

**IDENTIFIKASI GENETIK *TRUE SHALLOT SEED*
(TSS) BEBERAPA VARIETAS LOKAL BAWANG
MERAH (*Allium ascalonicum* Linn) BERDASARKAN
PENANDA MIKROSATELIT (SSR)**

Oleh :

TIFFANI NINDYA ARISANTI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG
2011**

**IDENTIFIKASI GENETIK *TRUE SHALLOT SEED*
(TSS) BEBERAPA VARIETAS LOKAL BAWANG
MERAH (*Allium ascalonicum* Linn) BERDASARKAN
PENANDA MIKROSATELIT (SSR)**

Oleh :

TIFFANI NINDYA ARISANTI
0410470039 - 47

SKRIPSI

Disampaikan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG
2011**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : IDENTIFIKASI GENETIK TRUE SHALLOT SEED
(TSS) BEBERAPA VARIETAS LOKAL BAWANG
MERAH (*Allium ascalonicum* Linn) BERDASARKAN
PENANDA MIKROSATELIT (SSR)

Nama Mahasiswa : TIFFANI NINDYA ARISANTI

NIM : 0410470039-47

Jurusan : Budidaya Pertanian

Program Studi : Pemuliaan Tanaman

Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Ir. Arifin Noor Sugiharto, MSc., PhD.
NIP. 19620417 198701 1 002

Niken Kendarini, SP., MSi.
NIP. 19740202 199903 2001

Ketua Jurusan
Budidaya Pertanian

Dr. Ir. Agus Suryanto, MS.
NIP. 19550818 198103 1 008

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan,

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Noer Rahmi Ardiarini, SP., MSi.
NIP. 19701118 199702 2 001

Penguji II

Niken Kendarini, SP., MSi.
NIP. 19740202 199903 2 001

Penguji III

Ir. Arifin Noor Sugiharto, MSc., PhD.
NIP. 19620417 198701 1 002

Penguji IV

Prof. Dr. Ir. Kuswanto, MS.
NIP. 19630711 198803 1 002

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

TIFFANI NINDYA A. 0410470039-47. IDENTIFIKASI GENETIK TRUE SHALLOT SEED (TSS) BEBERAPA VARIETAS LOKAL BAWANG MERAH (*Allium ascalonicum* Linn) BERDASARKAN PENANDA MIKROSATELIT (SSR) di bawah bimbingan Ir. Arifin Noor Sugiharto, MSc. Ph.D. dan Niken Kendarini, SP. MSi.

Bawang merah ialah salah satu tanaman hortikultura yang sangat penting di Indonesia dan termasuk salah satu komoditas sayuran unggulan. Salah satu upaya peningkatan produksi tanaman ialah dengan menggunakan True shallot seed (TSS). Benih TSS yang baik akan menghasilkan umbi dengan produktivitas tinggi dan kualitas yang seragam, sehingga perlu dilakukan identifikasi pada TSS untuk mengetahui keseragamannya. Identifikasi tanaman dapat dilakukan dengan melakukan pengamatan karakter morfologi tanaman atau dengan menggunakan penanda genetik. Karakterisasi dengan penanda molekuler memberikan hasil yang lebih akurat. Salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan ialah teknik mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeat* (SSR).

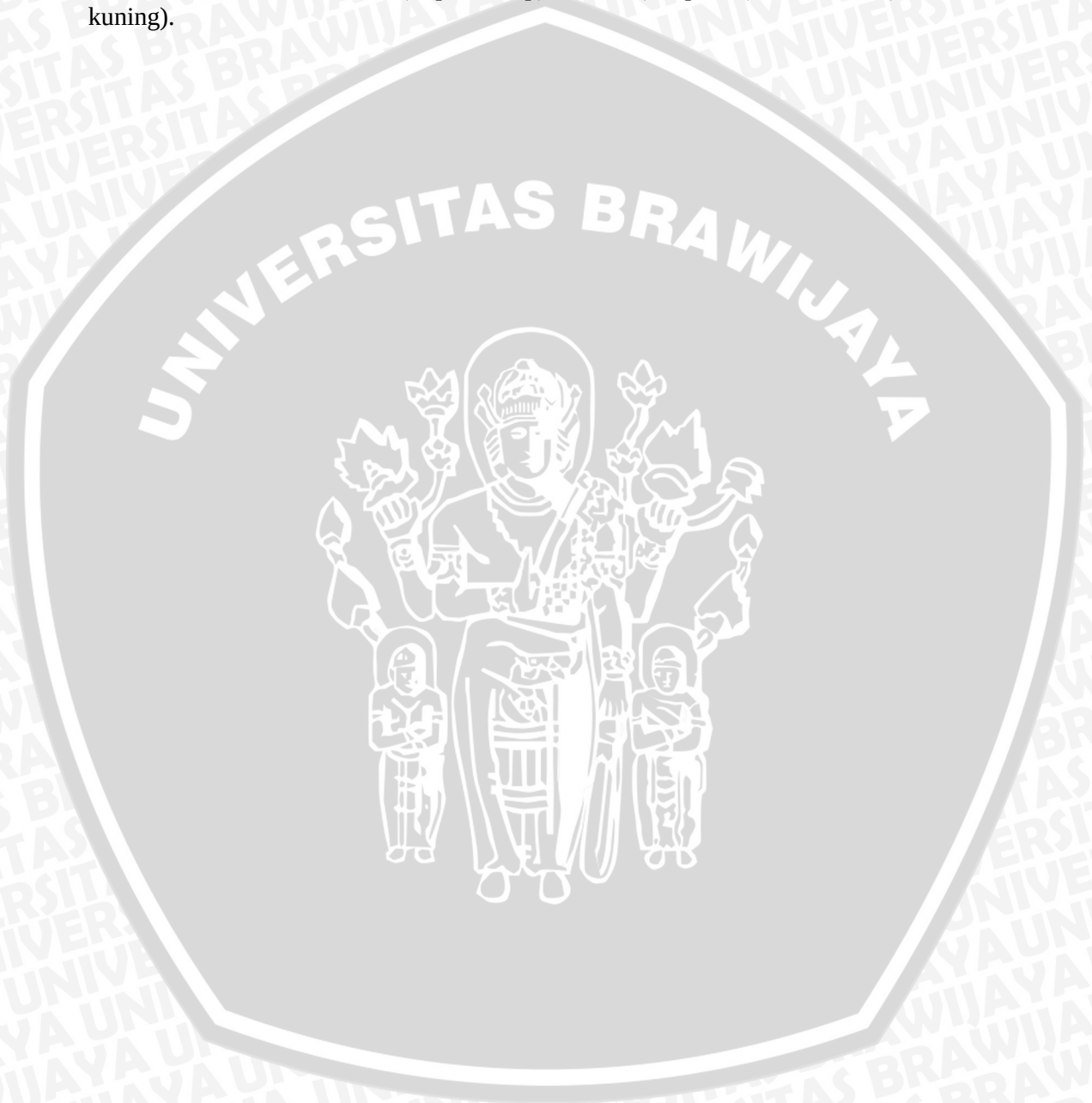
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keseragaman True Shallot Seed (TSS) beberapa varietas lokal bawang merah berdasarkan penanda *Simple Sequence Repeat* (SSR). Hipotesis yang diajukan yaitu diduga terdapat tingkat keseragaman yang tinggi pada True Shallot Seed (TSS) beberapa varietas lokal bawang merah berdasarkan penanda *Simple Sequence Repeat* (SSR).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Desember 2010 hingga Juli 2011. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah mortar, pestle, tip, gelas ukur, tabung eppendorf, tissue, gunting, plastik pembungkus, mikropipet, spatula, erlenmeyer, microwave, mesin PCR, oven, mesin vortex, timbangan analitik, stirer, pH meter, mesin elektroforesis, mesin centrifuge, autoclave, mesin UV transluminator dan lemari es. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah *True Shallot Seed* hasil selfing 4 varietas lokal bawang merah, yaitu varietas Ampenan (A), Super Philip (B), Bali Kuning (C) dan Bali Ijo (D) yang ditanam dan diambil daunnya yang tidak terlalu tua dan sehat (ujung daun tidak menguning), Buffer ekstraksi CTAB (NaCl, Tris HCl pH 8.0, EDTA dan Merkaptoethanol), nitrogen cair, PVP, CHISAM (Chloroform, Isoamilalkohol), buffer pencuci, buffer TE, RNase, ethanol, isopropanol, DNA ladder, agarosa, buffer elektroforesis (TAE/TBE), loading dye, ethidium bromida, "PROMEGA " PCR reaction kit dan primer SSR.

Pelaksanaan penelitian meliputi Isolasi DNA, pengujian kualitas DNA, Optimasi Primer, Proses PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, dan interpretasi data. Data diperoleh dari pemotretan gel hasil SSR berupa pita-pita DNA dengan ukuran tertentu dari masing-masing sample yang diuji. Analisis data didasarkan pada ada atau tidaknya pita. Profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan 1 untuk adanya pita pada posisi yang sama dari individu-individu yang dibandingkan. Dari data tersebut, digunakan sebagai perbandingan antara tanaman masing-masing populasi tanaman dengan menggunakan program NTSys 2.0i.

Berdasarkan hasil optimasi primer, primer kombinasi yang digunakan adalah primer kombinasi 4 (P2 dan P3) dan primer kombinasi 6 (P3 dan P4). Pita

teramplifikasi pada 100 bp, 300bp, 400bp dan 800bp dimana sebagian besar tampilan pita yang monomorfik terdapat pada larik 100bp. Nilai kemiripan tertinggi pada seluruh TSS ialah 1,00, nilai kemiripan terendah pada 3 TSS (TSS D, TSS B dan TSS A) ialah 0,50 sedang pada TSS C nilai kemiripan terendahnya 0,33. Tingkat keseragaman TSS tertinggi dimiliki oleh TSS D (Bali Ijo), kemudian diikuti oleh TSS B (Super Philip), TSS A (Ampenan) dan TSS C (Bali kuning).



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia kepada seluruh makhluk-Nya. Hanya atas kasih sayang dan pertolongan-Nya lah penulis dapat menyelesaikan penelitian skripsi yang berjudul **“Identifikasi Genetik *True Shallot Seed* (TSS) Beberapa Varietas Lokal Bawang Merah (*Allium ascalonicum* Linn) Berdasarkan Penanda Mikrosatelit (SSR)”**. Penyusunan laporan penelitian ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi S1 di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Ir. Arifin Noor Sugiharto MSc. PhD. selaku pembimbing I, atas segala bimbingannya selama penulisan skripsi ini.
2. Ibu Niken Kendarini SP. Msi. selaku pembimbing II, atas segala bimbingan dan motivasinya selama penulisan skripsi ini.
3. Ibu Noer Rahmi Ardiarini, SP. MSi selaku dosen pembahas yang telah memberikan banyak masukan dalam penelitian ini
4. Kedua orang tua penulis beserta keluarga atas dukungan, kesabaran dan do'anya
5. Teman-teman Pemuliaan Tanaman serta semua pihak yang membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan penulisan penelitian ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan semua pihak.

Malang, Juli 2011

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 7 Oktober 1986 di kota Kediri, Jawa Timur dari ayah yang bernama Bapak Basrowi dan Ibu yang bernama Ibu Yayuk Sekti Rahayu. Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-kanak di TK Perwanida Mrican Kediri pada tahun 1993, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SDN Mrican 2 dan lulus pada tahun 1998. Penulis menyelesaikan pendidikan di SLTPN 1 Kediri pada tahun 2001 dan menyelesaikan pendidikan selanjutnya di SMUN 7 Kediri pada tahun 2004. Pada tahun 2004 penulis diterima di Universitas Brawijaya, Fakultas Pertanian, Jurusan Budidaya Pertanian, Program Studi Pemuliaan Tanaman melalui jalur SPMB.

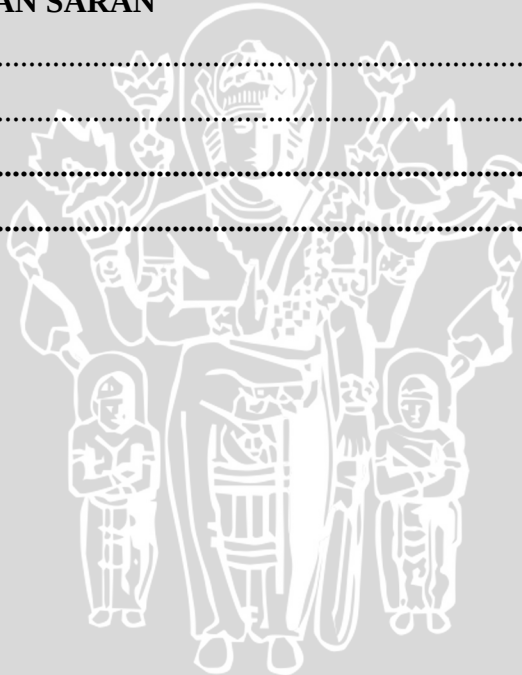


DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PERSETUJUAN	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR.....	v
RIWAYAT HIDUP	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Hipotesis.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Perkembangan Bawang Merah Indonesia.....	4
2.2 Klasifikasi dan Morfologi Bawang Merah.....	5
2.3 <i>True Shallot Seed</i> (TSS).....	8
2.4 Marka Molekuler.....	8
2.5 Mikrosatelit (SSR)	9
III. BAHAN DAN METODE	
3.1 Tempat dan Waktu	12
3.2 Alat dan Bahan.....	12
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.3.1 Isolasi DNA.....	13
3.3.2 Pengujian Kualitas DNA.....	14
3.3.3 Optimasi Primer	14
3.3.4 Proses PCR.....	15
3.3.5 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR.....	15

3.3.6 Interpretasi Data.....	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil	17
4.1.1 Isolasi DNA	17
4.1.2 Optimasi Primer	17
4.1.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR.....	18
4.1.4 Interpretasi Data	27
4.2 Pembahasan	31
4.2.1 Isolasi DNA	31
4.2.2 Analisis DNA menggunakan PCR SSR	33
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	40



DAFTAR TABEL

No	Teks	Halaman
1.	Volume dan Nilai Ekspor-Impor Bawang Merah Tahun 2007-2008	1

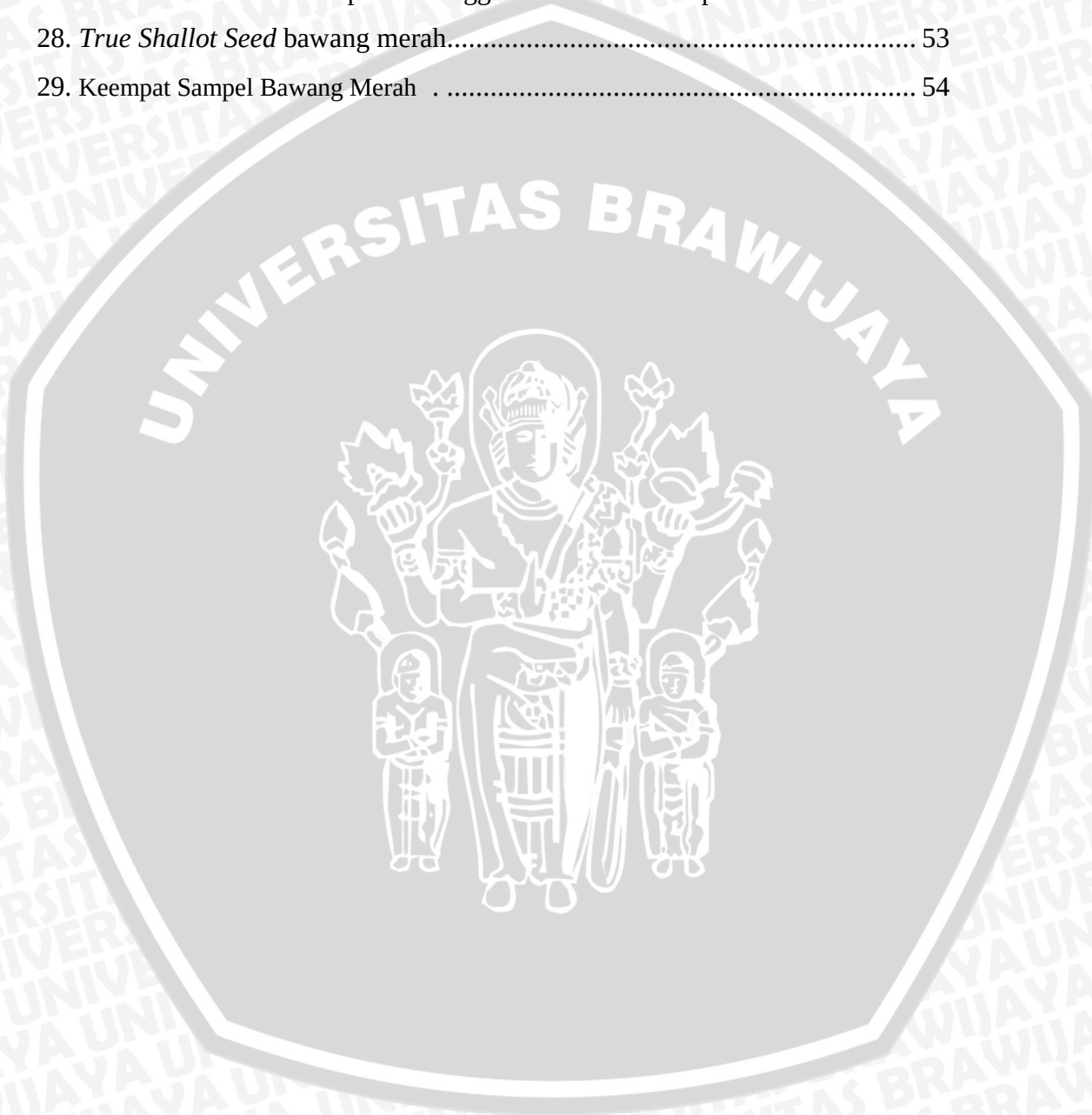
No	Lampiran	Halaman
2.	Data Biner Sampel A dengan menggunakan primer 4	46
3.	Data Biner Sampel A dengan menggunakan primer 6	46
4.	Data Biner Sampel B dengan menggunakan primer 4	47
5.	Data Biner Sampel B dengan menggunakan primer 6	47
6.	Data Biner Sampel C dengan menggunakan primer 4	48
7.	Data Biner Sampel C dengan menggunakan primer 6	48
8.	Data Biner Sampel D dengan menggunakan primer 4	49
9.	Data Biner Sampel D dengan menggunakan primer 6	49
10.	Nilai kemiripan genetik TSS A berdasarkan dua primer mikrosatelit	50
11.	Nilai kemiripan genetik TSS B berdasarkan dua primer mikrosatelit	51
12.	Nilai kemiripan genetik TSS C berdasarkan dua primer mikrosatelit	52
13.	Nilai kemiripan genetik TSS D berdasarkan dua primer mikrosatelit	53

DAFTAR GAMBAR

No	Teks	Halaman
1.	Bagian-bagian bawang merah	6
2.	Bagian-bagian bunga bawang merah	7
3.	<i>Fire type</i> dan smear pada hasil isolasi DNA	17
4.	Hasil elektroforesis sample menggunakan kombinasi primer 1,2 dan 3.....	17
5.	Hasil elektroforesis sample menggunakan kombinasi primer 4,5 dan 6.....	18
6.	Elektroforegram sample A menggunakan kombinasi primer 4.....	19
7.	Elektroforegram sample B menggunakan kombinasi primer 4.....	20
8.	Elektroforegram sample C menggunakan kombinasi primer 4.....	21
9.	Elektroforegram sample D menggunakan kombinasi primer 4.....	22
10.	Elektroforegram sample A menggunakan kombinasi primer 6.....	23
11.	Elektroforegram sample B menggunakan kombinasi primer 6.....	24
12.	Elektroforegram sample C menggunakan kombinasi primer 6.....	25
13.	Elektroforegram sample D menggunakan kombinasi primer 6.....	26
14.	Dendogram Gabungan 2 Primer dari <i>True Shallot Seed A</i>	27
15.	Dendogram Gabungan 2 Primer dari <i>True Shallot Seed B</i>	28
16.	Dendogram Gabungan 2 Primer dari <i>True Shallot Seed C</i>	29
17.	Dendogram Gabungan 2 Primer dari <i>True Shallot Seed D</i>	30

No	Lampiran	Halaman
18.	Skema Pelaksanaan Penelitian.....	40
19.	Alur Isolasi DNA	41
20.	Hasil elektroforesis sample A menggunakan kombinasi primer 4.....	42
21.	Hasil elektroforesis sample B menggunakan kombinasi primer 4.....	42
22.	Hasil elektroforesis sample C menggunakan kombinasi primer 4.....	43
23.	Hasil elektroforesis sample D menggunakan kombinasi primer 4.....	43

24. Hasil elektroforesis sample A menggunakan kombinasi primer 6.....	44
25. Hasil elektroforesis sample B menggunakan kombinasi primer 6.....	44
26. Hasil elektroforesis sample C menggunakan kombinasi primer 6.....	45
27. Hasil elektroforesis sample D menggunakan kombinasi primer 6.....	45
28. <i>True Shallot Seed</i> bawang merah.....	53
29. Keempat Sampel Bawang Merah	54



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bawang merah (*Allium ascalonicum* Linn) merupakan salah satu tanaman dari famili *Aliaceae* yang lebih populer dan penting di negara-negara Asia Tenggara daripada bawang Bombay (*Allium cepa* L.). Hal ini disebabkan karena budidaya dan produksi benih bawang bombay di kawasan negara-negara Asia Tenggara lebih sulit dilakukan daripada bawang merah (Arifin *et. al*, 2000).

Usaha tani bawang merah cukup menguntungkan serta mempunyai pasar yang cukup luas baik di dalam maupun luar negeri. Peluang ekspor bawang merah segar masih terbuka luas. Analisis data ekspor-impor 1983-2008 menunjukkan bahwa selama periode tersebut volume ekspor untuk komoditas bawang merah secara konsisten selalu lebih rendah dibandingkan volume impornya, selain itu nilai impor yang meningkat setiap tahunnya tidak selalu diikuti oleh peningkatan nilai ekspor (Tabel 1).

Tabel 1. Tabel Volume dan Nilai Ekspor-Import Bawang Merah Tahun 2007-2008

Tahun	Volume Ekspor (kg)	Volume Impor (kg)	Nilai Ekspor (US \$)	Nilai Impor (US \$)
2007	9.356.977	107.649.163	3.491.809	44.096.742
2008	12.313.860	128.015.473	4.533.837	53.814.402

Sumber: Ditjen Hortikultura (2009)

Data di atas menunjukkan terjadinya kesenjangan yang sangat besar antara nilai ekspor dan impor, sehingga perlu dilakukan usaha peningkatan produksi bawang merah dalam menghadapi peningkatan impor yang semakin mengancam daya saing bawang merah domestik dan untuk memenuhi permintaan pasar luar negeri.

Masalah utama usahatani bawang merah dalam negeri adalah tingginya resiko kegagalan panen terutama bila penanaman dilakukan di luar musim. Tingginya resiko kegagalan panen disebabkan karena adanya faktor pembatas dalam budidaya bawang merah yaitu beratnya serangan hama dan penyakit. Salah satu upaya untuk mengatasi masalah ini adalah dengan menggunakan varietas unggul

yang tahan terhadap serangan hama–penyakit dan mampu berproduksi tinggi serta varietas tersebut disukai oleh konsumen (Baswarsianti, 2009).

Bawang merah termasuk sayuran unggulan nasional yang belum banyak keragaman varietasnya, baik varietas lokal maupun varietas unggul nasional. Perbanyakkan bawang merah dengan menggunakan umbi mengakibatkan tidak terjadinya segregasi maupun keragaman dalam varietas bawang merah (Baswarsianti, 2009). Pada umumnya kontinuitas penanaman umbi suatu kultivar pada suatu lahan dapat menurunkan produktivitas tanaman yang disebabkan terbawanya bibit hama dan penyakit di dalam umbi dalam setiap penanaman sehingga menurunkan kualitas benih umbi.

True shallot seed (TSS) merupakan salah satu metode perbaikan produktivitas umbi tanaman bawang merah dengan menggunakan biji bawang merah sebagai benih (bukan menggunakan umbi). Menurut Basuki (2009), Penggunaan TSS sebagai benih bawang merah lebih menguntungkan petani dibandingkan dengan menggunakan benih bawang merah dari umbi. Di Indonesia, masih belum banyak petani yang menggunakan TSS. Petani lebih memilih menggunakan benih yang berasal dari umbi baik berasal dari hasil panen sebelumnya ataupun membeli dari toko. Hal ini dikarenakan ketersediaan TSS di pasaran yang terbatas serta waktu tanam yang lebih lama.

Benih TSS yang baik akan menghasilkan umbi dengan produktivitas tinggi dan kualitas yang seragam, sehingga perlu dilakukan identifikasi pada TSS untuk mengetahui keseragamannya. Identifikasi tanaman dapat dilakukan dengan melakukan pengamatan karakter morfologi tanaman atau dengan menggunakan penanda genetik. Karakterisasi genetik yang didasarkan pada pengamatan karakter morfologi biasanya dipengaruhi oleh lingkungan makro dan mikro serta umur suatu individu, sedang karakterisasi dengan penanda molekuler tidak dipengaruhi oleh faktor-faktor tersebut sehingga memberikan hasil yang lebih akurat. Salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan ialah teknik *Simple Sequence Repeat (SSR)*.

Marka *Simple Sequence Repeat (SSR)* atau biasa juga disebut marka SSR dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu varietas tanaman (Nunome *et al.*, 2003; Vosman *et al.*, 2001 dalam Pabendon *et al.*, 2005). Penanda mikrosatelit ini

banyak digunakan sebagai alat dalam program pemuliaan atau studi evolusi, karena dapat memperlihatkan keragaman genetik yang tinggi. Selain itu, mikrosatelit bersifat kodominan, pewarisan mengikuti hukum Mendel, mudah diaplikasikan karena berbasis teknik PCR dan mempunyai kandungan informasi polimorfisme atau tingkat heterogenitas yang tinggi. Mikrosatelit bisa digunakan untuk membandingkan genotip dari individu yang mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat (Aryantha *et al.*, 2008).

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keseragaman True Shallot Seed (TSS) beberapa varietas lokal bawang merah berdasarkan penanda mikrosatelit/ *Simple Sequence Repeat* (SSR).

1.3 Hipotesis

Diduga terdapat tingkat keseragaman yang tinggi pada True Shallot Seed (TSS) beberapa varietas lokal bawang merah berdasarkan penanda mikrosatelit/ *Simple Sequence Repeat* (SSR)

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Perkembangan Bawang Merah Indonesia

Saat ini terdapat lebih dari 10 varietas bawang merah lokal yang dibudidayakan oleh para petani., antara lain varietas Sumenep, Ampenan, Bima Brebes, Medan, Keling, Maja Cipanas, Lampung, Banteng, Timor, Kuning, Bali Ijo, Jakasana, Ashali, Betawi, Gurgur dll. Selain itu, para petani juga membudidayakan varietas introduksi dari Thailand, Filipina dan Australia karena bentuk umbinya yang lebih kompak, kulit luarnya yang tebal, mengkilat dan berwarna lebih tua/mencolok serta produktifitasnya cukup tinggi yaitu rata-rata bisa mencapai 15 ton per hektar. Varietas impor ini membutuhkan perawatan yang lebih intensif dari varietas lokal agar didapatkan hasil yang optimal Hal ini dikarenakan adanya perbedaan lingkungan di Indonesia dengan daerah asalnya, sehingga masih banyak petani yang fanatik dengan varietas lokal (Anonymous, 2008).

Pada umumnya petani bawang merah menggunakan benih yang berasal dari umbi baik benih murni yang berasal dari produsen benih maupun benih turunan yang berasal dari panenannya. Petani besar biasanya menggunakan benih murni sampai keturunan ke dua, sedangkan petani kecil hanya menggunakan benih tanaman dari hasil panenannya. Selain itu ketersediaan benih, terutama benih murni pada saat musim tanam sulit didapatkan dan walaupun ada harganya biasanya sangat tinggi.

Bawang merah dikenal sebagai sayuran yang sangat fluktuatif harga maupun produksinya. Hal ini terjadi karena pasokan produksi yang tidak seimbang antara panen pada musimnya serta panen di luar musim. Penanaman yang dilakukan di luar musim memiliki resiko kegagalan yang cukup tinggi karena tingginya intensitas serangan hama dan penyakit (hama *Spodoptera exigua*, penyakit Alternaria, Fusarium, Antraknose), selain itu bawang merah merupakan komoditas yang tidak dapat disimpan lama, hanya bertahan 3-4 bulan padahal konsumen membutuhkannya setiap saat (Baswarsiati, 2009).

Bawang merah termasuk sayuran unggulan nasional yang belum banyak keragaman varietasnya. Hal ini disebabkan perbanyakan bawang merah dilakukan dengan menggunakan umbi sehingga tidak terjadi segregasi maupun keragaman dalam varietasnya, padahal varietas tersebut mampu berbunga dan berbiji secara alami kecuali varietas Sumenep. Pembiakan secara vegetatif terus menerus mengakibatkan tidak adanya perubahan susunan genetik dan oleh karena itu sampai sekarang belum didapatkan varietas yang tahan terhadap penyakit daun yang sering menggagalkan pertanaman bawang merah.

Dari 141 varietas bawang merah yang ada termasuk varietas introduksi belum didapatkan varietas yang tahan terhadap penyakit kecuali varietas Sumenep yang relatif tahan terhadap penyakit lain tetapi tidak tahan terhadap penyakit *Alternaria*. Sayangnya varietas ini tidak mampu berbunga dan belum diketahui cara merangsang bunganya. Untuk mengantisipasi masalah di atas salah satu usaha yaitu mencari dan menggali varietas-varietas bawang merah yang mempunyai sifat-sifat unggul terutama dalam hal produksi serta ketahanan terhadap hama dan penyakit utama sehingga varietas bawang merah tersebut mampu berproduksi walaupun serangan hama dan penyakit cukup berat. Bilamana varietas unggul yang tahan terhadap hama dan penyakit diperoleh maka varietas tersebut dapat ditanam pada luar musim sehingga kesinambungan produksi bawang merah dapat terjamin (Baswarsiati, 2009).

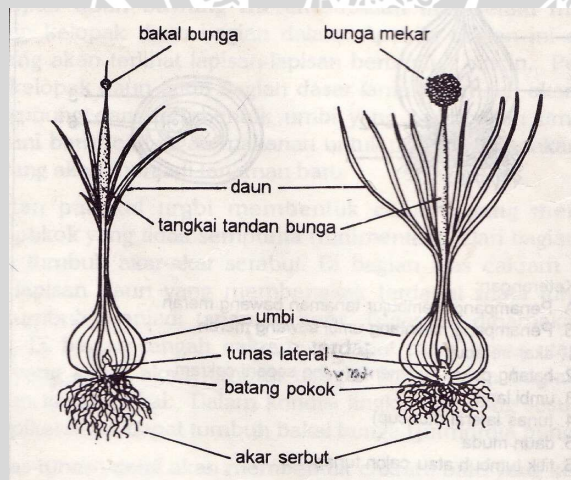
2.2 Klasifikasi dan Morfologi Bawang Merah

Bawang merah termasuk dalam Kingdom *Plantae*, Divisi *Magnoliophyta*, Kelas *Liliopsida*, Ordo *Asparagales*, Famili *Alliaceae*, Genus *Allium* dan Spesies *Allium cepa* L. var. *Ascalonicum* atau cukup disebut *Allium ascalonicum* (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Tanaman bawang merah diduga berasal dari daerah Asia Tengah yaitu di deretan daerah sekitar India, Pakistan sampai Palestina. Penyebaran bawang merah ke berbagai negara diduga berhubungan dengan perburuan rempah-rempah yang dilakukan oleh bangsa Eropa (Rahayu dan Berlian, 1994).

Bawang merah memiliki umbi berlapis, berbentuk rumput yang tumbuh tegak dengan tinggi dapat mencapai 15-50 cm dan membentuk rumpun. Umbi terbentuk dari pangkal daun yang bersatu dan membentuk batang yang berubah bentuk dan fungsi, membesar dan membentuk umbi berlapis. Umbi bawang merah bukan merupakan umbi sejati seperti kentang atau talas. Bagian pangkal umbi membentuk cakram yang merupakan batang pokok yang tidak sempurna (rudimenter). Akar bawang merah tumbuh di bagian bawah cakram, berupa akar serabut yang tidak panjang. Keadaan perakaran bawang merah tersebut mengakibatkan bawang merah tidak tahan kering (Rahayu dan Berlian, 1994).

Bentuk daun bawang merah bulat kecil dan memanjang seperti pipa, tetapi ada juga yang membentuk setengah lingkaran pada penampang melintang daun. Bagian ujung daun meruncing, sedang bagian bawahnya melebar dan membengkak. Di bagian atas cakram, yakni di antara lapisan daun yang membengkak terdapat mata tunas yang dapat tumbuh menjadi daun baru (tunas lateral). Di bagian tengah cakram terdapat mata tunas utama (inti tunas) yang kelak akan tumbuh bunga bila berada dalam lingkungan yang sesuai (tunas apical) (Rahayu dan Berlian, 1994).

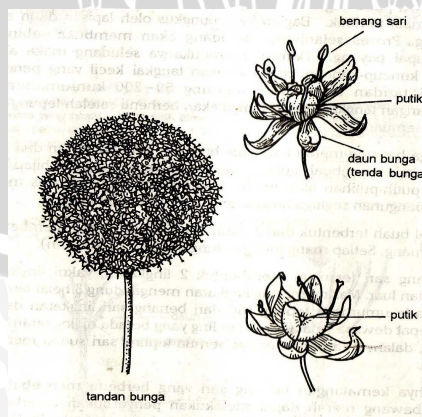


Gambar 1. Bagian-bagian bawang merah (Rahayu dan Berlian, 1994)

Tanaman bawang merah sangat beragam. Beberapa jenis mudah berbunga, menghasilkan biji, dan dapat disilangkan, sedangkan yang lain jarang berbunga. Ketika baru terinisiasi, tangkai bunganya padat, tetapi setelah mencapai panjang penuh, 60-70 cm, tangkai ini berongga (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Bunga bawang merah berbentuk payung yang terdiri dari 50-200 bunga sempurna. Kumpulan bunga ini berbentuk bola dengan diameter $\pm$ 7-8 cm (Permadi dan Aliudin, 1992). Bunga bawang merah termasuk bunga sempurna, terdiri dari 5-6 benang sari dan sebuah putik. Daun bunga berwarna agak hijau bergaris keputih-putihan atau putih. Bakal buah duduk di atas membentuk bangunan segitiga hingga tampak jelas seperti kubah. Bakal buah terbentuk dari 3 daun buah (karpel) yang membentuk 3 buah ruang. Setiap ruang mengandung 2 bakal biji (ovulum). Benang sari tersusun membentuk 2 lingkaran yakni lingkaran dalam dan luar. Masing-masing lingkaran mengandung 3 helai benang sari. Pada umumnya tepung sari dari benang sari lingkaran dalam lebih cepat dewasa (matang) dibanding yang berada di lingkaran luar, namun dalam waktu 2-3 hari biasanya semua tepung sari sudah menjadi matang.

Adanya kematangan benang sari yang berbeda menyebabkan bunga bawang merah dapat melakukan penyerbukan antar bunga dalam satu tandan atau antar bunga dari tandan yang berbeda. Hal ini dapat terjadi baik dalam satu tanaman maupun dengan tanaman lainnya. Penyerbukan bunga dapat terjadi dengan perantara serangga seperti lebah madu atau lalat hijau. Letak bakal biji dalam ruang bakal buah (ovarium) terbalik (anatropus), sehingga bakal biji bawang merah dekat dengan plasentanya. Biji bawang merah yang masih muda berwarna putih. Setelah tua biji akan berwarna hitam (Rahayu dan Berlian, 1994). Biji yang dihasilkan heterozigot yang berarti bahwa keturunan dari biji tidak sama dengan tetuanya, sehingga tanaman biasanya diperbanyak dengan umbi (rubatzky dan Yamaguchi, 1998).



Gambar 2. Bagian-bagian bunga bawang merah (Rahayu dan Berlian, 1994)

2.3 True Shallot Seed (TSS)

Perbanyakan bawang merah dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu dengan umbi dan dengan benih atau biji yang disebut *true shallot seed* (TSS). *True shallot seed* (TSS) merupakan salah satu metode perbaikan produktivitas umbi tanaman bawang merah. Benih TSS yang baik akan menghasilkan umbi dengan produktivitas tinggi dan kualitas yang seragam. Benih TSS bisa diproduksi bila tanaman yang digunakan bersifat homozygous atau mencapai galur murni (Sulistyaningsih, 2004).

Menurut Basuki (2009) penggunaan TSS layak secara teknis karena dapat meningkatkan hasil sampai 2 kali lipat dibanding penggunaan benih umbi tradisional dan layak secara ekonomis karena dapat meningkatkan pendapatan bersih antara 22-70 juta rupiah per ha dibanding benih umbi tradisional. Di Indonesia, masih belum banyak petani yang menggunakan TSS. Petani lebih memilih menggunakan benih yang berasal dari umbi baik berasal dari hasil panen sebelumnya ataupun membeli dari toko. Hal ini dikarenakan ketersediaan TSS di pasaran yang terbatas serta waktu tanam yang lebih lama.

Keunggulan perbanyakan bawang merah dengan biji dapat menekan biaya pengadaan bibit, mudah didistribusikan antar tempat atau antar daerah, bahkan antar negara tanpa menuntut tambahan biaya penyimpanan gudang. Selain itu, bibit bawang merah biasanya bebas dari virus atau penyakit berbahaya lainnya. Sementara kelemahannya adalah tanaman bawang merah yang berasal dari biji sering terjadi pemecahan sifat dan harus disemai dulu selama 5-6 minggu, yang mana petani bawang merah belum terbiasa melakukannya teknologi tersebut (Ismiyatiningsih dan Sutardi, 2010).

2.4 Marka Molekuler

Marka molekuler merupakan potongan dari material genetik yang mudah diidentifikasi dan dapat digunakan di laboratorium untuk memisahkan sel, individu, populasi atau spesies. Marka molekuler ditentukan secara langsung pada materi genetik yaitu DNA itu sendiri. Sifat genetik cenderung stabil terhadap perubahan lingkungan dan tidak dipengaruhi oleh umur, sehingga penanda genetik

dapat memberikan informasi yang relatif lebih akurat (Julisaniah, 2008). Dengan demikian, hasil yang diperoleh dari teknik marka molekuler secara total tidak terpengaruh oleh lingkungan dimana materi tersebut ditanam.

Marka DNA telah digunakan secara ekstensif dalam sidik jari genotipe. Sidik jari DNA dalam aplikasinya bermanfaat dalam penentuan kemurnian benih, dalam resolusi mengenai ketidak jelasan tetua, untuk proteksi secara legal dari varietas yang telah maju, dan di dalam uji genetik. Keragaman genetik yang menggunakan marka molekuler telah banyak diaplikasikan di dalam studi biodiversitas, identifikasi varietas, dan analisis filogenetik (Pabendon, 2004). Jadi marka DNA dapat dijadikan sebagai alat bantu seleksi (*Marker Assisted Selection/ MAS*) dalam kegiatan pemuliaan tanaman. Seleksi dengan marka DNA lebih menguntungkan dibanding seleksi secara fenotipik. Seleksi dengan bantuan marka DNA lebih sederhana, dapat dilakukan pada fase awal perkembangan, dan tingkat akurasi lebih tinggi. Dengan demikian, kegiatan pemuliaan tanaman menjadi lebih tepat, cepat, dan relatif lebih hemat biaya dan waktu (Azrai, 2005).

Marka DNA telah banyak diaplikasikan di bidang pertanian untuk mendeteksi keragaman genetik pada berbagai tanaman termasuk tanaman dalam famili *Alliaceae*. Arifin *et al.* (2000) menggunakan analisis RAPD dan PCR-RFLP untuk mengetahui hubungan kekerabatan pada aksesi bawang merah dan *A. x wakegi* dan asal-usul dari *A. x wakegi*. Phuong *et al.* (2006) menggunakan markah RFLP untuk mengetahui keragaman genetik bawang merah yang terdapat di Vietnam, demikian halnya dengan Sulistyaningsih *et al.* (2002) menggunakan markah RFLP untuk mengetahui karakteristik genetik bawang merah Indonesia yang berumbi putih. Mc Callum *et al.* (2008) menggunakan markah EST-SSR untuk melakukan analisis keragaman genetik pada bawang bombay.

2.5 Mikrosatelit (SSR)

SSR (*Simple Sequence Repeat*) atau mikrosatelit merupakan sekuen DNA yang bermotif pendek dan diulang secara tandem dengan 2 sampai 5 unit nukleotida yang tersebar dan meliputi seluruh genom, terutama pada organisme eukariotik (Azrai, 2005). Sekuen yang berulang sering sederhana, terdiri dari dua,

tiga atau empat nukleotida (di-, tri-, dan tetranukleotida berulang). Salah satu contoh umum mikrosatelit adalah dinucleotida berulang (CA)_n, dimana *n* menunjukkan jumlah total nukleotida berulang/repeats yang berada pada kisaran 10 dan 100 (Semagn, Bjornstad and Ndjioudjop, 2006).

Mikrosatelit ini banyak dijumpai pada genom eukaryotik dan umumnya terdistribusi secara merata pada genom organisme tertentu. Urutan berulang-ulang tersebut membentuk motif yang unik pada suatu jenis organisme. Marka ini bersifat kodominan dan dapat mendeteksi keragaman alel pada level tinggi serta mudah dan relatif ekonomis dalam aplikasinya karena menggunakan teknik PCR. (Pabendon, 2004). Mikrosatelit banyak digunakan untuk karakterisasi dan pemetaan genetik tanaman. Informasi ini berguna untuk kuantifikasi keragaman genetik, karakterisasi aksesori pada koleksi plasma nutfah tanaman, dan studi taksonomik (Pabendon, 2004).

Lokus mikrosatelit diapit oleh suatu urutan nukleotida yang terkonservasi, sehingga urutan DNA pengapit ini dapat dijadikan primer spesifik yang bisa diamplifikasi menggunakan PCR (Aryantha *et al.*, 2008). Pasangan primer mikrosatelit (*forward* dan *reverse*) diamplifikasi dengan PCR berdasarkan hasil konservasi daerah yang diapit (*flanking-region*) penanda untuk suatu gen pada kromosom (Azrai, 2005). Primer untuk marka mikrosatelit tidak tersedia pada semua spesies tanaman, akan tetapi primer mikrosatelit yang digunakan untuk satu spesies sering kali dapat digunakan pula pada spesies yang memiliki kekerabatan dekat dalam satu genus bahkan terkadang antar genus dalam satu famili (Sefc *et al.*, 2001).

Penggunaan marka mikrosatelit dalam studi genetik memiliki beberapa kelebihan di antaranya (1) marka terdistribusi secara melimpah dan merata dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus), sifatnya kodominan dan lokasi genom dapat diketahui (2) merupakan alat uji yang memiliki reproduksibilitas dan ketepatan yang sangat tinggi; (3) merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan, dan seleksi genotip untuk karakter yang diinginkan; (4) studi genetik populasi dan analisis diversitas genetik. Kelemahan teknik ini adalah dibutuhkannya biaya dan waktu yang tidak sedikit dalam pembentukan dan

optimisasi primer. Primer untuk marka mikrosatelit tidak tersedia pada semua spesies tanaman, sehingga untuk merancang primer baru membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang cukup mahal (Azrai, 2005).



III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Desember 2010 hingga Juni 2011.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: mortar, pestle, tip, gelas ukur, tabung eppendorf, tissue, gunting, plastik pembungkus, mikropipet, spatula, erlenmeyer, microwave, mesin spektrofotometer, mesin PCR, oven, mesin vortex, timbangan analitik, stirer, pH meter, mesin elektroforesis, mesin centrifuge, autoclave, mesin UV transluminator dan lemari es.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun bawang merah yang tidak terlalu tua dan sehat (ujung daun tidak menguning). Sampel diperoleh dari daun tanaman bawang merah yang ditanam dari *True Shallot Seed* hasil selfing 4 varietas local bawang merah, yaitu varietas Ampenan (A), Super Philip (B), Bali Kuning (C) dan Bali Ijo (D). Masing-masing terdapat 50 tanaman yang kemudian dipilih 20 tanaman secara acak yang akan diambil daunnya untuk diisolasi.

Bahan kimia yang digunakan antara lain Buffer ekstraksi CTAB (NaCl, Tris HCl pH 8.0, EDTA dan Merkaptoethanol), nitrogen cair, PVP, CHISAM (Chloroform, Isoamilalkohol), buffer pencuci, buffer TE, RNase, ethanol, isopropanol, DNA ladder, agarosa, buffer elektroforesis (TAE/TBE), loading dye, ethidium bromida, "PROMEGA " PCR reaction kit, dan primer mikrosatelit SSR.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Langkah kerja yang dilakukan mulai dari isolasi DNA dari daun bawang merah, uji kualitas, amplifikasi program PCR hingga analisa hasil ialah sebagai berikut:

3.3.1 Isolasi DNA

Isolasi DNA menggunakan metode isolasi Karsinah *et al.*(2002) yang telah dimodifikasi dengan langkah kerja sebagai berikut :

1. Tabung eppendorf diisi dengan 1 ml buffer ekstraksi CTAB (CTAB 3%, NaCl 1,4 M, EDTA 0,002M dan Tris-HCl 0,1M) dan 5 μ l *mercaptoethanol*.
2. Daun Bawang merah disterilisasi dengan alkohol dan ditimbang 0,5 gram.
3. 0,5 gram daun bawang merah digerus dalam mortar dengan bantuan nitrogen cair dan ditambah PVP 10 mg, kemudian dimasukkan kedalam eppendorf yang sudah berisi 1 ml buffer ekstraksi CTAB dan 5 μ l *mercaptoethanol*. Setelah itu ekstrak daun divortex hingga homogen.
4. Ekstrak daun diinkubasi dalam suhu 65°C selama 30 menit sambil dibolak-balik tiap 10 menit. Kemudian ditambahkan 700 μ l *chloroform:isoamylalcohol/CHISAM* (24:1). Setelah itu ekstrak daun divortex hingga homogen.
5. Ekstrak daun kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Supernatan dimasukkan tabung baru dan ditambahkan 700 μ l CHISAM.
6. Larutan supernatan dan CHISAM disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Fase atas dimasukkan tabung baru ditambah isopropanol dingin. Larutan tersebut dibolak-balik perlahan hingga tampak benang-benang putih dalam larutan. Larutan diinkubasi dalam *freezer* selama 30 menit.
7. Setelah diinkubasi, larutan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 6000 rpm setelah itu supernatan dibuang dengan hati-hati agar endapan DNA pellet tidak ikut terbang.
8. Endapan DNA pellet dicuci dengan buffer pencuci dengan cara menambahkan 200 μ l buffer pencuci ke dalam *tube*, kemudian cairan di buang. Pencucian ini dilakukan 2 kali. Setelah itu endapan DNA pellet dikering anginkan.
9. Endapan DNA kemudian diresuspensi dengan 500 μ l buffer TE lalu ditambah 1 μ l RNase.

10. Larutan DNA yang sudah ditambah RNAse diinkubasi selama 30 menit pada Suhu 37°C.
11. Setelah larutan DNA diinkubasi, ditambahkan 1 ml ethanol absolute dingin dan dibolak-balik perlahan.
12. Larutan DNA lalu diinkubasi pada *freezer* selama 30 menit.
13. Setelah inkubasi selesai kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 6000 rpm. Pelet kemudian dikering anginkan.
14. Pelet diresuspensi dengan 100 µl buffer TE dan disimpan dalam lemari es.

3.3.2 Pengujian Kualitas DNA

Uji kualitas DNA dilakukan dengan *elektroforesis*. Langkah kerja yang dilakukan dalam *elektroforesis* ialah sebagai berikut :

1. Campur bahan untuk membuat 0,8 % gel agarose, yaitu 0,32 mg agarose dan 40 ml buffer TBE dalam *erlenmeyer*.
2. Kemudian larutan gel dihomogenkan dengan cara dipanaskan dalam microwave hingga larutan gel benar-benar homogen.
3. Setelah tidak terlalu panas, larutan gel dituangkan pada cetakan dan didiamkan sampai memadat.
4. Gel yang sudah memadat dipindah ke dalam mesin elektroforesis. Kemudian tuangkan buffer TBE ke dalam mesin elektroforesis hingga seluruh bagian gel terendam.
5. DNA hasil amplifikasi (5 µl) dicampur dengan *loading dye* (1 µl) dengan cara pipeting, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran/*wells*.
6. Proses dilakukan selama 20 menit dengan tegangan listrik 100 V.
7. Setelah proses elektroforesis selesai dilakukan, hasil elektroforesis direndam dalam larutan Ethidium Bromide selama ± 15 menit
8. Gel yang telah direndam dalam Ethidium Bromide diamati dengan UV transiluminator dan didokumentasikan.

3.3.3 Optimasi Primer

Optimasi primer dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan primer yang menunjukkan hasil terbaik. Penanda mikrosatelit (SSR) menggunakan dua pasang primer yaitu primer *forward* dan reverse. Primer yang digunakan dalam penelitian

ini ialah primer yang memiliki keterkaitan dengan gen pertumbuhan tanaman. Terdapat 4 macam primer (produksi GeneWorks Pty Ltd.) yang digunakan dalam proses PCR. Optimasi primer dilakukan pada kombinasi gabungan 2 primer sebagai primer *forward* dan *reverse*, sehingga terdapat 6 kombinasi primer gabungan (P1P2, P1P3, P1P4, P2P3, P2P4, P3P4). Susunan basa keempat primer tersebut adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Susunan Basa Primer

No	Oligo Name	Primer Sequence 5'–3'
1	Primer 1 (P1)	TCA CCA CCG AAC AGA TTC AA
2	Primer 2 (P2)	TGA TTT GGC ATC TTC AGA CC
3	Primer 3 (P3)	TAG CAT CAC CAC CGA ACA GA
4	Primer 4 (P4)	TGA TTT GGC ATC TTC AGA CCT

3.3.4 Proses PCR

Proses PCR dilakukan dengan menggunakan "PROMEGA" PCR reaction kit (produk USA) meliputi *Go Taq Green Master Mix*, *Up stream primer*, *Down stream primer*, *DNA template* dan *Nuclease free water* dengan ketentuan pelaksanaan sesuai dengan protokol penggunaan produk.

Program PCR yang digunakan adalah 5 menit pada suhu 95°C untuk pre-denaturasi, selanjutnya dilakukan 36 siklus dimana setiap siklus terdiri dari 45 detik pada suhu 94°C untuk denaturasi (*denaturation*), 45 detik pada suhu 55°C untuk penempelan primer (*annealing*), dan satu menit pada suhu 72°C untuk pemanjangan primer (*elongation/extension*). Perpanjangan primer terakhir (*final extension*) dilakukan pada suhu 72°C selama lima menit dengan satu siklus. Hasil PCR kemudian diamati dengan elektroforesis.

3.3.5 Elektroforesis dan Visualisasi hasil PCR

Visualisasi hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis. Langkah kerja elektroforesis untuk visualisasi hasil PCR sama dengan elektroforesis untuk uji kualitas DNA, yaitu :

1. Campur bahan untuk membuat 1 % gel agarose, yaitu 0,4 mg agarose dan 40 ml buffer TBE dalam *erlenmeyer*.
2. Kemudian larutan gel dihomogenkan dengan cara dipanaskan dalam microwave hingga larutan gel benar-benar homogen.

3. Setelah tidak terlalu panas, larutan gel dituangkan pada cetakan dan didiamkan sampai memadat.
4. Gel yang sudah memadat dipindah ke dalam mesin elektroforesis. Kemudian tuangkan buffer TBE ke dalam mesin elektroforesis hingga seluruh bagian gel terendam.
5. DNA hasil amplifikasi (5 μ l) dicampur dengan *loading dye* (1 μ l) dengan cara pipeting, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran/*wells*.
6. Proses dilakukan selama 20 menit dengan tegangan listrik 100 V.
7. Setelah proses elektroforesis selesai dilakukan, hasil elektroforesis direndam dalam larutan Ethidium Bromide selama $\pm$ 30 menit
8. Gel yang telah direndam dalam Ethidium Bromide diamati dengan UV transiluminator dan didokumentasikan.

3.3.6 Interpretasi Data

Data yang diperoleh dari pemotretan gel hasil SSRs berupa pita-pita DNA dengan ukuran tertentu dari masing-masing varietas lokal yang diuji. Jarak pita diukur dari batas bawah sumur sampai batas bawah pita yang masih tampak. Nomor pita diurutkan dari jarak pita terdekat dengan batas bawah sumur. Pengukuran potongan DNA genom dilakukan dengan membandingkannya dengan berat molekul standar 1 Kb DNA Ladder.

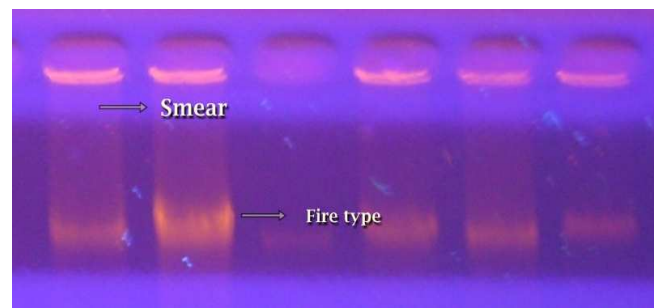
Analisis data didasarkan pada ada atau tidaknya pita. Profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan 1 untuk adanya pita pada posisi yang sama dari individu-individu yang dibandingkan. Dari data tersebut, digunakan sebagai perbandingan antara tanaman masing-masing populasi tanaman dengan menggunakan program NTSys 2.0i.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

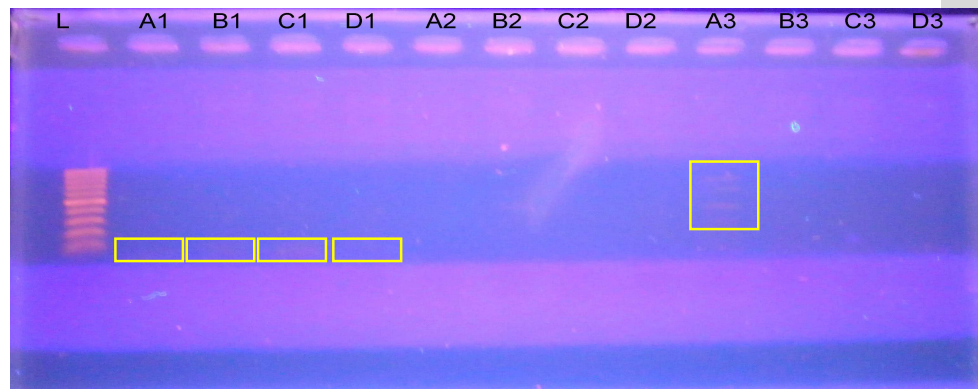
4.1.1 Isolasi DNA

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa terdapat pita yang tebal dan tipis. Pada beberapa fragmen DNA terjadi *smear* dan terlihat berapi-api (*fire type*), sedangkan kontaminasi RNA tidak terlihat pada hasil elektroforesis. Hasil isolasi DNA ini akan digunakan sebagai DNA *template* pada proses amplifikasi PCR.



Gambar 3. *Fire type* dan smear pada hasil isolasi DNA

4.1.2 Optimasi Primer



Gambar 4. Hasil elektroforesis sample menggunakan kombinasi primer 1,2 dan 3
Keterangan:

L: Ladder

A: Ampenan

B: Super Philip

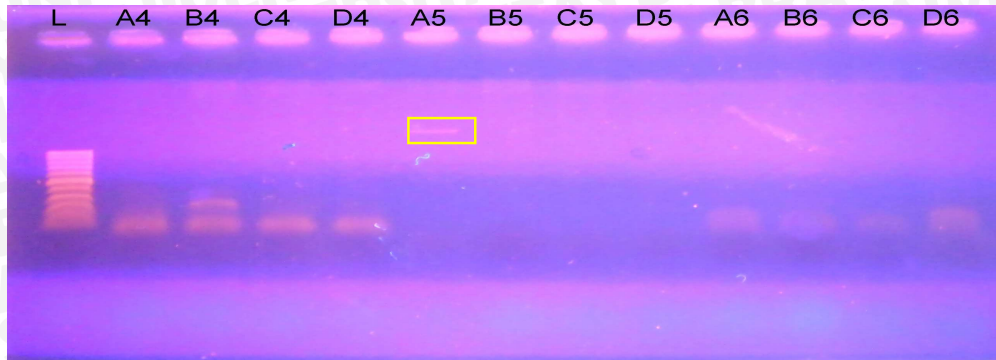
C: Bali kuning

D: Bali ijo

1: primer kombinasi 1 (P1 dan P2)

2: primer kombinasi 2 (P1 dan P3)

3: primer kombinasi 3 (P1 dan P4)



Gambar 5. Hasil elektroforesis sample menggunakan kombinasi primer 4,5 dan 6

Keterangan:

L: Ladder

A: Ampenan

B: Super Philip

C: Bali kuning

D: Bali ijo

4: primer kombinasi 4 (P2 dan P3)

5: primer kombinasi 5 (P2 dan P4)

6: primer kombinasi 6 (P3 dan P4)

Hasil elektroforesis optimasi primer menunjukkan bahwa primer kombinasi 4 (P2 dan P3) dan primer kombinasi 6 (P3 dan P4) mampu mengamplifikasi DNA keempat sampel tanaman. Hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan primer kombinasi 1 (P1 dan P2) sangat tipis, sedang amplifikasi DNA dengan menggunakan primer kombinasi 2 (P1 dan P4) tidak menunjukkan adanya pita DNA. Kombinasi primer 3 (P1 dan P4) dan 5 (P2 dan P4) hanya mengamplifikasi DNA pada satu sampel saja yaitu pada sampel A meskipun pita yang ditunjukkan sangat tipis.

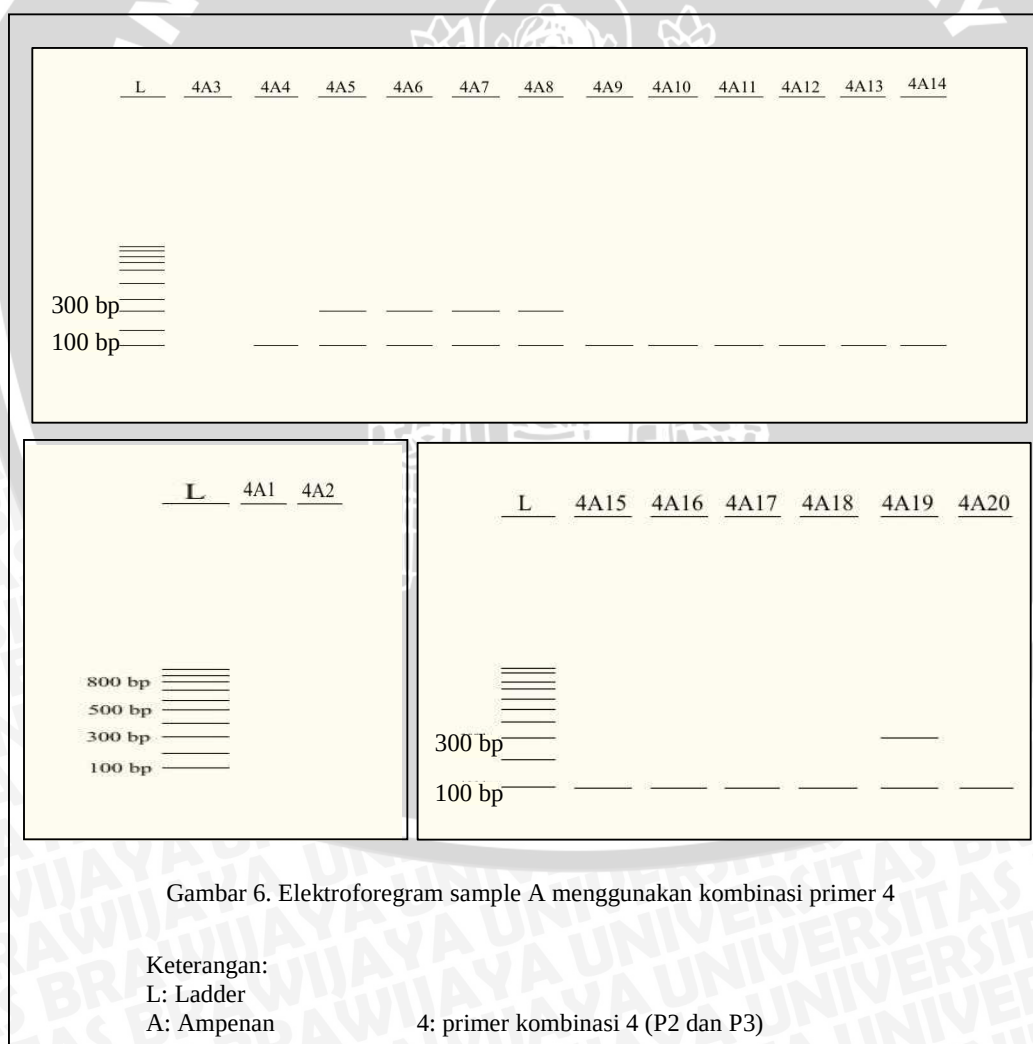
4.1.3 Elektroforesis dan Visualisasi hasil PCR

Elektroforesis hasil PCR dilakukan dengan menggunakan gel agarose 1 % dalam mesin elektroforesis pada tegangan 100 V selama 20 menit. Setiap cetakan gel memiliki 13 sumur. Sumur pertama digunakan untuk DNA *ladder* 100 bp sebagai pembanding dalam pengukuran pita DNA, sedangkan 12 sumur berikutnya digunakan untuk sampel DNA yang telah di PCR. Hasil elektroforesis DNA yang telah di PCR menunjukkan beberapa pita terlihat jelas dan beberapa tidak terlihat jelas, oleh karena itu gambar elektroforesis hasil PCR disajikan dalam bentuk elektroforegram untuk memperjelas gambar.

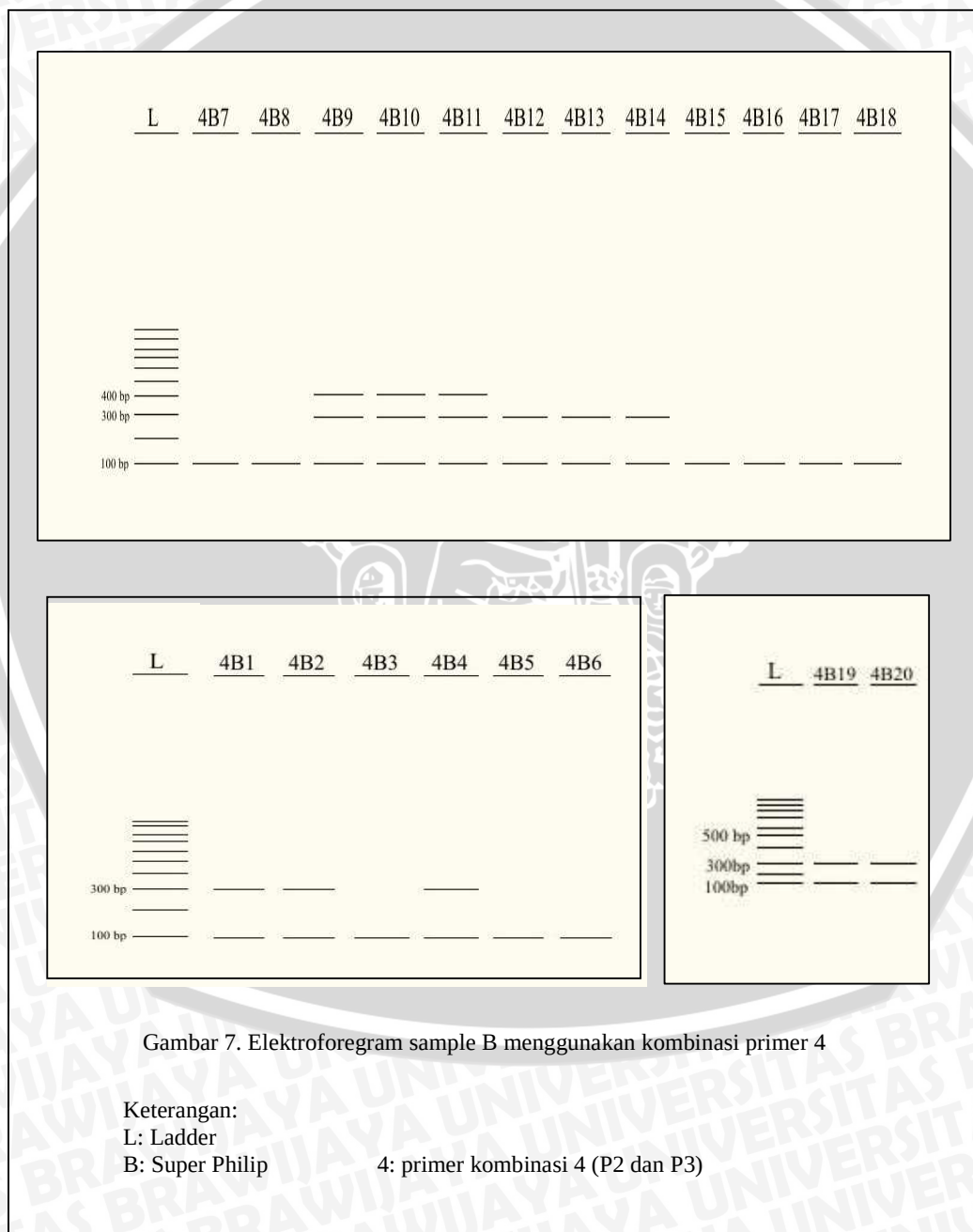
Berdasarkan hasil PCR menggunakan dua pasang primer SSR, menunjukkan bahwa profil DNA yang dihasilkan oleh proses PCR masing-masing primer berbeda. Sebagian besar profil DNA yang dihasilkan oleh primer kombinasi 4 (P2

dan P3) banyak yang polimorfik meskipun terdapat sebagian yang monomorfik, sedangkan profil DNA yang dihasilkan oleh primer kombinasi 6 (P3 dan P4) menunjukkan hasil sebaliknya. Sebagian besar pitanya monomorfik meskipun ada beberapa yang menunjukkan polimorfisme. Profil pita DNA yang dihasilkan oleh primer kombinasi 4 lebih banyak yang tipis bila dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh primer kombinasi 6.

Hasil amplifikasi DNA TSS A dengan menggunakan primer kombinasi 4 (P2 dan P3) menunjukkan hasil pola pita yang sangat tipis. Tiga sampel pertama yaitu 4A1, 4A2, dan 4A3 tidak teramplifikasi. Satu larik pita pada 200 bp menunjukkan polimorfisme, yaitu terdapatnya pita pada sampel 4A4, 4A5, 4A6, 4A7, 4A8 dan 4A19. Pada larik 100 bp tidak menunjukkan polimorfisme.



Hasil amplifikasi DNA TSS B dengan menggunakan primer kombinasi 4 (P2 dan P3) menunjukkan hasil pola pita yang sangat tipis. Polimorfisme ditunjukkan pada larik 300 bp dan 400 bp. Sebagian besar pita teramplifikasi pada 300 bp kecuali 4B3, 4B5, 4B6, 4B7, 4B8, 4B15, 4B16, 4B17, dan 4B18. Pita yang teramplifikasi pada 400 bp ialah 4B9, 4B10, dan 4B11. Pada 100 bp tidak menunjukkan polimorfisme.



Gambar 7. Elektroforegram sample B menggunakan kombinasi primer 4

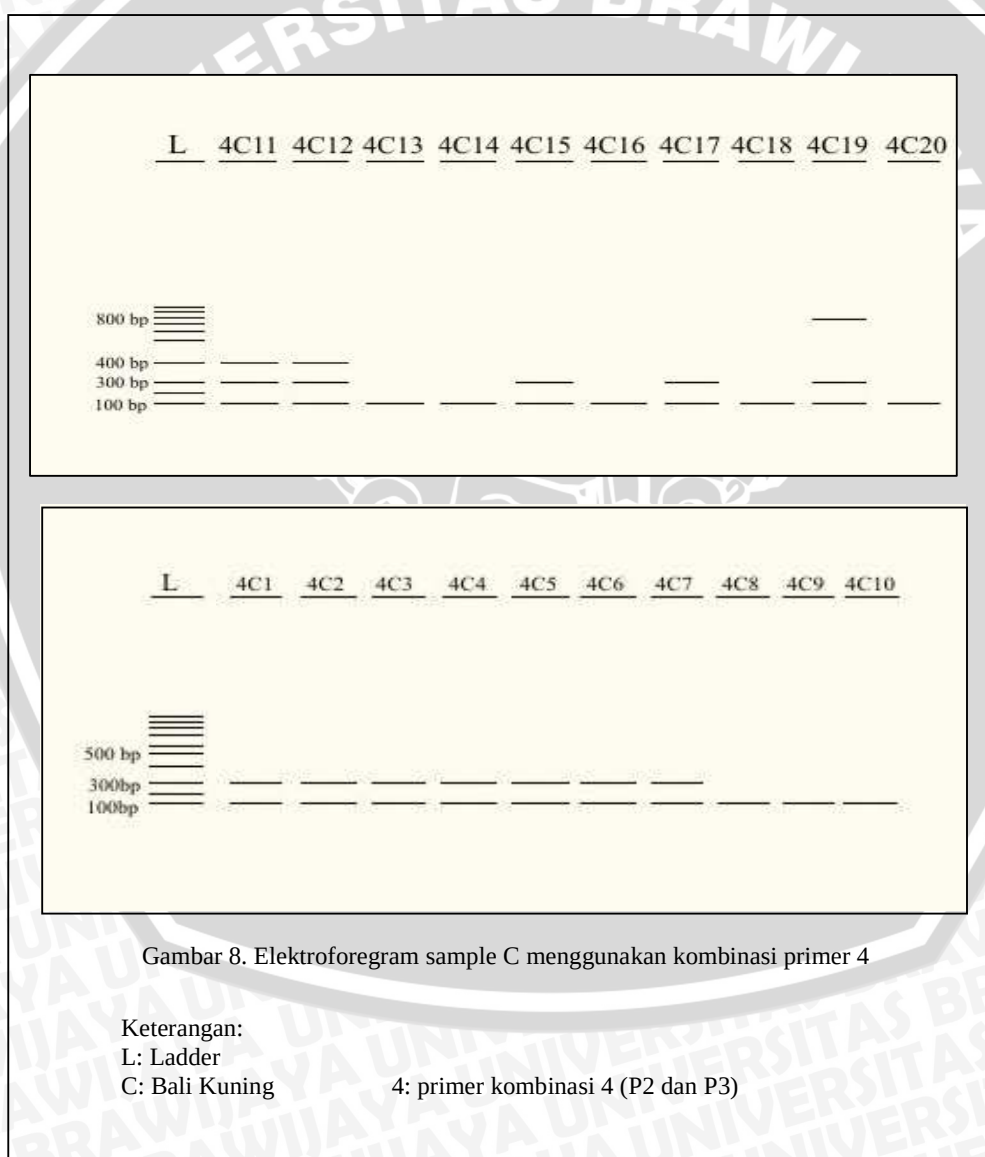
Keterangan:

L: Ladder

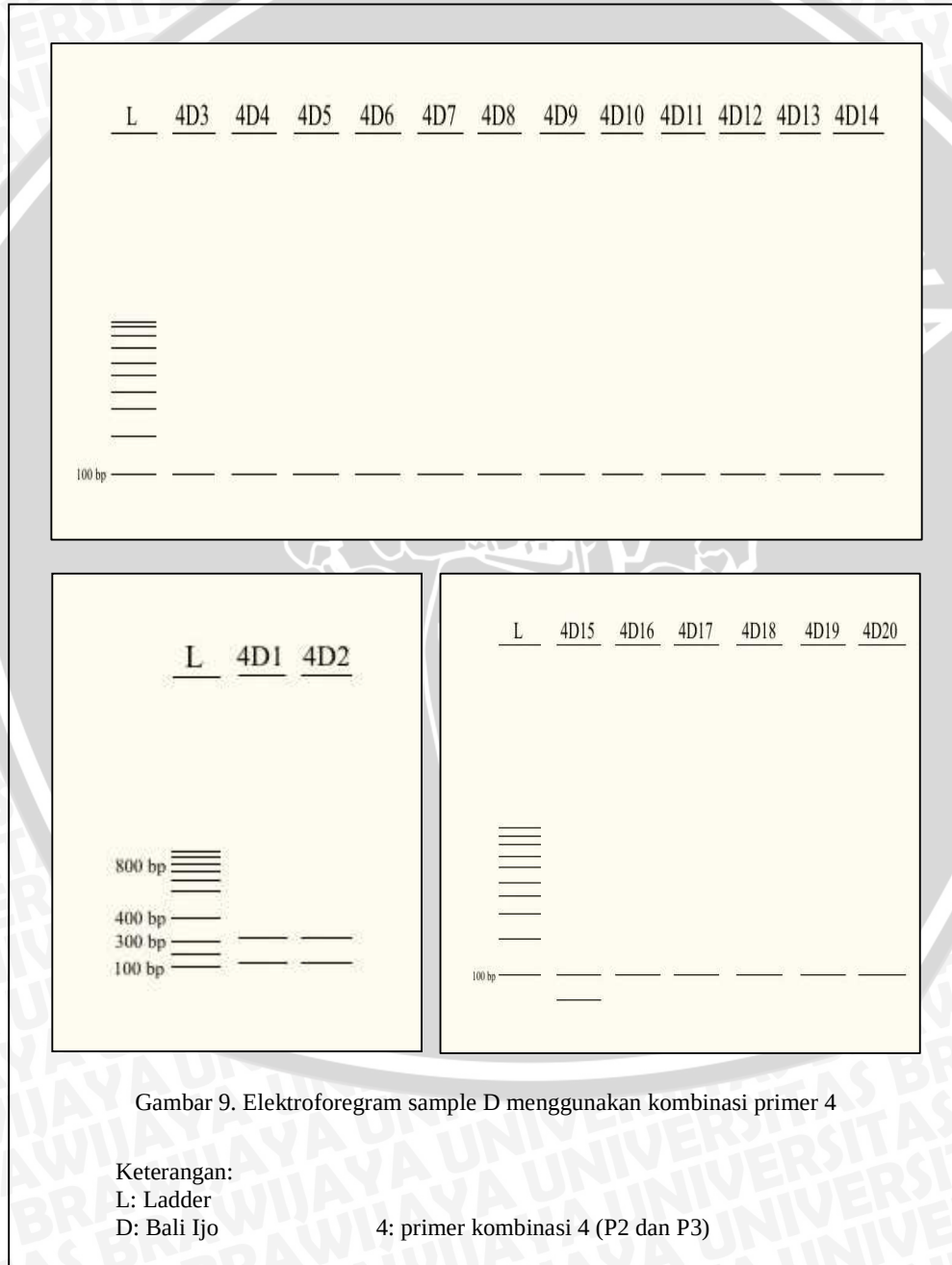
B: Super Philip

4: primer kombinasi 4 (P2 dan P3)

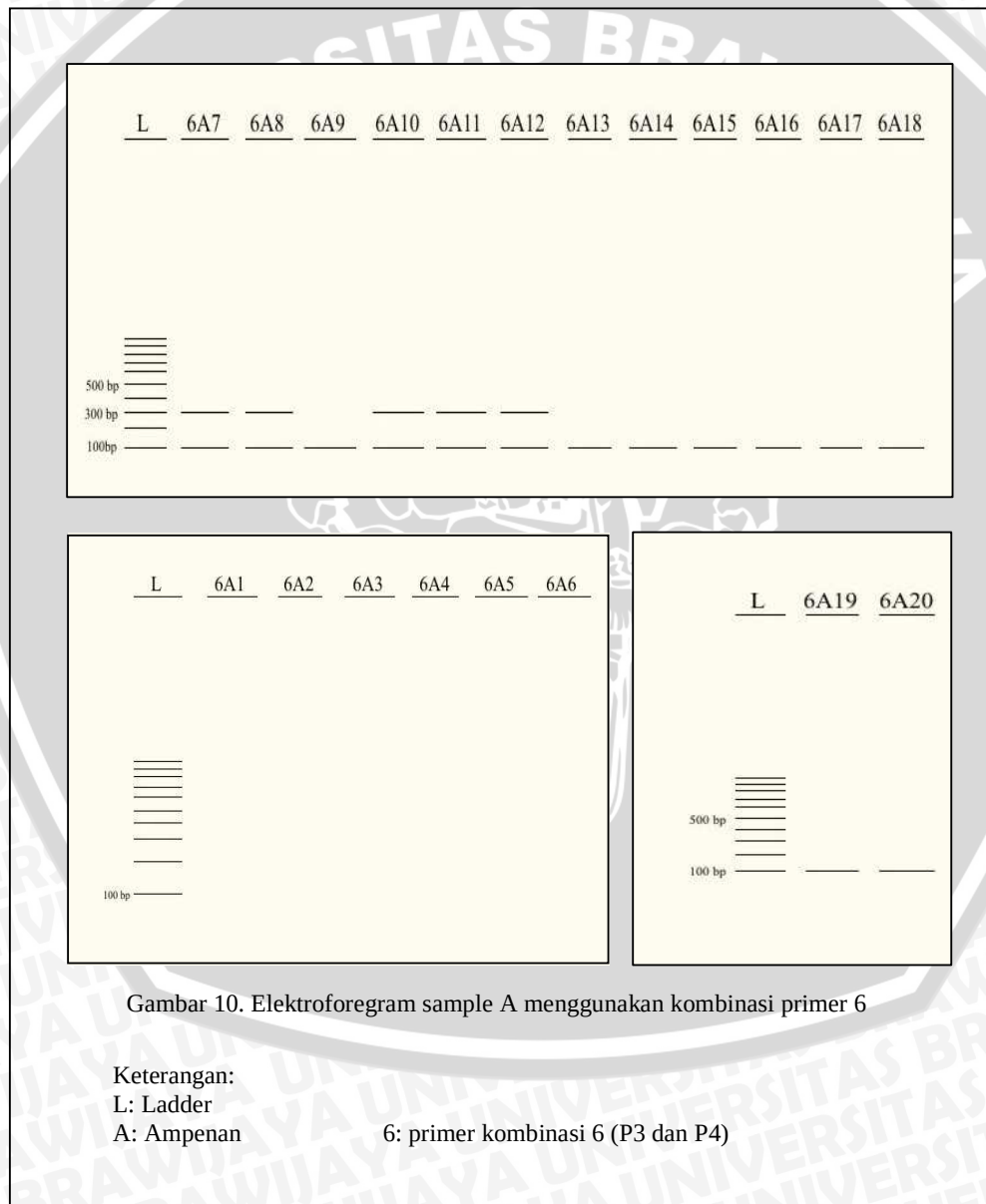
Hasil amplifikasi DNA TSS C dengan menggunakan primer kombinasi 4 (P2 dan P3) menunjukkan hasil pola pita yang sangat tipis. Pita teramplifikasi pada 100 bp, 300 bp, 400bp dan 800 bp. Pita DNA yang teramplifikasi pada 100bp tidak menunjukkan polimorfisme, seluruh pita teramplifikasi pada larik ini meskipun masing-masing memiliki ketebalan yang berbeda-beda. Hampir semua pita teramplifikasi pada 300 bp kecuali sampel 4C8, 4C9, 4C10, 4C13, 4C14, 4C16, 4C18, dan 4C20. Pita yang teramplifikasi pada 800 bp hanya satu yaitu pita pada sampel 4C19.



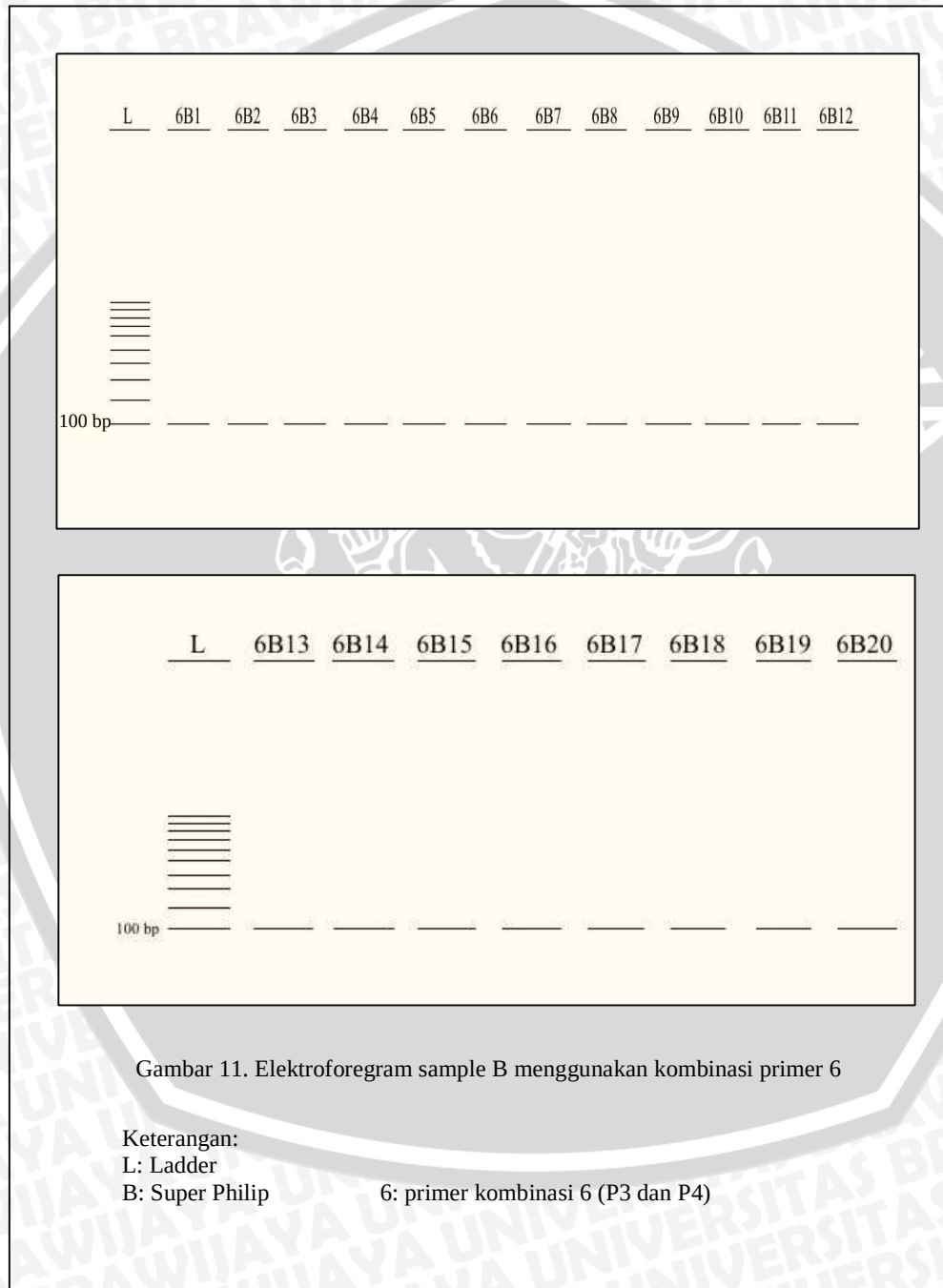
Hasil amplifikasi DNA TSS D dengan menggunakan primer kombinasi 4 (P2 dan P3) teramplifikasi pada 100 bp dan 300bp. Seluruh pita teramplifikasi pada 100bp. Jadi pita pada larik ini tidak menunjukkan polimorfisme. Terdapat satu pita yang teramplifikasi dibawah 100 bp yaitu pita pada sampel 4D15, sedangkan pita yang teramplifikasi pada 300 bp hanya pita pada sampel 4D1 dan 4D2. Pita 4D1 dan 4D2 tidak terseparasi dengan baik.



Hasil amplifikasi DNA TSS A dengan menggunakan primer kombinasi 6 (P3 dan P4) menunjukkan hasil pola pita yang memiliki ketebalan berbeda-beda. Terdapat pula pita yang tidak teramplifikasi sama sekali yaitu pita pada sampel 6A1, 6A2, 6A3, 6A4, 6A5, dan 6A6. Pita teramplifikasi pada 100 bp dan 300 bp. Pita yang teramplifikasi pada 100 bp tidak menunjukkan polimorfisme. Polimorfisme ditunjukkan oleh pita yang teramplifikasi pada 300 bp. Pada larik ini pita hanya teramplifikasi pada sampel 6A7, 6A8, 6A10, 6A11, dan 6A12.



Hasil amplifikasi DNA TSS B dengan menggunakan primer kombinasi 6 (P3 dan P4) menunjukkan hasil pola pita yang memiliki ketebalan relatif sama. Pita hanya teramplifikasi pada 100 bp. Pita yang teramplifikasi tidak menunjukkan polimorfisme yang berarti bahwa seluruh pita teramplifikasi pada larik ini.



Gambar 11. Elektroforegram sample B menggunakan kombinasi primer 6

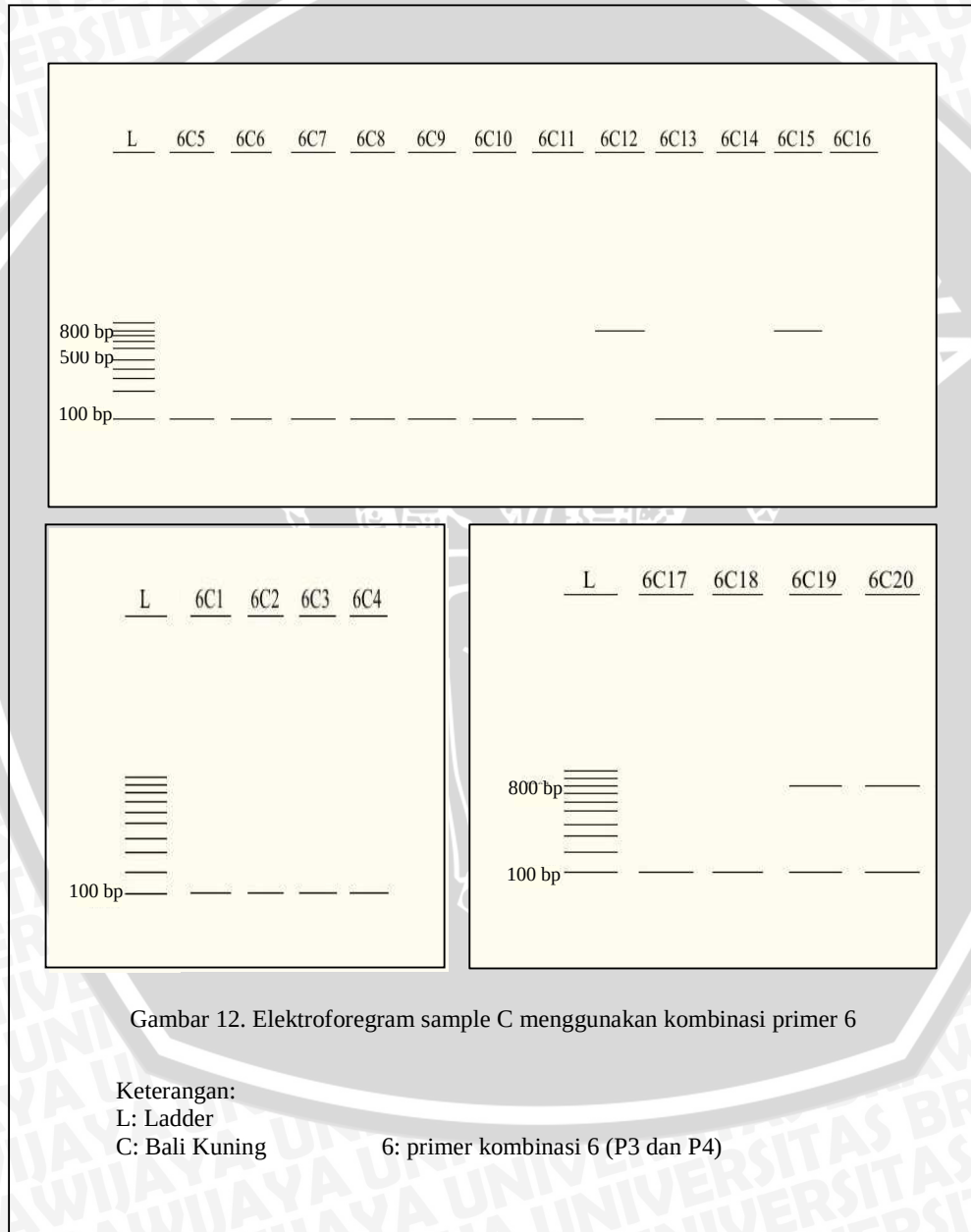
Keterangan:

L: Ladder

B: Super Philip

6: primer kombinasi 6 (P3 dan P4)

Hasil amplifikasi DNA TSS C dengan menggunakan primer kombinasi 6 (P3 dan P4) menunjukkan hasil pola pita yang memiliki ketebalan berbeda-beda. Pita teramplifikasi pada 100 bp dan 800 bp. Hampir seluruh pita teramplifikasi pada 100 bp kecuali pada 6C12. Pita yang teramplifikasi pada 800 bp ialah 6C12, 6C15, 6C19, dan 6C20.



Gambar 12. Elektroforegram sample C menggunakan kombinasi primer 6

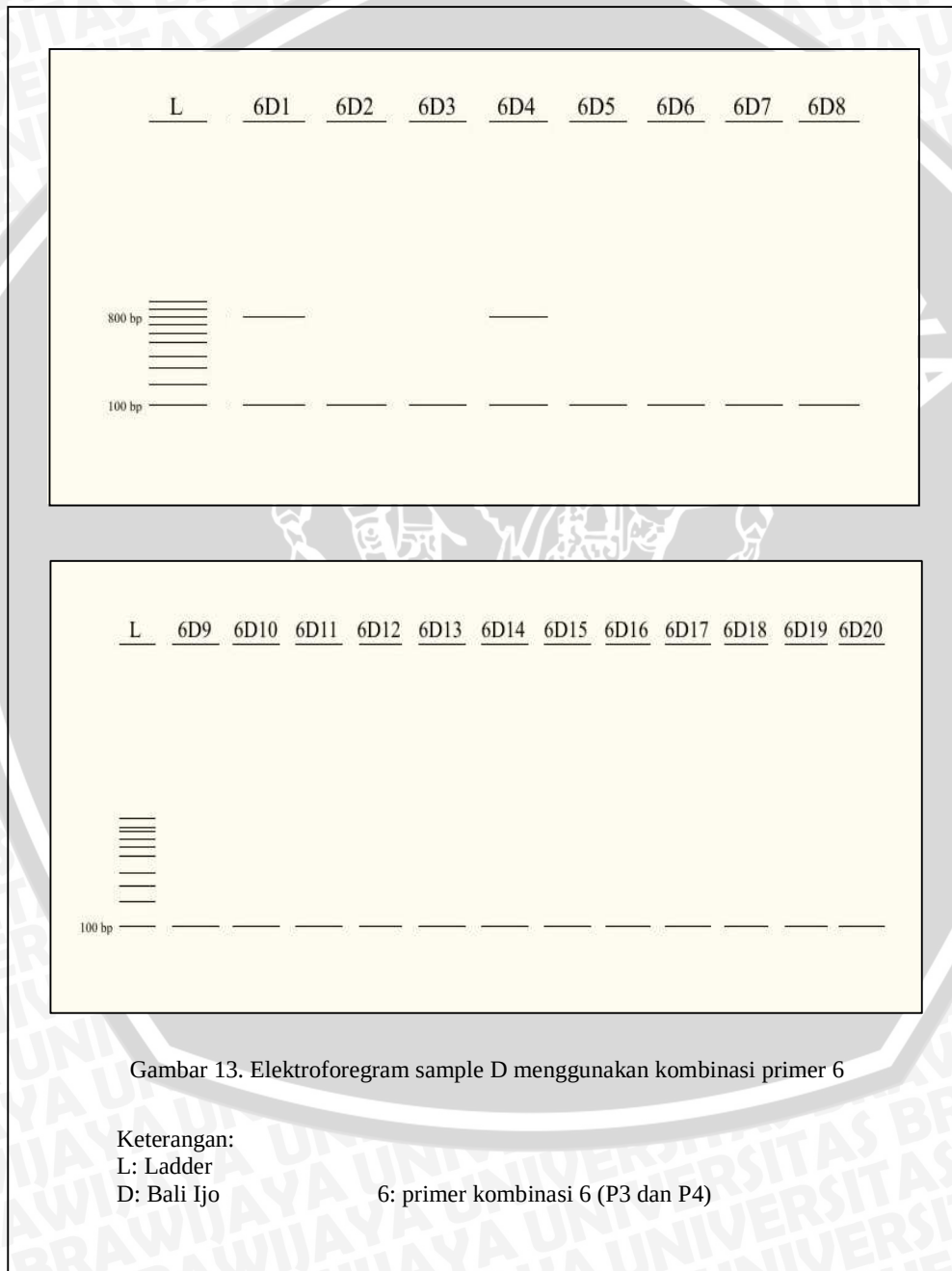
Keterangan:

L: Ladder

C: Bali Kuning

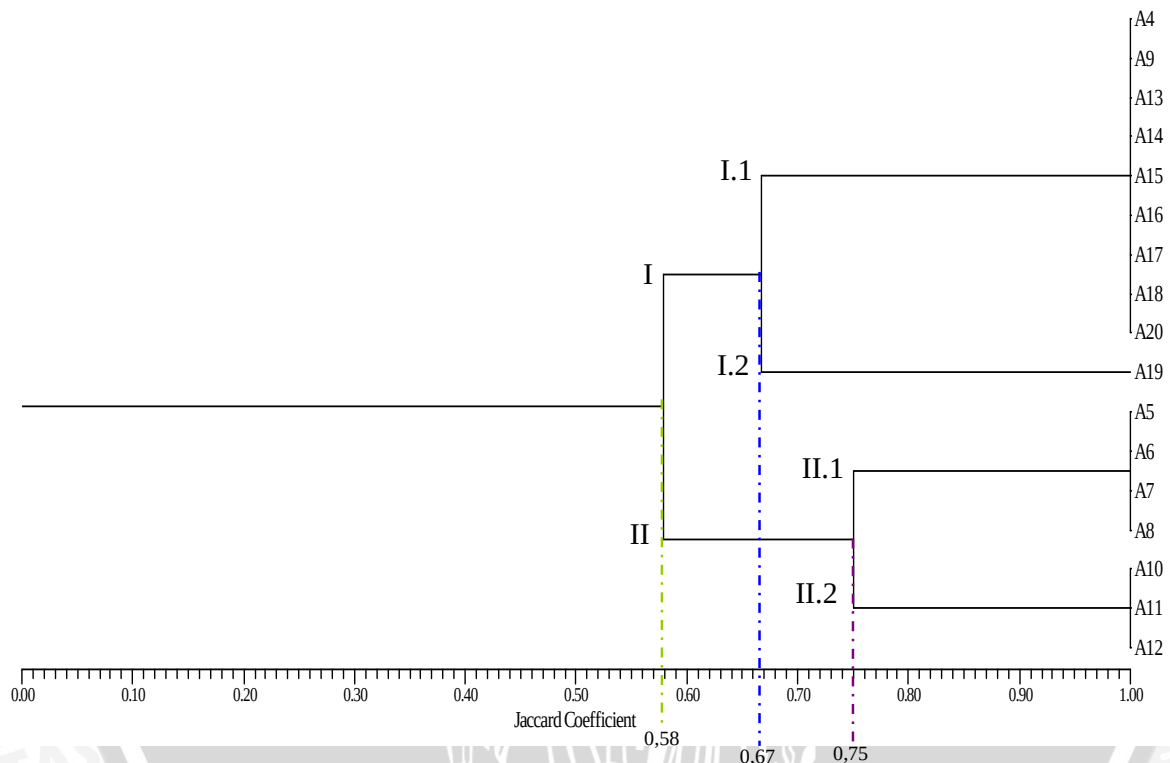
6: primer kombinasi 6 (P3 dan P4)

Hasil amplifikasi DNA TSS D dengan menggunakan primer kombinasi 6 (P3 dan P4) menunjukkan hasil pola pita yang memiliki ketebalan berbeda-beda. Pita teramplifikasi pada 100 bp dan 800 bp. Pita yang teramplifikasi pada 100 bp tidak menunjukkan polimorfisme. Pita yang teramplifikasi pada 800 bp hanya pita pada 6D1 dan 6D4.



4.1.4 Interpretasi Data

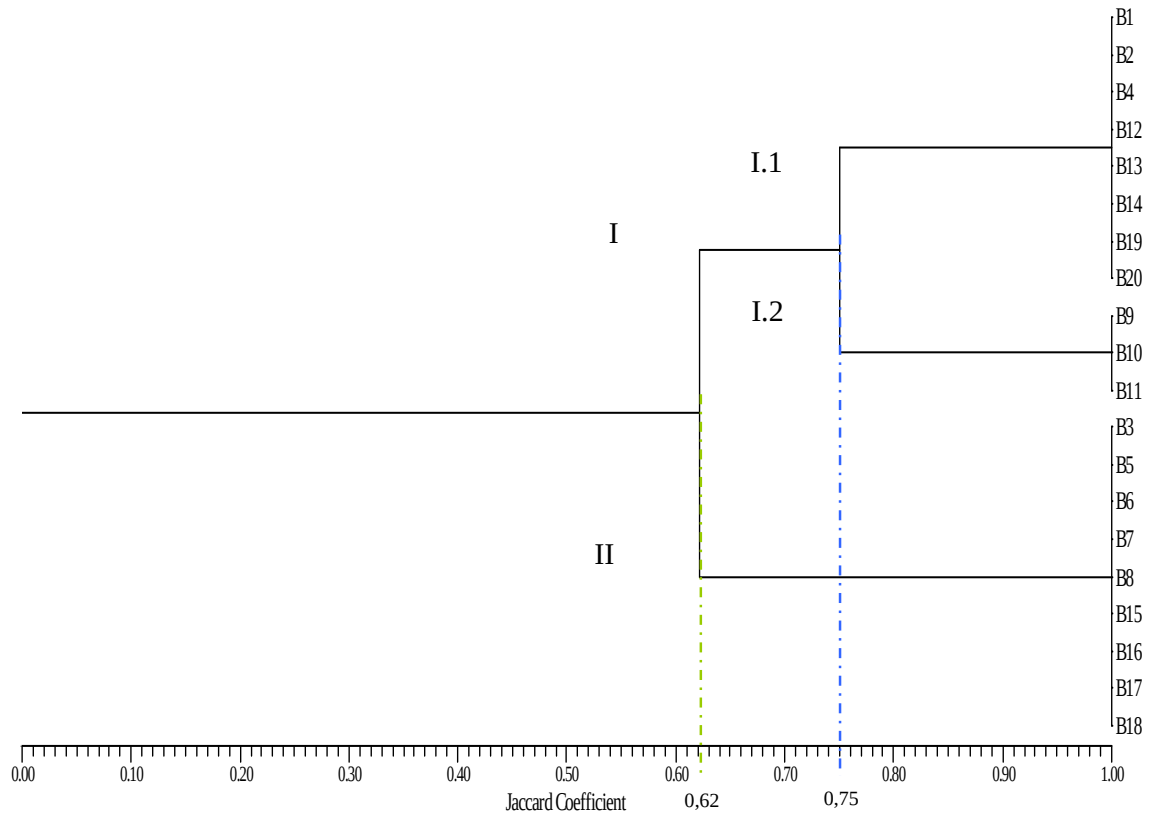
Dendogram berdasarkan pola pita DNA hasil amplifikasi adalah sebagai berikut. Dendogram dibentuk menggunakan program NTSYSpc-2.02i berdasarkan koefisien kemiripan genetik Jaccard. Koefisien kemiripan menggunakan skala nilai 0,00 - 1,00. Nilai 1,00 menunjukkan nilai kemiripan 100% yang berarti juga nilai jarak genetiknya 0,00 (Julisaniah, 2008).



Gambar 14. Dendogram Gabungan 2 Primer dari *True Shallot Seed A*

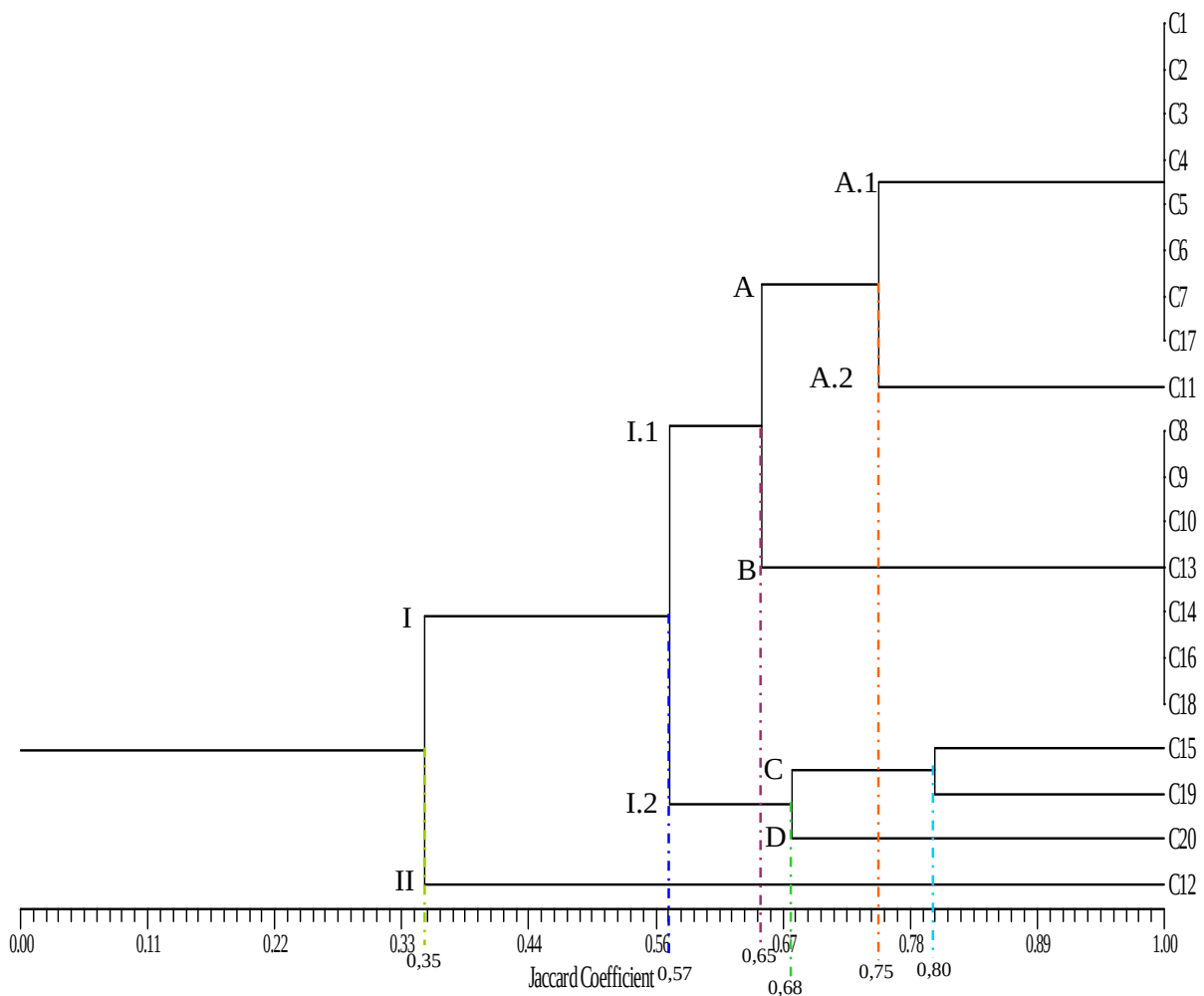
Hasil dendogram menunjukkan pengelompokan dari 20 sampel *True Shallot Seed A* berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard terbagi menjadi 2 kelompok besar pada tingkat kemiripan 0,58 yaitu kelompok I dan II. Kelompok I terbagi lagi menjadi 2 subkelompok pada nilai kemiripan 0,67 yaitu subkelompok I.1 yang terdiri dari A4, A9, A13, A14, A15, A16, A17, A18, A20 dan subkelompok I.2 yang terdiri dari A19. Kelompok II terbagi lagi menjadi 2 subkelompok pada nilai kemiripan 0,75 yaitu subkelompok II.1 yang terdiri dari A5, A6, A7, A8 dan

subkelompok II.2 yang terdiri dari A10, A11,A12. Sampel A1, A2 dan A3 tidak terdapat dalam dendogram karena pada ketiga sample ini pita DNA tidak teramplifikasi.



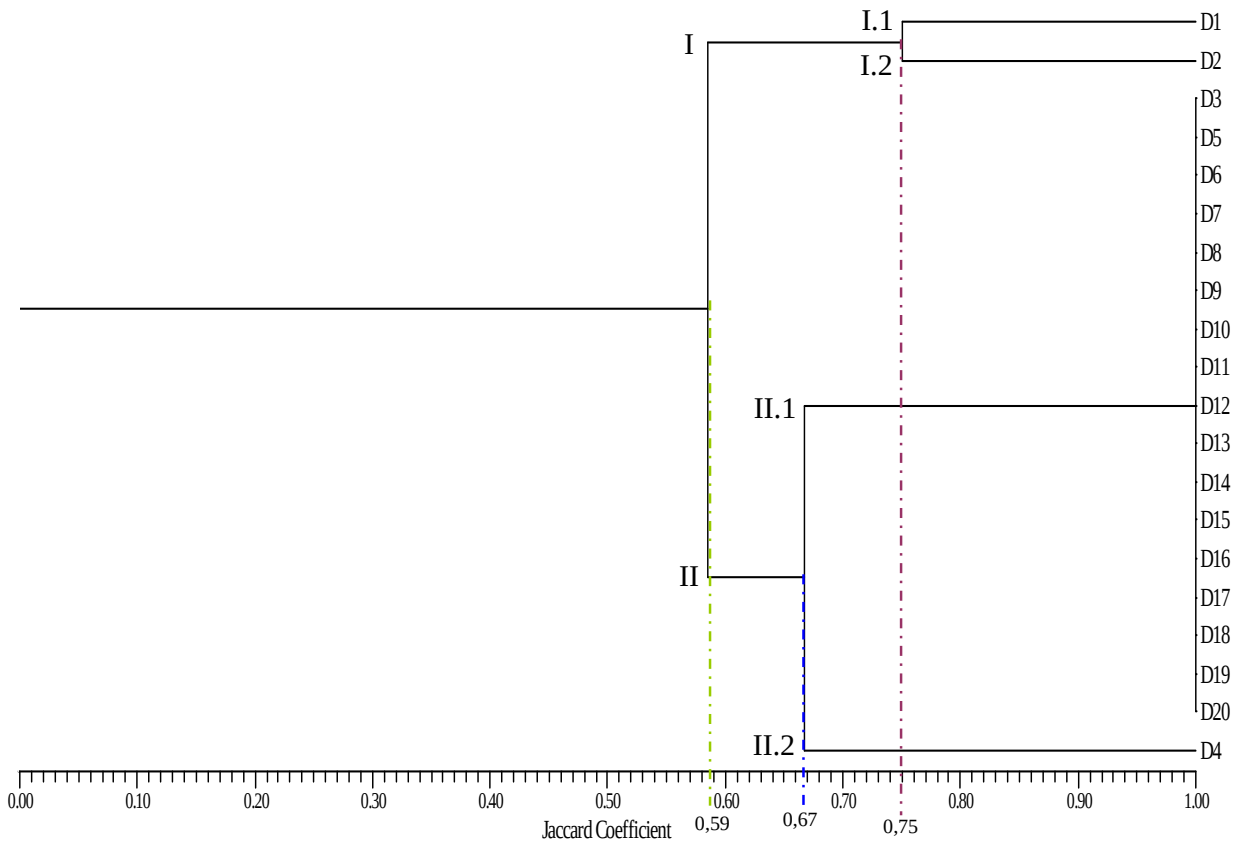
Gambar 15. Dendogram Gabungan 2 Primer dari *True Shallot Seed B*

Hasil dendogram menunjukkan pengelompokan dari 20 sampel *True Shallot Seed B* berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard terbagi menjadi 2 kelompok besar pada tingkat kemiripan 0,62 yaitu kelompok I dan II. Kelompok I terbagi lagi menjadi 2 subkelompok pada nilai kemiripan 0,75 yaitu subkelompok I.1 yang terdiri dari B1, B2, B4, B12, B13, B14, B19, B20 dan subkelompok I.2 yang terdiri dari B9, B10 dan B11. Kelompok II tidak terbagi lagi menjadi subkelompok. Kelompok II terdiri dari B3, B5, B6, B7, B8, B15, B16, B17, dan B18.



Gambar 16. Dendrogram Gabungan 2 Primer dari *True Shallot Seed C*

Hasil dendrogram menunjukkan pengelompokan dari 20 sampel *True Shallot Seed C* berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard terbagi menjadi 2 kelompok besar pada tingkat kemiripan 0,35 yaitu kelompok I dan II. Kelompok I terbagi lagi menjadi 2 subkelompok yaitu subkelompok I.1 dan I.2 pada tingkat kemiripan 0,57. Subkelompok I.1 terbagi lagi menjadi 2 subkelompok pada tingkat kemiripan 0,65 yaitu subkelompok A dan B. Subkelompok A terbagi lagi menjadi A.1 yang terdiri dari C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C17 dan A.2 yang terdiri dari C11 pada tingkat kemiripan 0,75. Subkelompok B terdiri dari C8, C9, C10, C13, C14, C16, dan C18. Subkelompok I.2 terbagi lagi menjadi 2 yaitu C dan D pada tingkat kemiripan 0,68. C terbagi pada tingkat kemiripan 0,8 yang terdiri dari C15 dan C19 sedangkan D hanya terdiri dari C20 saja.



Gambar 17. Dendrogram Gabungan 2 Primer dari *True Shallot Seed D*

Hasil dendrogram menunjukkan pengelompokan dari 20 sampel *True Shallot Seed D* berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard terbagi menjadi 2 kelompok besar pada tingkat kemiripan 0,59 yaitu kelompok I dan II. Kelompok I terbagi lagi menjadi 2 subkelompok pada tingkat kemiripan 0,75 yaitu subkelompok I.1 yang terdiri dari D1 dan subkelompok I.2 yang terdiri dari D2. Kelompok II terbagi menjadi 2 pada tingkat kemiripan 0,67 yaitu subkelompok II.1 yang terdiri dari D3, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D17, D18, D19, D20 dan subkelompok II.2 yang hanya terdiri dari D4 saja.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Isolasi DNA

Proses ekstraksi DNA melibatkan pemisahan DNA dari unsur pokok sel tanaman seperti senyawa polisakarida dan polifenol yang diikuti oleh deproteinisasi larutan encer yang mengandung DNA, presipitasi dan pemurnian (*purification*) DNA (Vinod, 2004). Secara sederhana ekstraksi DNA dapat diartikan sebagai pemindahan asam deoksiribonukleat (DNA) dari sel atau virus dimana DNA tersebut terletak (Rice, 2010). Masalah yang sering ditemui selama ekstraksi adalah terdapatnya senyawa kompleks yang mengelilingi asam nukleat (Vinod, 2004). Senyawa-senyawa ini terbawa oleh DNA saat lisis sel. Keberadaan senyawa ini seringkali menghambat restriksi endonuklease dan amplifikasi PCR (Rout *et al.*, 2002). Secara visual, Polisakarida dalam ekstraksi DNA dapat dilihat jelas dari kekentalannya, tekstur yang seperti lem, dan mengakibatkan kesulitan dalam melakukan *pipetting* dan tidak teramplifikasi dalam PCR dikarenakan penghambatan aktivitas *Taq* polymerase (Fang *et al* 1992 dalam Vinod, 2004 dan Prana, 2003). Dalam sejumlah spesies tanaman, polifenol mengakibatkan DNA cenderung berwarna coklat (*browning*) yang dikarenakan oksidasi fenol menjadi senyawa quinon. Inhibitor phenoloxidase seperti *diethyldithiocarbonic acid* (DIECA), antioxidants (seperti *sodium bisulfite*, *cystine*, *ascorbic acid*) atau mercaptoethanol dalam buffer isolasi membantu mengurangi *browning* (Rout *et al.*, 2002).

Isolasi DNA dalam penelitian ini menggunakan metode Karsinah *et al.*(2002) dengan modifikasi di dalamnya. Isolasi dilakukan dengan menggunakan buffer CTAB (*Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide*). Proses pertama yang dilakukan adalah penghancuran dinding sel untuk mengeluarkan isinya dengan cara menggerus daun dengan menambahkan nitrogen cair hingga halus. Untuk mencapai perusakan dinding sel yang sempurna dilakukan pengeringan jaringan tanaman dalam nitrogen cair dan menggerusnya hingga menjadi bubuk dengan menggunakan pestil dan mortar pada saat masih beku (Vinod, 2004). Sampel tanaman yang telah homogen kemudian diekstrak DNANYa dengan menggunakan buffer lisis yang berfungsi sebagai detergen. Campuran lisis kemudian

dibersihkan dengan sentrifugasi untuk memindahkan residu yang berupa bagian sel yang telah hancur. Proses pemurnian DNA dilakukan dengan memberikan beberapa senyawa yang berperan dalam menghilangkan kontaminan yang tercampur dalam DNA dan diproses dengan sentrifugasi. DNA pellet yang terakhir diresuspensi dengan menggunakan TE (Tris EDTA) untuk mencairkan DNA hasil isolasi. DNA yang didapatkan kemudian diuji dengan elektroforesis untuk melihat kualitas DNA hasil isolasi. Uji kuantitas DNA dengan spektrofotometer tidak dilakukan pada penelitian ini karena pengujian kualitas DNA yang telah dilakukan dianggap cukup mewakili untuk proses PCR.

Kualitas DNA hasil isolasi dapat ditentukan dengan metode elektroforesis pada gel agarose 0,8% yang diwarnai dengan Ethidium Bromide (Vinod, 2004). Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa ukuran DNA yang dihasilkan beragam. Terdapat beberapa yang besar dan tebal namun terdapat pula beberapa yang kecil. Ukuran DNA besar dapat dilihat dari dekatnya jarak pita yang muncul dari sumur ketika dielektroforesis. Selain itu hasil elektroforesis menunjukkan bahwa pada beberapa fragmen DNA terjadi *smear*. Degradasi dan kerusakan DNA ditandai oleh pita smear pada hasil elektroforesisnya. Pita smear merupakan molekul-molekul dengan bobot bervariasi yang dapat berasal dari DNA yang terdegradasi ataupun materi ikutan lain yang tidak diketahui. Degradasi yang terjadi selama proses preparasi dapat mengurangi kuantitas hasil akhir DNA genom yang diisolasi. Degradasi DNA dapat dicegah dengan perlakuan suhu dingin ketika sentrifugasi (Herison *et al.*, 2003).

Hasil elektroforesis juga menunjukkan bahwa beberapa fragmen DNA terlihat berapi-api (*fire type*). Hal ini mengindikasikan bahwa sampel terkontaminasi oleh polisakarida (Sharma, 2008). Selain itu kontaminasi oleh polisakarida ini juga ditunjukkan oleh larutan DNA yang cukup kental. Pita DNA yang baik seharusnya terlihat seperti garis lurus (Herison *et al.*, 2003). Kontaminasi polisakarida dan protein dapat dihilangkan dengan pemberian chloroform isoamil (CIA) dengan perbandingan 24:1 (Vinod, 2004). Kontaminan tersebut dipisahkan dengan sentrifugasi yang berfungsi untuk memisahkan fase organik dan fase cair. Kontaminasi RNA tidak terlihat pada hasil elektroforesis. Kontaminan yang mungkin terbawa saat isolasi DNA dapat dikurangi efeknya dengan pengenceran.

Pengenceran akan membuat kontaminan ikut terencerkan sehingga efeknya terhadap akurasi sampel dapat ditekan (Yepihardi, 2009). Karena itu hasil isolasi masih dapat digunakan untuk reksi PCR.

4.2.2 Analisis DNA menggunakan PCR-SSR

Penanda yang digunakan pada penelitian ini yaitu penanda molekuler mikrosatelit (SSR). Sebelum dilakukan proses PCR pada seluruh sampel, dilakukan optimasi primer terlebih dahulu untuk mendapatkan primer yang paling sesuai. Hasil optimasi primer menunjukkan bahwa primer yang dapat mengamplifikasi pita DNA dengan baik adalah primer kombinasi 4 dan primer kombinasi 6. Hal ini dapat dilihat dari hasil amplifikasi pita oleh kedua primer ini terlihat lebih jelas bila dibandingkan dengan primer yang lain. Pita hasil amplifikasi primer kombinasi 1 (P1 dan P2) sangat tipis. Amplifikasi dengan primer kombinasi 2 (P1 dan P3) tidak menunjukkan adanya pita DNA, sedangkan primer kombinasi 3 (P1 dan P4) dan 5 (P2 dan P4) hanya mengamplifikasi pita pada sampel A. Oleh karena itu untuk proses PCR selanjutnya digunakan primer kombinasi 4 dan 6.

Pita yang dihasilkan dari elektroforesis hasil PCR menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tebal tipis pita. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi masing-masing pita yang teramplifikasi. Perbedaan tebal tipisnya pita juga bisa dikarenakan tinggi voltase, lama *gel running*, *gel tray* dan temperatur *annealing* (Dje *et al.*, 2006). Tebal tipisnya pita pada pengulangan program PCR pada sampel sangat mungkin terjadi meskipun dilakukan PCR dengan kondisi *template*, primer dan amplifikasi yang sama (Songdong, 2008).

Hasil elektroforesis seluruh sampel TSS menunjukkan bahwa pita yang teramplifikasi tidak seluruhnya polimorfik yang berarti bahwa terdapat larik pita yang monomorfik. Pita teramplifikasi pada 100 bp, 300bp, 400bp dan 800bp. Sebagian besar tampilan pita yang monomorfik terdapat pada larik 100bp. Hampir semua pita TSS teramplifikasi pada larik ini, kecuali pada sampel 4A1, 4A2, 4A3, 6A1, 6A2, 6A3, 6A4, 6A5, 6A6, dan 6C12. Ketidakmunculan pita ini dapat disebabkan oleh beberapa hal. Pertama, pita tidak muncul karena tidak ada susunan basa DNA yang sesuai dengan primer sehingga DNA sampel tersebut tidak teramplifikasi. Kedua, terjadi kesalahan dalam pencampuran bahan sehingga

reaksi PCR tidak berjalan. Ketidak munculan pita sampel 4A1, 4A2, 4A3, dan 6C12 kemungkinan terjadi karena kemungkinan pertama, sebab dengan menggunakan *master mix* yang sama pita dapat teramplifikasi pada sampel yang lain. Sedangkan ketidak munculan pita sampel 6A1, 6A2, 6A3, 6A4, 6A5 dan 6A6 mungkin disebabkan oleh kemungkinan kedua, karena pita tidak teramplifikasi pada keenam sampel ini dimana *master mix* yang digunakan untuk amplifikasi PCR pada sampel ini berbeda dengan yang digunakan pada sampel TSS A lain yang muncul pitanya. Proses PCR keenam pita ini tidak diulang karena keterbatasan bahan.

Hasil dendogram TSS gabungan 2 primer menunjukkan bahwa tingkat keseragaman tertinggi dimiliki oleh TSS D, kemudian diikuti oleh TSS B, TSS A dan TSS C. Hal ini berarti bahwa TSS C memiliki tingkat keseragaman terendah (tingkat keragaman tertinggi). Tujuh belas sampel pada TSS D masuk dalam satu kelompok yang dengan nilai kemiripan 1,00 sedangkan tiga lainnya masuk ke dalam 3 subkelompok yang berbeda. Nilai kemiripan tertinggi pada TSS D, TSS B dan TSS A ialah 1,00 dan nilai kemiripan terendahnya 0,50. TSS C memiliki nilai kemiripan tertinggi 1,00 dan nilai kemiripan terendah 0,33. Nilai tingkat keragaman genetik tergolong tinggi jika mempunyai nilai kemiripan genetik rendah yaitu kurang dari 0,5 dan nilai tingkat keragaman genetik tergolong rendah jika mempunyai nilai kemiripan genetik tinggi yaitu lebih dari 0,5 dan atau mendekati 1 (Chai-Wen, 2006 dalam Widyasari, 2009). Informasi mengenai nilai kemiripan genetik dapat dijadikan acuan untuk mengetahui besarnya nilai jarak genetik, hubungan kekerabatan dan tingkat keragaman genetik. Berdasarkan hasil dendogram dan nilai kemiripan genetiknya, dapat dikatakan bahwa tingkat keragaman dalam masing-masing TSS A, B dan D rendah yang berarti masing-masing memiliki tingkat keseragaman yang tinggi. TSS C memiliki tingkat keseragaman terendah yang berarti bahwa TSS C memiliki tingkat keragaman tertinggi.

Menurut Poespodarsono (1988) tanaman yang pada mulanya heterozigot akan makin berkurang keragaman genetiknya apabila terjadi penyerbukan sendiri terus menerus. Proporsi tanaman homozigot tergantung dari pasangan alel yang heterozigot dan generasi kawin sendiri, misalnya untuk 5 pasangan gen

heterozigot dapat dicapai homozigot sekitar 85% setelah 5 generasi sedangkan untuk 10 pasangan heterozigot akan mencapai kurang lebih 85% setelah 6 generasi. Hal ini berarti makin besar gen berbeda maka diperlukan generasi makin lanjut agar populasi terdiri dari tanaman homozigot. TSS hasil selfing ini menunjukkan tingkat keragaman yang rendah atau tingkat keseragaman yang tinggi. Terdapat pula perbedaan tingkat keseragaman pada masing-masing TSS, ada yang lebih seragam dan ada yang lebih beragam. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh terdapatnya perbedaan jumlah pasangan alel yang heterozigot pada masing-masing varietas.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Tingkat keseragaman TSS tertinggi dimiliki oleh TSS D (Bali Ijo), kemudian diikuti oleh TSS B (Super Philip), TSS A (Ampenan) dan TSS C (Bali kuning).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan identifikasi morfologi sebagai penunjang hasil dari identifikasi genetic.
2. Perlu diinformasikan kepada petani bahwa TSS hasil selfing varietas lokal Bali ijo (TSS D) dapat digunakan sebagai bibit karena memiliki tingkat keseragaman yang tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

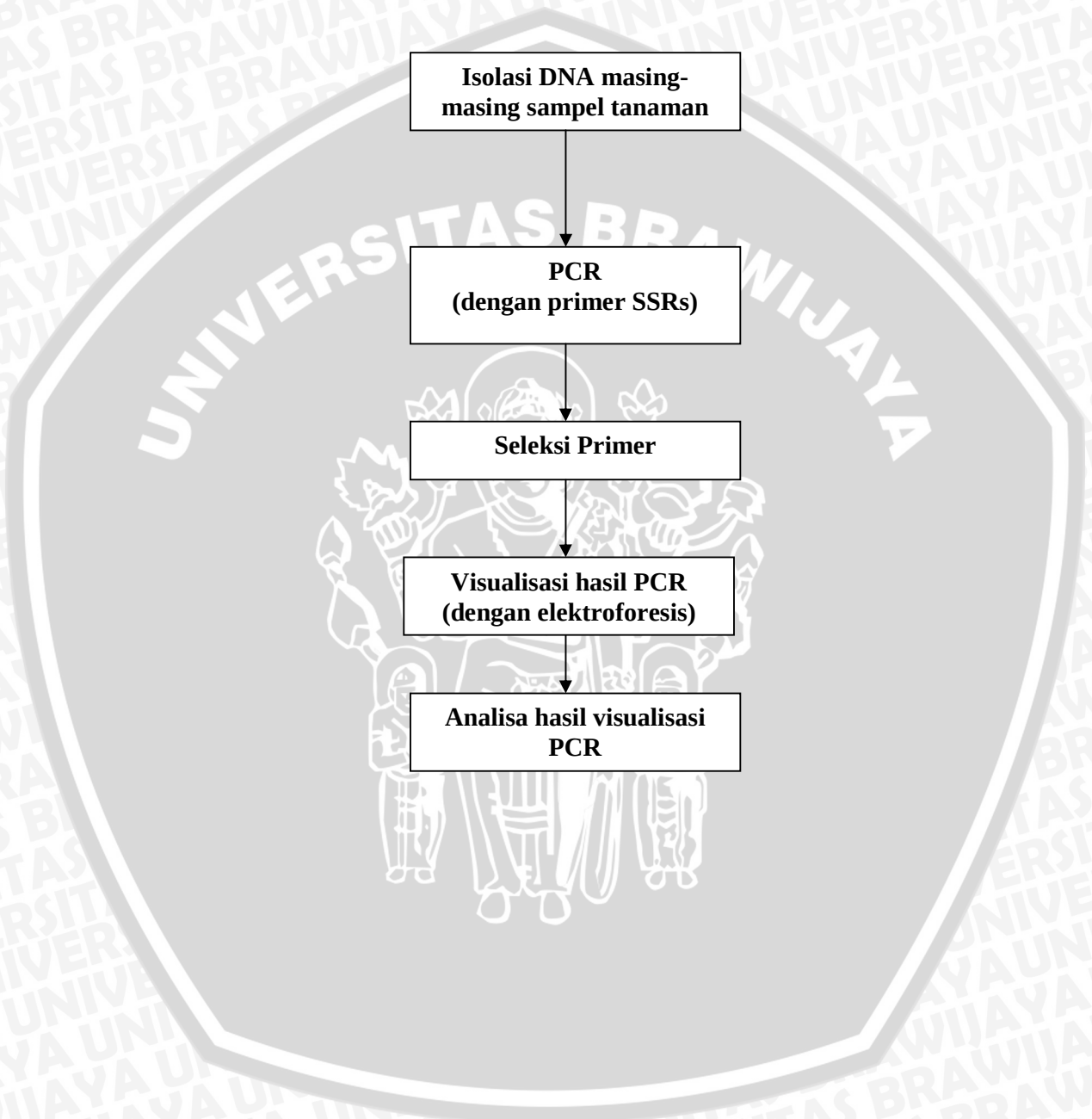
- Anonymous. 2008. Pompa Pantek dan Bawang Merah <http://foragri.blogspot.com/pompa-pantek-dan-bawang-merah/>. (Verified 4 Mei 2010).
- Arifin, Noor Sugiharto, Y. Ozaki, dan H. Okubo. 2000. Genetic diversity in Indonesian shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) and *Allium x wakegi* revealed by RAPD markers and origin of *A. x wakegi* identified by RFLP analyses of amplified chloroplast genes. *Euphytica* 11 (1):23-31.
- Aryantha, I Nyoman P., Y. Mulyani, dan R. Ariffudin. 2008. Penanda molekul DNA mikrosatelit untuk karakterisasi bibit jamur kuping (*Auricularia polytricha* [Mont.] Sacc.). *Jurnal Matematika dan sains* 13 (1): 7-15.
- Azrai, M. 2005. Ulasan pemanfaatan markah molecular dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 1 (1):26-37.
- Basuki, R. S. 2009. Abstrak Analisis kelayakan teknis dan ekonomis teknologi budidaya bawang merah dengan benih biji botani dan benih umbi tradisional. Pusat penelitian dan pengembangan hortikultura. <http://www.webhorti.puslithorti-litbang.info/modul/pdf/pdf2.php?upt=Pusat%20Penelitian%20dan%20Pengembangan%20Hortikultura&sqlpdf=SELECT%20JudulPen, Penulis, Institusi, Abstrak1, Abstrak2%20FROM%20isibuku&id=95&proses=2>. (Verified 25 Desember 2010)
- Baswarsati. 2009. Tiga varietas unggul bawang merah hasil kajian BPTP Jawa Timur. <http://baswarsati.wordpress.com/2009/04/30/tiga-varietas-unggul-bawang-merah-hasil-kajian-bptp-jawa-timur/>. (Verified 30 April 2010)
- Ditjen Hortikultura^a. 2009. Volume ekspor komoditas sayuran di Indonesia periode 2003 - 2008. http://www.hortikultura.deptan.go.id/index.php?option=com_wrapper&Itemid=226. (Verified 30 Desember 2009).
- Ditjen Hortikultura^b. 2009. Volume impor komoditas sayuran di Indonesia periode 2003 - 2008. http://www.hortikultura.deptan.go.id/index.php?option=com_wrapper&Itemid=227. (Verified 30 Desember 2009).
- Dje, Y, Tahi GC, Z. B. IA, M. Malice, J.P. Baudoin and P. Bertin. 2006. Optimization of ISSR marker for African edible-seeded *Cucurbitaceae* genetic diversity analysis. *African Journal of Biotechnology* 5(2): 83-87.
- Herison, Catur, Rustikawati dan Eliyanti. 2003. Protokol yang tepat untuk menyiapkan DNA genom cabai (*Capsicum* sp.). *Jurnal Akta Agrosia* 6 (2) : 38-43.

- Ismiyatiningsih dan Sutardi. 2010. Menghitung laba usaha perbenihan bawang merah. <http://swatani.co.id/artikel/4/72/Menghitung-Laba-Usaha-Perbenihan-Bawang-Merah.html>. (Verified 25 Desember 2010)
- Julisaniah, N.I., L. Sulistyowati dan A.N. Sugiharto. 2008. Analisis kekerabatan mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan metode RAPD-PCR dan isozim. *Biodiversitas*. 9(2):99-102.
- Karsinah, Sudarsono, L. Setyobudi, dan H. Aswidinnoor. 2002. Keragaman genetic plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Tanaman* 7 (1):8-16.
- Mc Callum, John, S. Thomson, M. P. Joyce, dan F. Kenel. 2008. Genetic diversity analysis and single-nucleotide polymorphism marker development in cultivated bulb onion based on expressed sequence tag-simple sequence repeat markers. *American Society for Horticulture Science*. 133 (6): 810-818.
- Pabendon, M. B, M.J. Mejaya, Subandi, dan M. Dahlan. 2005. Sidik jari empat varietas jagung hibrida beserta tetuanya berdasarkan marka mikrosatelit. *Zuriat* 16 (2): 192-201.
- Pabendon, M. B. 2004. Pemanfaatan marka molekuler untuk identifikasi varietas tanaman dalam bidang pemuliaan tanaman. http://www.rudyc.com%2FPPS702-ipb%2F09145%2Fmarcia_bp.pdf. (Verified 27 Maret 2010)
- Permadi, A. H dan Aliudin. 1992. Pemuliaan bawang (*Allium* sp.). Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman I Perhimpunan Pemulia Tanaman Indonesia (PPTI) Komisariat Daerah Jawa Timur: 149-155.
- Puong, Pham Thi Minh, S. Isshiki, Y. Tashiro. 2006. Genetic variation of shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum Group) in Vietnam. *Japan Society for Horticultural Science* 75 (3) : 236-242.
- Poespodarsono, S. 1988. Dasar-Dasar ilmu pemuliaan tanaman. Pusat Antar Universitas IPB. Lembaga Swadaya Informasi IPB. Bogor.
- Prana, Titik K dan N. S. Hartati. 2003. Identifikasi sidik jari DNA talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA): skrining primer dan optimalisasi kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia* 5 (2) : 107-112.
- Rahayu, E. dan V. A. Berlian N. 1994. Bawang merah. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Rice, George. 2010. DNA extraction. http://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/genomics/.html. (Verified 25 Desember 2010)

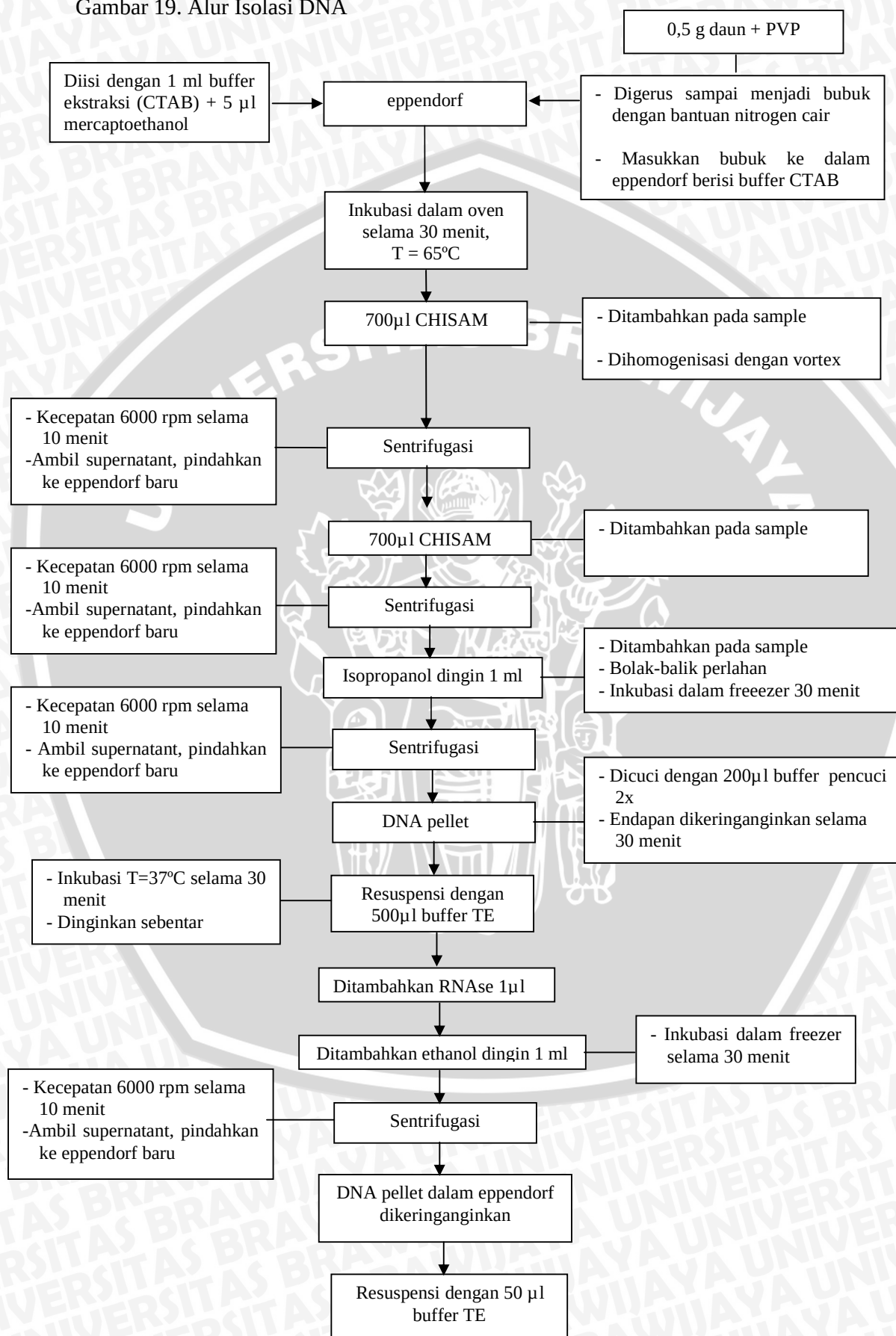
- Rout, G. R., S. Samal, S. Nayak, R. M. Nanda, P. C. Lenka, dan P. Das. 2002. An alternative method of plant DNA extraction of cashew (*Anacardium occidentale* L.) for Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Gartenbauwissenschaft* 67 (3) : 114–118.
- Rubatzky, Vincent E dan M. Yamaguchi. 1998. Sayuran dunia 2: prinsip, produksi, dan gizi. Penerbit ITB: Bandung.
- Sefc, K. M, F. Lefort, M.S. Grando, K.D. Scott, H. Steinkellner, and M.R. Thomas. 2001. Microsatellite markers for grapevine: a state of the art. Kluwer Academic Publishers: Netherlands.
- Semagn, K., A.Bjornstad and M.N. Ndjiondjop. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 2540-2568.
- Sharma, K., A. K. Mishra and R. S. Misra. 2008. A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. *Afr. J. Biotechnol* 7 (8): 1018-1022.
- Songdong, S. 2008. Genetic diversity analysis with ISSR PCR on green algae *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 26(4): 380-384.
- Sulistyaningsih, Endang. 2004. Fertilitas tanaman bawang merah *doubled haploid*. *Ilmu Pertanian* 11 (1) : 1-16
- Sulistyaningsih, Endang, K. Yamashita, Y. Tashiro. 2002. Genetic characteristics of the Indonesian white shallot. *Japan Society for Horticultural Science* 71 (4): 504-508.
- Vinod, K.K. 2004. Total Genomic DNA extraction, quality check and quantitation. Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore. pp 109-121.
- Widyasari, W. B. 2009. Analisis kemiripan dan hubungan genetik antara tetua persilangan tebu menggunakan penanda molekuler. *MPG* 45 (4):193-202
- Yepihardi. 2009. Sembilan tips untuk real-time PCR. <http://sciencebiotech.net/tag/realtime-pcr/>. (Verified 25 Desember 2010)

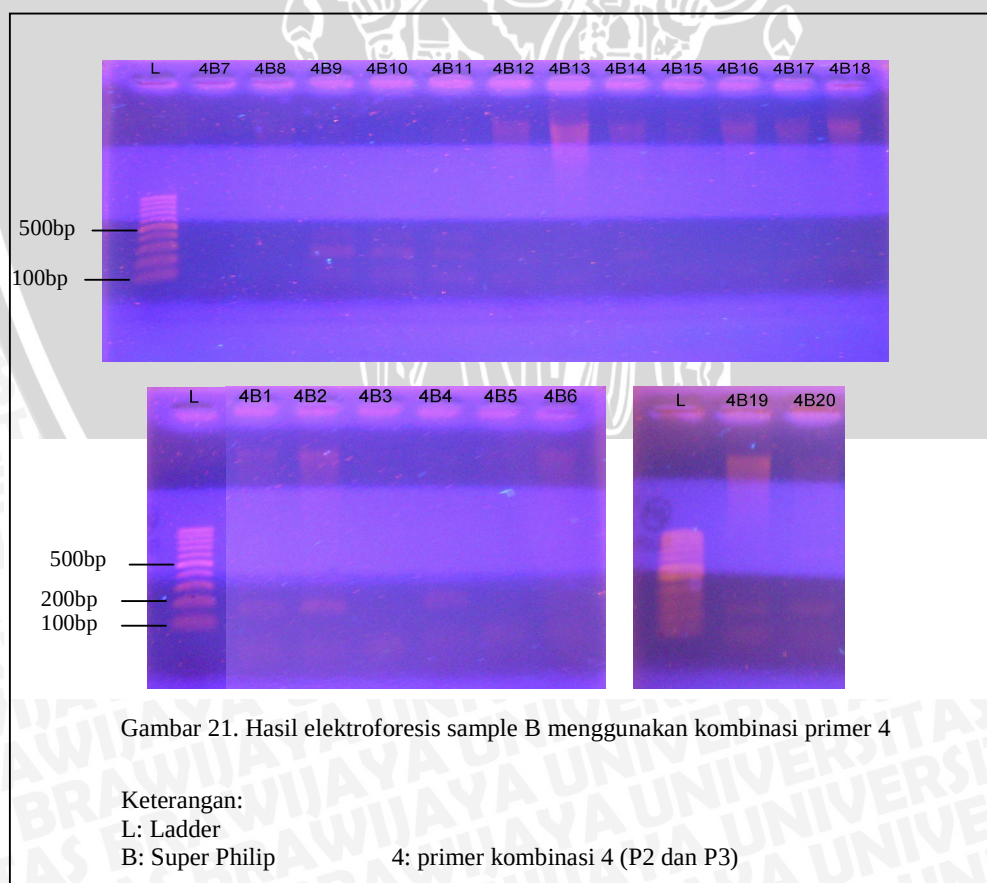
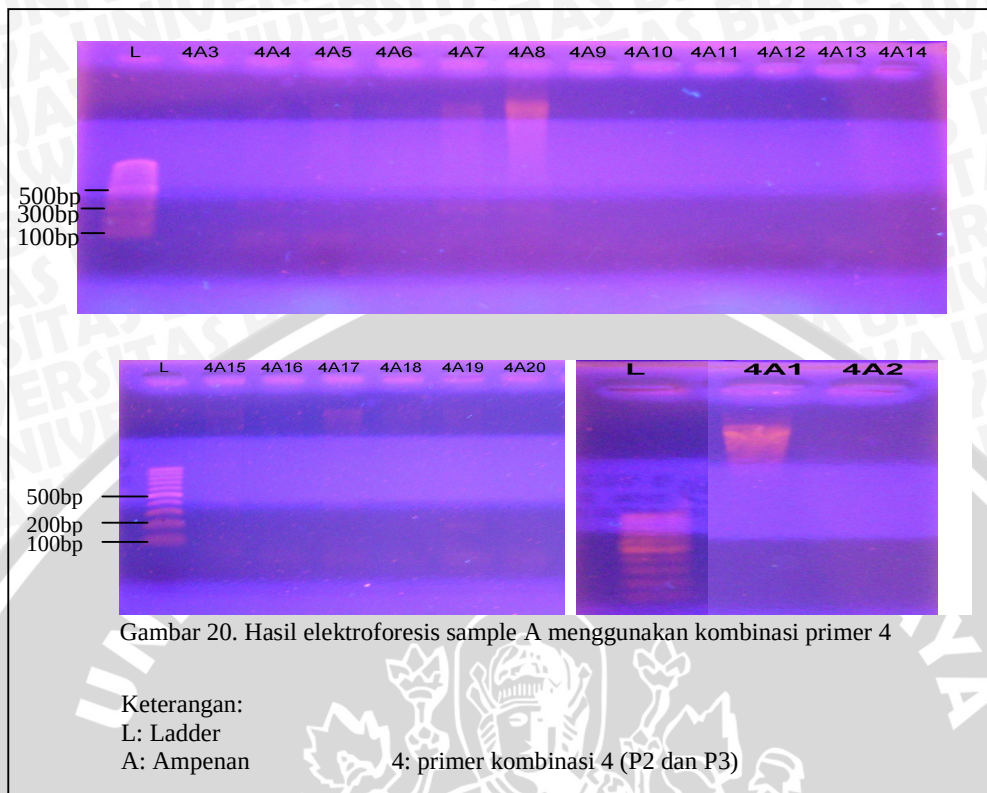
LAMPIRAN

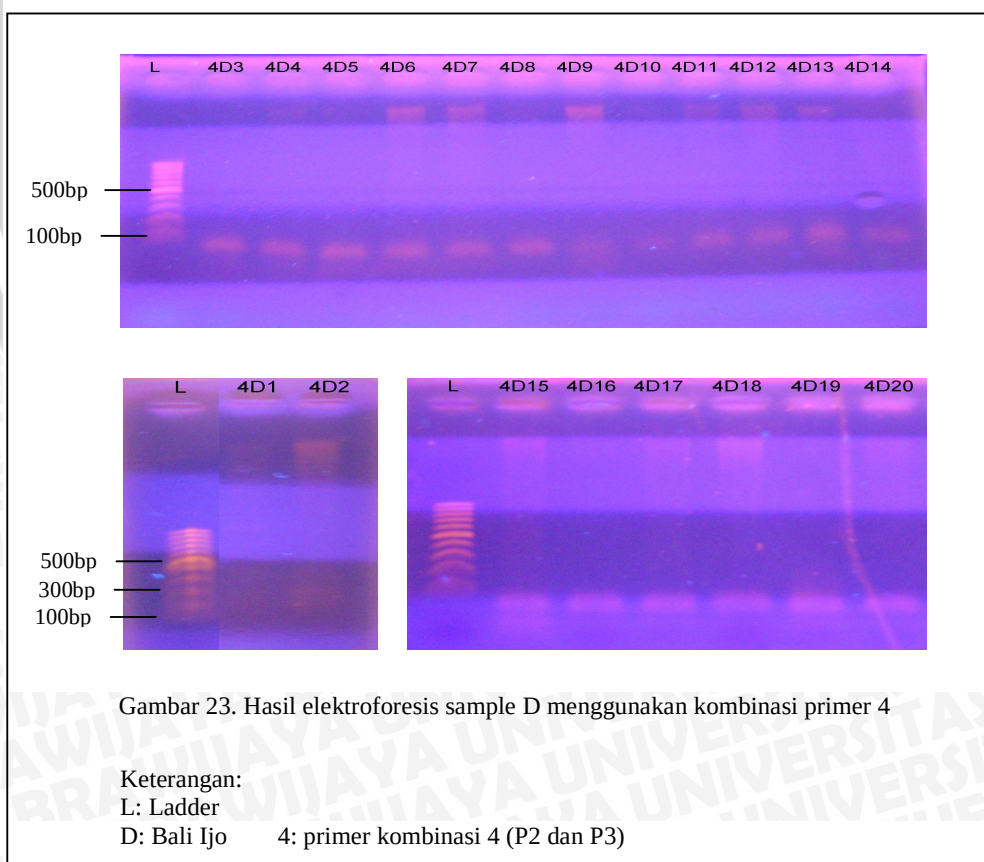
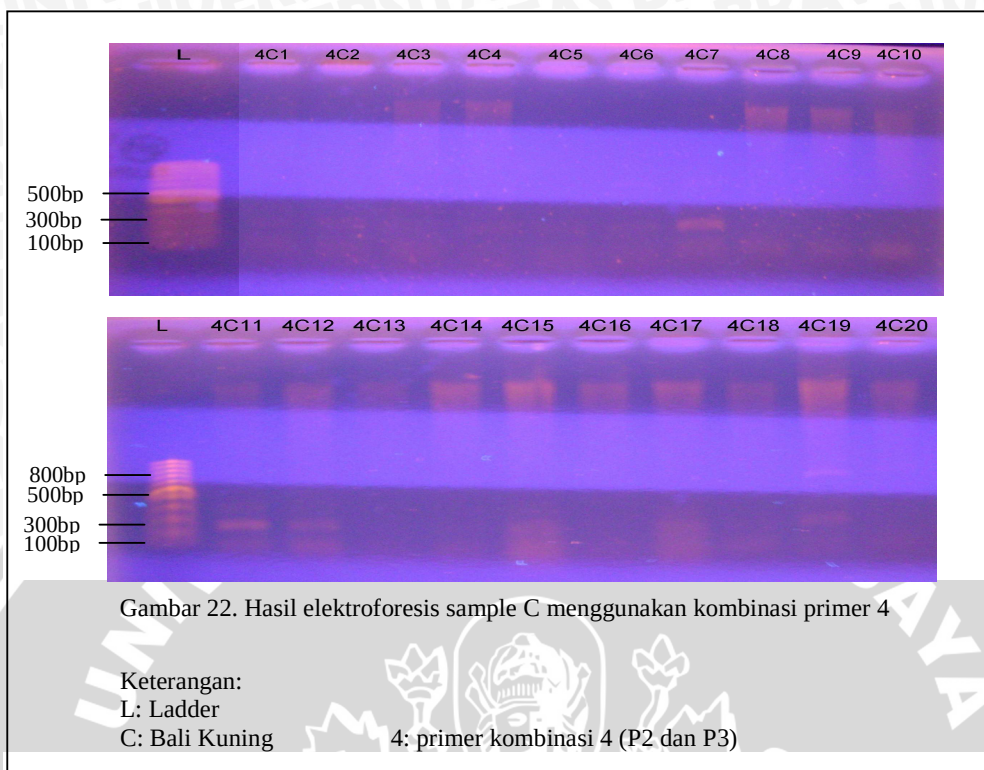
Gambar 18. Skema Pelaksanaan Penelitian

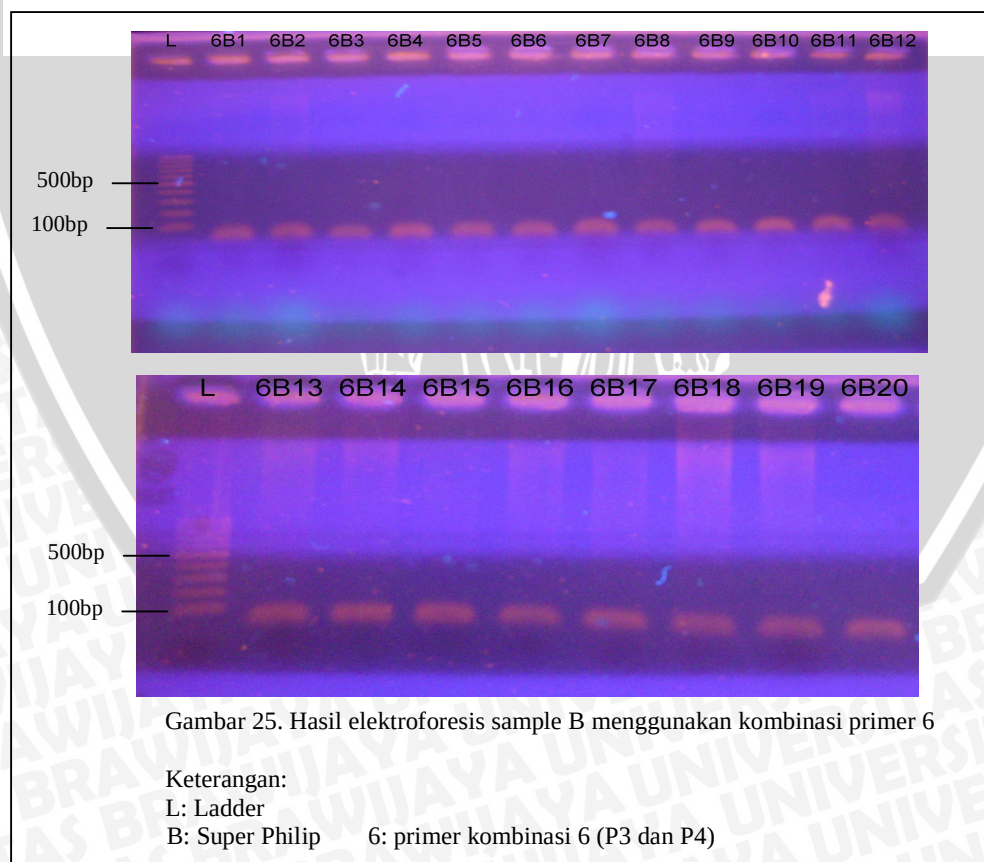
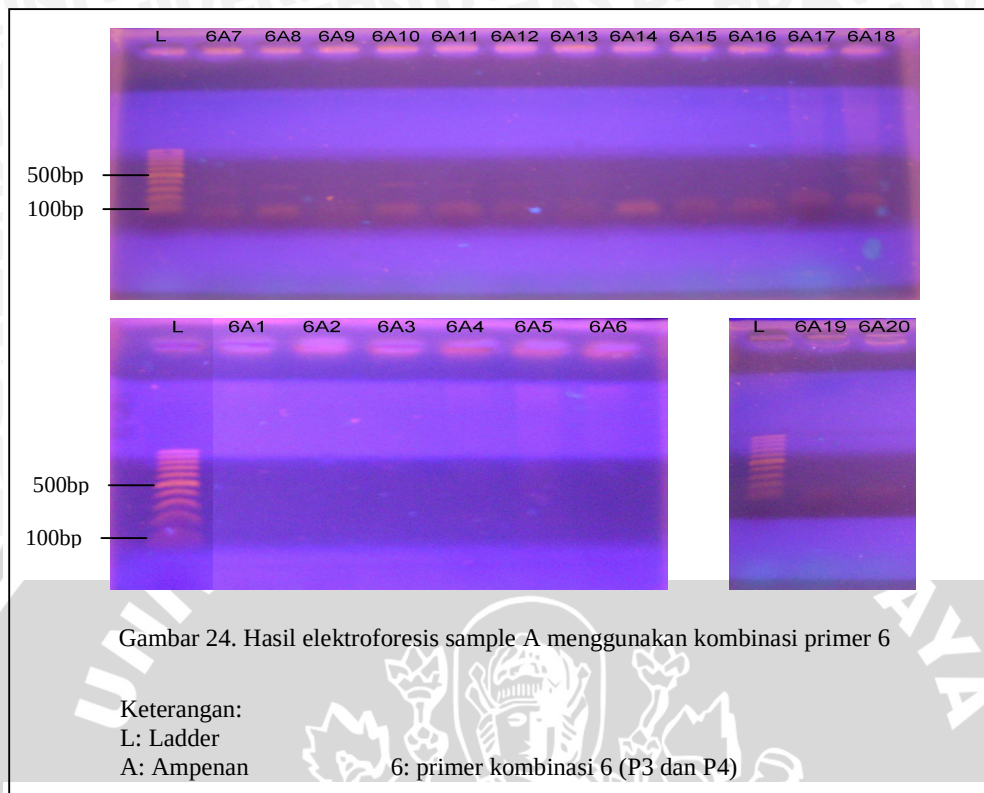


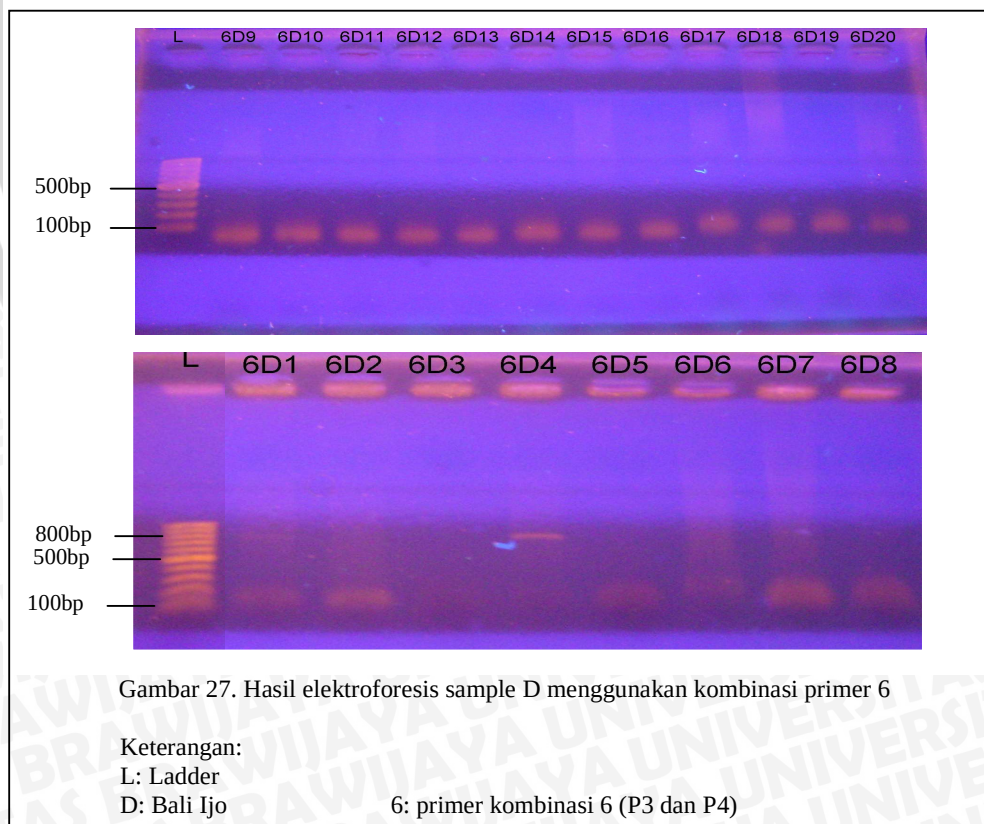
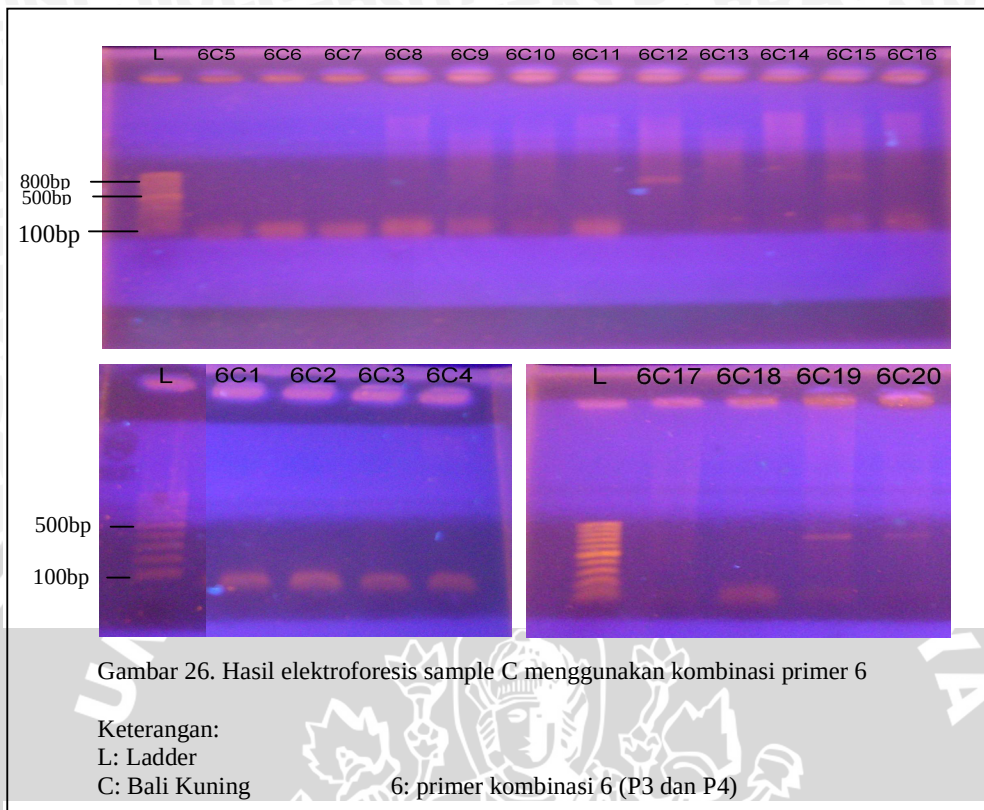
Gambar 19. Alur Isolasi DNA











Tabel 2. Data Biner Sampel A dengan Menggunakan Primer 4

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	4A1	0	0	0	0
2	4A2	0	0	0	0
3	4A3	0	0	0	0
4	4A4	1	0	0	0
5	4A5	1	1	0	0
6	4A6	1	1	0	0
7	4A7	1	1	0	0
8	4A8	1	1	0	0
9	4A9	1	0	0	0
10	4A10	1	0	0	0
11	4A11	1	0	0	0
12	4A12	1	0	0	0
13	4A13	1	0	0	0
14	4A14	1	0	0	0
15	4A15	1	0	0	0
16	4A16	1	0	0	0
17	4A17	1	0	0	0
18	4A18	1	0	0	0
19	4A19	1	1	0	0
20	4A20	1	0	0	0

Tabel 3. Data Biner Sampel A dengan Menggunakan Primer 6

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	6A1	0	0	0	0
2	6A2	0	0	0	0
3	6A3	0	0	0	0
4	6A4	0	0	0	0
5	6A5	0	0	0	0
6	6A6	0	0	0	0
7	6A7	1	1	0	0
8	6A8	1	1	0	0
9	6A9	1	0	0	0
10	6A10	1	1	0	0
11	6A11	1	1	0	0
12	6A12	1	1	0	0
13	6A13	1	0	0	0
14	6A14	1	0	0	0
15	6A15	1	0	0	0
16	6A16	1	0	0	0
17	6A17	1	0	0	0
18	6A18	1	0	0	0
19	6A19	1	0	0	0
20	6A20	1	0	0	0

Tabel 4. Data Biner Sampel B dengan Menggunakan Primer 4

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	4B1	1	1	0	0
2	4B2	1	1	0	0
3	4B3	1	0	0	0
4	4B4	1	1	0	0
5	4B5	1	0	0	0
6	4B6	1	0	0	0
7	4B7	1	0	0	0
8	4B8	1	0	0	0
9	4B9	1	1	1	0
10	4B10	1	1	1	0
11	4B11	1	1	1	0
12	4B12	1	1	0	0
13	4B13	1	1	0	0
14	4B14	1	1	0	0
15	4B15	1	0	0	0
16	4B16	1	0	0	0
17	4B17	1	0	0	0
18	4B18	1	0	0	0
19	4B19	1	1	0	0
20	4B20	1	1	0	0

Tabel 5. Data Biner Sampel B dengan Menggunakan Primer 6

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	6B1	1	0	0	0
2	6B2	1	0	0	0
3	6B3	1	0	0	0
4	6B4	1	0	0	0
5	6B5	1	0	0	0
6	6B6	1	0	0	0
7	6B7	1	0	0	0
8	6B8	1	0	0	0
9	6B9	1	0	0	0
10	6B10	1	0	0	0
11	6B11	1	0	0	0
12	6B12	1	0	0	0
13	6B13	1	0	0	0
14	6B14	1	0	0	0
15	6B15	1	0	0	0
16	6B16	1	0	0	0
17	6B17	1	0	0	0
18	6B18	1	0	0	0
19	6B19	1	0	0	0
20	6B20	1	0	0	0

Tabel 6. Data Biner Sampel C dengan Menggunakan Primer 4

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	4C1	1	1	0	0
2	4C2	1	1	0	0
3	4C3	1	1	0	0
4	4C4	1	1	0	0
5	4C5	1	1	0	0
6	4C6	1	1	0	0
7	4C7	1	1	0	0
8	4C8	1	0	0	0
9	4C9	1	0	0	0
10	4C10	1	0	0	0
11	4C11	1	1	1	0
12	4C12	1	1	1	0
13	4C13	1	0	0	0
14	4C14	1	0	0	0
15	4C15	1	1	0	0
16	4C16	1	0	0	0
17	4C17	1	1	0	0
18	4C18	1	0	0	0
19	4C19	1	1	0	1
20	4C20	1	0	0	0

Tabel 7. Data Biner Sampel C dengan Menggunakan Primer 6

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	6C1	1	0	0	0
2	6C2	1	0	0	0
3	6C3	1	0	0	0
4	6C4	1	0	0	0
5	6C5	1	0	0	0
6	6C6	1	0	0	0
7	6C7	1	0	0	0
8	6C8	1	0	0	0
9	6C9	1	0	0	0
10	6C10	1	0	0	0
11	6C11	1	0	0	0
12	6C12	0	0	0	1
13	6C13	1	0	0	0
14	6C14	1	0	0	0
15	6C15	1	0	0	1
16	6C16	1	0	0	0
17	6C17	1	0	0	0
18	6C18	1	0	0	0
19	6C19	1	0	0	1
20	6C20	1	0	0	1

Tabel 8. Data Biner Sampel D dengan Menggunakan Primer 4

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	4D1	1	1	0	0
2	4D2	1	1	0	0
3	4D3	1	0	0	0
4	4D4	1	0	0	0
5	4D5	1	0	0	0
6	4D6	1	0	0	0
7	4D7	1	0	0	0
8	4D8	1	0	0	0
9	4D9	1	0	0	0
10	4D10	1	0	0	0
11	4D11	1	0	0	0
12	4D12	1	0	0	0
13	4D13	1	0	0	0
14	4D14	1	0	0	0
15	4D15	1	0	0	0
16	4D16	1	0	0	0
17	4D17	1	0	0	0
18	4D18	1	0	0	0
19	4D19	1	0	0	0
20	4D20	1	0	0	0

Tabel 9. Data Biner Sampel D dengan Menggunakan Primer 6

No	Sampel	Ukuran Pita (bp)			
		100	300	400	800
1	6D1	1	0	0	1
2	6D2	1	0	0	0
3	6D3	1	0	0	0
4	6D4	1	0	0	1
5	6D5	1	0	0	0
6	6D6	1	0	0	0
7	6D7	1	0	0	0
8	6D8	1	0	0	0
9	6D9	1	0	0	0
10	6D10	1	0	0	0
11	6D11	1	0	0	0
12	6D12	1	0	0	0
13	6D13	1	0	0	0
14	6D14	1	0	0	0
15	6D15	1	0	0	0
16	6D16	1	0	0	0
17	6D17	1	0	0	0
18	6D18	1	0	0	0
19	6D19	1	0	0	0
20	6D20	1	0	0	0

Tabel 10. Nilai Kemiripan Genetik TSS A Berdasarkan Dua Primer Mikrosatelit

	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20
A4	1.0000																
A5	0.5000	1.0000															
A6	0.5000	1.0000	1.0000														
A7	0.5000	1.0000	1.0000	1.0000													
A8	0.5000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000												
A9	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000											
A10	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.6667	1.0000										
A11	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.6667	1.0000	1.0000									
A12	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000								
A13	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000							
A14	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000						
A15	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000					
A16	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000				
A17	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000			
A18	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000		
A19	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.6667	0.5000	0.5000	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	
A20	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000

Tabel 11. Nilai Kemiripan Genetik TSS B Berdasarkan Dua Primer Mikrosatelit

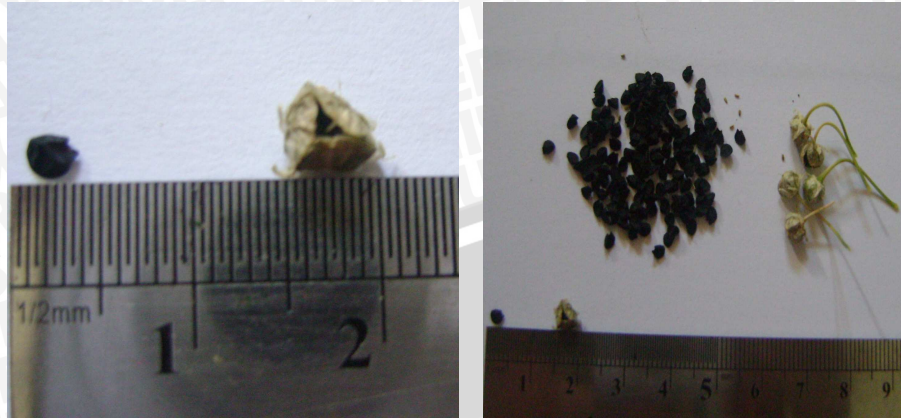
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20
B1	1.0000																			
B2	1.0000	1.0000																		
B3	0.6667	0.6667	1.0000																	
B4	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000																
B5	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000															
B6	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000														
B7	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000													
B8	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000												
B9	0.7500	0.7500	0.5000	0.7500	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000											
B10	0.7500	0.7500	0.5000	0.7500	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	1.0000										
B11	0.7500	0.7500	0.5000	0.7500	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	1.0000	1.0000									
B12	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	1.0000								
B13	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	1.0000	1.0000							
B14	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	1.0000	1.0000	1.0000						
B15	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000					
B16	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000				
B17	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000			
B18	0.6667	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000		
B19	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	0.1000	0.1000	0.1000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	
B20	1.0000	1.0000	0.6667	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	1.0000	1.0000	1.0000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000

Tabel 12. Nilai Kemiripan Genetik TSS C Berdasarkan Dua Primer Mikrosatelit

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20
C1	1.0000																			
C2	1.0000	1.0000																		
C3	1.0000	1.0000	1.0000																	
C4	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000																
C5	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000															
C6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000														
C7	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000													
C8	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000												
C9	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000											
C10	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000										
C11	0.6667	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000									
C12	0.6667	0.4000	0.4000	0.4000	0.4000	0.4000	0.4000	0.2000	0.2000	0.2000	0.6000	1.0000								
C13	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.2000	1.0000							
C14	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.2000	1.0000	1.0000						
C15	1.0000	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.5000	0.5000	0.5000	0.6000	0.6000	0.5000	0.5000	1.0000					
C16	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.2000	1.0000	1.0000	0.5000	1.0000				
C17	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.5000	0.6667	0.7500	0.4000	0.6667	0.6667	0.7500	0.6667	1.0000			
C18	0.5000	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	0.5000	0.2000	1.0000	1.0000	0.5000	1.0000	0.6667	1.0000		
C19	0.6667	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000	0.6000	0.3333	0.3333	0.4000	0.5000	0.5000	0.4000	0.4000	0.8000	0.4000	0.6000	0.4000	1.0000	
C20	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	1.0000	1.0000	0.6667	0.4000	0.4000	0.6667	0.6667	0.7500	0.6667	0.5000	0.6667	0.6000	1.0000

Tabel 13. Nilai Kemiripan Genetik TSS D Berdasarkan Dua Primer Mikrosatelit

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19	D20
D1	1.0000																			
D2	0.7500	1.0000																		
D3	0.5000	0.6667	1.0000																	
D4	0.7500	0.5000	0.6667	1.0000																
D5	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000															
D6	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000														
D7	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000													
D8	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000												
D9	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000											
D10	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000										
D11	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000									
D12	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000								
D13	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000							
D14	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000						
D15	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000					
D16	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000				
D17	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000			
D18	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000		
D19	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
D20	0.5000	0.6667	1.0000	0.6667	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000



Gambar 28. True Shallot Seed bawang merah



A



B



C



D

Gambar 29. Keempat Sampel Bawang Merah. (A) Ampenan (B) Super Philip (C) Bali Kuning (D) Bali Ijo.