

## IDENTIFIKASI KERAGAMAN GENETIK KENTANG SUPEJOHN TRANSGENIK (*Solanum tuberosum* L. var supejohn)

### IDENTIFICATION OF GENETIC VARIABILITY OF POTATO SUPEJOHN TRANSGENIC (*Solanum tuberosum* L. var supejohn)

Christine L.W. Lengkong<sup>1)</sup>, Jeany Polii-Mandang<sup>2)</sup>, dan Edy F. Lengkong<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Fakultas Pertanian UKI Tomohon

<sup>2)</sup>Fakultas Pertanian Unsrat Manado

#### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the genetic diversity of potato Supejohn transgenic that had been twenty-five times subcultured with exploration method. The genetic variability was calculated using molecular marker Polimorphic Random Amplified DNA (RAPD) analysis of ten samples from four weeks plantlets of Supejohn transgenic plants using ten random primers. DNA isolation of 10 samples using CTAB buffer then measurement of the DNA qualification and quantification, afterwards amplification of DNA by PCR using 10 random primers followed by electrophoresis on a 1% agarose gel with TAE 1x electrode buffer solution. Visualisation the results used UV Transluminator to see DNA bands and the data of polymorphic bands had been analyzed used the NTSYS-pc version of 1.07 program to obtain the similarity coefficient and the dendrogram. The results showed that five random primers produced polymorphic DNA bands with 0.39 - 0.88 similarity coefficient and the average similarity coefficient is 0.63 (63%) or the genetic diversity of the samples as many as 37%. Dendrogram formed eight distinct clusters corresponding similarity coefficient, the formation of clusters means that there is genetic diversity among the DNA samples.

**Keywords:** *potato Supejohn transgenic, RAPD, genetic diversity*

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan keragaman genetik kentang Supejohn transgenik yang telah dua puluh lima kali disubkultur dengan menggunakan metode penelitian eksplorasi dengan penanda molekuler Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD) terhadap 10 sampel tanaman Supejohn transgenik, berumur empat minggu dan menggunakan 10 primer random. Isolasi DNA dari 10 sampel menggunakan buffer CTAB sesudah itu dilakukan pengukuran kualitas dan kuantitas DNA, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi DNA secara PCR menggunakan 10 primer random diikuti dengan elektroforesis pada gel agarose 1% dengan larutan penyanggah elektroda TAE 1x. Visualisasi hasil elektroforesis menggunakan UV Transluminator untuk melihat pita DNA dan analisis data pita polimorfik menggunakan program NTSYS-pc versi 1.07 sehingga didapatkan koefisien kesamaan dan dendrogram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lima primer random menghasilkan pita DNA polimorfik dengan koefisien kesamaan 0.39 – 0.88 dan rata-rata koefisien kesamaan yaitu 0.63 (63%) atau keragaman genetik sampel sebesar 37%. Dendrogram membentuk delapan *cluster* yang berbeda sesuai koefisien kesamaan, terbentuknya *clusters* mengartikan bahwa ada keragaman genetik antar sampel DNA.

**Kata kunci :** *kentang Supejohn transgenik, RAPD, keragaman genetik*

## PENDAHULUAN

Introduksi kentang tahan penyakit hawar daun penting sebagai suatu strategi untuk menghindari kerugian yang disebabkan oleh penyakit hawar daun. Pemuliaan tanaman kentang secara konvensional sulit karena kentang bersifat poliploidi sehingga mudah terjadi inkompatibilitas dan sterilitas pada hasil persilangan (Herman, 2007). Pemuliaan non konvensional melalui rekayasa genetik, dengan menginsersi gen ketahanan yaitu gen khitinase pada tanaman kentang varitas supejohn telah berhasil dan telah diuji secara molekuler di laboratorium maupun di lapang (Lengkong, 2010). Penyimpanan bahan tanaman ini dilakukan secara *in vitro* sehingga tanaman transgenik tersebut telah beberapa kali disubkultur sebagai cara untuk mempertahankan keberadaan tanaman supejohn transgenik secara kultur jaringan. Menurut Zucchi *et. al.* (2002) dan Peyvandi *et. al.* (2009) untuk tanaman yang telah beberapa kali disubkultur dapat mengakibatkan terjadi perubahan profil DNA jika dibanding dengan profil DNA induk. Hal ini disimpulkan setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan penanda molekuler RAPD.

Oleh sebab itu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengidentifikasi keragaman genetik kentang supejohn transgenik yang telah dua puluh lima kali disubkultur. Pengidentifikasian

ini menggunakan penanda genetik dalam hal ini penanda molekuler RAPD agar didapat informasi keragaman genetik secara tepat dan cepat. Dengan latar belakang ini maka diduga terjadi keragaman genetik dari kentang supejohn transgenik yang telah disubkultur dua puluh lima kali.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado sejak bulan Agustus sampai dengan bulan November 2012.

Bahan tanaman yang digunakan ialah planlet supejohn transgenik yang sudah dua puluh lima kali disubkultur dengan umur planlet 4 minggu. Cara regenerasi yang dilakukan pada supejohn transgenik yaitu dikultur pada media agar dengan MS0 dan menggunakan eksplan pucuk. Setiap sampel DNA berasal dari 250 mg planlet supejohn yang diisolasi menggunakan CTAB mengikuti metode Rohde *et. al.* (1995) dengan beberapa penyesuaian. Ekstrak DNA dikuantifikasi dengan spektrofotometer dan didapat konsentrasi sample DNA diikuti pembuatan konsentrasi sampel DNA template sebesar 10 ng/µl yang akan digunakan dalam amplifikasi DNA dengan menggunakan 10 primer acak RAPD.

Tabel 1. Primer Random yang Digunakan dalam Analisis Penanda Molekuler RAPD  
(Table 1. The Random Primer that Used in the RAPD Molecular Marker Analysis)

| No | Primer | Urutan Basa (5' - 3') | %GC   |
|----|--------|-----------------------|-------|
| 1  | OPA 01 | CAG – GOC – CTT – T   | 70,00 |
| 2  | OPA 02 | TGC – CGA – GCT – G   | 70,00 |
| 3  | OPA 03 | AGT – CAG – CCA – C   | 60,00 |
| 4  | OPA 04 | AAT – CGG – GCT – G   | 60,00 |
| 5  | OPA 05 | AGG – GGT – CTT – G   | 60,00 |
| 6  | OPA 06 | GGT – CCC – TGA – C   | 70,00 |
| 7  | OPA 07 | GAA – ACG – GGT – G   | 60,00 |
| 8  | OPA 08 | GTG – ACG – TAG – G   | 60,00 |
| 9  | OPA 09 | GGG – TAA – CGC – C   | 70,00 |
| 10 | OPA 10 | GTG – ATC – GCA – G   | 60,00 |

Volume reaksi RAPD setiap sampel DNA untuk diampifikasi ialah 20 $\mu$ l terdiri dari 9 $\mu$ l DNA template, 10 $\mu$  PCR dan 1 $\mu$ l primer random RAPD dimasukkan ke Gene Amp PCR System 2007 thermocycler. Cara kerja ialah; 1). Pre- denaturasi DNA suhu 94°C; 2). Denaturasi DNA template suhu 94°C selama 60 detik; 3). Annealing process suhu 37°C selama 60 detik; 4). Extension suhu 72°C selama 60 detik; 5). Post extension. Tahap 2 sampai 4 merupakan tahap berulang (siklus) yang berulang 40 kali.

Fragmen DNA yang terampifikasi akan dielektroforesi dengan agarose 1% pada larutan buffer elektroda TAE 1x, pewarna dua macam yaitu ethidium bromida (untuk pendaran DNA) dan bromofenol biru sebagai loading dye. Elektroforesis memakan waktu 90 menit dengan tegangan listrik 60 volt. Setiap kali dielektroforesis selalu menggunakan penanda ukuran pita DNA *ladders* 100 bp Vivantis. Setelah selesai elektroforesis gel dipindahkan ke alat UV transluminator maka akan terlihat pendaran DNA dan dokumentasikan dengan pemotretan.

Analisis keragaman genetik dilihat pada pita DNA polimorfis yang dihasilkan kemudian disusun menjadi matriks data biner. Koefisien kesamaan genetik ke sepuluh sampel DNA supejohn transgenik subkultur ke dua puluh lima dihitung menggunakan koefisien Jaccard dan diolah menggunakan prosedur SIMQUAL. Dasar untuk mem-

bentuk dendrogram kesamaan genetik melalui analisis SAHN dengan metode UPGMA. Seluruh tahap analisis dilakukan menggunakan program NTSYS-pc versi 1.07.

## HASIL PEMBAHASAN

Planlet supejohn transgenik subkultur ke 25 diisolasi DNA dan dilakukan kuantifikasi DNA untuk kesepuluh sampel yang diberi label SJT1 artinya supejohn transgenik sample 1, demikian selanjutnya diberi label SJT2, SJT3 sampai SJT10 dan hasil setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Stok DNA telah diketahui konsentrasinya kemudian dibuat DNA template dengan konsentrasi 10 ng/ $\mu$ l yang digunakan untuk amplifikasi DNA. Tabel DNA template setiap sampel terlihat pada Tabel 3.

Dari kesepuluh primer acak RAPD 5 primer yaitu OPA02, OPA03, OPA04, OPA08 dan OPA09 menghasilkan pola pita polimorfis dengan jumlah 200 pita dengan ukuran berkisar 100- 1000 bp berpatokan pada DNA *ladder* 100 bp Vivantis, contoh dapat dilihat pada Gambar 1.

Tiga primer menghasilkan pola pita monomorfis yaitu OPA05, OPA06 dan OPA07 dan 2 primer tidak menghasilkan pita DNA yaitu OPA01 dan OPA10. Primer RAPD yang menghasilkan pola pita polimorfis dapat dilihat pada Tabel 4

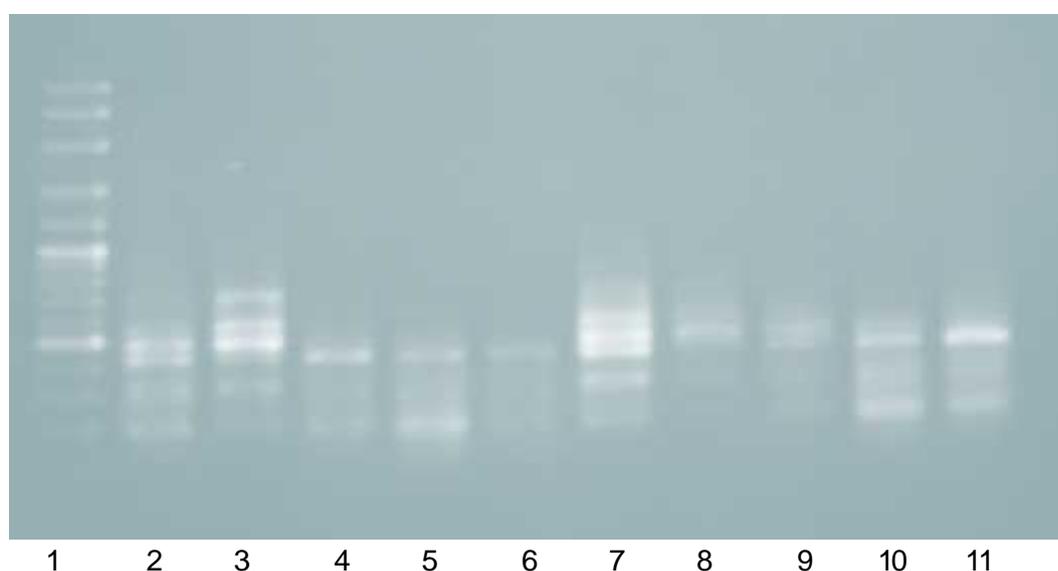
Tabel 2. Kuantifikasi dan Kemurnian Stok DNA Kentang Supejohn Transgenik

Table 2. *The quantification and Purification of the DNA Stock of Potatoe Supejohn Transgenic*

| Sample | 260   | 280   | Konsentrasi ( $\mu$ g/ml)           | Kemurnian            |
|--------|-------|-------|-------------------------------------|----------------------|
| SJT1   | 0.098 | 0.053 | $0.098 \times 400 \times 50 = 1960$ | $0.098/0.053 = 1.85$ |
| SJT2   | 0.087 | 0.054 | $0.087 \times 400 \times 50 = 1740$ | $0.087/0.054 = 1.61$ |
| SJT3   | 0.070 | 0.037 | $0.070 \times 400 \times 50 = 1400$ | $0.070/0.037 = 1.89$ |
| SJT4   | 0.053 | 0.033 | $0.053 \times 400 \times 50 = 1060$ | $0.053/0.033 = 1.61$ |
| SJT5   | 0.074 | 0.044 | $0.074 \times 400 \times 50 = 1480$ | $0.074/0.044 = 1.68$ |
| SJT6   | 0.083 | 0.044 | $0.083 \times 400 \times 50 = 1660$ | $0.083/0.044 = 1.89$ |
| SJT7   | 0.095 | 0.049 | $0.095 \times 400 \times 50 = 1900$ | $0.095/0.049 = 1.94$ |
| SJT8   | 0.072 | 0.038 | $0.072 \times 400 \times 50 = 1440$ | $0.072/0.038 = 1.89$ |
| SJT9   | 0.048 | 0.023 | $0.048 \times 400 \times 50 = 960$  | $0.048/0.023 = 2.08$ |
| SJT10  | 0.103 | 0.055 | $0.103 \times 400 \times 50 = 2060$ | $0.103/0.055 = 1.87$ |

Tabel 3. Konsentrasi 10 ng/ $\mu$ l DNA Template dalam 500  $\mu$ l  
(Table 3. The Concentration of 10ng/ $\mu$ l of Template DNA in 500 $\mu$ l)

| Sampel | Volume dari Stok DNA ( $\mu$ l)                           | Vol. Aquabides ( $\mu$ l) |
|--------|---|---------------------------|
| SJT1   | 1960 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 2,6 | 497,4                     |
| SJT2   | 1740 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 2,9 | 497,1                     |
| SJT3   | 1400 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 3,6 | 496,4                     |
| SJT4   | 1060 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 4,7 | 495,3                     |
| SJT5   | 1480 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 3,4 | 496,6                     |
| SJT6   | 1660 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 3,0 | 497,0                     |
| SJT7   | 1900 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 2,6 | 497,4                     |
| SJT8   | 1440 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 3,5 | 496,5                     |
| SJT9   | 960 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 5,2  | 494,8                     |
| SJT10  | 2060 ng/ $\mu$ l x V = 10 ng/ $\mu$ l x 500 $\mu$ l = 2,4 | 497,6                     |



Gambar 1. Fragmen DNA Hasil Amplifikasi dengan Menggunakan Primer OPA 02 . Lajur 1 Penanda DNA 100bp Ladder Vivantis. Lajur 2- 11 Berturut-turut Sample Supejohn Transgenik 1 -10 ( SJT1 s/d SJT10).

(Figure 1. DNA Fragmen the Amplification Result Used OPA2 Primer. The First Row Vivantis DNA Ladder 100bp. The Rows 2 – 11 are the Supejohn Transgenic Samples 1-10( SJT1 – SJT10))

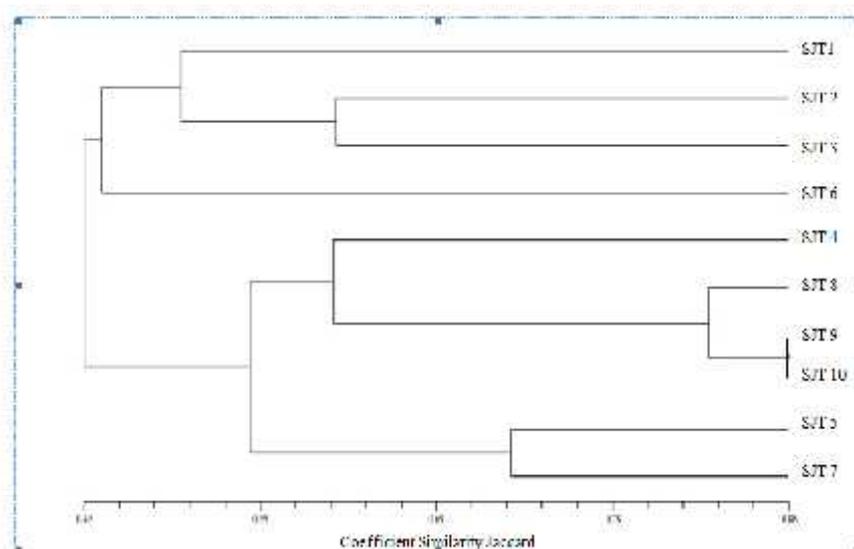
Tabel 4. Primer yang Menghasilkan Pola Pita Polimorfik untuk 10 Sample Supejohn Transgenik Subkultur ke 25

(Table 4. Primes which Result Polymorphic Bands for 10 Samples of Supejohn Transgenic Twenty Fifth Subculture)

| Primer | Sekuens (5' – 3') | Jumlah pita polimorfik |
|--------|-------------------|------------------------|
| OPA02  | TGC-CGA-GCT-T     | 6                      |
| OPA03  | AGT-CGA-GCT-G     | 5                      |
| OPA04  | AAT-CGG-GCT-G     | 8                      |
| OPA08  | GTG-ACG-TAG-G     | 7                      |
| OPA09  | GGG-TAA-CGC-C     | 7                      |

Pita yang polimorfik ditransfer ke matriks data biner dan dihitung koefisien jarak kesamaan

dan dibuat dendrogram yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 5.



Gambar 2. Dendrogram 10 Tanaman Supejohn Transgenik Berdasarkan Penanda RAPD.  
(Figure 2. Dendrogram of Ten Sample Planlet Supejohn Transgenic According RAPD Marker)

Tabel 5. Jarak Genetik antar Sample DNA Supejohn Transgenik dari Planlet Subkultur yang ke -25  
(Table 5. The Genetic Distance Between the DNA Sample of Supejoh Transgenic from the Twenty Fifth Subculture Planlets)

|              | SJT1       | SJT2      | SJT3      | SJT4      | SJT5      | SJT6      | SJT7      | SJT8      | SJT9      | SJT10     |
|--------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>SJT1</b>  | '1.0000000 |           |           |           |           |           |           |           |           |           |
| <b>SJT2</b>  | '0.6071429 | 1.0000000 |           |           |           |           |           |           |           |           |
| <b>SJT3</b>  | '0.4800000 | 0.6296296 | 1.0000000 |           |           |           |           |           |           |           |
| <b>SJT4</b>  | '0.5652174 | 0.5925926 | 0.5909091 | 1.0000000 |           |           |           |           |           |           |
| <b>SJT5</b>  | '0.4230769 | 0.4666667 | 0.5000000 | 0.5909091 | 1.0000000 |           |           |           |           |           |
| <b>SJT6</b>  | '0.5384615 | 0.5666667 | 0.3928571 | 0.4615385 | 0.5600000 | 1.0000000 |           |           |           |           |
| <b>SJT7</b>  | '0.5000000 | 0.5333333 | 0.4074074 | 0.5416667 | 0.7272727 | 0.5185185 | 1.0000000 |           |           |           |
| <b>SJT8</b>  | '0.4800000 | 0.4666667 | 0.5000000 | 0.6666667 | 0.6363636 | 0.5000000 | 0.5833333 | 1.0000000 |           |           |
| <b>SJT9</b>  | '0.5000000 | 0.4827586 | 0.4583333 | 0.6190476 | 0.5909091 | 0.4074074 | 0.5416667 | 0.8421053 | 1.0000000 |           |
| <b>SJT10</b> | '0.4782609 | 0.4137931 | 0.5000000 | 0.6000000 | 0.6500000 | 0.4400000 | 0.5217391 | 0.8333333 | 0.8823529 | 1.0000000 |

Koefisien jarak dalam Tabel 5 menunjukkan bahwa planlet supejohn transgenik yang telah disubkultur 25 kali mengalami keragaman atau terjadi variasi somaklonal. Hal ini terlihat dengan adanya variasi koefisien kesamaan antar sampel-sampel DNA supejohn transgenik yaitu dari 0.39 – 0.88 dan rata-rata koefisien kesamaan yaitu 0,63 (63%) atau keragaman genetik seluruh sampel sebesar 37%.

Dendrogram di atas juga menunjukkan bahwa kesepuluh sampel supejohn transgenik dapat dikelompokkan dalam dua kluster yang besar, tapi masih dapat dipilah dalam beberapa cluster berdasarkan keeratn koefisien kesamaan-nya. Pertama yaitu kelompok sampel SJT1, SJT2, SJT3 dan SJT6 yang dapat dilihat bahwa

mempunyai nilai kesamaan yang jauh, hanya cluster SJT2 dan SJT3 yang memiliki nilai kesamaan 0.63, dua cluster yang lain mempunyai nilai kesamaan di bawah 0,55, malah kesamaan paling jauh yaitu antar SJT3 dan SJT6 yaitu 0.39. Kluster kedua yaitu SJT4, SJT8, SJT9, SJT10, SJT5 dan SJT7 yang masih dapat dikelompokkan dalam empat kluster dengan koefisien kesamaan 0.65 yaitu SJT4 dan SJT8-10 di dalamnya terdapat subkluster yang mempunyai kesamaan yang paling dekat dengan nilai 0.88 yaitu SJT9 dan SJT10. Subkluster yang lain dengan nilai koefisien kesamaan 0,73 yaitu SJT5 dan SJT7. Dendrogram kesamaan jarak genetik penanda RAPD dari kesepuluh sampel DNA supejohn transgenik subkultur ke 25 dapat dilihat pada Gambar 1.

Ternyata kesepuluh sampel supejohn transgenik dapat dikelompokkan dalam dua kluster besar yaitu kelompok SJT1, SJT2, SJT3 dan SJT6 kemudian kelompok SJT4, SJT8, SJT9, SJT10, SJT5 dan SJT7. Kesamaan yang paling jauh antara SJT3 dan SJT6 yaitu koefisien kesamaan hanya 0,39 dan kesamaan yang paling dekat antara SJT9 dan SJT10 yaitu koefisien kesamaan 0,88.

Hasil ini menunjukkan bahwa regenerasi secara kultur jaringan pada subkultur ke duapuluh lima untuk tanaman kentang supejohn transgenik telah menghasilkan keragaman genetik atau terjadi variasi somaklonal.

Rekayasa tanaman kentang menjadi tanaman kentang transgenik yang tahan terhadap hama atau penyakit merupakan usaha penting dalam pemuliaan tanaman untuk program pengelolaan hama atau penyakit secara terpadu yang ramah lingkungan. Perbaikan genetik secara bioteknologi (non konvensional) dilakukan dalam keadaan *in vitro* maka perbanyak tanamannya dilakukan juga secara *in vitro* dengan maksud agar klon tanaman yang dihasilkan identik dengan induk. Namun terjadi hal yang membatasi usaha ini karena adanya variasi somaklonal (Meiyalaghan *et al.*, 2011).

Identifikasi kemungkinan terjadi variasi somaklonal pada pertumbuhan awal suatu tanaman sangat bermanfaat sebagai kontrol kualitas sumber bahan tanaman yang berasal dari hasil kultur jaringan termasuk tanaman transgenik. Sekarang ini variasi somaklonal dapat ditelusuri pada taraf fenotipe, sitologis, biokimia dan molekuler. Penanda molekuler RAPD-lah yang banyak digunakan untuk mendeteksi karakteristik variasi somaklonal pada taraf DNA. Penelitian pada tanaman zaitun menunjukkan bahwa pada subkultur pertama menghasilkan koefisien kesamaan dengan tanaman induk mencapai nilai 0,99 sedangkan pada sub kultur ke-7 koefisien kesamaan dengan tanaman induk hanya 0,73 (Peyvandi, 2009). Untuk tanaman kentang transgenik telah dilaporkan bahwa terjadi variasi somaklonal antara 15 – 80 % yang tergantung pada kultivar kentang yang digunakan dan cara organogenesis langsung atau melalui fase kalus (Meiyalaghan *et al.*, 2011).

Tiga hal yang dapat menjadi penyebab variasi somaklonal yaitu 1). Variasi telah ada pada sumber bahan tanaman, 2). Variasi karena terjadi perubahan pada faktor genetik (perubahan pada DNA) dan 3). Variasi karena epigenetik atau efek fisiologis/sifat yang tidak diturunkan (Swartz, 1991). Selanjutnya dinyatakan oleh Leva *et al.* (2012), bahwa variasi somaklonal dapat disebabkan oleh 1) Sistem Regenerasi diurutkan dari struktur tanaman yang dapat mempertahankan stabilitas genetik yang tinggi sampai ke stabilitas genetik yang rendah yaitu eksplan pucuk, internode, tunas tambahan, somatik embriogenesis, organogenesis melalui kalus, kultur sel dan protoplasma. 2) Sumber eksplan berasal dari jaringan meristem, jaringan akar, batang dan daun. 3) Komponen media berkenaan dengan hormonal apakah jenis maupun konsentrasi. 4) Umur planlet dan berapa kali dikultur. 5) Efek genotipe terhadap kondisi kultur *in vitro* yang akan memberi stress pada sel tanaman sehingga dapat menjadi inisiasi proses mutasi. Namun genom berbeda akan berbeda pula responnya terhadap stress.

Dalam penelitian ini digunakan sumber bahan tanaman dari varitas yang sama, dikultur dengan cara yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa faktor genetik bahan tanaman sama, jika terjadi keragaman genetik maka dapat disebabkan oleh periode kultivasi (berapa kali disubkultur) sehingga menghasilkan kesamaan jarak genetik yang beragam. Seperti hasil penelitian pada tanaman zaitun dengan menggunakan eksplan internode didapat bahwa subkultur ke-4 dan 5 menghasilkan jarak genetik yang sudah mencapai keragaman 0,67 (Fahrani *et al.*, 2011). Juga pada tanaman yang sama tapi berbeda varitas oleh peneliti yang berbeda mendapati bahwa dengan membandingkan keragaman genetik subkultur pertama dan subkultur ke-7 terhadap genetik induk didapatkan bahwa kesamaan jarak genetik subkultur pertama sangat dekat dengan tanaman induk (0,99), sedang untuk subkultur ke-7 kesamaan jarak genetik telah mencapai 0,75 yang mengartikan terjadi keragaman (Peyvandi *et al.*, 2009).

Penggunaan penanda molekuler RAPD pada dua genotipe untuk mengindikasikan tingginya

taraf sekuens homologi pada ukuran tersebut. Jika penanda itu muncul pada satu genotipe dan tidak muncul pada genotipe yang lain menunjukkan bahwa terjadi perbedaan sekuens DNA. Kemungkinan-kemungkinan terjadinya perubahan sekuens ialah insersi, delesi, inversi dan translokasi (Williams *et. al.*, 1990).

Kebanyakan kasus variasi somaklonal dalam perbanyakan secara kultur jaringan disebabkan karena mengalami dediferensiasi (bentuk kalus) dan juga planlet kultur jaringan berasal dari suspensi sel atau protoplasma sehingga cara ini mengganggu stabilitas genetik (Leva *et. al.*, 2012 ). Penelitian ini menggunakan eksplan pucuk sehingga planlet yang dihasilkan yaitu planlet organogenesis langsung yang tidak mengalami bentuk kalus. Tapi tetap suatu eksplan untuk menjadi planlet harus mengalami diferensiasi sel/jaringan. Pada saat mengalami diferensiasi maka ada kemungkinan terjadi epigenetik (deprogramming genetik) melalui metilasi DNA, modifikasi histone atau lokasi nukleosom yang kesemuanya terkait dengan ekspresi gen (Kaepler *et. al.*, 2000), namun dalam penelitian ini tidak diteliti mengenai ekspresi gen. Untuk mencegah variasi somaklonal maka para produsen bibit tanaman secara *micropropagation* setiap tahun akan memperbaharui sumber stok yang menjadi eksplan yaitu langsung dari tanaman inang di lapang/ *in vivo mother plants* (Swartz, 1991).

Pengaruh banyaknya subkultur pada kentang supejohn transgenik yang diteliti yaitu subkultur ke dua puluh lima menunjukkan bahwa terjadi keragaman genetik. Walaupun tanaman ini ditanam pada media agar dengan menggunakan MSO, masih saja terjadi variasi somaklonal ini menunjukkan bahwa terjadinya keragaman bukan berasal dari zat pengatur tumbuh melainkan dari faktor lainnya yang terkait dengan regenerasi secara kultur jaringan. Juga eksplan yang digunakan bukan berasal dari kultur protoplasma tapi eksplan meristem pucuk dari subkultur tanaman supejohn transgenik sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa dalam pertumbuhan eksplan tidak mengalami bentuk kalus tapi langsung terjadi pembentukan organ tunas ataupun akar. Dalam hal ini kondisi lingkungan kulturlah yang dapat

mempengaruhi terjadinya variasi somaklonal. Seperti terjadi adaptasi genom pada pengaturan lingkungan mikro dalam kultur jaringan (Peyvandi *et. al.*, 2009). Faktor lingkungan kultur jaringan menjadi cekaman genom yang menyebabkan perubahan kromosom dan telah menjadi hasil studi bagi banyak peneliti bahwa perubahan dalam perbanyakan sel secara mitosis karena terjadi split dari serat gelendong yang memisahkan kromatid ke kutub-kutub yang berbeda sehingga dapat terjadi abnormal migrasi dari kromosom sel induk ke sel anak yaitu terjadi penyebaran yang tidak merata dari kromatid dalam pembelahan sel. Faktor lingkungan kultur jaringan dapat menyebabkan terganggu kontrol seluler sehingga terjadi perubahan genomik (Swartz, 1991).

## KESIMPULAN

Terjadi keragaman pita DNA antar sepuluh planlet kentang supejohn transgenik yang telah dua puluh lima kali disubkultur. Keragaman genetik yang terjadi sebesar 37% atau rata-rata kesamaan genetik sebesar 63%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Fahrani F., R. Yari and M. Sheidai. 2011. Molecular, C-Value and Morphological Analyses of Somaclonal Variation in Three Olive Cultivars. *African Journal of Plant Science* Vol.5 (9), pp 493-499.
- Herman M. 2007. Kentang Transgenik Tahan Penyakit Hawar Daun. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 29 (3) (16-17).
- Kaepler, S.M., H.F. Kaepler and Y. Rhee. 2000. Epigenetic Aspects of Somaclonal Variation in Plants. *Plant Molecular Biology* 43: 179-188.
- Lengkong, E.F. 2010. Transformasi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum L*) Dengan Gen Chitinase Untuk Induksi Ketahanan Terhadap Penyakit Hawar Daun (*Phytophthora infestans*). *Disertasi Program Pascasarjana Universitas Brawijaya*.

- Leva, A.R., R. Petruccelli and L.M.R. Rinaldi. 2012. *Somaclonal Variation in Tissue Culture : A Case Study With Olive*. <http://dx.doi.org/10.5772/50367>.
- Peyvandi, M., Z. Noormohammadi, O. Banihashemi, F. Farahani, A. Majid, M. Hosseini- Mazinani and M. Sheidai. 2009. Molecular Analysis of Genetic Stability in Long-Term Micropropagated Shoots of *Olea europea L (cv. Dezful)*, *Asian Journal of Plant Sciences* 8(2): 146-152.
- Rocha, E.A., L.V. Paiva, H.H. de Carvalho and C.T. Guimaraes. 2010. Molecular Characterization and Genetic Diversity of Potato Cultivars Using SSR and RAPD Markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 10:204-210. Brazil.
- Swartz, H.J. 1991. Post Culture Behavior: Genetic and Epigenetic Effects and Related Problems dalam P.C.Debergh and R.H. Zimmerman (eds.) *Micropropagation Technology and Application*. *Kluwer Academic Publisher*. (95- 121).
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Research* Vol. 18 No. 22.
- Zucchi, M.I., H. Arizono, V.A. Morais, M.H. P. Fungaro and M.L.C. Vieira. 2002. Genetic Instability of Sugarcane Plants Derived from Meristem Cultures. *Genetics and Molecular Biology*, 25,1, 91 – 96.

