

KESAMAAN GENETIS TANAMAN BAWANG MERAH YANG DIPERBANYAK SECARA BIJI DAN UMBI

Dinda Mutiara Sakti¹, Sony U. Tejasukmana¹, Rinda Kirana¹, Rini Rosliani¹,
Catur Hermanto^{1*}

¹Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa)
Jalan Tangkuban Parahu 517 Lembang Bandung Barat 40391

*Penulis untuk korespondensi: mas_caturhermanto@yahoo.co.id

ABSTRAK

TSS (*True Shallot Seed*) merupakan salah satu solusi yang dapat ditempuh untuk memenuhi kebutuhan benih bawang merah nasional yang bermutu. Balitsa telah menghasilkan paket teknologi perbanyakan benih TSS dan telah digunakan untuk memproduksi benih TSS dari varietas bawang merah yang telah terdaftar. Penerapan teknologi perbanyakan benih TSS pada varietas yang terdaftar dengan sistem perbanyakan secara umbi masih menimbulkan pertanyaan terkait mutu genetik dari tanaman yang dihasilkan. Berdasarkan hal tersebut maka dirancang kegiatan penelitian dengan tujuan membandingkan dna tanaman bawang merah varietas Trisula yang berasal dari biji (TSS) dan umbi secara molekuler menggunakan mikrosatelit. Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan dan Laboratorium Biologi Molekuler Balitsa pada bulan Juni-Desember 2016. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA tanaman bawang merah yang berasal dari biji (TSS) dan umbi (G0, G1 dan G2) memiliki kesamaan genetik berdasarkan tiga primer mikrosatelit yang digunakan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperkuat hasil penelitian ini dengan menggunakan fragmen analisis yang dapat melihat ukuran alel yang dihasilkan dari dna tanaman yang berasal dari biji dan umbi tersebut.

Kata Kunci: mikrosatelit, Trisula, TSS

PENDAHULUAN

Benih bawang merah TSS merupakan salah satu alternatif solusi potensial untuk masalah perbenihan bawang merah di Indonesia (Prayudi, *et al.*; Darma *et al.*, 2015; Sopha *et al.*, 2015). Benih TSS memiliki banyak kelebihan dibandingkan benih umbi dimana benih TSS terbukti dapat menghasilkan tanaman dengan produktivitas tinggi hingga dua kali lipat dan bebas dari virus (Basuki, 2009). Selain itu, benih TSS juga memiliki masa simpan lebih lama (1-2 tahun), proses penyimpanan yang mudah dan tidak membutuhkan tempat yang luas, memiliki kualitas tinggi karena tidak mudah terserang penyakit, dan biaya transportasi serta produksi benih yang relatif murah. Kebutuhan akan benih TSS untuk satu kali masa tanam pun lebih sedikit dibandingkan dengan benih umbi (Rosliani *et al.*, 2013; Sopha *et al.*, 2015; Pangestuti & Sulistyansih, 2011; Palupi *et al.*, 2015). Berdasarkan hal tersebut, maka penggunaan benih TSS sebagai benih sumber sangat potensial dalam rangka meningkatkan produksi dan kualitas bawang merah. Teknologi perbanyakan benih bawang merah melalui biji telah dirakit dan telah menjadi teknologi siap terap.

Melalui kegiatan pemuliaan tanaman, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian telah memiliki 14 varietas bawang merah. Trisula merupakan varietas bawang merah yang dapat beradaptasi dengan baik di daerah dataran rendah dengan ketinggian 6–85 m dpl dan memiliki produktivitas yang tinggi hingga 23.21 ton ha⁻¹. Bentuk umbi bulat berwarna merah tua, jumlah umbi per rumpun berkisar antara 5–8 umbi dengan berat umbi 39–93.3 g per rumpun (Kementrian Pertanian, 2011). Meskipun Trisula merupakan varietas bawang merah yang terdaftar sebagai varietas yang diperbanyak dengan umbi, bukan varietas TSS seperti TSS Agrihort 1 dan TSS Agrihort 2, namun varietas Trisula berpotensi untuk diperbanyak secara generatif melalui biji dengan hasil biji TSS yang lebih baik dibandingkan varietas bawang merah TSS (Nurjanani, 2016).

Penerapan teknologi perbanyak benih bawang merah pada varietas Trisula masih harus didukung oleh data keseragaman genetik varietas tersebut apabila diperbanyak melalui biji. Untuk melihat kesamaan suatu varietas dapat dilakukan secara fenotipik melalui karakter morfologi dan secara genotipik melalui karakter genetik. Teknik pengujian kemurnian/ kesamaan yang umum digunakan adalah secara fenotipik dengan melihat karakter morfologi, namun membutuhkan waktu yang cukup lama karena harus melalui satu siklus pertanaman. Sedangkan diharapkan pengujian dapat dilakukan sedini mungkin untuk mempersingkat proses perakitan varietas unggul (Mulsanti *et al.*, 2013). Pengujian Secara molekuler saat ini mulai banyak digunakan untuk berbagai tujuan dalam pemuliaan tanaman salah satunya yaitu pengujian kesamaan atau kemurnian varietas menggunakan mikrosatelit (SSR). Dalam penelitian ini kesamaan bawang merah varietas trisula asal benih umbi dan benih biji akan diuji secara genetik menggunakan marka mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

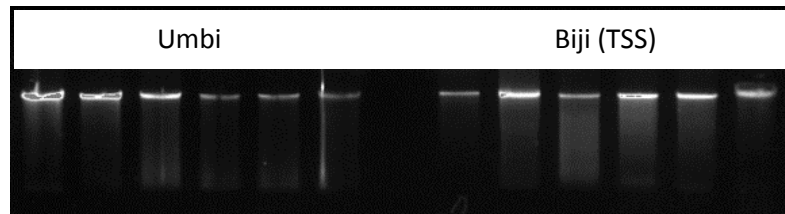
Uji kesamaan bawang merah menggunakan tanaman bawang merah varietas Trisula yang diperbanyak melalui benih umbi dan benih biji pada fase pertanaman G0, G1, G2, dan G3. Primer mikrosatelit yang digunakan adalah primer mikrosatelit yang telah dirancang khusus untuk tanaman bawang merah oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (Primer AMS_06, AMS_07, dan AMS_10).

Pengujian diawali dengan tahap ekstraksi dan isolasi DNA bawang merah dari daun menggunakan metode modifikasi CTAB. Setelah isolasi DNA kemudian dilanjutkan dengan pengukuran kualitas dan kuantitas DNA menggunakan elektroforesis. Selanjutnya DNA di PCR menggunakan tiga primer mikrosatelit yang telah dirancang dengan komposisi reaksi terdiri dari 1 ul template DNA yang ditambahkan 10ul *Hotstart master mix* PCR (2x), 2ul campuran primer mikrosatelit (10pmol), 2ul *Collarload*, dan 5ul *RNAse free water* untuk total reaksi 20ul. Profil reaksi PCR yang digunakan adalah 94 °C selama 5 menit denaturasi awal, 94 °C selama 1 menit denaturasi, 60 °C selama 30 detik penempelan primer, 72 °C selama 1 menit perpanjangan primer, siklus diulang sebanyak 35 kali kemudian perpanjangan primer tambahan pada suhu 72 °C selama 7 menit. Hasil PCR kemudian di elektroforesis menggunakan *agarose* 1.5% dan *buffer* TAE 1X yang dijalankan pada proses elektroforesi pada voltase 100 volt selama 30–45 menit dan divisualisasikan menggunakan Gel Doc BioRad®.

Analisis kesamaan individu bawang merah dilihat berdasarkan hasil visualisasi dengan elektroforesis

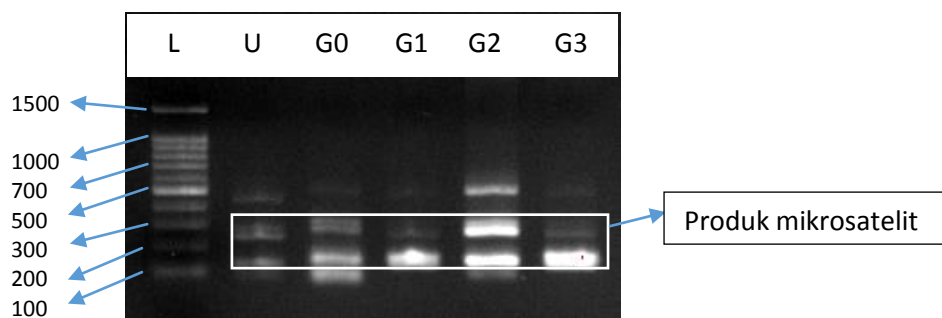
HASIL DAN PEMBAHASAN

DNA bawang merah berasal dari umbi dan TSS di isolasi dan divisualisasikan untuk melihat kualitasnya, terlihat pada Gambar 1. DNA bawang merah berhasil diisolasi yang ditandai dengan adanya pita tebal dibawah sumur gel. Namun, masih terlihat adanya residu lain yang menempel ditandai dengan adanya *smear* di bawah pita DNA pada hasil visualisasi. Berdasarkan hasil visualisasi menggunakan gel *electrophoresis*, DNA bawang merah belum dapat dinyatakan murni atau kualitasnya masih rendah namun kuantitas DNA terlihat cukup besar dari tebal *band* yang terbentuk.



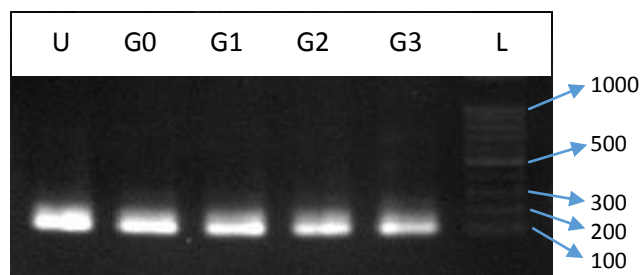
Gambar 1. Visualisasi DNA bawang merah umbi dan TSS

Visualisasi hasil PCR dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4. Visualisasi pada Gambar 2. memperlihatkan hasil PCR dengan primer AMS_10, menunjukkan pola pita yang dihasilkan sama dengan ukuran yang berbeda. Baris pertama pada kelima sampel terlihat adanya satu pita, baris kedua dari kelima sampel masing-masing membentuk dua pita, dan pada baris ketiga hanya terbentuk satu pita pada ukuran yang sama. Sementara pita yang terbentuk dibawah 100 pb diduga merupakan sisa primer yang tidak menempel, karena pada umumnya produk mikrosatelit hanya berkisar antara 100 hingga 300 pb (Mulsanti, dkk. 2013; Sakti, dkk. 2015). Maka dari itu, kemungkinan mikrosatelit yang ditargetnya berada pada pita dengan ukuran antara 100 – 300 pb.

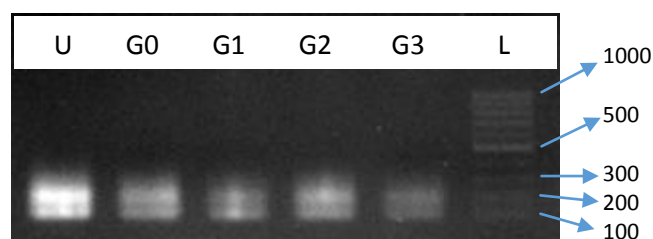


Gambar 2. Visualisasi hasil PCR menggunakan primer AMS_10

Gambar 3. memperlihatkan hasil PCR dengan primer AMS_07, dimana kelima sampel membentuk satu pita pada ukuran yang sama. Hal ini juga terlihat pada hasil PCR dengan primer AMS_06 pada Gambar 4 yang menghasilkan dua pita pada ukuran yang sama. Berdasarkan hasil PCR menggunakan tiga primer mikrosatelit diperoleh bahwa pola atau motif yang dihasilkan dari kelima sampel memiliki kesamaan.



Gambar 3. Visualisasi hasil PCR menggunakan primer AMS_07



Gambar 4. Visualisasi hasil PCR menggunakan primer AMS_06

Uji kesamaan atau kemurnian dapat dilakukan hanya dengan satu penanda yang polimorfis. Terbukti pada penelitian Mulsanti *et al.* (2013) mengenai uji kemurnian benih padi hibrida bahwa satu penanda polimorfis yang menghasilkan satu pita pada masing-masing tetua pembandingan lebih dipilih untuk uji kemurnian benih dibandingkan primer yang menghasilkan pita lebih dari satu karena lebih memudahkan dalam membedakan pada saat pengujian. Berdasarkan hasil PCR menggunakan tiga primer dapat dilihat bahwa primer AMS_07 satu satunya primer yang menghasilkan satu pita pada kelima individu pengujian dan berpotensi untuk dijadikan primer uji kemurnian untuk bawang merah varietas trisula. Dan dari hasil PCR primer AMS_07 dapat diperkirakan bahwa bawang merah varietas Trisula yang dikembangkan melalui benih umbi dan benih TSS memiliki kesamaan.

Untuk memastikan kembali apakah kelima individu memiliki kesamaan dapat dikonfirmasi ulang menggunakan Elektroforesis gel poliakrilamid yang dapat memisahkan DNA dengan ukuran yang lebih kecil dibandingkan gel elektroforesis (Primrose & Twyman, 2006).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dapat diambil kesimpulan bahwa primer yang berpotensi untuk pengujian kemurnian atau kesamaan genetik bawang merah adalah primer AMS_07 karena hanya menghasilkan satu pita dengan ukuran yang sama. Bawang merah varietas trisula yang diperbanyak melalui benih umbi dan benih TSS memiliki kesamaan secara genetik dilihat dari hasil visualisasi PCR dengan primer AMS_07 menggunakan gel elektroforesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Basuki, R.S. 2009. Analisis kelayakan teknis dan ekonomis teknologi budidaya bawang merah dengan biji botani dan benih umbi tradisional. *J. Hort.* vol. 19(2); 214-27
- Darma, W.A., A.D. Susila, D. Dinarti. 2015. Pertumbuhan dan Hasil Bawang Merah Asal Umbi TSS Varietas Tuk tuk Pada Ukuran dan Jarak Tanam yang Berbeda. *Agrovigor* Vol 8 No. 2
- [KEMANTAN] Kementerian Pertanian. 2011. Lampiran Surat Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia No. 4580/Kpts/SR.120/11/2011 tentang 'Deskripsi Bawang Merah Varietas Trisula'.
- Mulsanti, I.W., M. Suharman, S. Wahyuni, D.W. Utami. 2013. Identifikasi Galur Tetua Padi Hibrida dengan Marka SSR Spesifik dan Pemanfaatnya dalam Uji Kemurnian Benih. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* Vol 32(1)
- Nurjanani. 2016. Adaptasi Beberapa Varietas Unggul Baru Bawang Merah di Lahan Suboptimal Kabupaten Jeneponto. *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pertanian*. Banjarbaru, 20 Juli 2016
- Palupi, E.R., R. Rosliani, Y. Hilman. 2015. Peningkatan Produksi dan Mutu Benih Botani Bawang Merah (*True Shallot Seed*) dengan Introduksi Serangga Penyerbuk. *J. Hort.* Vol 25(1); 26 – 36
- Prayudi, B., R. Pangestuti, A.C. Kusumasari, A.C. Produksi Umbi Mini Bawang Merah Asal *True Shallot Seed* (TSS). *Inovasi Hortikultura Pengungkit Peningkatan Pendapatan Rakyat*
- Primrose, S.B., R.M. Twyman. 2006. *Principles of Gene Manipulation and Genomics seventh edition*. Blackwell Publishing.
- Rosliani R., E.R. Palupi, Y. Hilman. 2013. Pengaruh Benzilaminopurin dan Boron Terhadap Pembungaan, Viabilitas Serbuk Sari, Produksi, dan Mutu Benih Bawang Merah di Dataran Rendah. *J. Hort.* 23(4); 339 – 349
- Sakti, D.M., P.J. Santoso, A. Pancoro. 2015. *Isolation of SSR markers from Lai (Durio kutejensis cult. Lai mahakam) genomic library usng enrichment method with magnetic beads*. *Proceeding Paper of International Conference on Bioscience (IcoBio) 2015* hal: 23 - 29. Bogor, 2015
- Sopha, G.A., N. Sumarni, W. Setiawati, Suwandi. 2015. Teknik Penyemaian Benih True Shallot Seed Untuk Produksi Bibit dan Umbi Mini Bawang Merah. *J. Hort.* Vol 25(4)