

**DISERTASI**

**PENDEKATAN GENETIK UNTUK MENGIDENTIFIKASI  
KARAKTER SPESIFIK SUKROSA AREN  
(*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.)**

**Disusun dan diajukan Oleh**

**NIRAWATI**

**P013171026**



**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**PENDEKATAN GENETIK UNTUK MENGIDENTIFIKASI  
KARAKTER SPESIFIK SUKROSA AREN  
(*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.)**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi  
Ilmu Pertanian

Disusun dan diajukan oleh

NIRAWATI

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

## LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI

### PENDEKATAN GENETIK UNTUK MENGIDENTIFIKASI KARAKTER SPESIFIK SUKROSA AREN (*Arenga pinnata*, (Wurmb) Merr.)

Disusun dan diajukan oleh

**NIRAWATI**  
P013171026

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Pertanian  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 8 Juli 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

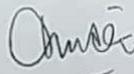
Menyetujui,

Promotor

  
Prof. Dr. Ir. Muh. Restu, M.P.  
Nip. 19650904199203 1-003

Co. Promotor

Co. Promotor

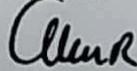


Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc.  
Nip. 196503161989032002



Dr. Sitti Halimah Larekeng, S.P., M.P.  
Nip. 198202092015042002

Ketua Program Studi.  
Ilmu Pertanian



Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, M.S.  
Nip. 1963 06061988031004

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.  
Nip. 19670308 1990031001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nirawati  
NIM : P013171026  
Program studi : Ilmu Pertanian  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul

**Pendekatan Genetik Untuk Mengidentifikasi Karakter Spesifik Sukrosa  
Aren (*Arenga Pinnata*, (Wurmb) Merr.)**

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Agustus 2021

Yang Menyatakan

  
  
Nirawati

## PRAKATA

*Bismillaahirrahmanirrahim*

Alhamdulillah Puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT berkat segala limpahan rahmat, petunjuk, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian sampai penyusunan tulisan disertasi dengan judul "Pendekatan Genetik untuk mengidentifikasi Karakter Spesifik Sukrosa Aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.)"

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan '*jazakumullahu khairan katsiran*' kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Muh.Restu, M.P., Prof. Dr. Tutik Kuswinanti, M.Sc. dan Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P., selaku komisi pembimbing yang senantiasa meluangkan waktu memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan Disertasi ini
2. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc. (Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin), Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, M.Si., (Ketua Program Studi Pasca Doktor Ilmu Pertanian Unhas), Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc., Prof. Dr. Ir. Samuel A. Paembonan, Dr. Ir. Syamsuddin Millang, M.S., dan Syahidah, S.Hut., M.Si., Ph.D., selaku komisi penguji dan penilai kualifikasi ujian tertutup, dan seluruh staf pengajar yang telah mencurahkan ilmunya selama menempuh Pendidikan di universitas Hasanuddin
3. Civitas Akademika Universitas Muslim Maros, Universitas Hasanuddin khususnya Fakultas Kehutanan Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, LPDP yang telah memberikan kesempatan dan dukungan biaya kepada penulis melalui Beasiswa BUDI-DN 2017.
4. Ayahanda Muhammad Ali Abbas dan Ibunda Hj. Saleha, Adik-adikku tercinta Muhammad Nour, ST., Najar, Si., Nawir, A.Md., Nasrun, S.Ti., Amran Saputra, S.Pi., dan Imran Saputra, SP., Sekeluarga terima kasih atas segala doa dan dukungan, kebersamaan, Cinta dan kasih sayang yang telah diberikan.
5. Keluarga Besar Nengsih terima kasih atas segala doa, motivasi dan kasih sayangnya.
6. Kepada Saudara-saudariku seperjuangan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Unhas, Adik-adikku dan Staff terima kasih atas bantuan, motivasi, persaudaraan, kebersamaannya selama ini.

7. Kepada Suamiku tercinta Wiliamsyah, S.Hut., serta anak-anakku Nadine Nur Ramadhani, Nadia Nurul Zahrani, dan Ahmad Yusuf Pratama atas dukungan kasih sayang dan penuh kesabaran mendampingi selama menempuh pendidikan S3 dan menjadi inspirasi untuk tetap bersemangat
8. Kepada semua pihak yang turut membantu dalam penelitian ini namun tidak disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya

Penulis berharap semoga hasil penelitian yang tertuang dalam Disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Maros, Agustus 2021

Nirawati

## RINGKASAN

**NIRAWATI.** *Pendekatan genetik untuk mengidentifikasi karakter spesifik sukrosa Aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.)* (dibimbing oleh Muh. Restu, Tutik Kuswinanti, Siti Halimah Larekeng)

Penelitian ini bertujuan (1) Menganalisis gen penanda sukrosa pada Aren dari Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai, (2) Analisis Asosiasi karakter morfologi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren, (3) Analisis asosiasi karakter fisiologi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren, dan (4) Mendesain marka spesifik SSR dari genom inti pohon Aren yang dapat digunakan untuk studi keragaman genetik.

Penelitian ini menggunakan materi genetik dari Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai Sulawesi Selatan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah survei dan pengukuran karakteristik morfofisiologi serta analisis laboratorium untuk karakteristik molekuler. Pengambilan sampel dilakukan pada pohon Aren yang sedang produktif dan sementara dalam proses penyadapan, pohon sampel setiap Provenansi di pilih secara acak sebanyak 25 sampel pohon sehingga total pohon sampel sebanyak 50 sampel. Data dianalisis menggunakan analisis statistik melalui regresi untuk melihat korelasi karakteristik morfofisiologi dan beberapa faktor lingkungan Aren terhadap kandungan gula, dan data molekuler dianalisis secara deskriptif, berdasarkan foto hasil elektroforesis sampel yang diujikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa melalui pendekatan genetik terhadap karakter kuantitatif kandungan gula pada Aren akan memberikan informasi terkait karakter-karakter spesifik berupa penanda sukrosa, penanda SSR hasil desain dari genom inti yang cocok untuk Aren, karakteristik morfofisiologi dan beberapa faktor lingkungan yang signifikan mempengaruhi kandungan gula aren. Karakter morfologi yang menunjukkan korelasi positif adalah jumlah daun hijau, panjang anak daun, tinggi batang, sedangkan intensitas cahaya di bawah tegakan menunjukkan korelasi yang negatif. Informasi Karakter genetik dan morfofisiologi dapat dijadikan acuan untuk memodifikasi karakter-karakter yang memberikan pengaruh dalam rangka pengembangan budidaya pohon Aren untuk memperoleh kualitas dan kuantitas kandungan gula nira yang tinggi.

Kata kunci: aren, genetik, sukrosa, brix, SSR

## SUMMARY

**NIRAWATI.** *Genetic Approach to Identify Specific Characters of Aren Sugar (Arenga pinnata (Wurmb) Merr.)* (Supervised by Muh. Restu, Tutik Kuswinanti, Siti Halimah Larekeng)

This study aims (1) to analyze the sucrose marker genes of Arenga sugar in Maros Provenance and Sinjai Provenance, (2) to analyze the association of morphological characters with sugar content (Brix) on Aren, (3) to analyze the association of physiological characters with sugar content (Brix) on Aren, and (4) Designing SSR markers from nuclear genome Arenga that can be used for genetic diversity studies.

This study used genetic material from the Maros Provenance and the Sinjai Provenance in South Sulawesi. The method used in this research is survey and measurement of morphophysiological characteristics and laboratory analysis for molecular characteristics. Sampling was carried out on productive Aren trees, and while in the tapping process, 25 sample trees for each Provenance were randomly selected so that the total sample trees were 50 samples. The data were analyzed using statistical analysis through regression to see the correlation of morphophysiological characteristics and some environmental factors of sugar palm to sugar content, and molecular data were analyzed descriptively, based on the electrophoretic result photos of the samples tested.

The results showed that a genetic approach to the quantitative characters of palm sugar content provides an overview of information related to specific characters in the form of basic knowledge of genomics in the form of sucrose markers and SSR markers suitable for sugar palm and information on morphophysiological characteristics and several environmental factors that significantly affect the content. Sugar is the number of green leaves, leaf length, stem height, light intensity under the stands, elevation, stomata, and chlorophyll. These characters can be used as a reference for modifying the characters that have an effect in developing sugar palm cultivation to obtain high quality and quantity of sap sugar content

Kata kunci: *aren, genetics, sucrose, brix, SSR*

## DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
PRAKATA	v
RINGKASAN	vii
<i>SUMMARY</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvi
BAB I     PENDAHULUAN UMUM	1
BAB II     IDENTIFIKASI KANDIDAT GEN SUKROSA PADA <i>Arenga</i> <i>pinnata</i> (Wurmb) Merr. PROVENANSI MAROS DAN PROVENANSI SINJAI SULAWESI SELATAN	10
Abstrak	10
A. Pendahuluan	11
B. Metode Penelitian	13
C. Hasil	15
D. Pembahasan	21
E. Kesimpulan	22
BAB III    KORELASI KARAKTERISTIK MORFOLOGI <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. DENGAN KANDUNGAN GULA PROVENANSI MAROS AND PROVENANSI SINJAI SULAWESI SELATAN	23
Abstrak	23
A. Pendahuluan	24
B. Metode Penelitian	25
C. Hasil	27
D. Pembahasan	30
E. Kesimpulan	31
BAB IV    KARAKTERISASI KARAKTERISTIK FISIOLOGI <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. DAN KORELASINYA DENGAN KANDUNGAN GULA DAN ELEVASI	32
Abstrak	32
A. Pendahuluan	33
B. Metode Penelitian	35
C. Hasil	36

	D. Pembahasan	39
	E. Kesimpulan	41
BAB V	DESAIN PRIMER MIKROSATELIT AREN ( <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr.) MENGGUNAKAN ILUMINA SEQUENCING	42
	Abstrak	42
	A. Pendahuluan	43
	B. Metode Penelitian	44
	C. Hasil	47
	D. Pembahasan	53
	E. Kesimpulan	54
BAB VI	PEMBAHASAN UMUM	55
BAB VII	KESIMPULAN UMUM	59
	DAFTAR PUSTAKA	60
	LAMPIRAN	67-80
	CURRICULUM VITAE	81

## DAFTAR TABEL

nomor		halaman
2.1	Forward and revers sequence 10 primer mikrosatelit untuk amplifikasi pcr	15
2.2	Hasil uji kuantitas aren Provenansi maros dan Provenansi Sinjai	17
2.3	Korelasi antara uji kualitas dan kuantitas DNA Aren provenansi Maros dan provenansi Sinjai	18
2.4	Hasil elektroforesis empat primer yang teramplifikasi pada sampel aren Provenansi Maros	19
2.5	Hasil elektroforesis empat primer yang teramplifikasi pada sampel aren Provenansi Sinjai	20
3.1	Penafsiran Koefisien Korelasi	27
3.2	Korelasi, p-value, selang kepercayaan antara karakter kandungan gula dengan karakteristik morfologi <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai	27
3.3	Korelasi, p-value, dan selang kepercayaan antara karakter kandungan gula <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. Dan faktor lingkungan Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai	28
4.1	Korelasi Pearson karakteristik fisiologi stomata dan trikoma	36
4.2	Korelasi Person karakteristik fisiologi klorofil	37
4.3	Korelasi karakteristik fisiologis stomata dan trikoma dengan kandungan gula dan elevasi	37
4.4	Korelasi karakteristik fisiologi klorofil dengan kandungan gula dan elevasi	37
5.1	Sampel aren yang digunakan untuk validasi primer mikrosatelit spesifik aren	46
5.2	Hasil desain primer ssr <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr.	47
5.3	Hasil amplifikasi primer ssr <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr.	50

## DAFTAR GAMBAR

nomor		halaman
1.1	Kerangka pikir penelitian pendekatan morfofisiologi dan genetik untuk mengidentifikasi kandungan gula Aren ( <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr.)	8
2.1	Elektroforegram hasil uji kualitatif DNA master Aren Provenan Sinjai dan Maros	16
3.1	Plot Korelasi antara kandungan gula, karakter morfologi dan faktor lingkungan provenas Maros dan Provenansi Sinjai	29
3.2	Matriks korelasi antara kandungan gula , karakter morfologi dan faktor lingkungan <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb)Merr. Provenansi Maros dan Sinjai	29
4.1	Plot korelasi karakteristik fisiologi stomata, trikoma dan klorofil	38
5.1	Peta titik lokasi pengambilan sampel genom inti di Bontobonto, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan Indonesia	45
5.2	Separasi hasil amplifikasi primer 30 <i>Arenga pinnata</i> , (Wurmb),Merr. dengan 12 sampel Aren Provenansi Maros (1 – 12) dan Provenansi Sinjai (13 - 24), masing-masing sampel diulang sebanyak dua kali untuk melihat konsistensi kemunculan hasil separasi pita DNA. M=Marker	53
5.3	Separasi hasil amplifikasi primer 46 <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb),Merr. dengan 12 sampel Aren Provenansi Maros (1 – 12) dan Provenansi Sinjai (13 - 24), masing-masing sampel diulang sebanyak dua kali untuk melihat konsistensi kemunculan hasil separasi pita DNA. M=Marker	53
5.4	Separasi hasil amplifikasi primer 51 <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb),Merr. dengan 12 sampel Aren Provenansi Maros (1 – 12) dan Provenansi Sinjai (13 - 24), masing-masing sampel diulang sebanyak dua kali untuk melihat konsistensi kemunculan hasil separasi pita DNA. M=Marker	53

## DAFTAR LAMPIRAN

nomor		halaman
1	Forwad dan revers sequen Primer Microsatelit yang digunakan pada percobaan pertama penelitian ini yaitu screening kandiddat gen pembawa sifat kandungan gula <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. (Vinayak et al., 2010)	67
2	Hasil desain primer microsatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr.	68
3	Hasil foto validasi Primer BPPAp_UH1 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	72
4	Hasil foto validasi Primer BPPAp_UH2 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	72
5	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH3 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	72
6	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH4 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	72
7	Hasil foto validasi Primer BPPAp_UH5 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	72
8	Hasil foto validasi Primer BPPAp_UH6 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	73
9	Hasil foto validasi Primer BPPAp_UH7 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	73
10	Hasil foto validasi Primer BPPAp_UH9 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	73
11	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH10 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	73
12	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH11 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	73
13	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH12 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	74
14	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH13 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	74
15	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH14 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	74
16	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH15 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	74
17	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH16 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	74
18	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH17 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	75
19	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH18 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	75
20	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH19 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	75
21	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH20 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	75

22	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH22 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	75
23	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH23 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	75
24	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH27 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	76
25	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH28 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	76
26	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH29 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	76
27	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH30 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	76
28	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH31 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	76
29	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH32 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	77
30	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH34 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	77
31	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH35 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	77
32	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH36 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	77
33	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH37 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	77
34	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH38 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	78
35	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH39 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	78
36	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH40 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	78
37	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH43 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	78
38	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH44 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	78
39	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH45 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	79
40	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH46 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	79
41	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH47 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	79
42	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH49 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	79
43	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH50 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	79
44	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH51 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	80
45	Hasil foto validasi primer BPPAp_UH52 mikrosatelit <i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi	80

- 46 Hasil foto validasi primer BPPAp\_UH53 mikrosatelit *Arenga pinnata* (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi 80
- 47 Hasil foto validasi primer BPPAp\_UH54 mikrosatelit *Arenga pinnata* (Wurmb) Merr. yang teramplifikasi 80

## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
A	Primer yang mendeteksi sucrose synthase-2 gene
(AC)n	(Adenin cytosin), n=jumlah perulangan motif SSR
(AT)n;	(Adenin Timin), n= jumlah perulangan motif SSR
(CA)n;	(cytosine adenin), n= jumlah perulangan motif SSR
(CG)n;	(Cytosine Guanin), n= jumlah perulangan motif SSR
(CT)n,;	(Cytosin Timin), n= jumlah perulangan motif SSR
(GA)n;	(Guanin Adenin), n= jumlah perulangan motif SSR
(GC)n;	(Guanin Cytosin), n= jumlah perulangan motif SSR
(TA)n	(Timin Adenin), n= jumlah perulangan motif SSR
µl	microliter
AI	Primer Invertase enzyme gene
Alel	Variasi gen
B	Primer untuk mendeteksi the sucrose synthase-2 gene
bp	Base pair/pasangan basa ( bp ) adalah unit fundamental untai ganda asam

	nukleat yang terdiri dari dua nucleobases terikat satu sama lain dengan ikatan hidrogen
BPPAP_UH1 -54	Primer hasil desain Bioteknologi pemuliaan Pohon <i>Arenga pinnata</i> _unhas 1-54
BPS	Badan Pusat Statistik
Brix	Zat padat kering yang terlarut dalam satuan larutan yang dihitung sebagai Sukrosa
Buffer	Larutan penyanggah Tris -EDTA
Buffer AP1	Cell lysis buffer
Buffer AP2	Protein-depleting buffer Buffer TE : 5 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 8,5
Buffer TE	<i>buffer</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid/</i> Asam deoksiribonukleat yaitu sejenis biomolekul yang menyimpan dan menyandi instruksi-instruksi genetika setiap organisme dan banyak jenis virus.
dNTP	Deoksiribonukleotida Triphospha/ penyusun DNA; terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP
dsDNA	double stranded- Deoxyribo Nucleat Acid (ds- DNA ) yaitu Molekul struktur unting ganda yang berikatan secara non-kovalen dan berbentuk heliks

EDTA	Asam etilenadiaminatetraasetat (bahasa Inggris: Ethylenediaminetetraacetic acid, disingkat EDTA) adalah asam kompleks, berupa asam karboksilat poliamino yang biasa digunakan sebagai agensia pengkelat atau ligan beberapa ion atau unsur logam, terutama $\text{Fe}^{3+}$ dan $\text{Ca}^{2+}$ .
Gen	molekul DNA yang menjalankan fungsi khusus menyandi suatu molekul RNA atau suatu polipeptida yang mengandung unit informasi yang diwariskan
Genotipe	Penyatuan dua alel dalam sel organisme dan membentuk susunan genetik untuk sifat/ karakter tertentu
gr	gram
heterosigout	Genotipe organisme yang memiliki susunan dua alel yang berbeda tipe
homosigout	Genotipe organisme yang memiliki susunan dua alel yang homolog/ sama dalam tipe
ISSR	Primer inter-simple sequence repeat
KG/	Kandungan Gula
LowCL	Lower confident interval" interval kepercayaan rendah (95%)
LPDP	Lembaga pengelola Dana Pendidikan
mg	miligram

MISA	MlcrOStellite
ml	milliliter
MSSCIR43,	Accumulation of sucrose
MSSCIRI,	Accumulation of sucrose
NCBI	(National Centre for Biotechnology Information) merupakan suatu institusi yang menyediakan sumber informasi terkait perkembangan biologi molekuler. NCBI membuat database yang dapat diakses oleh publik dan Mengembangkan Software Penganalisis Data Genom
PCR	(Polymerase Chain Reaction) adalah pemeriksaan laboratorium untuk mendeteksi keberadaan material genetik dari sel, bakteri, atau virus
Primer	oligonukleotida pendek yang menginisiasi sekaligus membatasi reaksi pemanjangan rantai atau polimerisasi DNA
P-value	Nilai Probabilitas
QTL	Lokus sifat kuantitatif atau singkatan bahasa Inggrisnya: Quantitative Trait Locus (jamak Loci), dalam genetika mengacu pada suatu bagian kromosom atau peta genetik yang terkait secara statistik dengan suatu variasi yang ditunjukkan oleh suatu sifat kuantitatif.

R	Simbol korelasi
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA'S
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SCB07	Accumulation of sucrose
SFR	Agar khusus untuk primer SSR
SMC1039CG	Accumulation of sucrose
SMC226CG	Accumulation of sucrose
SPS	Sucrose phosphate synthase enzyme gene
SS	The sucrose synthase gene
SSR	Primer Simple sequence Repeat
UpperCI	Upper confident interval "interval kepercayaan tinggi (99%)

# BAB I

## PENDAHULUAN UMUM

### A. Latar Belakang

Pohon Aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) adalah salah satu spesies pohon multiguna terpenting di daerah tropis lembab, yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Selain menghasilkan gula, pohon ini memberikan sejumlah besar produk dan manfaat bagi penggunaannya. Berbagai cara penggunaan pohon ini telah diimplementasikan oleh penduduk asli di empat provinsi di Indonesia. Meskipun semua orang memanfaatkan Aren, intensitas penggunaan, dan produk yang digunakan sangat bervariasi di setiap daerah. Masyarakat Kalimantan Timur dengan kepadatan penduduk yang sangat rendah, penggunaan Aren masih relatif sedikit dibandingkan masyarakat Sumatera Utara dan Jawa Barat dengan kepadatan penduduk yang sangat tinggi memanfaatkan Aren secara intensif. Budidaya dan pola tanam paling maju telah berkembang di Sulawesi Utara, banyak tradisi lama dan kearifan lokal masyarakat bertumpu pada budidaya Aren (Mogea et al., 1991a)

Informasi mengenai parameter kualitas gula Aren dan komposisinya masih sangat terbatas, meskipun gula tersebut telah dikonsumsi masyarakat lokal di beberapa negara tropis selama puluhan tahun (Victor & Orsat, 2017). Karakteristik dan khasiat gula Aren dipercaya dapat menjadi pemanis alternatif dan gula yang lebih bergizi dari pada tebu (Tamunaidu et al., 2013). Fakta lain keunggulan Aren bahwa gula Aren tidak mengalami proses pemurnian, atau menggunakan bahan kimia sintesis untuk memutihkan warna dan menghasilkan gula dengan manfaat gizi potensial yang mengandung senyawa nabati yang sangat menarik seperti polifenol (Boudet, 2007; Victor & Orsat, 2017). Aktivitas senyawa antioksidan gula Aren dilaporkan lebih tinggi dibandingkan dengan berbagai jenis gula tebu, memiliki aktivitas antioksidan yang setara dengan 1,7 mg Vitamin C per 1 g gula Aren (Sia et al., 2010).

Pengembangan budidaya tanaman Aren sampai saat ini masih belum optimal, fokus penelitian Aren baru dimulai sekitar tahun 1990 yang dimandatkan pada

lingkup Badan Litbang Pertanian Balit Palma yang sampai saat ini belum menjadi tanaman prioritas, penelitian yang dilakukan dititik beratkan pada plasma nutfah dan pemuliaan, perbenihan dan pembibitan, pengawetan dan pengolahan nira, dan studi potensi Aren pada berbagai Provinsi di Indonesia (Effendi, D., 2010). Kebutuhan yang sangat mendesak saat ini adalah penyediaan benih bermutu yang berasal dari pohon Aren yang memiliki karakter kandungan gula nira tinggi. Sumber benih Aren bermutu belum tersedia sementara erosi genetik terjadi sangat cepat. Produksi Aren oleh masyarakat cukup besar, namun pengusaha dan pengembangan masih berjalan sangat lambat, mengakibatkan populasi alami berkurang, dan terjadi terus menerus tanpa tindakan penyelamatan sehingga jenis Aren bermutu akan punah dan akan berakibat hilangnya sumber pendapatan petani (Saleh, 2004). Berbagai manfaat dan kontribusi yang diberikan Aren, memerlukan dukungan penyediaan benih secara berkesinambungan baik dari segi kualitas maupun kuantitasnya.

Pemanfaatan tanaman aren di Indonesia sudah berlangsung lama, namun agak lambat perkembangannya karena umumnya populasi masih tumbuh secara alami. Keberadaan pohon sudah jauh dari pemukiman dan jarang dan umumnya yang ada adalah aren tipe dalam, sehingga banyak anak muda enggan untuk menyadap. Aren tumbuh di daerah dengan curah hujan tinggi dan merata sepanjang tahun 1200-3500 mm/Tahun, dan tumbuh pada ketinggian 0 – 1400 mdpl di mana pertumbuhan terbaik 500 – 700 mdpl. Ada sekitar 18 provinsi penghasil utama Aren di Indonesia dengan luas total 65.206 ha, dengan produksi nira rata-rata sekitar 12 – 16 liter/hari (Tenda, 2017; Tenda & Maskromo, 2012)

Aren secara morfologi berdasarkan tinggi tanamannya terdiri atas dua macam yaitu Aren dalam dan Aren genjah. Aren dalam mempunyai batang yang tinggi dan besar, dengan produksi nira rata-rata 15-25 liter pertandan/hari. Aren genjah memiliki postur batang yang lebih pendek dan kecil, dengan produksi nira rata-rata 5 sampai 10 liter pertandan/hari. Umur tanaman Aren dalam lebih panjang dibandingkan Aren genjah dengan jumlah dan panjang tandan yang juga lebih banyak dan panjang dari Aren genjah.

Indonesia merupakan Salah satu *Center of origin* tanaman aren karena tersebar pada hampir seluruh wilayah Indonesia sekitar 60% populasi Aren dunia. Sulawesi selatan merupakan sentra produksi Aren ketiga terluas penyebarannya setelah Jawa Barat dan Papua (Akuba, 2004). Sebaran Aren terdapat pada hampir semua kabupaten, tumbuh secara alami baik di dalam maupun di luar kawasan

hutan/lahan milik masyarakat. Luas pertanaman Aren di Sulawesi Selatan sekitar 6.060 ha dengan produksi gula rata-rata 4.121 ton/tahun (BPS, 2017). Kabupaten Maros dan Kabupaten Sinjai merupakan dua Provenansi Aren yang diduga memiliki sebaran alami dengan keragaman yang tinggi. Masyarakat pada kedua lokasi Provenansi tersebut memanfaatkan Aren sebagai sumber pendapatan masyarakat petani. Potensi Aren cukup menjanjikan untuk dikembangkan namun data dan informasi menyangkut sifat-sifat penting dari plasma nutfah yang diperlukan untuk program pemuliaan dan konservasi masih belum cukup tersedia.

Keragaman genetik plasma nutfah merupakan salah satu komponen dasar dalam sistem pemuliaan tanaman, dibutuhkan sumber informasi genetik dari sifat-sifat penting suatu tanaman untuk perbaikan tanaman, kontribusi genetik terhadap penyakit, hama, gulma, dan ketahanan terhadap cekaman lingkungan abiotik. Plasma nutfah juga merupakan sumber gen yang dapat dimanfaatkan untuk peningkatan kualitas hasil tanaman (Sari, 2013). Program pemuliaan tanaman diharapkan dapat menghasilkan beragam populasi unggul baru, selain memiliki produktivitas yang tinggi, juga memiliki beberapa karakter spesifik lain yang mendukung upaya peningkatan kualitas dan daya saing (Carsono, 2008)

Upaya untuk mempertahankan kelestarian plasma nutfah dapat dengan cara melaksanakan eksplorasi pada berbagai lokasi untuk mendapatkan berbagai koleksi varietas unggul lokal, dan pembuatan lokasi koleksi plasma nutfah dalam rangka budidaya tanaman koleksi dari hasil eksplorasi. Kegiatan identifikasi dan deskripsi tanaman diharapkan dapat memberikan informasi keunggulan dari suatu plasma nutfah berdasarkan ciri-ciri khusus yang dimiliki oleh plasma nutfah tersebut (Litbang Pertanian, 2004).

Eksplorasi keragaman genetik Aren dimulai tahun 1991 di daerah-daerah sentra tanaman aren yaitu Maluku di desa Tuahaha Maluku Tengah di mana ditemukan satu aksesori aren dalam pada tahun 1991, Sulawesi Selatan di Desa Bungadidi Kecamatan Bone-bone Kabupaten Luwu pada 1992 juga ditemukan satu aksesori aren dalam dan Nangro Aceh Darusalam di Desa Alur Bemban Kecamatan Baendahara Kabupaten Aceh Timur 1993. Saat ini sudah ada empat varietas Aren yang mendapatkan SK Kementan, yaitu Aren genjag Kutim (tipe genjah), Akel toumuung (tipe dalam), Aren Parasi (tipe dalam) dan Aren Smulen ST1 (tipe semi Tall) (Tenda, 2020)

Pengelolaan plasma nutfah mencakup upaya pelestarian dan pemanfaatannya. Sebagian besar plasma nutfah liar terdapat di berbagai tipe

kawasan konservasi sedangkan plasma nutfah dari varietas yang telah didomestikasi umumnya berada di lahan budidaya yang telah diusahakan sejak lama. Masyarakat di daerah belum banyak yang menyadari dan memahami arti fungsi dan kegunaan plasma nutfah, hal ini akan berdampak terhadap plasma nutfah yang ada di daerah (Thohari, 2006).

Eksplorasi adalah suatu kegiatan yang bertujuan mengumpulkan dan mengoleksi semua sumber keragaman genetik yang tersedia baik spesies liar, kultivar lokal, varietas unggul, varietas introduksi dan lain-lain. Identifikasi merupakan suatu kegiatan karakterisasi semua sifat yang dimiliki atau yang terdapat pada sumber keragaman genetik sebagai informasi dasar sebelum memulai rencana pemuliaan. Identifikasi dapat dilakukan melalui: (i) identifikasi berdasarkan sifat morfologi dan agronomis, (ii) identifikasi berdasarkan fisiologi, (iii) identifikasi berdasarkan pola pita DNA atau molekuler (Swasti, 2007; Jamsari, 2008).

Penanda molekuler adalah alat yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi potensi genetik antara suatu jenis, spesies dan populasi serta hubungannya dengan sifat khusus tanaman. Identifikasi genetik dengan penanda molekul dapat dilakukan dengan berbagai metode diantaranya adalah Simple Sequence Repeat (SSR)/Mikrosatelit, RAPD (Pandin, 2015), ISSR (Arpiwi et al., 2019) dan Protein atau Isoenzim (Kinho et al., 2016) Penelitian dengan menggunakan SSR (Larekeng et al. 2019) merupakan marka genetik yang telah terbukti dapat digunakan sebagai alat untuk analisis genetik tanaman. Beberapa studi telah membandingkan polimorfisme RAPD (Harahap, 2017) dan RFLP (Wilujeng, 2018) dengan SSR pada banyak kasus, SSR paling polimorfik dalam setiap lokus (Kasoma, et al., 2015). Polimorfisme ini dapat digunakan untuk membedakan varietas yang berjarak genetik dekat (Olufowote et al., 1997). Pengulangan sekuens yang sederhana (Rakoczy et al., 2004) dan untuk memperkirakan hubungan genetik antar individual (Goldstein and Pollock 1997).

Informasi genetik Aren merupakan dasar dilakukannya penelitian tentang pendekatan genetik untuk mengidentifikasi kandungan gula nira Aren Sulawesi Selatan. Pengembangan penanda genetik mikrosatelit dianggap sangat penting karena untuk mikrosatelit Aren belum ditemukan di Bank Gen. Deteksi kadar gula brix tinggi sudah dilakukan pada tanaman tebu, karakter yang berpengaruh terhadap gula brix tinggi sifatnya kuantitatif. Identifikasi sukrosa tebu menggunakan primer SSR telah dilakukan, sepuluh primer spesifik terpilih adalah A, B, MSSCIR43, MSSCIRI, SMC226CG, SMC1039CG, SCB07, AI, SS, dan SPS. Dari sepuluh primer

yang digunakan dua diantaranya yang teridentifikasi karakter DNA spesifik untuk sukrosa tinggi dan sukrosa rendah, yaitu 'Al' untuk sukrosa rendah dan SMC226CG sukrosa tinggi (Vinayak, *et.al.*, 2010)

Berbagai penelitian telah dilaporkan kaitannya dengan gen penanda kadar brix, penanda terkait nilai brix pada tanaman tebu telah diidentifikasi (Ming *et.al.*, 2001). Gen sintase dalam tebu (Sus2) dapat digunakan untuk mengidentifikasi gen-gen yang terpaut kadar brix tinggi dan rendah. Gen Sukrosa Sintase (SUS), adalah yang mengkatalisasi secara reversible sintesa sukrosa dan pembelahan, merupakan enzim kunci dalam mengontrol aliran karbon menuju biosintesis pati (Vinayak, *et.al.*, 2010; Volpicella, M. *et.al.*, 2016)

Penelitian yang dilakukan diharapkan memberikan pengetahuan tentang informasi morfofisiologi, genomik dan molekuler yang sangat berguna dalam rangka pengembangan dan program pemuliaan serta konservasi genetik. Hasil penelitian diharapkan mempertahankan kelestarian Aren di masa yang akan datang dan dikembangkan sebagai produk prioritas unggulan khususnya Sulawesi Selatan.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat gen penanda sukrosa pada Aren dari Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai
2. Apakah terdapat asosiasi karakteristik morfologi dan Karakteristik Lingkungan dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
3. Apakah terdapat asosiasi karakteristik fisiologis dan elevasi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
4. Apakah hasil desain marka SSR dari Genom inti pohon Aren mampu digunakan untuk studi keragaman genetik?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah

1. Menganalisis gen penanda sukrosa pada Aren dari Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai
2. Analisis asosiasi karakter morfologi dan Karakteristik Lingkungan dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
3. Analisis asosiasi karakter fisiologi dan elevasi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
4. Untuk mengidentifikasi marka spesifik SSR pohon Aren yang dapat digunakan untuk studi keragaman genetik

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian sebagai pengetahuan baru terkait marka spesifik, karakteristik morfofisiologis dan lingkungan, informasi kandungan gula (brix) Aren dari dua provenansi dan hasil desain primer SSR spesifik pohon Aren yang akan memberikan pengetahuan baru terkait dasar genomik dan molekuler yang sangat berguna dalam mendukung program pemuliaan Aren

### **E. Kebaruan Penelitian**

Penelitian ini akan menghasilkan beberapa kebaruan yaitu:

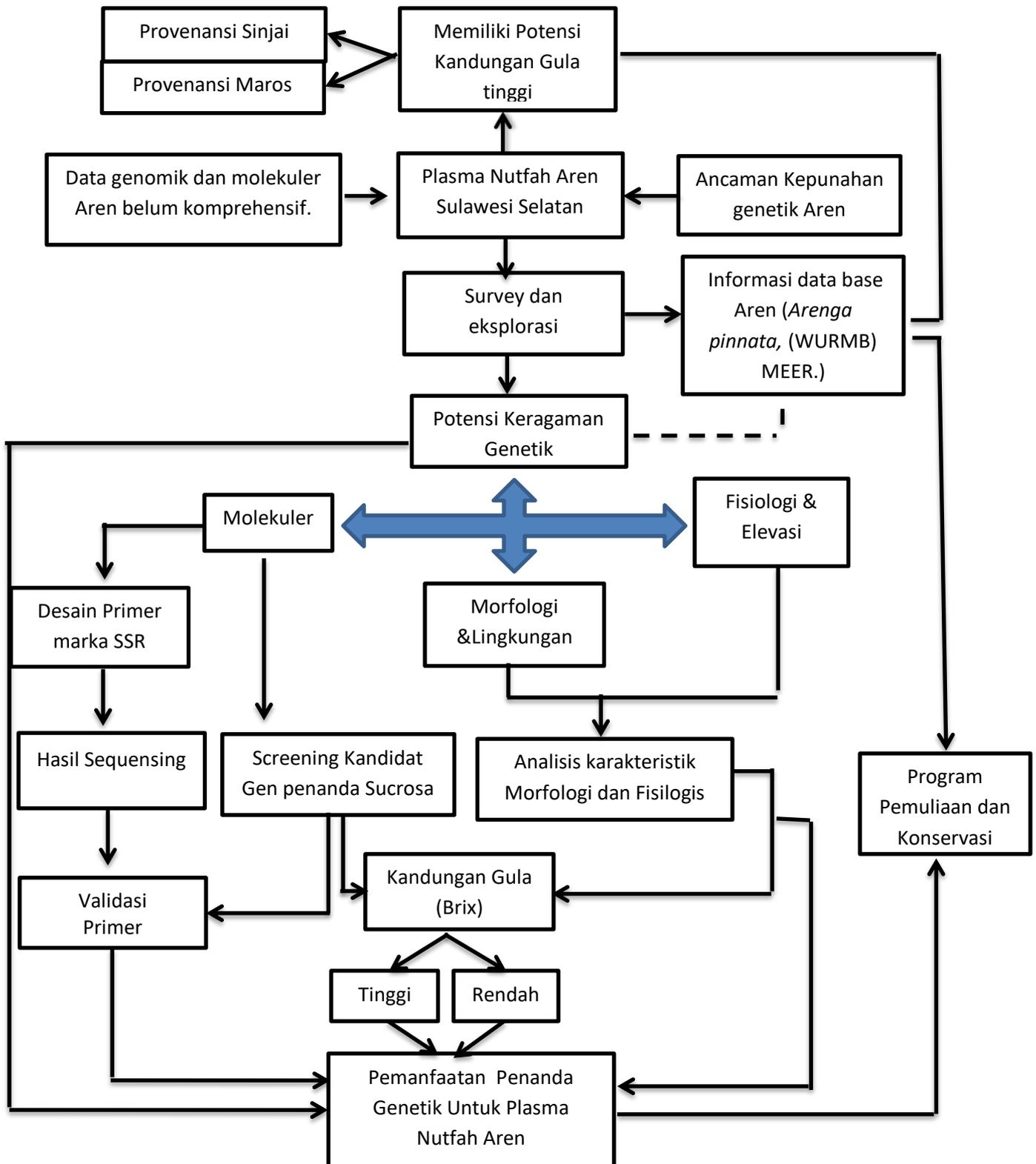
1. Penanda gen sukrosa pada pohon Aren
2. Karakteristik morfologi dan lingkungan yang berasosiasi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
3. Karakteristik fisiologis dan elevasi yang berasosiasi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
4. Hasil Desain Primer SSR yang spesifik pohon Aren

## **F. Ruang Lingkup Penelitian**

Penelitian ini didasarkan pada permasalahan kebutuhan informasi menyangkut Aren dan kandungan gula (Brix) dan ketersediaan informasi dasar genomik Aren yang dapat menjamin program pemuliaan dan konservasi genetik. Adapun tahapan-tahapan penelitian yang akan dilakukan adalah:

1. Tahap pertama yaitu menganalisis gen penanda sukrosa pada Aren dari Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai menggunakan penanda SSR
2. Tahap kedua menganalisis asosiasi karakteristik morfologi dengan kandungan gula (brix) pada Aren
5. Tahap ketiga menganalisis asosiasi karakteristik fisiologis dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
6. Tahap keempat yaitu memvalidasi hasil desain marka SSR pohon Aren yang dapat digunakan untuk studi keragaman genetik

## 7. Kerangka Pikir Penelitian



**Gambar 1.1** Kerangka pikir penelitian pendekatan genetik untuk mengidentifikasi karakter spesifik sukrosa Aren (*Arenga pinnata*, (Wurmb) Merr.)

## 8. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah

1. Terdapat gen penanda sukrosa pada Aren dari Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai menggunakan primer SSR mengandung karakter gen spesifik sukrosa
2. Terdapat hubungan antara karakter morfologi, karakteristik lingkungan dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
3. Terdapat hubungan karakter fisiologis, karakteristik elevasi dengan kandungan gula (Brix) pada Aren
4. Terdapat penanda SSR yang spesifik pohon Aren yang dapat digunakan untuk studi keragaman genetik

## BAB II

### IDENTIFIKASI KANDIDAT GEN SUKROSA *Arenga pinnata*, (Wurmb) Merr. PROVENANSI MAROS AND PROVENANSI SINJAI SULAWESI SELATAN

#### Abstrak

Aren atau enau (*Arenga pinnata*, (WURMB) MERR.) adalah pohon palma multiguna yang menghasilkan nira yang bernilai ekonomi tinggi. Kandungan gula nira Aren sangat potensial untuk dijadikan alternatif sumber gula selain tebu. Upaya pemuliaan Aren masih mengalami kendala karena belum tersedianya informasi sumber benih unggul sehingga upaya peningkatan penanaman Aren belum optimal, selain itu pohon Aren adalah termasuk jenis pohon palma tahunan sehingga membutuhkan waktu untuk seleksi yang lama dan areal seleksi yang luas dan menyebar. Seleksi yang secara cepat dan akurat yang dibutuhkan untuk mengatasi kendala ini adalah menggunakan tehnik marka molekuler dengan menggunakan tehnik molekuler Simple Sequen Repeat (SSR). Penelitian ini bertujuan melakukan seleksi primer SSR yang dapat mengidentifikasi karakter spesifik kandungan gula Aren berdasarkan pola pita DNA yang dihasilkan dan tingkat polimorfismenya. Sepuluh Primer SSR yang digunakan untuk mengamplifikasi 50 sampel DNA dari dua Provenansi Aren Sulawesi Selatan yaitu Provenansi Maros dan Provenansi Sinjai. Hasil analisis SSR menggunakan gel agar SFR 3% dan visualisasi *geldoc*. Sebanyak empat primer yaitu SMC226CG, SMC1039CG, SCB07 dan AI dapat mengidentifikasi hampir semua sampel Aren yang diujikan. Berdasarkan hasil seleksi primer pada template DNA Aren, dari sepuluh primer spesifik sukrosa yang diujikan terdapat empat primer yang teramplifikasi, yaitu primer SMC226CG dengan nilai 90 bp-100 bp, SMC1039CG dengan nilai 80 bp – 100 bp, SCB07 dengan nilai 50 – 300 bp, dan AI dengan nilai 50 bp. Primer SMC226CG dan primer AI teramplifikasi juga di Aren, hal ini memastikan bahwa kandidat gen untuk sukrosa tinggi dan rendah juga terdapat di Aren.

**Kata Kunci:** *Arenga pinnata*, (WURMB) MERR., DNA, SSR, primer, polymorphisme

-----  
\*) Telah dipresentasikan di Seminar International AFOP di Jogjakarta

\*) Disubmit di jurnal Kuwait Journal of Science, <https://journalskuwait.org/kjs/index.php/KJS/home>

## A. Pendahuluan

Indonesia negara tropis yang kaya akan sumberdaya alam hayati dengan keanekaragaman yang tinggi (Janick & Paull, 2008), peluang pengembangan jenis pohon yang memiliki potensi besar untuk alternatif penghasil gula terus dilakukan, masih banyaknya kendala dalam pengembangan pohon penghasil gula adalah karena masih terbatasnya informasi dan ketersediaan teknologi budidaya yang masih tradisional (Tenda & Mahayu, 2015) dan belum intensif (Samudin & Saleh, 2009). Salah satu jenis pohon yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai penghasil gula adalah Aren (*Arenga pinnata*, (WURMB) MERR.) (Tenda & Weda, 2015). Sampai saat ini, pohon Aren yang tumbuh di Indonesia sebagian besar merupakan pohon yang umumnya tumbuh secara liar dan alami (Tenda & Ismail, 2012) serta belum ada penelitian yang memadai tentang pohon Aren unggul (Ari, 2015). Aren merupakan pohon kehidupan yang multimanfaat karena selain kandungan gula niranya yang bernilai ekonomis tinggi (Gamal, 2015; Ibrahim et al., 2018), pohon Aren juga sangat cocok direkomendasikan sebagai alternatif pohon agroforestry terutama untuk tujuan rehabilitasi dan konservasi (Johnson, 1983)

Aren merupakan Genus *Arenga* yang termasuk dalam famili *Arecaceae* yang berasal dari India ke Taiwan dan Australia Utara, kemudian masuk ke Indonesia melalui Asia Tenggara (Mogea et al., 1991b). Ada sekitar 20 spesies palma dari yang kecil hingga sedang, tersebar luas dengan keanekaragaman terbesar terdapat di beting Sunda Indonesia (Uhl & Dransfield, 1988). Indonesia pernah mengeksport sekitar 200 ton gula Aren dengan harga \$US 2,5 per kg (Mogea et al., 1991b). Upaya pengembangan pohon Aren telah dilakukan terutama menyangkut identifikasi plasma nutfah (Naufalin, 2013; Tenda et al., 2010), potensi dan prospek pengembangan (Effendi, D., 2010; Effendi, 2010; Tenda et al., 2011), kultur embryo zomatik (Arsyad et al., 2013) dan Keragaman genetik (Harahap, 2017), namun informasi dasar menyangkut sumber plasma nutfah dan genetik Aren masih sangat terbatas.

Langkah awal dalam upaya pengembangan program pemuliaan Aren adalah melalui penyediaan informasi tentang keragaman dan struktur genetik plasma nutfah Aren (Samudin & Saleh, 2009), keragaman genetik adalah salah satu komponen dasar dalam sistem pemuliaan yang memberikan informasi menyangkut informasi genetik dari sifat-sifat penting suatu tanaman dalam rangka perbaikan varietas. Agar keragaman plasma nutfah dapat dimanfaatkan dalam program perbaikan varietas, maka potensi sifat-sifat yang dimiliki harus diketahui (Nurdianawati & Wicaksana, 2016)

Untuk mengetahui potensi genetik melalui analisis DNA terlebih dahulu dibutuhkan informasi yang tepat dan akurat tentang primer yang akan digunakan. Seleksi primer bertujuan untuk mengidentifikasi tingkat polimorfisme yang tinggi, yang dilakukan secara acak guna mencari penanda pita yang jelas maupun jumlah lokus yang diperoleh (Hartati et al., 2007). Pendekatan genetik molekuler dengan menggunakan penanda DNA telah berhasil membentuk penanda molekuler yang mampu dalam mendeteksi gen dan sifat-sifat tertentu terutama yang berasosiasi dengan karakter yang diinginkan (Yono et al., 2017). Identifikasi primer PCR dapat menunjukkan produk amplifikasi yang menunjukkan kandungan sukrosa merupakan salah satu parameter kuantitatif memiliki nilai praktis yang sangat besar untuk diketahui dan dijadikan indikator kuantitas dan kualitas dari karakter yang diinginkan. Persyaratan utama yang dibutuhkan adalah ketersediaan sampel dengan berbagai konten sukrosa (Vinayak et al., 2010) menganalisis kandidat gen sukrosa pada spesies tebu dengan sepuluh primer, yang diklasifikasikan kedalam dua kelompok yaitu primer untuk kandungan sukrosa tinggi yaitu primer "A" dan "AI" dan primer untuk kandungan sukrosa rendah SMC226CG

Primer mikrosatelit atau simple sequence repeat (SSR) merupakan salah satu penanda DNA kodominan (Larekeng H. et al., 2015) yang mempunyai sekuens sederhana (Y. C. Li et al., 2002) mudah dikloning dan dikarakterisasi dan menampilkan polimorfisme yang cukup besar karena variasi dalam jumlah unit berulang (Todd, 1992) serta SSR dapat menjadi dasar molekuler untuk adaptasi cepat terhadap perubahan lingkungan pada jenis prokariotik dan eukariotik (Y. C. Li et al., 2004). Mikrosatelit merupakan penanda yang ideal untuk membangun peta genetik beresolusi tinggi (Tawab et al., 2011; Todd, 1992) untuk mengidentifikasi kandidat gen sukrosa yang terlibat dalam pembentukan kandungan gula Aren.

## B. Metode Penelitian

### 1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel adalah GPS, spidol, kertas, parang, galah, bambu, dan batang pohon sebagai penyangga. Analisis molekuler menggunakan timbangan, mortal, mikropipet, vortex mixer, spatula, tip, centrifuge, waterbath, freezer, sarung tangan, dan masker. Tahapan pengujian kualitas menggunakan elektroforesis horizontal dan kuantitas DNA menggunakan alat *Qubit 3.0 Fluorometric*.

Bahan yang digunakan adalah sampel daun Aren, Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (QDPMK kit protocol), Aquades, Agarose, *Buffer TAE 1x*, *Gelred*, *Loading day*, Cup, qubit dsDNA BR *buffer*, qubit DNA standar 1 dan standar 2, dsDNA *reagent* dan *working solution*.

### 2. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di dua Provenansi, yaitu Provenansi Maros di Desa Bonto Somba, Kecamatan Tompobulu, dan Sinjai di Desa Bonto Sinala, Kecamatan Sinjai Borong. Setiap Provenansi sebanyak 25 pohon, total pohon sampel adalah 50 pohon Aren. Masing-masing pohon diambil sebanyak 2 helaian daun dengan cara memanjat pohon Aren kemudian daun dipangkas dan diambil daunnya. Sampel daun yang diambil dimasukkan ke dalam amplop dan diberi kode berdasarkan titik pohon, sampel yang diambil dimasukkan ke dalam *coolbox* yang berisi *ice gel*. Fungsinya agar kualitas sampel daun tetap terjaga hingga analisis DNA di laboratorium. Analisis dilakukan di lakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Universitas Hasanuddin

### 3. Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan Qiagen DNeasy Plant Mini Kit sesuai protocol yang dimodifikasi (Plant & Kit, 2019)

#### 4. Uji Kualitas dan Kuantitas DNA

Tahap selanjutnya melakukan uji kualitas DNA dengan Elektroforesis (Sambrook, 2012), yakni tahap lanjutan dari Isolasi DNA. Pada tahap ini memberikan informasi mengenai DNA master yang dapat memperlihatkan kualitas DNA dengan konsentrasi agarose 2 % dengan menggunakan elektroforesis horizontal. Sedangkan pengujian Kuantitas DNA menggunakan alat Qubit 3.0 *Flourometer* (*Thermo Fisher Scientific*) dengan Invitrogen Qubit™ dsDNA BR Assay Kit, 100 assay (2-1000 ng). Pengujian ini menggunakan Qubit ds DNA BR *Buffer*, qubit dsDNA standar 1 dan standar 2, dsDNA *reagent*, dan *working solution*.

Hasil uji kualitas DNA 50 sampel yang diujikan dilakukan skoring berdasarkan kualitas pita yang dihasilkan, Adapun kualitas pita yang dihasilkan dikelompokkan kedalam empat kelompok, yaitu ;

1. Pita yang tebal dan terang diberi skoring 4
2. Pita yang tipis dan terang diberi skoring 3
3. Pita yang tebal dan kurang terang diberi skoring 2
4. Pita yang tipis dan kurang terang diberi skoring 1

#### 5. Seleksi primer

Seleksi primer dilakukan untuk mendapatkan primer polimorfik atau monomorfik yang ditandai munculnya berupa penanda pita, baik dari jelasnya pita yang dihasilkan maupun jumlah lokus yang diperoleh. Selanjutnya dilakukan proses amplifikasi dengan menggunakan mesin PCR (Applied Biosystem 2720 Thermal Cycler) dengan kondisi pre PCR 1 menit 94 °C, Tahap PCR sebanyak 35 siklus terdiri dari fase denaturasi awal selama 180 detik pada suhu 95 °C, fase denaturasi 30 detik pada suhu 95 °C, fase annealing selama 50 detik pada suhu sesuai TM primer yang digunakan, dan fase extension selama 600 detik pada suhu 72 °C. Tahapan PCR diakhiri dengan final extension selama 300 detik pada suhu 4 °C. Hasil proses amplifikasi kemudian dielektroforesis bersama DNA marker 100 bp (DNA ladder) pada gel SFR konsentrasi 3 % (5,4 gr Agar SFR dalam 180 ml TAE 1X dan 0,8 Gelred), voltase 120 volt selama 90 menit di dalam larutan penyangga TAE 1X (0,04 Tris-asetat, 0,001 M EDTA). Gel lalu diamati di atas sinar UV. Pemetretan dilakukan menggunakan kamera digital. Primer yang digunakan adalah sebanyak 10 primer SSR (Vinayak et al., 2010)

Tabel 2.1 *Forward and reverse sequence 10 primer mikrosatelit untuk amplifikasi PCR*

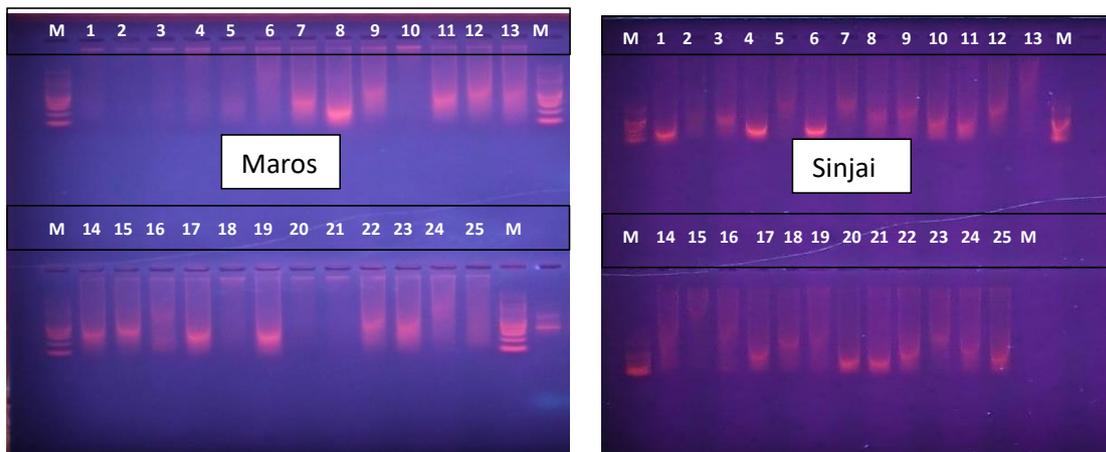
Primer	Suhu		
	Annealing °C	Forward marker (5' - 3')	Revers marker (5' - 3')
A	52,1	5' TCG GGA CGA ATC TGT TGA G 3'	5' GCA TAC AAA GGA CAA TAA TAA AAG A 3'
B	53,35	5' GAT TCG ATG TGA TGG CAA GCA C 3'	5' GCA TAC AAA GGA CAA TAA TAA AAG A 3'
MSSCIR43	47,9	5' ATT CAA CGA TTT TCA CGA G 3'	5' AAC CTA GCA ATT TAC AAG AG 3'
MSSCIRI	51,1	5' CTT GTG GAT TGG ATT GGA T 3'	5' AGG AAA TGG ATT GCT CAG G 3'
SMC226CG	56,6	5' GAG GCT CAG AAG CTG GCA T 3'	5' ACC CTC TAT TTC CGA GTT GGT 3'
SMC1039CG	60,9	5' AGG TGA GAG TTC CTG GCT TTC CA 3'	5' TGT GC TGGC AAG CCC CTA CTT 3'
SCB07	58,7	5' ACG AGA ACC ACA GCC ACC AG 3'	5' GGA GGT AGT CGG TGA AGT GC 3'
AI	55,05	5' CAA GTT CTA CGC GTC CAA GAC 3'	5' CAG ATG TCC GTG ACC ATT AGT 3'
SS	56,7	5' TTG GGT ATG CTC GCT CTT CT 3'	5' TAC TGA CTC CGC ACA AGC AC 3'
SPS	56,9	5' TGA GAA GAG CTC GCT GAA CA 3'	5' GCT AGC AGA GGG ACA ACC TG 3'

## C. Hasil

### 1. Hasil uji kualitas DNA

Ekstaraksi DNA dari tanaman merupakan titik awal untuk analisis genotipe. Pendekatan untuk persiapan DNA dari tanaman sangat ditentukan oleh spesies, jenis jaringan, atau sampel yang tersedia dan analisis yang diperlukan untuk isolasi DNA. Berbagai teknik yang tersedia untuk ekstraksi DNA tanaman dalam kaitannya dengan berbagai macam aplikasi genotipe tanaman. Sampel tanaman dapat dikumpulkan dan

disimpan, DNA dapat diekstraksi segera atau dianalisis secara langsung (Henry, 2009). Isolasi DNA Aren berhasil dilakukan dengan metode KIT (*Qiagen dsDNA Plant Mini Kit*) (Plant & Kit, 2019). Isolasi DNA dengan menggunakan KIT mampu memberikan hasil isolat genom yang berukuran besar dan berkualitas baik. Metode ini dilakukan pada sampel yang telah diinkubasi dalam *freezer* selama 1 minggu, sampel di gerus sangat halus sehingga menjadi bentuk powder. Pita yang dihasilkan dekat dengan sumur gel karena berat molekul besar. Menurut (Brown, 2010) elektroforesis gel akan memisahkan molekul DNA sesuai dengan ukurannya dan semakin besar molekul DNA maka pita DNA yang dihasilkan akan semakin dekat dengan sumur gel. Hasil uji kualitas pada sampel Aren dapat dikatakan teramplifikasi dengan berat molekul yang besar dan DNA terdegradasi, dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Elektroforegram hasil uji kualitas DNA master Aren provenansi Maros dan provenansi Sinjai

Hasil elektroforesis pada 50 sampel DNA aren dari dua provenansi menunjukkan munculnya pita pada seluruh sampel yang diujikan, meskipun ada beberapa sampel yang mengalami degradasi (*smear*). Pada provenansi Maros memiliki pita yang terang dan tebal terdapat pada sampel 7, 8, 17 dan 19, Pita yang tipis dan terang terdapat pada sampel 10, 18, 20, 21; pita yang tipis dan kurang terang terdapat pada sampel 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16, 24, dan 25 ; Pita yang tebal dan kurang terang 9, 11, 12, 13, 14, 15, 22 dan 23; Sedangkan provenansi Sinjai ketebalan pita DNA hampir semua sampel menghasilkan pita yang tipis dan kurang terang, kecuali sampel 1, 3, 4, 6, 20, 22 dan 25 menunjukkan pita yang tebal dan terang.

## 2. Hasil Uji kuantitatif DNA

Hasil uji kuantitas 50 sampel DNA aren diperoleh konsentrasi DNA berkisar antara 9,2 ng/ $\mu$ l sampai 44,3 ng/ $\mu$ l untuk provenansi Maros dan antara 16,93 ng/ $\mu$ l sampai 415 ng/ $\mu$ l untuk provenansi Sinjai

Tabel 2.2. Hasil uji kuantitas Aren provenansi Maros dan provenansi Sinjai

Provenansi	Sampel (Mp)	Konsentrasi DNA	Provenansi	Sampel (Si)	Konsentrasi DNA
Maros	1	9.19	Sinjai	1	145.33
Maros	2	2.67	Sinjai	2	16.93
Maros	3	44.87	Sinjai	3	48.67
Maros	4	19.43	Sinjai	4	184
Maros	5	15.1	Sinjai	5	32.63
Maros	6	44.33	Sinjai	6	174
Maros	7	102.47	Sinjai	7	46.73
Maros	8	318	Sinjai	8	24.7
Maros	9	302.67	Sinjai	9	46.73
Maros	10	13.2	Sinjai	10	75.73
Maros	11	93.4	Sinjai	11	113.67
Maros	12	104.33	Sinjai	12	61.60
Maros	13	91.07	Sinjai	13	19.03
Maros	14	90.73	Sinjai	14	61.43
Maros	15	117	Sinjai	15	23
Maros	16	33	Sinjai	16	35.33
Maros	17	123.67	Sinjai	17	102.87
Maros	18	13.6	Sinjai	18	44
Maros	19	190.33	Sinjai	19	71.13
Maros	20	8.02	Sinjai	20	160.67
Maros	21	8.22	Sinjai	21	396
Maros	22	111.33	Sinjai	22	204.33
Maros	23	75.33	Sinjai	23	49.07
Maros	24	45.67	Sinjai	24	121.33
Maros	25	23.27	Sinjai	25	415.33

### 3. Korelasi antara Hasil uji kualitas dan kuantitas DNA

Hasil analisis Kualitas dan Konsentrasi DNA dari provenansi Maros dan provenansi Sinjai sangat bervariasi. Perbedaan konsentrasi dan kualitas yang dihasilkan dapat disebabkan oleh adanya kontaminan serta terbuangnya DNA selama tahap isolasi (Henry, 2009). Penentuan skoring pita DNA dilihat dari kondisi pita yang dihasilkan, sehingga bisa terlihat hubungan antara uji kualitatif DNA dengan uji kuantitatif DNA.

Tabel 2.3 Korelasi antara uji kualitas dan Kuantitas DNA Aren provenansi Maros dan provenans Sinjai

<b>Kualitas~Kuantitas</b>	<b>Koefisien Korelasi (r)</b>	<b>P-value</b>	<b>n</b>
<b>Kualitas~Kuantitas_ Maros</b>	0,4669	0.0186	25
<b>Kualitas~Kuantitas_ Sinjai</b>	0,2490	0,2300	25

Hasil analisis menunjukkan ada hubungan linear antara uji kualitatif dengan uji kuantitatif antara dua provenas dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,466 pada provenans Maros dan 0,249 pada provenans Sinjai. Hasil uji kuantitatif tertinggi terdapat pada sampel 8 pada provenansi Maros dengan konsentrasi sebesar 318 ng/μl memiliki pita yang tebal dan kurang terang dan sampel 25 pada Provenansi Sinjai dengan konsentrasi sebesar 415 ng/μl, memiliki kualitas pita yang tipis dan kurang terang. Sedangkan konsentrasi terendah untuk provenans Maros dan Sinjai adalah 2,67 dan 16,7 dengan kualitas pita yang tipis dan terang.

### 4. Seleksi Primer dan Penilaian Kandidat Gen Sukrosa

Seleksi primer menggunakan primer spesifik gen penanda sukrosa (Vinayak et al., 2010) yang diujikan pada jenis tebu, dimana primer "A" dan "AI" teramplifikasi pada genotipe dengan kandungan sukrosa tinggi sedangkan SMC226CG dengan kandungan sukrosa rendah. Berdasarkan hasil seleksi primer di Aren, dari sepuluh primer yang diujikan ada empat primer yang teramplifikasi, yaitu primer SMC226CG dengan nilai 90 bp-100 bp, SMC1039CG dengan nilai 80 bp – 100 bp, SCB07 dengan nilai 50 – 300 bp, dan AI dengan nilai 50 bp.



Tabel 2.5. Hasil elektroforesis empat primer yang teramplifikasi pada sampel Aren provenansi Sinjai

Primer	TM	Bp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
SMC226C G	56,6	100	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		90	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	
SMC1039C G	60,9	80	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SCB07	68,7	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
		100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	
		50	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AI	55,05	50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

+ Muncul pita, - Tidak muncul pita

## D. Pembahasan

Identifikasi gen penanda sukrosa pada aren menggunakan sampel DNA dari provenansi Maros dan provenansi Sinjai diekstraksi dengan metode Kit Qigen yang dimodifikasi, hasil ekstraksi DNA selanjutnya dilakukan pengujian kualitas dan Kuantitas dengan elektroforesis vertikal dan Qubit 3.0 *Fluorometer* (*Thermo Fisher Scientific*). Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi yang dihasilkan hal ini disebabkan adanya kontaminan serta terbuangnya DNA selama tahap isolasi (Henry, 2009). Penelitian ini telah membuktikan adanya korelasi antara uji kualitatif dengan uji kuantitatif, sehingga pada saat melakukan analisis lanjutan seperti PCR, SSR, kloning atau sekuensing, hal ini dapat dijadikan sebagai acuan penelitian lanjutan yaitu dengan melihat nilai konsentrasi dan kualitas DNA.

Pentingnya uji kualitas pada DNA tanaman adalah untuk memberikan informasi terhadap pita DNA tanaman yang dihasilkan dengan menggunakan *Gel doc*. Uji kualitas DNA dengan metode elektroforesis gel agarose bertujuan untuk mengetahui keberadaan DNA dalam larutan contoh (Bello et al., 2001). Sedangkan fragmen DNA yang tampak pada gel memiliki pita yang bervariasi yaitu memiliki pita yang tebal dan terang, tebal dan tipis, tebal dan kurang terang dan tipis dan kurang terang serta terlihat *smear* pada beberapa sampel. Munculnya *smear* pada pita DNA dikarenakan ada materi lain yang ikut terisolasi sehingga menyebabkan munculnya *smear* di bawah pita DNA pada gel (Mulyani et al., 2011). *Smear* merupakan sisa dari larutan-larutan yang masih terbawa selama proses isolasi atau juga dapat berupa DNA yang terdegradasi pada proses isolasi. Penentuan metode yang tepat dapat memberikan hasil yang optimal pada jenis tanaman yang akan di uji.

Uji kuantitatif dan kualitatif bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dan kualitas dari DNA genom yang diperoleh dari hasil ekstraksi. Menurut (Psifidi et al., 2015) kuantitas dan kualitas DNA sangat tergantung dengan metode yang digunakan untuk ekstraksi DNA guna menghasilkan kuantitas DNA yang tinggi, murni, utuh, berantai ganda, sangat terkonsentrasi, tidak terkontaminasi. Hasil isolasi DNA dari kemurnian yang cukup, cocok untuk amplifikasi PCR sebagai prasyarat keberhasilan penggunaan analisis lanjutan (Arif et al., 2010). Perbedaan kuantitas dan kualitas DNA yang diekstraksi dari jaringan yang berbeda tidak mengganggu pola umum amplifikasi analisis PCR (Lanes et al., 2013). Setiap sampel memberikan hasil

kuantitas DNA yang berbeda-beda sehingga dapat dijadikan sebagai patokan pengenceran untuk tahap seleksi primer.

Seleksi primer pada 50 sampel aren dengan menggunakan penanda spesifik kandungan sukrosa yang berasal dari tebu sebanyak sepuluh penanda. Primer AI untuk sukrosa tinggi dan SMC226CG adalah primer penanda gen sukrosa rendah. Kedua primer ini juga teramplifikasi pada sampel Aren, primer AI teramplifikasi sempurna pada kedua Provenansi sedangkan primer SMC226CG hanya teramplifikasi sempurna pada Provenansi Maros. Untuk Primer SCBO7 pada penelitian yang dilakukan Vinayak, 2010 primer ini tidak teramplifikasi, namun saat diujikan pada sampel aren primer ini teramplifikasi dengan tingkat polimerfisme yang tinggi dibandingkan keempat primer lainnya dengan nilai 50 – 300 bp. Perbedaan ukuran fragmen DNA atau polimorfisme fragmen DNA hasil amplifikasi disebabkan oleh sebaran lokasi basa nukleotida di dalam genom yang menjadi tempat atau situs penempelan primer. Perbedaan profil pita DNA hasil amplifikasi, terutama jumlah dan ukuran pita sangat berperan dalam menentukan tingkat keragaman populasi (Gusmiaty et al., 2012). Primer SMC226CG, primer SMC1039CG, primer AI dan SCB07 teramplifikasi di Aren, hal ini memastikan bahwa kandidat gen untuk sukrosa tinggi dan rendah juga terdapat di Aren.

## **E. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil analisis kualitas, kuantitas dan seleksi primer yang diujikan pada 50 sampel DNA Aren, diperoleh penanda yang cocok untuk aren yaitu SMC226CG, SMC1039CG, SCB07 dan AI. Primer AI dan SCB07 diduga adalah primer yang paling informatif karena primer ini teramplifikasi sempurna pada kedua Provenansi, primer AI merupakan penanda sukrosa tinggi sedangkan primer SMC226CG merupakan primer penanda sukrosa rendah.