

Pemilihan Tetua Persilangan Pada Kubis (*Brassica oleracea* var. *capitata*) Melalui Analisis Keragaman Genetik [Parental Line Selection in Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) through Genetic Diversity Analysis]

Nur Kholilatul Izzah¹⁾ dan Reflinur²⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Jln. Raya Pakuwon Km 2, Parungkuda, Sukabumi, Jawa Barat, Indonesia 43357

²⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jln. Tentara Pelajar no. 3A, Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16111
E-mail: lila_ref@yahoo.co.id

Diterima: 12 April 2018; direvisi: 23 Mei 2018; disetujui: 25 Juni 2018

ABSTRAK. Kubis (*Brassica oleracea* var. *capitata*) merupakan salah satu jenis sayuran dengan nilai ekonomi tinggi. Untuk meningkatkan kualitas dan produktivitasnya perlu terus didukung oleh tersedianya varietas unggul baru (VUB) yang tahan penyakit, terutama penyakit busuk hitam dan akar gada yang dapat menggagalkan panen. Untuk tujuan tersebut diperlukan perakitan VUB yang diawali dengan pemilihan tetua persilangan yang sesuai. Penelitian bertujuan memilih kombinasi tetua persilangan yang ideal pada tanaman kubis melalui analisis keragaman genetik menggunakan marka *simple sequence repeats* (SSR). Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2013 di Laboratorium Functional Crop Genomics and Biotechnology, Seoul National University, Korea Selatan menggunakan 16 genotipe kubis yang diperoleh dari perusahaan benih Joeun, Korea Selatan. Keragaman genetik 16 genotipe kubis dianalisis menggunakan 35 marka SSR polimorfik. Pengelompokan genotipe kubis dilakukan berdasarkan metode UPGMA yang terdapat pada program NTSYS. Sementara itu, nilai jarak genetik antargenotipe diperoleh berdasarkan rumus 1-nilai kesamaan genetik. Hasil analisis keragaman genetik membagi 16 genotipe kubis menjadi dua kelompok heterotik utama pada nilai kesamaan genetik 65,2%. Berdasarkan hasil analisis diperoleh empat kombinasi tetua persilangan ideal, yaitu genotipe IMO-03 vs IMO-08 (nilai jarak genetik 43%) dan IMO-03 vs IMO-10 (nilai jarak genetik 39%) untuk karakter ketahanan terhadap penyakit busuk hitam, serta genotipe IMO-18 vs IMO-10 dan IMO-17 vs IMO-10 dengan nilai jarak genetik masing-masing 45% dan 44% untuk karakter ketahanan terhadap penyakit akar gada. Empat kombinasi tetua tersebut dipilih karena terletak pada kelompok heterotik berbeda serta mempunyai nilai jarak genetik tinggi sehingga diharapkan dapat meningkatkan peluang heterosis pada progeni yang dihasilkan.

Kata kunci: *Brassica oleracea* var. *capitata*; Genotipe; Keragaman genetik; Pemilihan tetua

ABSTRACT. Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) is one of the important vegetable commodities having high economic value. To increase plant quality and productivity, availability of new superior varieties resistant to black rot and club root disease is proposed to reduce yield-lost on harvesting time. For the purpose, selecting best parental lines is significantly addressed. Objective of this research was to select the ideal combination of parental lines on cabbage through analysis of genetic diversity using simple sequence repeats markers (SSR). The research was conducted from February to May 2013 in the Laboratory of Crop Functional Genomics and Biotechnology, Seoul National University, South Korea using 16 cabbage genotypes obtained from Joeun seed company, South Korea. The genetic diversity of 16 cabbage genotypes was analyzed with 35 polymorphic SSR markers. The grouping of those cabbage genotypes was performed based on UPGMA method as implemented in the NTSYS program. Meanwhile, genetic distance value among cabbage genotypes were determined by the formula of 1-value genetic similarity. Results of genetic diversity analysis revealed that 16 cabbage genotypes were clustered into two main heterotic groups with 65.2% genetic similarity. Based on the results it was selected four combinations for ideal parental lines, namely IMO-03 vs IMO-08 genotype with 43% genetic distance and 39% genetic distance of IMO-03 vs IMO-10 for black rot disease resistance character, while IMO-18 vs IMO-10 and IMO-17 vs IMO-10 genotypes with 45% and 44%, respectively, for club root disease resistance character. These four parental lines combination were selected as ideal parental combinations since they were located on different heterotic groups and had high genetic distance value. The condition expected can increase the chances of heterosis in their progeny.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *capitata*; Genotype; Genetic diversity; Parental line selection

Kubis atau kol (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) merupakan sayuran yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, baik di negara tropis maupun subtropis. Kubis dikenal kaya kandungan fitonutrien dan berbagai macam vitamin (A, C, dan K) yang merupakan antioksidan alami yang dapat membantu mencegah berbagai penyakit, seperti kanker dan jantung serta mencegah radikal bebas (Dalimartha 2006). Di

Indonesia, kubis merupakan tanaman sayuran yang memberikan kontribusi produksi terbesar, yaitu sebesar 12,05% terhadap total produksi sayuran. Pada tahun 2014, produksi kubis nasional mencapai 1.435.833 ton dengan total luas panen 63.116 ha. Dari total produksi nasional tersebut, sekitar 59,68% berasal dari Pulau Jawa (Direktorat Jenderal Hortikultura 2015). Hal ini menjadikan Indonesia termasuk dalam 10 negara

penghasil kubis terbesar di dunia (Quiros & Farnham 2011).

Namun demikian, produksi kubis Indonesia masih lebih rendah dari potensi produksinya. Rendahnya produksi kubis di Indonesia disebabkan oleh kondisi lingkungan tumbuh yang kurang mendukung pertumbuhan kubis sehingga kubis kebanyakan hanya ditanam di dataran tinggi. Disamping itu, serangan penyakit seperti penyakit busuk hitam dan akar gada juga menjadi permasalahan serius yang dapat menimbulkan kerugian besar bahkan dapat menyebabkan kegagalan panen. Di Indonesia, kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit akar gada diperkirakan mencapai Rp2,8 milyar setiap musim, sedangkan serangan penyakit busuk hitam dapat menyebabkan seluruh daun kubis menguning dan mudah gugur sebelum waktunya (Sastrosiswojo, Uhan & Sutarya 2005). Selain itu, hasil penelitian Towaki *et al.* (2014) menunjukkan bahwa tingkat serangan penyakit akar gada pada dua Desa di Tomohon, Sulawesi Utara mencapai 46,40-52,17%. Hal ini menunjukkan bahwa kedua penyakit tersebut merupakan penyakit utama yang menjadi faktor pembatas pada produksi kubis di Indonesia. Salah satu upaya untuk mengatasi serangan kedua penyakit tersebut adalah dengan merakit VUB tahan terhadap penyakit akar gada dan busuk hitam pada kubis.

Ketersediaan varietas unggul yang tahan terhadap serangan hama dan penyakit utama seperti penyakit akar gada dan busuk hitam perlu dilakukan untuk meningkatkan produktivitas kubis di Indonesia. Keberhasilan program perakitan VUB sangat ditentukan oleh tersedianya sumber daya genetik yang beragam dan metode pemuliaan yang tepat (Sutjahjo *et al.* 2015). Salah satu metode dalam program pemuliaan tanaman yang digunakan untuk perakitan VUB adalah melalui persilangan buatan (*hand pollination*). Penentuan kombinasi tetua yang ideal sangat penting dilakukan agar nilai tambah atau efek heterosis dari masing-masing tetua persilangan dapat diturunkan pada progeninya. Pemilihan tetua persilangan merupakan hal yang krusial dalam membentuk kombinasi yang ideal dalam persilangan (Syafaruddin, Dani & Pabendon 2017; Wang, Lu & Wan 2006). Kombinasi genotipe yang mempunyai nilai jarak genetik tinggi dapat direkomendasikan sebagai tetua dalam persilangan, hal ini karena dapat meningkatkan efek heterosis pada progeni yang dihasilkan (Balestre *et al.* 2008; Hung *et al.* 2012; Rubiyo *et al.* 2015). Selain digunakan untuk mendapatkan progeni yang lebih unggul daripada tetuanya, kombinasi tetua persilangan yang ideal juga sangat bermanfaat dalam pembentukan populasi hibrida untuk kegiatan penelitian konstruksi peta genetik (Izzah *et al.* 2014). Selanjutnya untuk

mendapatkan kombinasi tetua persilangan yang ideal diperlukan analisis keragaman genetik dan kekerabatan spesies dan/atau genotipe tanaman.

Analisis keragaman genetik dan kekerabatan antarspesies maupun antargenotipe mempunyai andil besar dalam mendukung keberhasilan program pemuliaan tanaman karena dapat mengelompokkan plasma nutfah berdasarkan kesamaan genetiknya dan dapat digunakan untuk menentukan tetua persilangan (Mahatma *et al.* 2009). Penentuan kombinasi tetua persilangan melalui analisis keragaman genetik dengan menggunakan marka SSR memberikan hasil yang lebih meyakinkan dibandingkan dengan marka morfologi karena sifatnya yang tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Wang, Lu & Wan 2006). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan keberhasilan aplikasi marka SSR dalam menentukan kombinasi tetua persilangan pada kubis (Xing *et al.* 2018), serta pada tanaman lain seperti padi (Wang, Lu & Wan 2006; Rajendran *et al.* 2012), jagung (Balestre *et al.* 2008; Hung *et al.* 2012), kapas (Mahatma *et al.* 2009), kakao (Rubiyo *et al.* 2015) dan kopi (Syafaruddin, Dani & Pabendon 2017). Hal ini menunjukkan bahwa marka SSR sangat efektif untuk menganalisis keragaman genetik dan memprediksi kombinasi tetua persilangan karena menunjukkan pola pewarisan Mendel, mempunyai banyak alel dan reproduktivitas tinggi serta bersifat kodominan, yaitu bisa digunakan untuk mengidentifikasi genotipe heterozigot dan homozigot di dalam populasi (Ramchiary *et al.* 2011; Balestre *et al.* 2008). Oleh karena itu, marka SSR digunakan pada penelitian ini untuk menentukan kombinasi tetua persilangan ideal pada tanaman kubis.

Penelitian ini merupakan langkah awal dalam perakitan VUB pada tanaman kubis yang diarahkan untuk pemilihan kombinasi tetua yang ideal untuk mendapatkan karakter ketahanan terhadap penyakit busuk hitam dan akar gada melalui persilangan buatan. Tujuan dari penelitian ini adalah memilih kombinasi tetua persilangan yang ideal pada kubis melalui analisis keragaman genetik dengan menggunakan marka SSR. Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah terdapat paling sedikit satu kombinasi tetua persilangan yang diduga mempunyai nilai jarak genetik tinggi untuk digunakan sebagai tetua persilangan pada tanaman kubis.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada Bulan Februari sampai Mei 2013 di Laboratorium Functional Crop

Tabel 1. 16 genotipe kubis yang digunakan untuk analisis keragaman genetik (*Sixteen cabbage genotypes used for genetic diversity analysis*)

Nama genotipe (<i>Genotypes name</i>)	Karakteristik utama (<i>Main characteristics</i>)
IMO-01	Tahan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Resistant to black rot</i>)
IMO-02	Tahan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Resistant to black rot</i>)
IMO-03	Tahan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Resistant to black rot</i>)
IMO-05	Tahan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Resistant to black rot</i>)
IMO-06	Tahan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Resistant to black rot</i>)
IMO-07	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-08	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-09	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-10	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-11	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-12	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-13	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-15	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-16	Rentan terhadap penyakit busuk hitam (<i>Susceptible to black rot</i>)
IMO-17	Tahan terhadap penyakit akar gada (<i>Resistant to club root</i>)
IMO-18	Tahan terhadap penyakit akar gada (<i>Resistant to club root</i>)

Genomics and Biotechnology, Department of Plant Sciences, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Korea Selatan.

Bahan Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah 16 genotipe kubis yang terdiri atas lima genotipe tahan terhadap penyakit busuk hitam, sembilan genotipe rentan terhadap penyakit busuk hitam dan dua genotipe tahan terhadap penyakit akar gada. Semua genotipe kubis yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari perusahaan benih Joeun, Cheonhan-Myun, Korea Selatan (Tabel 1).

Prosedur Ekstraksi DNA

Sebanyak 3 g daun kubis yang masih muda dan sehat dikoleksi dari tiap-tiap genotipe kubis untuk keperluan ekstraksi DNA. Sampel daun tersebut diambil dari tanaman kubis berumur 35 hari. Sampel daun kubis dipotong kecil-kecil kemudian diberi nitrogen cair dan dihaluskan hingga terbentuk serbuk halus menggunakan mortar dan *pestle*. Prosedur yang digunakan untuk ekstraksi DNA mengikuti metode *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) yang sebelumnya telah dikembangkan oleh Allen *et al.* (2006). DNA yang dihasilkan selanjutnya diukur kualitas dan kuantitasnya menggunakan alat NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA). Sebelum digunakan untuk analisis berikutnya maka setiap sampel DNA tersebut

diencerkan dengan larutan 1x bufer TE sampai konsentrasinya menjadi 10 ng/ μ l.

Skrining Polimorfisme Menggunakan Marka SSR

Skrining polimorfisme pada 16 genotipe kubis dilakukan menggunakan 120 marka SSR (Louarn *et al.* 2007; Burgess *et al.* 2006; Suwabe *et al.* 2002; Lowe *et al.* 2004; Piquemal *et al.* 2005). Proses skrining polimorfisme ini dilakukan melalui beberapa tahap. Tahap pertama adalah amplifikasi DNA dengan menggunakan program PCR (*polymerase chain reaction*). Bahan kimia yang digunakan antara lain 10 ng DNA, 0,2 μ M primer *forward* dan *reverse* serta 1x PCR mix dengan volume akhir 15 μ l. Prosedur amplifikasi DNA adalah predenaturasi pada suhu 95°C selama 3 menit, denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 53°C selama 15 detik dan perpanjangan (*extension*) pada suhu 72°C selama 15 detik serta perpanjangan akhir (*final extension*) pada suhu 72°C selama 10 menit. Proses amplifikasi dari tahap denaturasi sampai perpanjangan diulang sebanyak 35 siklus. Tahap kedua adalah pengecekan hasil amplifikasi menggunakan elektroforesis dengan gel agarose 1% yang sudah mengandung pewarna *gelred* pada larutan 0,5x bufer TBE. Apabila semua DNA genotipe kubis sudah teramplifikasi dengan sempurna maka tahap selanjutnya adalah elektroforesis dengan menggunakan gel poliakrilamid nondenaturasi 6% pada larutan 1x bufer TBE. Pewarnaan gel dilakukan

Tabel 2. Marka SSR polimorfik yang digunakan dalam analisis keragaman genetik kubis (*Polymorphic SSR markers used for genetic diversity analysis in cabbage*)

Nama primer SSR (SSR primers name)	Primer forward (Forward sequence)	Primer reverse (Reverse sequence)	Motif pengulangan (Repeat motifs)	Ukuran alel (Allele size) bp
BoREM1b	TCCGAAAGTGGGAAAGG	TGTGTCAGAAAGCGAGAAGG	(AAG)5	167
BoDCTD1	AGAAAGCAGACGGGAATGG	TGGTTAAAGCGAAAGTGTGC	(AGA)6	166
BoKAH45*TR	ATTATGACGCCTGGTTTTA	ATTGGTTAGAAGTTATGGGAAC	(TTG)6	269
PBCGSSRB01	TGTCTGTTTGAGTAACCCGGTA	TTGTTCAAACCCCTCACAA	(AT)18	170-172
PBCGSSRB02	TTCAGAGACCTTGGATTCCGG	CGCCTAGCCTCTCAAGTCAC	(AG)18	168-203
PBCGSSRB05	GAGGCTGAATGGATGATTTTC	CGGTTATGTTCCGGTTTGAT	(AT)14	222-243
PBCGSSRB06	TGAAGAGGAAGCACCAGACC	ATCCGAAACCAACTCGTC	(AG)52	133-162
PBCGSSRB08	TGGGTCCCAGTTACAAGAGG	GATCGACGGCCATTATGATT	(TC)6	244-278
PBCGSSRB022	ACTCACTTTTGTGGGCGTC	GGAGCCGCTTTCTCTACCTT	(TTC)4	240-292
PBCGSSRB028	TTCGAAGATGCCTTGTCTGA	GGAGCTTCTAGGGCGAACTTT	(AAGA)6	168-212
PBCGSSRB029	GCATCAAAGCGTCCATGA	TCATATACCGACGGCAACAA	(TTCT)10	156-244
PBCGSSRB030	TGTACCGTCACTTCAGCAGC	GGATTCTGAAGCCGCATAATA	(GTAT)6	167-235
PBCGSSRB031	CATGCATACCGTCCAAACAG	ATGCTGGTGATTTTCCTTGG	(AAAC)6	239-275
PBCGSSRB033	GGACATGACCGAATTGCC	TCTACAACACGCCTTTGCAC	(AAAAG)2	106-135
PBCGSSRB035	TTACTCGACCTTTGATGGGC	TTCGTTGGTCGATTAGGACC	(AAAAT)8	217-241
PBCGSSRB038	GTAAGACCAGGTTTGCTGCC	TCGGAAACGAAACCTACCAC	(CTAAT)2CTA ATCTAATCTAA	230-300
PBCGSSRB039	AACGCATCCATCCTCACTTC	TAAACCAGCTCGTTCGGTTC	(GGTCG)4	250-330
BRMS-008	AGGACACCAGGCACCATATA	CATTGTTGTCTTGGGAGAGC	(TC)30	145
BRMS-015	TCGCCAATAGAACCCAAAACCTT	CATCTCCATTGCTGCATCTGCT	(TG)4, (GA)20	263
BRMS-017	GGAAAGGGAAGCTTCATATC	CTGGAAAGCATACTTTGG	(CA)33	209
BRMS-034	GATCAAATAACGAACGGAGAGA	GAGCCAAGAAAGGACCTAAGAT	(GA)18	145
CB10208	ACTACTGTTGCGGTTGGA	GGCATTCACTACGTCTGC	GT	244-251
CB10258	ATGATGCCTAGCATGTCC	AAGCTAAAGCGAAAGAAGC	CAT	230-237
CB10369	CATTACAGGACCAGAGC	CAAAGCCAAGACAACCAT	GAT	195
BRAS068	CACCGTCGGAGTCTGAAT	GAGCCGTTAAACCNAGTGTG	CTT	155
CB10530	TCCTCGTCCTTATTCTCT	TTTATGGTGATGGGGTGA	CT	287
CB10234	TCTGTTGTTTCTCTCGCC	CTGATGGACTAGGACCCC	CTT	340
CB10028	CTGCACATTTGAAATTGGTC	AAATCAACGCTTACCCACT	CTT	199
CB10064	CTCTCTCATCATATTCGGTG	TAGCAGAAAGAGTAAGAGGG	GT	180
CNU099	CAAATCAGCAAACACCTGTCTG	TTCTGCAAAGAAGGAGAATCGG	(CT)23	182
HAU23	CTCTGGTCTCTGCAATCTTCT	CTCACGACCCACCTTCTTATAC	(CAC)9	213
BRAS019	CTCAAGACAAACGACCAGTAA	GAGAAGAAATCGCCAAGA	TC	148-176
CNU400	CGAGTTTTTGTGTGTACGTATAGT AAT	CCAAAGTGCCTAAAGGAAGG	(AT)28	298
MR049	AATGGGAAGCTCGTCGAA	AATTATGCCAACATCTACGG	-	191-233
Na12C08	GCAAACGATTTGTTTACCCG	CGTGTAGGGTGATCTAGATGGG	-	96-137

dengan menggunakan larutan ethidium bromide selama 20 menit dan divisualisasi pada UV transluminator menggunakan *gel documentation system*. Dari hasil skrining diperoleh 35 marka SSR polimorfik yang kemudian digunakan untuk analisis keragaman genetik (Tabel 2).

Keragaman genetik 16 genotipe kubis dianalisis menggunakan 35 marka SSR polimorfik yang telah diskriminasi sebelumnya. Prosedur yang digunakan untuk analisis keragaman genetik sama dengan proses skrining polimorfisme. Hasil analisis keragaman genetik tersebut selanjutnya diskriminasi dalam format

data biner, yaitu 1 apabila terdapat pita dan 0 apabila tidak ada pita.

Analisis Data

Matriks data biner yang dihasilkan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program NTSYS-PC versi 2.1 (Rohlf 2000) untuk mengetahui keragaman genetik 16 genotipe kubis yang digunakan dalam penelitian ini. Nilai kesamaan genetik antargenotipe kubis dihitung berdasarkan koefisien SM (*simple matching*) menggunakan subprogram SIMQUAL. Pengelompokan genotipe kubis dilakukan menggunakan *unweighted pair group arithmetic mean method* (UPGMA) pada subprogram SAHN. Jarak genetik antargenotipe kubis dihitung berdasarkan rumus 1-matriks kesamaan genetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

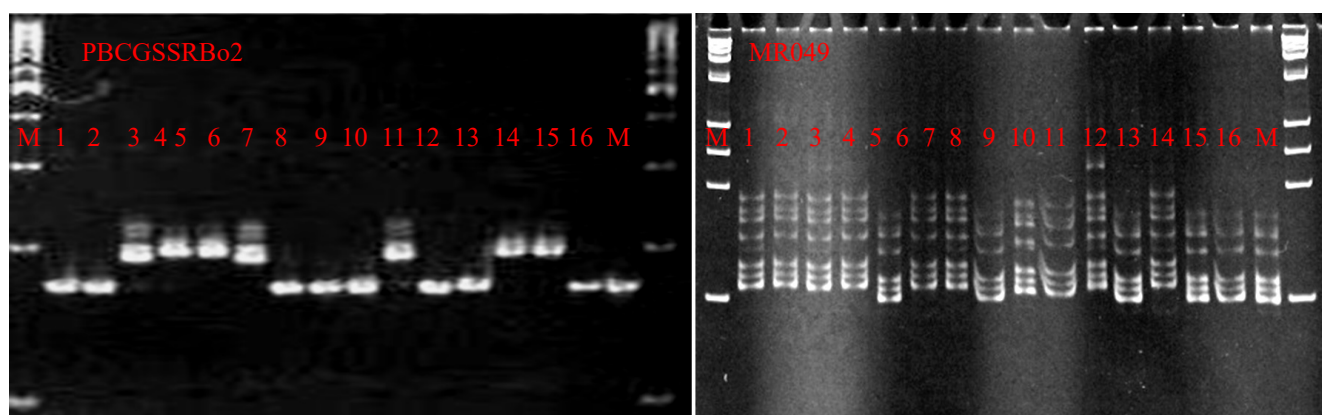
Keragaman Genetik Genotipe Kubis

Hasil amplifikasi 16 sampel DNA kubis melalui program PCR menunjukkan bahwa semua sampel DNA berhasil diamplifikasi menggunakan 35 marka SSR. Semua marka SSR yang digunakan bersifat polimorfik serta mempunyai pita yang jelas dan terseparasi dengan baik seperti yang terlihat pada Gambar 1. Hasil *genotyping* ini selanjutnya digunakan untuk menentukan keragaman genetik antargenotipe kubis.

Hasil analisis keragaman genetik menggunakan 35 marka SSR membagi 16 genotipe kubis menjadi dua kelompok utama pada nilai kesamaan genetik

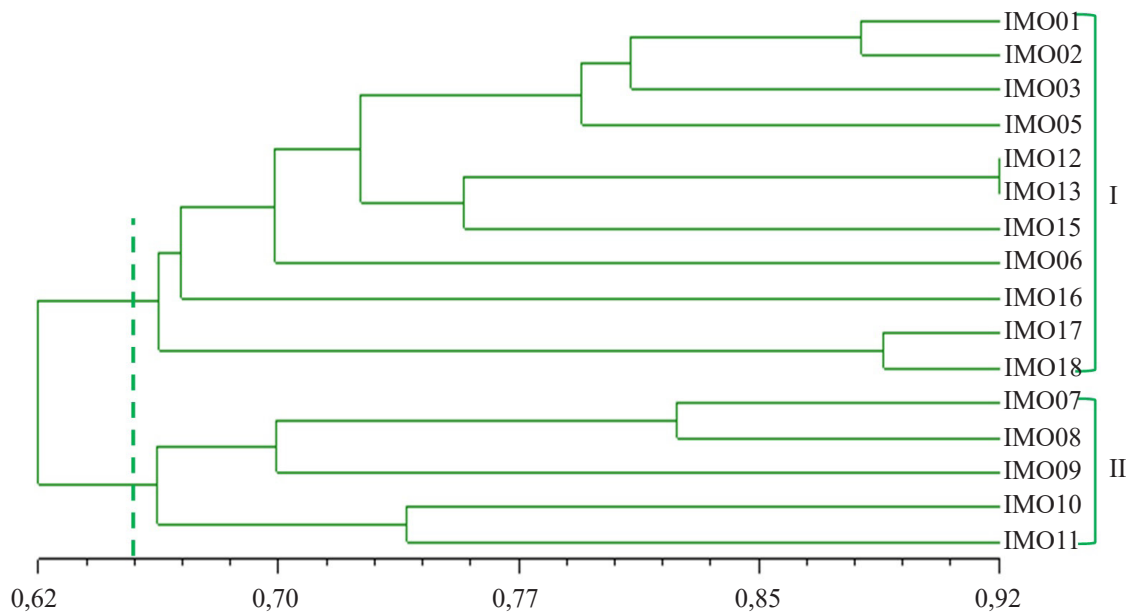
65,2% (Gambar 2). Pada kelompok pertama terdapat 11 genotipe kubis, sedangkan kelompok kedua terdiri atas lima genotipe kubis. Sebelas genotipe kubis yang terdapat pada kelompok pertama terdiri atas lima genotipe tahan penyakit busuk hitam (IMO-01, IMO-02, IMO-03, IMO-05, IMO-06), empat genotipe rentan penyakit busuk hitam (IMO-12, IMO-13, IMO-15, IMO-16), dan dua genotipe tahan penyakit akar gada (IMO-17 dan IMO-18). Sementara semua genotipe yang berada pada kelompok dua (IMO-07, IMO-08, IMO-09, IMO-10, IMO-11) mempunyai karakteristik rentan terhadap penyakit busuk hitam.

Genotipe kubis yang terdapat pada kelompok satu selanjutnya terbagi lagi menjadi beberapa subkelompok. Dua genotipe yang mempunyai karakteristik tahan terhadap penyakit akar gada, yaitu IMO-17 dan IMO-18, membentuk subkelompok sendiri dan terpisah dari sembilan genotipe lainnya pada nilai kesamaan genetik 66%. Genotipe IMO-16 yang diketahui rentan terhadap penyakit busuk hitam terpisah dengan delapan genotipe lain pada nilai kesamaan genetik 66,8%, sedangkan IMO-06 yang mempunyai sifat tahan terhadap penyakit busuk hitam terpisah dengan tujuh genotipe lain pada nilai kesamaan genetik 70%. Sementara pada nilai kesamaan genetik 72,4%, empat genotipe kubis tahan penyakit busuk hitam (IMO-01, IMO-02, IMO-03, IMO-05) mengelompok terpisah dengan tiga genotipe rentan penyakit busuk hitam (IMO-12, IMO-13, IMO-15). Pada kelompok dua, lima genotipe yang semuanya rentan terhadap penyakit busuk hitam membentuk dua subkelompok pada nilai kesamaan genetik 69%. Subkelompok I beranggotakan IMO-07, IMO-08, dan IMO-09, sedangkan subkelompok II terdiri dari IMO-10 dan IMO-11.



Gambar 1. Marka SSR yang menunjukkan pita polimorfik (primer PBCGSSRB02 dan MR049) pada 16 genotipe kubis setelah diseparasi menggunakan 6% gel poliakrilamid nondenaturasi [SSR markers that exhibited polymorphic bands (primer PBCGSSRB02 and MR049) on 16 cabbage genotypes after separation using 6% nondenaturing polyacrylamide gel electrophoresis]

1 = IMO-01; 2 = IMO-02; 3 = IMO-03; 4 = IMO-05; 5 = IMO-06; 6 = IMO-07; 7 = IMO-08; 8 = IMO-09; 9 = IMO-10; 10 = IMO-11; 11 = IMO-12; 12 = IMO-13; 13 = IMO-15; 14 = IMO-16; 15 = IMO-17; 16 = IMO-18



Gambar 2. Keragaman genetik antargenotipe kubis berdasarkan matriks kesamaan genetik (*Genetic diversity among cabbage genotypes based on genetic similarity matrix*)

Hasil penelitian membuktikan bahwa marka SSR mampu mengelompokkan genotipe kubis sesuai dengan karakter yang dimilikinya tanpa adanya pengaruh lingkungan. Pada penelitian ini 16 genotipe kubis berhasil dikelompokkan sesuai dengan karakter tahan busuk hitam dan akar gada. Izzah *et al.* (2014) berhasil mengelompokkan 91 kultivar *Brassica oleracea* L. berdasarkan subspeciesnya. Demikian juga dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Louarn *et al.* (2007) yang membagi 59 kultivar *B. oleracea* L. menjadi empat kelompok utama berdasarkan subspeciesnya. Selain itu, pengelompokan genotipe kubis berdasarkan marka SSR juga memberikan gambaran yang sangat berharga bagi pemulia mengenai posisi suatu genotipe terhadap genotipe lainnya. Hal ini mengindikasikan pentingnya melakukan analisis keragaman genetik koleksi plasma nutfah yang dapat menunjang program pemuliaan, terutama terkait pemilihan tetua persilangan.

Hasil dari analisis keragaman genetik ini selanjutnya dapat digunakan sebagai acuan dalam pemilihan kombinasi tetua persilangan yang ideal. Berdasarkan hasil dari dendrogram, kombinasi tetua persilangan untuk ketahanan terhadap penyakit busuk hitam dapat dipilih salah satu genotipe dari grup heterotik I (IMO-01, IMO-02, IMO-03, IMO-05, IMO-06) sebagai tetua tahan dan salah satu genotipe dari grup heterotik II (IMO-07, IMO-08, IMO-09, IMO-10, IMO-11) sebagai tetua rentan. Kombinasi tetua persilangan untuk ketahanan terhadap penyakit akar gada dapat dipilih IMO-17 atau IMO-18 yang terletak pada grup heterotik I sebagai tetua tahan dengan salah satu dari genotipe yang terletak pada grup heterotik II sebagai

tetua rentan. Kombinasi tetua persilangan yang ideal dianjurkan berasal dari grup heterotik berbeda sesuai dengan pendapat Hallaeur & Miranda Filho (1988) yaitu penentuan kombinasi tetua persilangan yang berasal dari grup heterotik berbeda akan menghasilkan progeni yang lebih unggul dibandingkan dengan hibrida yang diperoleh dari persilangan antartetua yang berasal dari grup yang sama.

Pemilihan Tetua Persilangan Pada Kubis

Penentuan kombinasi tetua persilangan yang ideal juga perlu didukung oleh nilai jarak genetik. Hasil analisis jarak genetik antargenotipe kubis yang dihasilkan pada penelitian ini berkisar antara 0,11-0,46 (Tabel 3). Nilai jarak genetik terendah (0,11) ditunjukkan oleh kombinasi genotipe IMO-18 vs IMO-17, sedangkan nilai jarak genetik tertinggi (0,46) terdapat pada kombinasi genotipe IMO-12 vs IMO-10 dan IMO-13 vs IMO-10. Kombinasi genotipe yang mempunyai nilai jarak genetik tinggi dapat dijadikan sebagai kandidat tetua persilangan untuk mendapatkan efek heterosis pada keturunannya. Dengan mengetahui nilai jarak genetik maka kombinasi tetua persilangan ideal yang terdapat di grup heterotik berbeda dapat ditentukan dengan pasti (Izzah, Randriani & Dani 2015). Pada penelitian ini diperoleh empat kombinasi genotipe kubis yang dapat dijadikan sebagai tetua persilangan, karena mempunyai nilai jarak genetik yang lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi genotipe lainnya. Kombinasi tetua persilangan tersebut antara lain genotipe IMO-03 vs IMO-08 yang mempunyai jarak genetik 0,43 dan IMO-03 vs IMO-10 dengan nilai jarak genetik 0,39 untuk karakter ketahanan terhadap

Tabel 3, Matriks jarak genetik 16 genotipe kubis berdasarkan marka SSR (*Genetic distance matrix of 16 cabbage genotypes based on SSR markers*)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
IMO-01	0,00															
IMO-02	0,12	0,00														
IMO-03	0,21	0,17	0,00													
IMO-05	0,18	0,21	0,23	0,00												
IMO-06	0,27	0,27	0,32	0,26	0,00											
IMO-07	0,32	0,34	0,36	0,30	0,31	0,00										
IMO-08	0,35	0,37	0,43	0,35	0,35	0,17	0,00									
IMO-09	0,38	0,36	0,35	0,32	0,32	0,29	0,30	0,00								
IMO-10	0,33	0,30	0,39	0,35	0,34	0,38	0,35	0,34	0,00							
IMO-11	0,34	0,32	0,34	0,34	0,33	0,33	0,30	0,32	0,26	0,00						
IMO-12	0,31	0,27	0,20	0,35	0,35	0,36	0,40	0,39	0,46	0,37	0,00					
IMO-13	0,29	0,26	0,24	0,33	0,33	0,35	0,39	0,38	0,46	0,36	0,07	0,00				
IMO-15	0,29	0,25	0,26	0,27	0,29	0,38	0,45	0,41	0,38	0,36	0,24	0,25	0,00			
IMO-16	0,31	0,33	0,36	0,33	0,38	0,41	0,41	0,39	0,40	0,32	0,33	0,30	0,33	0,00		
IMO-17	0,37	0,33	0,36	0,40	0,37	0,42	0,42	0,40	0,44	0,35	0,29	0,31	0,33	0,38	0,00	
IMO-18	0,38	0,33	0,33	0,38	0,38	0,40	0,43	0,40	0,45	0,39	0,22	0,22	0,28	0,38	0,11	0,00

penyakit busuk hitam. Dua kombinasi tetua lainnya adalah IMO-18 vs IMO-10 dan IMO-17 vs IMO-10 yang mempunyai nilai jarak genetik masing-masing 0,45 dan 0,44 untuk karakter ketahanan terhadap penyakit akar gada. Empat kombinasi genotipe kubis tersebut selanjutnya dapat digunakan sebagai kandidat tetua persilangan yang ideal dengan harapan untuk mendapatkan progeni yang lebih unggul daripada tetuanya.

Pemilihan tetua persilangan berdasarkan nilai jarak genetik telah dilakukan sebelumnya oleh Yuwono, Murti & Basunanda (2015) pada 20 galur inbred jagung manis, yang menunjukkan bahwa persilangan antargalur dengan nilai jarak genetik tinggi memiliki potensi untuk mendapatkan efek heterosis pada hibrida yang dihasilkan. Selain itu, Balestre *et al.* (2008) juga telah membuktikan bahwa kombinasi tetua persilangan yang mempunyai nilai jarak genetik tinggi pada tanaman barley memberikan hasil panen yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pemilihan kombinasi tetua persilangan berdasarkan nilai jarak genetik sangat penting dilakukan untuk mendapatkan keturunan dengan sifat yang diinginkan. Dengan demikian, penentuan kombinasi tetua persilangan berdasarkan nilai jarak genetik dapat digunakan sebagai acuan untuk mendapatkan keturunan dengan tingkat heterosis tinggi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil analisis keragaman genetik 16 genotipe kubis berdasarkan 35 marka SSR polimorfik

membagi semua genotipe kubis menjadi dua kelompok utama pada nilai kesamaan genetik 65,2%. Kelompok I terdiri atas lima genotipe tahan penyakit busuk hitam, empat genotipe rentan penyakit busuk hitam dan dua genotipe tahan penyakit akar gada, sedangkan kelompok II beranggotakan lima genotipe yang rentan terhadap penyakit busuk hitam. Berdasarkan hasil analisis keragaman genetik dan nilai jarak genetik antargenotipe kubis diperoleh empat kombinasi genotipe, yaitu IMO-03 vs IMO-08, IMO-03 vs IMO-10, IMO-18 vs IMO-10, dan IMO-17 vs IMO-10 yang dapat digunakan sebagai tetua persilangan yang ideal untuk karakter ketahanan terhadap penyakit busuk hitam dan akar gada. Keempat kombinasi genotipe kubis tersebut terletak di kelompok heterotik berbeda serta mempunyai nilai jarak genetik yang lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prof. Tae-Jin Yang dari Laboratorium Functional Crop Genomics and Biotechnology, Seoul National University, Korea Selatan yang telah memfasilitasi penelitian serta memberi saran dan bimbingan kepada penulis. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Kyounggu Ahn dari perusahaan benih Joeun yang telah menyediakan materi tanaman untuk penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh anggota Laboratorium Functional Crop Genomics and Biotechnology atas bantuan dan kerja samanya selama ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Allen, GC, Flores-Vergara, MA, Krasynanski, S, Kumar, S & Thompson, WF 2006, 'A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide.', *Nature Protocols*, vol. 1, no. 5, pp. 2320–2325.
2. Balestre, M, Machado, JC, Lima, JL, Souza, JC & Nóbrega Filho, L 2008, 'Genetic distance estimates among single cross hybrids and correlation with specific combining ability and yield in corn double cross hybrids', *Genetics and Molecular Research*, vol. 7, no. 1, pp. 65–73.
3. Burgess, B, Mountford, H, Hopkins, CJ, Love, C, Ling, AE, Spangenberg, GC, Edwards, D & Batley, J 2006, 'Identification and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers derived in silico from *Brassica oleracea* genome shotgun sequences', *Molecular Ecology Notes*, vol. 6, pp. 1191–1194.
4. Dalimartha, S 2006, *Atlas tumbuhan obat Indonesia 2nd*, Trubus Agriwidyia, Jakarta.
5. Direktorat Jenderal Hortikultura 2015, *Statistik produksi hortikultura Tahun 2014*, Dirjen Hortikultura, Departemen Pertanian, Jakarta.
6. Hallauer, AR & Miranda Filho, JB 1988, *Quantitative genetics in maize breeding*, Iowa State University Press, Ames.
7. Hung, HY, Browne, C, Guill, K, Coles, N, Eller, M, Garcia, A, Lepak, N, Melia-Hancock, S, Oropeza-Rosas, M, Salvo, S, Upadyayula, N, Buckler, ES, Flint-Garcia, S, McMullen, MD, Rocheford, TR & Holland, JB 2012, 'The relationship between parental genetic or phenotypic divergence and progeny variation in the maize nested association mapping population', *Heredity*, vol. 108, no. 5, pp. 490–499.
8. Izzah, N, Randriani, E & Dani 2015, 'Analisis kekerabatan genetik kultivar kopi arabika berbuah kuning dan berbuah merah berdasarkan marka SSR', *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, vol. 2, no. 3, pp. 113–122.
9. Izzah, NK, Lee, J, Jayakodi, M, Perumal, S, Jin, M, Park, B-S, Ahn, K & Yang, T-J 2014, 'Transcriptome sequencing of two parental lines of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) and construction of an EST-based genetic map', *BMC genomics*, vol. 15, pp. 149.
10. Louarn, S, Torp, A, Holme, I, Andersen, S & Jensen, B 2007, 'Database derived microsatellite markers (SSRs) for cultivar differentiation in *Brassica oleracea*', *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 54, pp. 1717–1725.
11. Lowe, A, Moule, C, Trick, M & Edwards, K 2004, 'Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in Brassica crop species', *Theor Appl Genet*, vol. 108, pp. 1103–1112.
12. Mahatma, MK, Khandelwal, V, Jha, SK, Kumar, V & Shah, RR 2009, 'Genetic diversity analysis of elite parental lines of cotton using *rapd*, *issr* and *isozyme* markers', *Indian J. Plant Physiol*, vol. 14, no. 2, pp. 105–110.
13. Piquemal, J, Cinquin, E, Couton, F, Rondeau, C, Seignoret, E, Doucet, I, Perret, D, Villegier, M-J, Vincourt, P & Blanchard, P 2005, 'Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers', *Theor Appl Genet*, vol. 111, pp. 1514–1523.
14. Quiros, C & Farnham, MW 2011, 'The genetics of *Brassica oleracea*', in R Schmidt & I Bancroft (eds), *Genetics and genomics of the Brassicaceae*, Springer, New York, p. 691.
15. Rajendran, N, Mukherjee, L, Reddy, KK & Shashidhar, HE 2012, 'DNA fingerprinting and estimation of genetic diversity among hybrid rice parental lines (*Oryza sativa* L.) using simple sequence repeats (SSR) markers', *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, vol. 4, no. 11, pp. 169–174.
16. Ramchiary, N, Nguyen, VD, Li, X, Hong, CP, Dhandapani, V, Choi, SR, Yu, G, Piao, ZY & Lim, YP 2011, 'Genic microsatellite markers in *Brassica rapa*: Development, characterization, mapping, and their utility in other cultivated and wild brassica relatives', *DNA Research*, vol. 18, no. 5, pp. 305–320.
17. Rohlf, F. 2000, *NTSYSpc, numerical taxonomy and multivariate analysis system*, Exeter Software version 2.1 Applied Biostatistic Inc., Setanet', pp. 1–44.
18. Rubiyo, Izzah, NK, Sulistiyorini, I & Tresniawati, C 2015, 'Evaluation of genetic diversity in cacao collected from Kolaka, Southeast Sulawesi, using SSR markers', *Indonesian Journal of Agricultural Science*, vol. 16, no. 2, pp. 71–78.
19. Sastrosiswojo, S, Uhan, TS & Sutarya, R 2005, *Penerapan teknologi PHT pada tanaman kubis*, Monografi no.21, Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Pusat Penelitian Pertanian, Jakarta Hortikultura, Badan Litbang Pertanian, Kementerian.
20. Sutjahjo, S, Herison, C, Sulastrini, I & Marwiyah, S 2015, 'Pendugaan keragaman genetik beberapa karakter pertumbuhan dan hasil pada 30 genotipe tomat lokal', *J. Hort.*, vol. 25, no. 4, pp. 304–310.
21. Suwabe, K, Iketani, H, Nunome, T, Kage, T & Hirai, M 2002, 'Isolation and characterization of microsatellites in *Brassica rapa* L.', *Theor Appl Genet*, vol. 104, pp. 1092–1098.
22. Syafaruddin, Dani & Pabendon, M 2017, 'Keragaman genetik antar klon kopi Robusta lokal Pagar Alam berdasarkan analisis marka SSR', *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, vol. 4, no. 3, pp. 133–144.
23. Towaki, F, Ratulangi, M, Manengkey, G & Makal, H 2014, 'Insidensi penyakit akar gada (*Plasmiodiophora brassicae* Wor.) pada tanaman kubis di Desa Rurukan dan Kumelembuay Kecamatan Tomohon Timur, Kota Tomohon', *Cocos J*, vol. 4, no. 6, pp. 1–8.
24. Wang, S, Lu, Z & Wan, J 2006, 'Genetic diversity among parents of hybrid rice based on cluster analysis of morphological traits and simple sequence repeat markers', *Rice Science*, vol. 13, no. 3, pp. 155–160.
25. Xing, LI, Hailong, YU, Zhiyuan, LI, Xiaoping, LIU, Zhiyuan, F, Yumei, LIU, Limei, Y, Mu, Z, Honghao, L V & Yangyong, Z 2018, 'Heterotic group classification of 63 inbred lines and hybrid purity identification by using SSR markers in winter cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)', *Horticultural Plant Journal*, accessed from <<http://doi.org/10.1016/j.hpj.2018.03.010>>.
26. Yuwono, PD, Murti, RH & Basunanda, P 2015, 'Studi keragaman genetik dua puluh galur inbred jagung manis generasi S 7', *Ilmu Pertanian*, vol. 18, no. 3, pp. 127–134.