

PERSILANGAN INTERSPESIFIK *Ipomoea batatas* (L.) Lam. DENGAN *I. trifida* (H.B.K.) G. Don. BERUMBI ASAL CITATAH, JAWA BARAT

Interspecific Crossing between *Ipomoea batatas* (L.) Lam. and The Tubered-Bearing *I. trifida* (H.B.K.) G. Don. Originated from Citatah, West Java

Tia Setiawati^{1*}, Agung Karuniawan², Titin Supriatun¹, Karyono¹

¹ Program Studi Biologi Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung–Sumedang Km. 21 Jatinangor, Telp./Fax. 022-7796412

² Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran,
Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor

*Email: tiarasakimura@yahoo.com

Diterima/Received: 2 September 2015; Disetujui/Accepted: 28 Januari 2016

Abstract

Ipomoea trifida, a wild type of sweet potato (*I. batatas*), has a high potential to improve yield on dry matter content, starch, protein, as well as resistance to pests and certain diseases via hybridization. Interspecific crossing is an effort to increase genetic diversity in plant breeding programs, therefore the study of interspecific crossing between *I. batatas* and *I. trifida* becomes very important. The objectives of the research were to determine the level of compatibility of the interspecific crossing between *I. batatas* and *I. trifida*. Maternal parents were two accessions of tetraploid-*I. batatas* ($2n = 4x = 60$) namely accessions 206 (cv. Cilembu) and accessions 217 (cv. Ex-Japan), while the paternal parent was accessions 99 of diploid-*I. trifida* ($2n = 2x = 30$) originated from Citatah, West Java. Crossing was done in the morning after emasculation on flower buds one day before. Observation was carried out 25 days after crossing. The results showed that all the interspecific crossing between accessions 206 (cv. Cilembu) x accessions 99 (*I. trifida*) and accessions 217(Ex-Japan) x accessions 99 (*I. trifida*) had a low success level with the percentage of crossability, were 6.67% and 9.76 %; the rate of aborted fruits reached were 93.33% and 90.24%; number of seeds produced were 12 and 35, and percentage of germination were 25% and 17.14 %, respectively. Analysis of F₁ chromosome showed that all the F₁ plants were triploid with chromosomes number was 45 ($2n = 3x = 45$).

Keywords: interspecific crossing compatibility, low level crossability, sweet potato, wild sweet potato

Abstrak

Ipomoea trifida merupakan kerabat liar ubi jalar (*I. batatas*) yang sangat berpotensi sebagai sumber gen dalam pemuliaan untuk memperbaiki karakter daya hasil, kadar bahan kering, pati, protein, ketahanan terhadap hama, dan penyakit tertentu. Persilangan interspesifik merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan keragaman genetik dalam program pemuliaan tanaman, sehingga kajian mengenai persilangan interspesifik antara *I. batatas* dengan *I. trifida* menjadi sangat penting dilakukan. Tujuan penelitian adalah mengetahui

tingkat kompatibilitas persilangan interspesifik *Ipomoea batatas* dengan kerabat liarnya *I. trifida* berumbi. Tetua betina yang digunakan adalah dua aksesori *I. batatas* yaitu aksesori 206 (cv. Cilembu) dan aksesori 217 (cv. eks-Jepang), sedangkan sebagai tetua jantan digunakan *I. trifida* berumbi aksesori 99 asal Citatah, Jawa Barat. Persilangan dilakukan pagi hari setelah dilakukan emaskulasi pada kuncup bunga sehari sebelumnya. Pengamatan dilakukan 25 hari setelah persilangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persilangan interspesifik *I. batatas* tetraploid ($2n=4x=60$) aksesori 206 (cv. Cilembu) dan aksesori 217 (eks Jepang) dengan kerabat liar *I. trifida* diploid ($2n=2x=30$) aksesori 99, memiliki tingkat keberhasilan yang rendah dengan persentase daya silang berturut-turut 6,67 % dan 9,76 % untuk kombinasi persilangan 206 x 99 dan 217 x 99; tingkat keguguran buah mencapai 93,33% dan 90,24%; jumlah biji yang dihasilkan sebanyak 12 dan 35 butir dengan daya kecambah berturut-turut 25% dan 17,14%. Hasil analisis kromosom F_1 menunjukkan semua tanaman F_1 bersifat triploid dengan jumlah kromosom 45 ($2n=3x=45$).

Kata kunci: level persilangan rendah, kerabat liar, kompatibilitas persilangan spesifik, ubi jalar.

PENDAHULUAN

Ipomoea trifida merupakan salah satu jenis kerabat liar ubi jalar (*I. batatas*). Beberapa jenis kerabat liar ubi jalar asal Citatah Jawa Barat telah berhasil dikoleksi di kebun percobaan Universitas Padjadjaran (UNPAD) sebagai upaya konservasi plasma nutfah *ex-situ*. *I. trifida* dilaporkan mampu bersilangan dengan *I. batatas* (Renwarin, 1990; Komaki, 2001; Wahibah, 2002). Potensi *I. trifida* banyak dimanfaatkan dalam program pemuliaan tanaman ubi jalar sebagai sumber gen untuk perbaikan genetik ubi jalar karena mampu menghasilkan umbi (Hambali, 1988) dan sumber gen ketahanan terhadap hama dan penyakit tertentu, seperti nematoda (Komiyama et al., 2006), penyakit busuk akar (*black rot root*) (Shiotani et al., 1990; Komaki, 2001), penyakit kudis (*scab*) (Hartana et al., 1994), dan sumber gen untuk peningkatan kualitas pati (Shiotani et al., 1991). Kobayashi dan Miyazaki (1976) menemukan bahwa salah satu koleksi kerabat liar asal Meksiko, yaitu *I. trifida* (K123), menjadi sumber genetik berharga dalam menghasilkan varietas unggul baru *Minamiyutaka* yang dilepas tahun 1975 dengan karakter daya hasil tinggi, tahan terhadap beberapa hama dan penyakit penting, serta merupakan varietas utama di Jepang dengan kadar pati tinggi.

Persilangan merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan keragaman genetik dalam program pemuliaan tanaman. Persilangan dapat terjadi antar tanaman dalam spesies yang sama

(intraspesifik) atau pun dari dua spesies yang berbeda (interspesifik). Cao et al. (2009) menyatakan bahwa persilangan interspesifik merupakan pendekatan yang penting untuk memperluas dasar genetik dan menciptakan pembentukan tanaman baru pada program pemuliaan. Ubi jalar merupakan tanaman hermaprodit. Tanaman ini bersifat *self incompatible* dan terkadang *cross incompatible* dengan beberapa klon yang tidak sesuai, sehingga menjadi faktor utama yang mempengaruhi pembentukan buah dan biji (Wang, 1964; Wilson et al., 1989). Hasil penelitian yang telah dilakukan Renwarin et al. (1994) menunjukkan bahwa pada persilangan sendiri (*selfing*), *I. batatas* klon L0-240 tidak dapat membentuk buah (0%), namun persilangannya dengan klon L1-80 dapat membentuk buah dengan persentase yang relatif rendah, yaitu sebesar 27,11%. Berkenaan dengan pemanfaatan plasma nutfah ubi jalar liar sebagai sumber gen-gen potensial yang bermanfaat dalam pemuliaan tanaman, persilangan interspesifik dapat direkomendasikan sebagai alternatif untuk memindahkan gen-gen potensial tersebut sehingga terbentuk kultivar baru. Kajian tentang studi daya silang sangat penting dan akan sangat bermanfaat dalam mempelajari tingkat kompatibilitas dari semua klon yang diuji untuk menghasilkan kultivar baru. Dalam penelitian ini telah dilakukan persilangan interspesifik antara dua aksesori ubi jalar budidaya, yaitu cv. Cilembu (aksesori 206) dan eks Jepang (aksesori 217) sebagai tetua betina dengan satu aksesori kerabat liar ubi jalar (*I. trifida*) berumbi sebagai tetua jantan.

Ubi jalar (*I. batatas*) eksotik eks Jepang dan kultivar Cilembu merupakan komoditas yang penting di Jawa Barat. Berdasarkan pengamatan di lapang pada tahun 2009, permasalahan utama yang dihadapi petani dalam budidaya ubi jalar kultivar Cilembu yang spesifik wilayah adalah serangan penyakit kudis (*Elsinoe batatas*) dan busuk umbi (*Ceratocystis fimbriata*), umur dalam, dan penurunan kualitas ubi. Pengembangan ubi jalar kultivar eks Jepang oleh beberapa perusahaan juga menghadapi masalah, yaitu penurunan vigor yang diduga akibat perbanyak vegetatif yang masif dalam jangka panjang, penurunan kualitas ubi (serat meningkat, single tuber), serta rendahnya variasi genetik. Oleh karena itu, upaya perakitan varietas unggul baru ubi jalar Cilembu dan eks Jepang dengan spesifikasi tertentu seperti produktivitas yang tinggi, tahan penyakit lanas, kudis, dan busuk umbi, serta tahan terhadap lingkungan agroekosistem yang menurun kualitasnya sangat diperlukan.

Informasi mengenai kerabat ubi jalar asal Citatah ditinjau dari berbagai aspek masih sangat kurang. Keberhasilan persilangannya dengan *I. batatas* dalam upaya pemanfaatan potensinya sebagai sumber genetik untuk perbaikan karakter ubi jalar budidaya, belum banyak diteliti. Studi ini merupakan tahap awal dalam upaya menunjang kegiatan pemuliaan ubi jalar budidaya, dengan melakukan kajian terhadap keserasian persilangannya dengan *I. batatas*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juni sampai Desember 2011. Penelitian lapang dilakukan di kebun percobaan Universitas Padjadjaran (UNPAD), di Ciparanje–Jatinangor, sedangkan penelitian laboratorium dilakukan di laboratorium Genetika dan Fisiologi Tumbuhan Program Studi Biologi FMIPA UNPAD.

Bahan tanaman yang digunakan adalah dua aksesori ubi jalar budidaya (*I. batatas*) cv. Cilembu (aksesori 206) dan eks Jepang (aksesori 217) sebagai tetua betina dengan satu aksesori *I. trifida* berumbi

(aksesori 99) asal Citatah Jawa Barat yang dikoleksi di kebun percobaan UNPAD, sebagai tetua jantan. Polen tetua jantan sebelumnya diuji viabilitasnya dengan bahan kimia yang diperlukan, yaitu akuades, aseto-karmin 1%, dan media *Brewbaker and Kwack's* ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.4\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , KNO_3 , dan sukrosa). Biji F_1 dikecambahkan untuk diuji viabilitasnya dan akar F_1 digunakan untuk analisis tingkat ploidi. Bahan kimia untuk analisis tingkat ploidi F_1 adalah larutan 8-hidroksi-quinolin 0,002 M, larutan fiksatif yang terdiri dari campuran etanol : asam asetat glasial (3 : 1), larutan HCl 4 N, larutan asam asetat 45% dan pewarna asetoorsein 2%.

Tahapan Pelaksanaan/Rancangan Penelitian

1. Persilangan Interspesifik *Ipomoea batatas* dengan *I. trifida*

Aksesori-aksesori yang dipilih sebagai tetua jantan dan betina diperbanyak dengan stek batang. Stek batang *I. batatas* sebagai tetua betina (cv. Cilembu/aksesori 206 dan eks Jepang/aksesori 217) ditanam dalam blok persilangan yang terdiri atas 16 baris gulud sepanjang 5 m dengan jarak antar gulud 1 m. Delapan gulud ditanami stek batang ubi jalar aksesori 206 dan delapan gulud sisanya ditanami stek batang ubi aksesori 217. Jarak tanam antar tanaman pada setiap gulud adalah 25 cm, sehingga pada setiap gulud terdapat 20 tanaman. *I. trifida* sebagai tetua jantan ditanam pada gulud-gulud terpisah dari blok persilangan yang ditanami tetua betina.

Persilangan dilakukan pada saat tanaman sudah membentuk kuncup-kuncup bunga sekitar 30–45 hari setelah tanam. Persilangan dilakukan pagi hari pukul 06.00–09.00 setelah pada sore harinya dilakukan emaskulasi (pembuangan anter) pada kuncup bunga tetua betina yang akan mekar di pagi hari (Wang, 1968).

2. Uji viabilitas polen

Uji viabilitas polen tetua jantan menggunakan metode pewarnaan asetokarmin 1% dan uji perkecambahan polen menggunakan media *Brewbaker and Kwack's* (BK). Anter *I. trifida* sebagai tetua jantan dihancurkan hingga butir polen keluar.

Kemudian polen diletakkan di atas kaca objek dan ditetesi asetokarmin 1%, lalu ditutup dengan kaca penutup. Preparat diinkubasi selama 12 jam pada suhu ruang. Setelah itu, viabilitas polen diamati menggunakan mikroskop. Polen yang viabel akan terwarnai merah, sedangkan yang tidak viabel berwarna merah pucat/tidak terwarnai (Marutani et al., 1993). Uji perkecambahan polen dilakukan dengan meletakkan butir polen di atas kaca objek dan ditetesi media BK (Vieira et al., 2009). Preparat diinkubasi selama sembilan jam pada suhu ruang dalam cawan petri yang telah dialasi tisu basah. Selanjutnya, preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya.

3. Uji viabilitas biji

Biji hasil persilangan (F_1) untuk setiap kombinasi persilangan diuji tingkat viabilitas/daya kecemahannya dengan menanam biji-biji tersebut dalam pot-pot plastik yang berisi media campuran tanah dan sekam (1:1) tanpa perlakuan mekanis ataupun kimiawi. Biji yang telah berkecambah kemudian dipindahkan dan ditumbuhkan untuk digunakan sebagai bahan analisis tingkat ploidi tanaman F_1 hasil persilangan.

4. Analisis tingkat ploidi tanaman F_1

Pembuatan sediaan kromosom menggunakan metode dari Sharma & Sharma (1980) dengan modifikasi. Akar dipotong sepanjang 1 cm dari ujung akar dan dimasukkan dalam botol vial berisi air. Potongan akar selanjutnya direndam dalam larutan 0,002 M 8-hidroksi quinolin selama 3–5 jam pada suhu 18–20°C. Akar kemudian difiksasi dalam larutan fiksatif berupa campuran etanol: asam asetat glasial (3:1) selama 48 jam, kemudian akar dihidrolisis dengan larutan HCl 4 N selama 10 menit. Selanjutnya, akar direndam dalam asam asetat 45% selama 10 menit. Pewarnaan akar dilakukan menggunakan aseto orsein 2% selama 10 menit di atas kaca objek, kemudian ditutup, dipanaskan dan ditekan. Pengamatan kromosom dilakukan di bawah mikroskop.

5. Analisis Data

Parameter yang diamati meliputi :

- Viabilitas dan perkecambahan polen tetua jantan (%) =

$$\text{Viabilitas polen} = \frac{\text{Polen yang terwarnai}}{\text{Jumlah total polen}} \times 100\%$$

$$\text{Daya kecemahan polen} = \frac{\text{Polen yang berkecambah}}{\text{Jumlah total polen}} \times 100\%$$
- Persentase daya silang = $\frac{\text{Jumlah buah masak}}{\text{Jumlah bunga yang disilangkan}} \times 100\%$
- Persentase keguguran buah sebelum masak =

$$\frac{\text{jumlah buah gugur}}{\text{jumlah bunga yang disilangkan}} \times 100\%$$
- Jumlah biji yang dihasilkan dari buah masak untuk setiap aksesori tetua.
- Persentase viabilitas biji (daya kecemahan) F_1 =

$$\frac{\text{jumlah biji yang berkecambah}}{\text{jumlah biji yang dikecambahkan}} \times 100\%$$
- Tingkat poliploidi tanaman hasil persilangan (F_1)

Data untuk setiap parameter yang diamati dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persilangan buatan dilakukan antara ubi jalar tetraploid aksesori 206 (lokal Cilembu) dan aksesori 217 (eks Jepang) sebagai tetua betina dengan kerabat liar ubi jalar *I. trifida* diploid berumbi aksesori 99 sebagai tetua jantan. Keberhasilan persilangan ditandai dengan terbentuknya kapsul dari persilangan yang dilakukan. Renwarin (1990) menyatakan bahwa keberhasilan penyerbukan dapat diketahui setelah 2 hari kemudian yang ditandai dengan tangkai bunga yang tetap berwarna hijau. Bila tangkai bunga berubah menjadi kuning maka penyerbukan gagal dan selanjutnya tangkai bunga akan rontok 3–4 hari kemudian. Pada penelitian ini, keguguran tangkai bunga pada penyerbukan yang tidak berhasil terjadi pada 3–6 hari setelah penyerbukan dilakukan.

Persilangan ubi jalar dengan *I. trifida* menunjukkan presentase keberhasilan yang sangat rendah, meskipun keduanya berada dalam kelompok genom yang sama yaitu genom B. Secara teori, persilangan ini bersifat *self incompatible*, tetapi kompatibel silang antar anggota kelompoknya (Nishiyama, 1982). Daya silang aksesi 206 x 99 rendah, hanya mencapai 6,67%, dengan tingkat keguguran buah yang sangat tinggi mencapai 93,33%. Namun, hasil persilangan aksesi 217 x 99 menghasilkan daya silang lebih tinggi yaitu 9,76%, dengan tingkat keguguran buah sebesar 90,24% (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa perbedaan tetua betina yang digunakan menghasilkan daya silang yang berbeda pula. Kemungkinan pengaruh dua tetua betina yang berbeda secara genotip akan berdampak pada perbedaan F_1 yang dihasilkan, ketika dilakukan persilangan dengan tetua jantan yang sama. Dalam hal ini, perbedaan yang muncul pada F_1 diakibatkan oleh adanya efek rekombinasi dari tetua betina yang berbeda.

Daya silang pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian lainnya (Wahibah, 2002; Renwarin, 1990; Mont *et al.*, 1993). Rendahnya daya silang dan tingginya tingkat keguguran buah pada persilangan interspesifik tersebut diduga terkait dengan rendahnya tingkat keserasian seksual di antara tetua persilangan. Kompatibilitas seksual dianggap terkait dengan sistem inkompatibilitas sporofit multiallel (*multiallelic sporophytic incompatibility*) yang terjadi pada papila

stigma (Diaz *et al.*, 1996). Nishiyama *et al.* (1975) mengungkapkan adanya sistem inkompatibilitas seksual merupakan faktor pembatas kemampuan bersilang antara tanaman yang berbeda kelompok taksonominya. Hal ini dapat terjadi pada persilangan interspesifik antara *I. batatas* dengan kerabat liarnya *I. trifida* seperti pada penelitian ini. Daya silang yang rendah pada persilangan interspesifik ini mengakibatkan rendahnya jumlah set biji yang terbentuk.

Setiap buah ubi jalar dapat menghasilkan empat biji pada kondisi normal dan mendukung. Kokubu *et al.* (1982) menjelaskan bahwa ovarium ubi jalar superior, *bicarpellate*, dan *bilocular*. Setiap lokul memiliki dua ovul yang dipisahkan oleh *pseudoseptum*. Bila proses fertilisasi dan embryogenesis berjalan normal, empat biji dapat terbentuk per bunga yang diserbuki. Meskipun demikian, hal ini jarang terjadi, bahkan dalam persilangan intraspesifik yang kompatibel dimana banyak serbuk sari berkecambah pada stigma. Jumlah biji yang dihasilkan dari kedua kombinasi persilangan interspesifik yang dilakukan pada penelitian ini berkisar antara 1–2 biji per buah. Hasil yang tidak jauh berbeda diperoleh pada penelitian Renwarin (1990), yang mendapatkan rata-rata jumlah biji per buah antara dua tetua betina Papota dan BIS 214 sebesar 1,51 dan 1,1, sedangkan pada penelitian Wahibah (2002) menghasilkan biji 1–3 per buah. Hal ini dapat disebabkan karena tidak semua ovul dalam ovarium terbuahi, sehingga biji yang

Tabel 1. Daya silang dan tingkat gugur buah hasil persilangan interspesifik *Ipomoea batatas* tetraploid x *I. trifida* diploid berumbi

Persilangan	Jumlah persilangan	Jumlah buah		Persentase daya silang (%)	Persentase gugur buah (%)
		Gugur	Masak		
206 x 99	165	154	11	6,67	93,33
217 x 99	297	268	29	9,76	90,24
Total	462	422	40		

Tabel 2. Jumlah biji dan daya kecambah biji hasil persilangan interspesifik *Ipomoea batatas* tetraploid x *I. trifida* diploid berumbi

Persilangan	Jumlah persilangan	Jumlah buah		Jumlah biji	Jumlah kecambah	Daya Kecambah (%)
		Gugur	Masak			
206 x 99	165	154	11	12	3	25,00
217 x 99	297	268	29	35	6	17,14
Total	462	422	40	47	9	

terbentuk kurang dari empat biji per buah. Martin dan Cabanillas (1966) menemukan bahwa ovul bunga yang dipolinsi pada persilangan ubi jalar terbagi menjadi dua kelas berdasarkan ukuran. Ovul yang lebih besar (mungkin dibuahi) matang menjadi biji, sedangkan yang lebih kecil (mungkin ovul yang tidak dibuahi) mengering menjadi sisik.

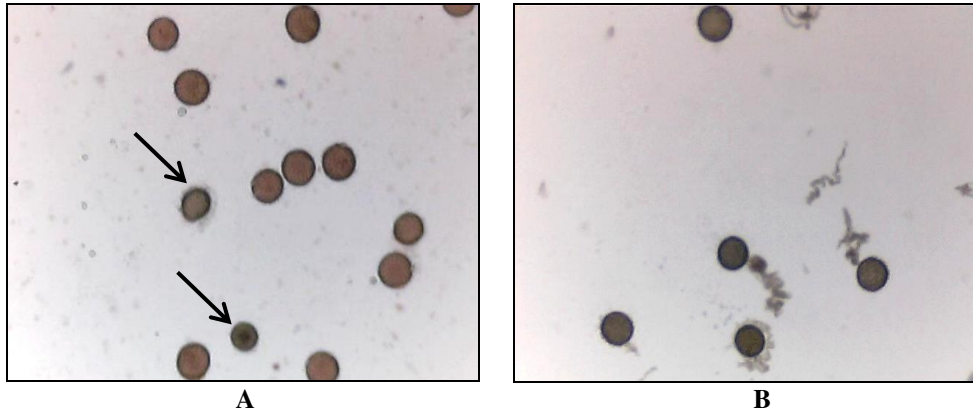
Jumlah biji hasil persilangan aksesi 206 x 99, sejumlah 12 biji dari 165 persilangan yang dilakukan (7,3%), sedangkan jumlah biji hasil persilangan aksesi 207 x 99 mencapai 35 biji dari 297 persilangan (11,8%). Perbedaan nilai pada dua kombinasi persilangan adalah indikasi dari perbedaan fertilitas betina pada persilangan interspesifik (Orjeda et al., 1991). Beberapa penyebab seperti adanya fekunditas telur, inkompatibilitas, ovul steril dan ketidakseimbangan embrio adalah sebagai faktor utama produksi biji yang rendah (Kokubu et al., 1982). Seperti juga yang diungkapkan Burnham (1967) bahwa salah satu penyebab rendahnya kemampuan membentuk biji adalah akibat reduksi jumlah ovul yang terjadi. Hal ini dapat terjadi karena adanya ketidakserasian yang menyebabkan gagalnya fertilisasi, aborsi embrio, maupun endosperma yang tidak berkembang dengan baik sehingga mengakibatkan terhambatnya perkembangan biji dan rendahnya mutu biji yang dihasilkan. Kobayashi dan Miyazaki (1976) menjelaskan bahwa persilangan interspesifik antara ubi jalar dengan kerabat liarnya cenderung menghasilkan biji semakin sedikit apabila taraf ploidi kerabat liarnya semakin rendah.

Rendahnya set biji yang terbentuk pada persilangan interspesifik dapat pula berhubungan dengan kualitas polen yang menyerbuki stigma. Menurut Beyhan & Odabas (1995), keberhasilan polinasi dan fertilisasi dipengaruhi oleh kualitas polen, yang meliputi viabilitas dan kemampuan polen berkecambah. Viabilitas polen menyatakan keadaan polen yang sudah masak dan siap untuk menyerbuk kepala putik (Ashari, 1998). Polen yang viabel akan berkecambah dan membentuk tabung polen serta menunjukkan kemampuannya menghantar sperma menuju ovul (Sumardi et al., 1994). Selanjutnya jika

terjadi pembuahan yang sempurna maka ovarium akan membentuk buah (Darjanto dan Satifah, 1990). Viabilitas polen yang rendah menyebabkan polen tidak berkecambah dan tabung polen tidak terbentuk sehingga proses pembuahan tidak terjadi. Dengan demikian buah dan biji tidak terbentuk (Sriwahyuni, 1999).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa viabilitas polen *I. trifida* sebagai tetua jantan dengan teknik pewarnaan mencapai 87,50% (Gambar 1A), sedangkan dengan teknik germinasi polen *in vitro* hanya mencapai 69,32% (Gambar 1B). Demikian halnya Cao et al. (2009) yang telah melakukan persilangan *I. batatas* dengan *I. grandifolia* dan *I. purpurea*, hasilnya menunjukkan fertilitas polen yang relatif tinggi berturut-turut 65% dan 78%. Murata dan Matsuda (2003) melaporkan bahwa viabilitas polen bukan merupakan penyebab rendahnya pembentukan biji pada persilangan *I. batatas*. Penelitiannya pada 14 kombinasi persilangan ubi jalar kompatibel menghasilkan fertilitas polen lebih dari 89% pada sebagian besar varietas yang diuji dan germinasi polen empat jam setelah polinasi mencapai 10 – 20% pada sebagian besar persilangan.

Pengujian viabilitas polen dengan menghitung persentase germinasi polen lebih rendah dibandingkan dengan teknik pewarnaan. Nyine & Pillay (2007) menyatakan bahwa tidak semua polen viabel berdasarkan uji pewarnaan mampu berkecambah. Selain itu polen non viabel kadang-kadang dapat juga terwarnai dengan metode pewarnaan (Ali et al., 1996). Rendahnya persentase germinasi dapat juga disebabkan oleh ketidakcocokan polen dengan komposisi medium. Menurut Prakash et al. (2010), perkecambahan polen suatu tanaman bervariasi setiap spesies, tergantung pada zat (medium) yang diperlukan untuk pertumbuhannya. Hal ini selaras dengan yang diungkapkan Ferri et al. (2008) bahwa perkembangan tabung polen terutama dipengaruhi suhu, kelembaban udara dan media pertumbuhan *in vitro*, sehingga kondisi optimum harus ditentukan untuk



Gambar 1. Viabilitas Polen *Ipomoea trifida* Akses 99 Berdasarkan Teknik Pewarnaan Asetokarmin (A) dan Germinasi Polen Dalam Medium BK (B) Ket : tanda panah menunjukkan polen yang tidak viabel.

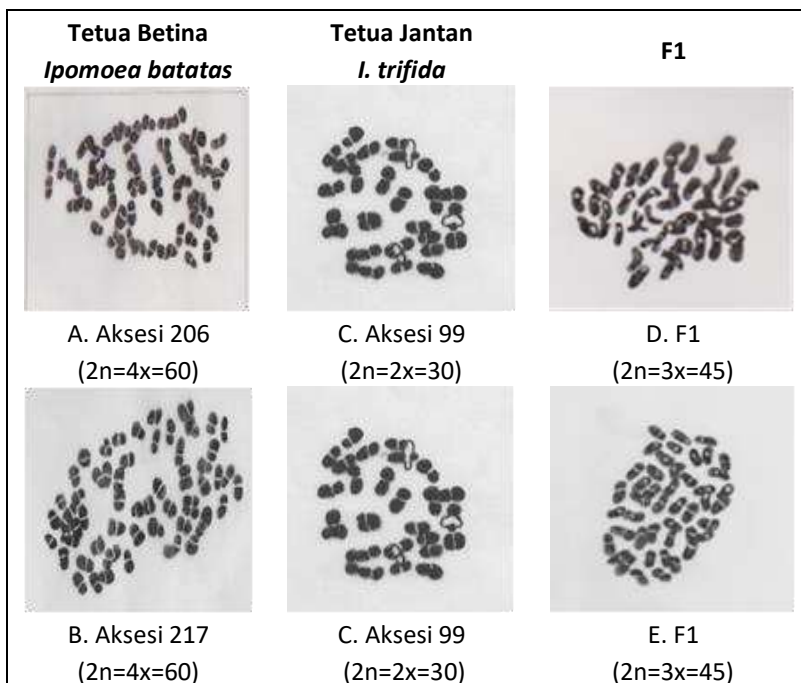
masing-masing spesies. Perbedaan substansi yang digunakan dalam media perkecambahan diperlukan untuk kompensasi perbedaan antara lingkungan dan kondisi alami pada stigma. Polen yang viabel akan berkecambah secara *in vitro* atau pun *in vivo* jika kondisi lingkungannya sesuai (Beyhan & Serdar, 2008).

Seperti telah dikemukakan sebelumnya, rendahnya jumlah biji yang terbentuk pada persilangan interspesifik antara ubi jalar dengan kerabat liarnya dapat disebabkan karena adanya inkompatibilitas dan sterilitas. Ubi jalar memiliki kasus inkompatibilitas yang kuat, sehingga kegagalan germinasi polen tampaknya menjadi mekanisme fisiologi yang utama (Martin & Ortiz, 1966). Sterilitas dapat terjadi setelah perkecambahan polen dan merupakan manifestasi kegagalan tabung polen untuk lewat dari stigma ke stilus; kegagalan tabung polen yang telah melewati stilus untuk fertilisasi; dan aborsi embrio dan kegagalan biji kecil atau lemah (Martin & Cabanillas, 1966).

Biji hasil persilangan pada penelitian ini berkecambah 30–60 hari setelah tanam. Daya kecambah untuk kombinasi persilangan 206 x 99 dan 217 x 99 berturut-turut sebesar 25% (tiga tanaman) dan 17,14% (enam tanaman). Namun, dua tanaman hasil persilangan 206 x 99 mati sehingga hanya satu tanaman F_1 yang bertahan hidup, sedangkan pada

persilangan 217 x 99 menghasilkan lima tanaman F_1 yang bertahan hidup. Biji hasil persilangan tidak semuanya berkecambah, bahkan ada yang dapat berkecambah tetapi tidak bertahan hidup, kecambah berukuran kecil/kerdil dengan penampilan tidak segar/keriput. Kecambah ini kemungkinan berasal dari biji yang kisut yang kandungan endosperma bijinya sedikit sehingga kecambah tidak mampu bertahan hidup. Rendahnya biji hasil persilangan interspesifik yang mampu berkecambah dapat disebabkan karena kondisi biji yang dihasilkan dari kedua kombinasi persilangan bervariasi dari bentuk normal (biji penuh), biji kisut sampai sangat kisut. Biji penuh menunjukkan kondisi embrio normal (embrio dengan cadangan makanannya). Biji kisut dapat disebabkan karena adanya kerusakan embrio/tidak memiliki embrio atau terjadi kehampaan biji.

Hasil analisis kromosom untuk mengetahui level ploidi tanaman hasil persilangan menunjukkan bahwa semua tanaman hasil persilangan memiliki jumlah kromosom triploid ($2n=3x=45$), baik pada persilangan akses 206 x 99 maupun akses 217 x 99 (Gambar 2D dan 2E). Jumlah kromosom triploid diperoleh sebagai hasil penggabungan dari setengah jumlah kromosom kedua induk yaitu 30 (dua genom) dari induk betina ubi jalar budidaya tetraploid ($2n=4x=60$; Gambar 2A dan 2B) dan 15 (satu genom) dari induk jantan ubi jalar liar diploid ($2n=2x=30$; Gambar 2C).



Gambar 2. Jumlah Kromosom Tetua Persilangan dan F₁

Hambatan utama yang dihadapi untuk mengembangkan hasil riset ini adalah tanaman F₁ triploid yang dihasilkan dari persilangan interspesifik umumnya bersifat steril sehingga tidak akan diperoleh tanaman F₂ dan keturunan berikutnya. Sterilitas pada F₁ ini dapat disebabkan : (1) perbedaan genom antara spesies yang disilangkan sehingga pada waktu sel mengalami proses meiosis, genom-genom yang berbeda tidak dapat berpasangan, (2) perbedaan jumlah kromosom antara spesies yang disilangkan, yaitu diploid (2x) disilangkan dengan tetraploid (4x) sehingga menghasilkan individu triploid (3x) yang umumnya steril, karena proses pembentukan gamet pada tanaman triploid biasanya akan mengalami gangguan (Suryo, 1995). Seperti diungkapkan Ranney (2006) bahwa individu triploid memiliki *barrier* reproduktif karena tiga set kromosomnya tidak dapat berpisah selama meiosis sehingga menghasilkan segregasi kromosom yang tidak sama. Hal ini dapat mengakibatkan gamet-gamet yang dihasilkan sering memiliki genom yang tidak lengkap. Bila gamet-gamet tersebut bertemu dalam proses zigot, genom yang tidak lengkap mengakibatkan informasi genetik yang dibawa juga tidak lengkap sehingga biji yang

dihasilkan tidak viabel atau bahkan tidak dapat menghasilkan biji (Suryo, 1995). Zhu *et al.* (2009) juga menjelaskan bahwa buah triploid biasanya tidak berbiji, hal ini disebabkan terjadinya abnormalitas meiosis dan aborsi embrio.

KESIMPULAN

Persilangan interspesifik *I. batatas* tetraploid (2n=4x=60) aksesori 206 (cv. Cilembu) dan aksesori 217 (eks Jepang) dengan kerabat liar *I. trifida* diploid (2n=2x=30) aksesori 99, memiliki tingkat keberhasilan yang rendah dengan persentase daya silang berturut-turut 6,67 % dan 9,76 % untuk kombinasi persilangan 206 x 99 dan 217 x 99; tingkat keguguran buah mencapai 93,33% dan 90,24%; jumlah biji yang dihasilkan sebanyak 12 dan 35 butir dengan daya kecambah berturut-turut 25% dan 17,14%. Hasil analisis kromosom F₁ menunjukkan semua tanaman F₁ bersifat triploid dengan jumlah kromosom 45 (2n=3x=45). Disarankan untuk melakukan metode *embryo rescue* secara *in vitro* sehingga embrio dapat dikulturkan lebih lanjut untuk mendapatkan tanaman hibridanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M.A., A.B. Mohamed, & A.F. Farahat. 1996. Pollen viability, germination and rates of pollen tube growth in some pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.). *Journal of Agricultural Science* 1: 73–81.
- Ashari, S. 1998. *Pengantar biologi reproduksi tanaman*. Rineka Cipta, Jakarta.
- Beyhan, N. & F. Odabas, 1995. A research on the germination and the viability of pollen of some important hazelnut cultivars. II. *National Horticultural Congress of Turkey*, 3–6 October, Adana, 1: 484–488.
- Beyhan, N. & U. Serdar. 2008. Assessment of pollen viability and germinability in some European chestnut genotypes (*Castanea sativa* L.). *Horticultural Science (Prague)* 35(4): 171–178.
- Burnham, M. 1967. Ovule number as a factor in low seed set of certain sweet potato clones. *Proceeding of The American Society for Horticultural Science* 90: 313–315.
- Cao, Q., An. Zhang, Da. Ma, Ha. Li, Qi. Li, & P. Li. 2009. Novel interspecific hybridization between sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and its two diploid wild relatives. *Euphytica* 169: 345–352.
- Darjanto & S. Satifah. 1990. *Pengetahuan dasar biologi bunga dan teknik penyerbukan silang buatan*. Gramedia. Jakarta
- Diaz, J., P. Schmiediche, & D.F. Austin. 1996. Polygon crossability between eleven species of *Ipomoea*: section Batatas (Convolvulaceae). *Euphytica* 88: 189–200.
- Ferri, A., E. Giordani, G. Padula., & E. Bellini. 2008. Viability and in vitro germinability of pollen grains of olive cultivars and advanced selections obtained in Italy. *Advances in Horticultural Science* 22(2): 116–122.
- Hambali, G.G. 1988. Tuberization in diploid *Ipomoea trifida* from Citatah, West Java, Indonesia. In: Howeler, R.H. (ed.). *Proceedings of the eighth symposium of the international society for tropical root crops*. The International Society for Tropical Root Crops in Collaboration with Department of Agriculture of Thailand, Bangkok, Thailand. p. 469–473.
- Hartana, A., J. Renwarin., G.G. Hambali, & F. Rumawas. 1994. Ubi jalar tetraploid dan prospeknya sebagai sumber genetik dalam program pemuliaan ubi jalar pentaploid. *Zuriat* 5(2): 8–15.
- Kobayashi, M. & T. Miyazaki. 1976. Sweetpotato breeding using wild related species. In: Cock J., R. MacIntyre, and M. Graham (Eds.) *Proceeding IV symposium international society for tropical root crops*. p. 53–57.
- Kokubu, T., T. Murata, & F. Endo. 1982. Anatomical observations on the fertilization and embryogenesis in sweet potato *Ipomoea batatas* (L.). *Lam. Japanese Journal of Breeding* 32: 239–246.
- Komaki, K. 2001. Phylogeny of *Ipomoea* species closely related to sweetpotato and their breeding use. *Bulletin of the National Institute of Crop Science* 1: 1–56.
- Komiyama, A., Z. Sano, T. Murata, Y. Matsuda, M. Yoshida, A. Saito, & Y. Okada, 2006. Resistance to two races of *Meloidogyne incognita* and resistance mechanism in diploid *Ipomoea trifida*. *Breeding Science* 56(1): 81–83.
- Martin, F.W., & E. Cabanillas. 1966. Post pollen germination barriers to seed set in sweet potato. *Euphytica* 15: 404–411.
- Martin, F.W., & S. Ortiz. 1966. Germination of sweet potato pollen in relation to incompatibility and sterility. *Proceeding of the american society for horticultural science* 88: 491–497.
- Marutani, M., R.D. Sheffer, & H. Kameto. 1993. Cytological analysis of *Anthurium andraenum* (Araceae), its related taxa and their hybrids. *American Journal of Botany* 80: 93–103.
- Mont, J., M. Iwanaga, G. Orjeda, & K. Watanabe. 1993. Abortion and determination of stages for embryo rescue in crosses between sweet-potato, *Ipomoea batatas* Lam. (2n=6x=90) and its wild relative, *I. trifida* (H. B. K.) G. Don. (2n=2x=30). *Sexual Plant Reproduction* 6(3): 176–182.

- Murata, T., & Y. Matsuda. 2003. Histological studies on the relationship between the process from fertilization and embryogenesis and the low seed of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Breeding Science* 53: 41–49.
- Nishiyama, I. 1982. Autohexaploid evolution on the sweet potato. In: R.L. Villareal and T.D. Griggs (eds.) Sweet Potato. *Proceeding first international symposium AVRDC*. p. 263–274.
- Nishiyama, I., T. Miyazaki, & S. Sakamoto. 1975. Evolutionary autopolyploidy in the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and its progenitors. *Euphytica* 24: 197–208.
- Nyine, M. & M. Pillay. 2007. Banana nectar as a medium for testing pollen viability and germination in Musa. *African Journal of Biotechnology* 6(10): 1175–1180.
- Orjeda, G., R. Freyre, & M. Iwanaga. 1991. Use of *Ipomoea trifida* germplasm for sweet potato improvement. 3. Development of 4x interspecific hybrids between *Ipomoea batatas* (L.) Lam. ($2n = 6x = 90$) and *I. trifida* (H.B.K.) G. Don. ($2n = 2x = 30$) as storage-root initiators for wild species. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 159–163.
- Prakash, A., S. Chauhan, A. Rana, & V. Chaudhary. 2010. Study of *in vitro* pollen germination and pollen viability in *Punica granatum* L. (Punicaceae). *Journal of Agricultural Sciences* 1(3): 224–226.
- Ranney, T.G. 2006. Polyploidy: from evolution to new plant development. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society* 56: 137–142.
- Renwarin, J. 1990. Keragaman genetik F1 silangan *Ipomoea batatas* dan *Ipomoea trifida*. Tesis, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Renwarin, J., A. Hartana, G.G. Hambali, & F. Rumawas. 1994. Ubijalar tetraploid dan prospeknya sebagai sumber genetik dalam program pemuliaan ubi jalar pentaploid. *Zuriat* 5(2): 8–15.
- Sharma, A.K., & A. Sharma. 1980. *Chromosome techniques: theory and practice*. 3rd edn. Butterworths, Woburn, MA.
- Shiotani, I., S. Yoshida, & T. Kawase. 1990. Numerical taxonomic analysis and crossability of diploid *Ipomoea* species related to the sweet potato. *Japanese Journal of Breeding* 40: 159–174.
- Shiotani, I., A. Nishimura, S. Yamanaka, M. Taki, & T. Yamada, 1991. Starch properties of sweet potato, diploid *Ipomoea trifida* (H.B.K.) Don. and tetraploid hybrids. *Starch/stärke* 43(4): 133–138.
- Sriwahyuni, E. 1999. Hubungan antara lama simpan serbuk sari dengan produksi buah dan viabilitas benih salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss var. *zalacca*). Skripsi, Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sumardi, I., Sutikno & S. Susanti. 1994. Mikrosporogenesis pada salak (*Salacca edulis* Reinw). *Berkala Ilmiah Biologi* 1(7): 283–293.
- Suryo. 1995. *Sitogenetika*. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Vieira de França, L., W.M. Nascimento, R. Carmona, & R. Alves de Freitas. 2009. Viability of eggplant pollen. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 9: 320–327.
- Wahibah, N.N. 2002. Daya silang ubi jalar berdaging umbi jingga dengan *Ipomoea trifida* diploid dan hubungan genetiknya berdasarkan RAPD. *Jurnal Natur Indonesia* 5(1): 1–8.
- Wang, H. 1964. A study on the self- and cross-incompatibilities in the sweet potato in Taiwan (Formosa). *Proceeding of the American Society for Horticultural Science* 84: 424–430.
- Wang, H. 1968. A study of fruit and seed setting ability and female sterility in the sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Botanical Buletin of Academia Sinica* 9: 139–150.
- Wilson, J.E., F.S. Pole, N.E.J.M. Smit, & P. Taufatofua. 1989. *Sweetpotato Breeding*. Agro-facts Crop. Ireta Publications.
- Zhu, S., J., Song, Z. Hu, B. Tan, Z. Xie, H. Yi, & X. Deng. 2009. Ploidy variation and genetic composition of open pollinated triploid citrus progenies. *Botanical Studies* 50: 319–324.