Res* 15:1–10. doi: 10.4238/gmr.15038615
- Vidal AM, Vieira LJ, Ferreira CF, Souza FVD, Souza AS, Ledo CAS (2015) Genetic fidelity and variability of micropropagated cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) evaluated using ISSR markers. *Genet Mol Res* 14:7759–7770. doi: 10.4238/2015.July.14.2
- Vidal AM, Vieira LJ, Ferreira CF, Souza FVD, Souza AS, Ledo CAS (2015) Genetic fidelity and variability of micropropagated cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) evaluated using ISSR markers. *Genet Mol Res* 14:7759–7770. doi: 10.4238/2015.July.14.2
- Wanapat M, Kang S. (2015) Cassava chip (*Manihot esculenta* Crantz) as an energy source for ruminant feeding. *Anim Nutr* 1:266–270. doi: 10.1016/j.aninu.2015.12.001
- Zago BW, Barelli MAA, Hoogerheide ESS, Correa CL, Delforno GIS, da Silva CJ (2017) Morphological diversity of cassava accessions of the south-central mesoregion of the State of Mato Grosso, Brazil. *Genet Mol Res* 16:1–10. doi: 10.4238/gmr16039725