

**KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN GENETIK JERUK KEPROK
SELAYAR *Citrus Reticulata* Blanco ASAL KABUPATEN SELAYAR
DAN KABUPATEN BANTAENG DENGAN MARKA MOLEKULER
*SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)***

Nurul Afriani Arif
H052182001



PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

**KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN GENETIK JERUK KEPROK
SELAYAR *Citrus Reticulata* Blanco ASAL KABUPATEN SELAYAR
DAN KABUPATEN BANTAENG DENGAN MARKA MOLEKULER
*SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)***

*Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
Magister Program Studi Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika
Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*

Program Studi
Biologi

Disusun dan diajukan oleh

**Nurul Afriani Arif
HO52182001**

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

TESIS

Karakterisasi Morfologi dan Genetik Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco Asal Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng dengan Marka Molekuler *Simple Sequence Repeat* (SSR)

Disusu dan diajukan oleh

Nurul Afriani Arif
Nomor Pokok H052182001

Telah dipertahankan di depan panitia ujian tesis pada tanggal
Makassar, **5 Februari 2021** dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Komisi Penasehat,

Anggota Penasehat,

Ketua Penasehat,

Dr. Juhriah, M.Si.
NIP: 19631231 198810 2 001

Dr. Sjafaraenan, M.Si
NIP: 195808161 198703 2 001

Diketahui,

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas MIPA

Universitas Hasanuddin,

Dr. Ir., Slamet Santosa, M.Si.
NIP: 19620726 198702 1 001



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP: 19720515 1997002 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Afriani Arif

Nomor Mahasiswa : H052182001

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 05 februari 2021

Yang menyatakan



Nurul Afriani Arif
Nurul Afriani Arif

KATA PENGANTAR

Penulis memanjatkan segala pujian dan rasa syukur tertinggi atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya. Dialah Tuhan semesta alam yang mengajarkan kepada manusia semua ilmu di muka bumi ini.

Penelitian ini timbul dari hasil pengamatan penulis dalam budidaya jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco yang dilestarikan kembali di Kabupaten Bantaeng, namun memiliki kondisi lingkungan berbeda dengan lingkungan yang ada di Kabupaten Selayar. Penulis bermaksud untuk melihat karakteristik morfologi dan genetik dari jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco yang ada di Sulawesi Selatan, khususnya jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco di Kabupaten Bantaeng dan Kabupaten Selayar.

Penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis, Ayahanda Muhammad Arif dan Ibunda Erni, Suami dan saudaraku tercinta beserta keluarga besar yang tiada henti-hentinya memberikan do'a, semangat, motivasi, dan nasehat-nasehat dengan penuh keikhlasan, kesabaran serta dukungan penuh.

Tesis ini dapat terselesaikan dengan adanya bantuan yang penulis peroleh dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih kepada Dr. Sjafaraenan, M.Si, sebagai Ketua Panitia sekaligus Pembimbing I dan Dr. Juhriah, M.Si, sebagai anggota panitia sekaligus Pembimbing II yang telah memberikan

bimbingan pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan penelitian sampai dengan penulisan tesis ini, serta tak lupa pula saya ucapkan kepada Dr. Fahrudin, M.Si, Dr. Elis Tambaru, M.Si, Dr.Syahribulan M.Si selaku penguji sekaligus Sekertaris Jurusan Biologi, yang telah memberikan banyak masukan dan saran.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr.Eng Amiruddin. M.Sc sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya.
2. Dr. Nur Haedar, M.Si. sebagai ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
3. Dr.Slamet Santosa, M.Si sebagai Ketua Prodi Jurusan Biologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala ilmu, arahan serta bimbingan kepada penulis.
4. Seluruh dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penuli selama perkuliahan, serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi.
5. Juniati, S.Si, M,Kes, Nurul Qolbi, S.Si., M.Si. telah membantu saya di laboratorium.
6. Bapak Sabaria dan Bapak H. Jamo yang telah membantu penulis di lapangan kebun Jeruk Keprok di Kabupaten Selayar dan di Kabupaten

Bantaeng. Telah banyak membantu dalam rangka pengumpulan sampel dan berbagai informasi.

Terakhir ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada mereka yang namanya tidak tercantum tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Makassar, Januari 2021

Penulis

ABSTRAK

NURUL AFRIANI ARIF Karakterisasi Morfologi dan Genetik Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco Asal Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng Dengan Marka Molekuler Simple Sequence Repeat (SSR)

Koleksi plasma nutfa *Citrus reticulata* Blanco yang khas di Sulawesi Selatan belum dikarakterisasi secara menyeluruh baik yang ada di Kabupaten Selayar yang menjadi tempat penyebaran pertama dan di Kabupaten Bantaeng menjadi tempat pembudidayaan kembali yang dikarenakan penurunan produktifitas dari tahun 2005 sehingga dilakukan karakterisasi morfologi dan karakter DNA pada kedua lokasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter morfologi dan genetik berdasarkan marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) antara jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco yang berasal dari Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng.

Karakterisasi morfologi dilakukan pengamatan secara kuantitatif dan kualitatif. karakterisasi genetiki merupakan teknik yang cepat dan marka molekuler yang berbasis DNA. Salah satu metode yang baik digunakan yaitu metode *Simple Sequence Repeat* (SSR). Data morfologi diuraikan secara deskriptif sesuai buku panduan *Descriptors for Citrus* (IPGRI 1999). Sedangkan analisis karakterisasi molekuler dilakukan di laboratorium Biologi Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Science Building. Menggunakan Marka SSR dengan 5 primer (GB-CU-038, GB-CU-182, GB-CU-104, GB-CU-098, GB-CU-133) Analisis data dilakukan dengan membuat matriks jarak kesamaan morfologi dan genetik dengan rumus *Simple Matching Coefficient* (SMC), pengelompokan data dengan metode (UPGMA) dan analisis karakter menggunakan aplikasi NTSYS versi 2.0.

Hasil penelitian menunjukkan karakterisasi morfologi berdasarkan matriks jarak kesamaan morfologi dengan nilai terendah 52%. Sampel yang memiliki jarak kesamaan tertinggi dengan nilai 100% yaitu CrT1 dan CrT5, CrT3 dan CrT4, CrB3 dan CrB5. Pada dendogram terdapat 2 kluster utama dengan koefisien 0,81, kluster utama berasal dari kabupaten Selayar dan kluster kedua berasal dari Kabupaten Bantaeng, hal ini dikarenakan adanya bagian perbedaan pada ukuran daun, duri, dan jumlah benang sari. Hasil yang diperoleh dari karakterisasi molekuler yaitu jarak kesamaan terendah dengan nilai 71%. Hasil analisis data pada NTSYS diperoleh dendogram dengan tingkat kemiripan antar individu terbentuk 2 kelompok dengan nilai koefisien 0.71. hal ini memperlihatkan tingkat keragaman yang tinggi, dikarenakan bibit pembudidayaan berasal dari Kabupaten Selayar.

ABSTRACT

NURUL AFRIANI ARIF Morphological and Genetic Characterization of Selayar Tangerines *Citrus reticulata* Blanco from Selayar and Bantaeng Districts with Simple Sequence Repeat (SSR) Molecular Marker

The collection of *Citrus reticulata* Blanco germplasm which is unique in South Sulawesi has not been thoroughly characterized, both in Selayar Regency which is the first distribution site and in Bantaeng Regency which is a re-cultivation site due to decreased productivity from 2005 so that morphological characterization and DNA characters were carried out in both location.

This study aims to determine the morphological and genetic characters based on Simple Sequence Repeat (SSR) markers between Selayar *Citrus reticulata* Blanco tangerines originating from Selayar and Bantaeng districts.

Morphological characterization was carried out by quantitative and qualitative observations. Genetic characterization is a fast technique and molecular marker based on DNA. One good method to use is the Simple Sequence Repeat (SSR) method. Morphological data are described descriptively according to the manual Descriptors for Citrus (IPGRI 1999). While the molecular characterization analysis was carried out in the integrated Biology laboratory of the Faculty of Mathematics and Natural Sciences and the Science Building Laboratory using the SSR Marker with 5 primers (GB-CU-038, GB-CU-182, GB-CU-104, GB-CU-098. , GB-CU-133) Data analysis was performed by creating a morphological and genetic similarity distance matrix with the Simple Matching Coefficient (SMC) formula, grouping data using the method (UPGMA) and character analysis using the NTSYS version 2.0 application.

The results showed morphological characterization based on the morphological similarity distance matrix with the lowest value of 52%. Samples that have the highest similarity distance with a value of 100% are CrT1 and CrT5, CrT3 and CrT4, CrB3 and CrB5. In the dendrogram there are 2 main clusters with a coefficient of 0.81, the main cluster comes from Selayar district and the second cluster comes from Bantaeng Regency, this is due to the differences in leaf size, spines, and number of stamens. The results obtained from molecular characterization are the lowest similarity distance with a value of 71%. The results of data analysis on NTSYS obtained a dendrogram with a level of similarity between individuals, formed 2 groups with a coefficient value of 0.71. This shows a high level of diversity, because the cultivated seeds come from Selayar Regency.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
KATA PENGANTAR	III
ABSTRAK	VII
<i>ABSTRACT</i>	VIII
DAFTAR ISI	IX
DAFTAR TABEL	XI
DAFTAR GAMBAR	XII
DAFTAR LAMPIRAN	XIV
DAFTAR SINGKATAN.....	XV
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. RUMUSAN MASALAH.....	6
C. TUJUAN PENULISAN.....	6
D. MANFAAT PENULISAN	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. TINJAUAN HASIL PENELITIAN	8
B. TINJAUAN TEORI DAN KONSEP	8
1. Morfologi Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata Blanco</i>	8
2. Marka Molekuler	12
3. <i>Simple Sequence Repeat (SSR)</i>	14
4. Kabupaten Selayar	16
5. Kabupaten Bantaeng	17
BAB III METODE PENELITIAN.....	18

A. PENDEKATAN DAN JENIS PENELITIAN	18
B. PENGELOLAAN PERAN SEBAGAI PENELITI	18
C. WAKTU DAN LOKASI PENELITIAN	18
D. ALAT DAN BAHAN.....	19
E. TEKNIK PENGUMPULAN DATA	20
F. TEKNIK ANALISIS DATA.....	20
G. PENGECEKAN VALIDITAS TEMUAN.....	21
H. TAHAP PENELITIAN DAN JADWALNYA.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
A. HASIL.....	28
B. PEMBAHASAN.....	39
1. Morfologi Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Balco.....	39
2. Karakter DNA dari Hasil Amplifikasi PCR (<i>Polimerase Chain Reaction</i>) berdasarkan Marka SSR (<i>Simple Sequence Repeat</i>).....	44
BAB V PENUTUP	50
A. KESIMPULAN	50
B. SARAN.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Daftar Lokus dan Sequence 5 Pasang Primer SSR	20
Tabel 2. Komposisi PCR Mix	24
Tabel 3. Kondisi PCR	25
Tabel 4. Pengamatan Morfologi.....	27
Tabel 5. Morfologi Tanaman Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus Reticulata</i> Blanco	32
Tabel 6. Data biner Karakter Morfologi Jeruk Keprok Selayar.....	34
Tabel 7. Matriks Morfologi Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco	35
Tabel 8. Data Binner Hasil Amplifikasi PCR dengan 5 Primer SSR	36
Tabel 9. Matriks Jarak Genetic 10 Sampel Jeruk Keprok Selayar (<i>Citrus reticulata</i>) Berdasarkan 5 prlmer.	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Helaian Daun (<i>Leaf Lamina</i>).....	10
Gambar 2. Bentuk tepi daun (<i>Leaf lamina margin</i>).....	11
Gambar 3. Dendogram Morfologi Jeruk Keprok Sleyar <i>Citrus reticulata</i> Blanco	33
Gambar 4. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU- 098.	34
Gambar 5. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU- 133.	34
Gambar 6. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU- 038.	35
Gambar 7. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU- 104.	35
Gambar 8. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU- 182.	36
Gambar 9. Dendogram Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco Menggunakan Aplikasi NTSYS.	38

Gambar 10. Perbandingan Bentuk Perlekatan Daun (<i>Leaf Lamina attachment</i>)	40
Gambar 11. Bentuk Tepi Daun.....	41
Gambar 12. Hasil Elektroforesis dari Kualitas DNA Jeruk Keprok Selayar <i>Citrus reticulata</i> Blanco	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian	57
Lampiran 2. Lingkungan Perkebunan Jeruk Keprok Selayar (<i>Citrus reticulata Blanco</i>)	58
Lampiran 3. Morfologi Jeruk Keprok Selayar (<i>Citrus reticulata Blanco</i>) di Kabupaten Bantaeng	59
Lampiran 4. Morfologi Jeruk Keprok Selayar (<i>Citrus reticulata Blanco</i>) di Kabupaten Selayar	60
Lampiran 5. Marker.....	61
Lampiran 6. Data Karakter Morfologi Untuk Pembuatan Data Binner	Error!
Bookmark not defined.	
Lampiran 7. Foto Proses Penelitian.....	62

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
$^{\circ}\text{C}$	Derajat celcius/ suhu
<i>DNA</i>	Deoxiribonucleat Acid
<i>g</i>	Satuan bobot Gram
<i>mg</i>	Satuan bobot milli gram
<i>ml</i>	Satuan Bobot milli liter
<i>SSR</i>	Simple Sequence repeat
<i>PCR</i>	Polymerase Chain Reaction
<i>NTSYS</i>	Numerical Taxonomy and Multy Variate Analysis Sistem
<i>IPGRI</i>	International Plant Genetic Resources Institute
μl	Mikro liter
<i>rpm</i>	Rotasi Per Milli
<i>UPGMA</i>	Unweighthed Pairgroup Method With Arithmetic
<i>UV</i>	Ultra violet
<i>OTU</i>	Operational Taxonomy Unit

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan seluas sekitar 9 juta km² yang terletak diantara dua samudra dan dua benua dengan jumlah pulau sekitar 17.500 buah yang panjang garis pantainya sekitar 95.181 km. Kondisi geografis tersebut menyebabkan negara Indonesia menjadi suatu negara megabiodiversitas walaupun luasnya hanya sekitar 1,3% dari luas bumi diantaranya adalah di sekitar kawasan Wallacea (Kusmana, 2015). Garis Wallace adalah sebuah garis hipotetis yang memisahkan wilayah geografi hewan Asia dan Australasia (Bashari,2014). Indonesia termasuk bagian dari flora dari Malesiana yang diperkirakan memiliki sekitar 25% dari spesies tumbuhan berbunga yang ada di dunia yang menempati urutan negara terbesar ketujuh dengan jumlah spesies mencapai 20.000 spesies, 40%-nya merupakan tumbuhan endemik atau asli Indonesia seperti halnya Jeruk Keprok yang khas dari berbagai penjuru Indonesia.

Jeruk merupakan komoditas buah-buahan yang menjajikan bagi bidang pertanian di Indonesia. Indonesia menempati urutan ke sebelas untuk produsen jeruk dunia pada tahun 2012. Berdasarkan data pertanian tahun 2010 produksi jeruk di Indonesia adalah 256.10 ton/hektar. Indonesia termasuk negara pengimpor kedua di ASEAN setelah Malaysia (Hanif, 2015).

Koleksi plasma nutfah *Citrus reticulata* Blanco yang ada di Indonesia ditanam di Kebun Percobaan Punten milik Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) Batu kota Malang dan sampai saat ini belum dikarakterisasi secara menyeluruh. Karakterisasi *Citrus reticulata* Blanco Selama ini masih dilakukan secara sederhana, yaitu dengan karakterisasi morfologi. Karakter morfologi yang banyak digunakan sebagai informasi tanaman *Citrus reticulata* Blanco diantaranya yaitu organ pohon, daun, bunga, buah, dan biji, namun tidak semua bagian tanaman dapat dijumpai, sehingga identifikasi dilakukan pada bagian organ tanaman yang lain yaitu daun. Menurut Stuessy1991 (dalam Lailati, 2017)

Jenis jeruk yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah jeruk bali *Citrus grandis*, jeruk manis *Citrus sinensis*, jeruk lemon *Citrus medica* jeruk keprok *Citrus reticulata*, jeruk keprok ini memiliki sinonim dengan *Citrus nobilis*. Jenis jeruk keprok yang dikenal yaitu jeruk keprok Garut dari Jawa Barat, keprok Siompu dari Sulawesi Tenggara, Keprok Tejakula dari Bali, keprok Batu 55 dari Batu, Keprok Madura dari Jawa Timur, keprok So'e dari Nusa Tenggara Timur, Keprok Kacang dari Sumatera Barat dan keprok Selayar dari Sulawesi Selatan (Balitjestro, 2012).

Berdasarkan ketersediaan dan kesesuaian lahan untuk tanaman jeruk keprok Selayar, terdapat sekitar 6.750 ha lahan yang potensial untuk pengembangan jeruk keprok selayar pada tahun 1996. Melalui proyek pengembangan agribisnis hortikultura, telah dikembangkan jeruk keprok Selayar seluas 500 ha sampai musim tanam tahun 1999/2000. Dengan

adanya pengembangan tersebut, luas pertanaman mencapai 800 ha atau 320.000 pohon (Dinas pertanian tanaman pangan dan horticultural Kabupaten Selayar, 2016).

Salah satu varietas jeruk yang produktifitasnya semakin menurun ada di Indonesia khususnya Sulawesi Selatan meskipun data atau informasi mengenai kepunahannya belum jelas dan resiko kepunahannya berdasarkan distribusi atau populasi (informasi kurang) *Data deficient*. Data statistik Selayar merekam terjadinya penurunan luas lahan dan produktivitas jeruk sejak tahun 1990-an. Pada tahun 1994 produktifitas mencapai 64 kg/pohon turun menjadi 20 kg/ pohon pada tahun 1997. Data tiga tahun terakhir menunjukkan trend penurunan produksi jeruk keprok, tahun 2005 (21.409,24), tahun 2006 (3.373,72), dan tahun 2007 (2.289,50). (Selayar dalam angka, 2008). Jika diperhatikan data-data ini, memang amat memprihatinkan, dan sejatinya menjadi cambuk bagi pemerintah Kabupaten dalam mendorong produktifitas jeruk. Kematian tanaman jeruk di Selayar disebabkan oleh penyakit yang namanya *Citrus vein phloem degeneration* (CVPD) dan blendok. Penyakit ini disebabkan oleh sejenis bakteri *Liberobacter asiaticum*. Bakteri ini menyerang pembuluh ploem yang mengakibatkan pembuluh ploem tidak bisa melakukan fungsinya untuk mentransformasikan berbagai kebutuhan hara (baik makro dan mikro) ke bagian-bagian tanaman yang membutuhkan lewat proses fotosintesis. Akibatnya pohon jeruk akan mengalami gejala misalnya daun dan tajuk menguning, daun kaku, dan terlihat bercak klorosis (Alin, 2013).

Jeruk keprok Selayar merupakan salah satu komoditas hortikultura unggulan (Pasandaran, 2016) dan spesifik daerah Sulawesi Selatan. Tanaman ini juga sudah lama diusahakan oleh petani dan dibudidayakan di Kabupaten Bantaeng dengan keuntungan usaha tani yang cukup tinggi (Taufik et al, 2014).

Jeruk keprok memiliki banyak manfaat baik dari segi kesehatan dan juga dari segi ekonomi. Jeruk ini memiliki vitamin C dan juga memiliki sisi ekonomis yang kompetitif. Namun saat ini banyak petani jeruk di Selayar mengawinkan jeruk keprok selayar dengan jeruk polewali untuk mendapatkan hasil produk jeruk yang lebih unggul (Alin, 2013).

Menurut Richard Frankham, 2013. Bagian tubuh organ yang terkuat untuk membuktikan secara teori dan empiris menunjukkan bahwa perubahan genetik dalam populasi kecil yang menentukan nasib kelangsung hidup makhluk tersebut, secara khusus yaitu, Perkawinan sedarah menyebabkan kepunahan, Perkawinan sedarah telah berkontribusi pada kepunahan di beberapa populasi alami dan dapat mengilangnkan keragaman genetik meningkatkan kerentanan.

Analisis keragaman genetik tanaman dapat dilakukan secara karakterisasi morfologi maupun dengan menggunakan marka molekuler. Penggunaan marka molekuler memiliki keuntungan karena dapat meningkatkan efisiensi seleksi dalam pemuliaan tanaman dengan cara seleksi tidak langsung terhadap karakter yang diharapkan. Selain itu, marka molekuler tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan dapat mendeteksi pada

semua tempat perkembangan atau bagian tanaman (Mohan et al. 2017). Marka molekuler dapat digunakan untuk analisis pautan dan pemetaan genetik, identifikasi genotipe, menduga keragaman genetik dan kekerabatan inter dan antar spesies atau varietas dan juga dapat membantu menjelaskan filogenetiknya (Weising et al. 2014).

Jeruk Keprok *Citrus reticulata* Blanco mampu tumbuh diberbagai wilayah yang ada di Indonesia. Banyak daerah sentra produksi *Citrus reticulata* Blanco, yang membudidayakan varietas local dengan nama yang berbeda, akan tetapi memiliki morfologi yang sama. Untuk keperluan pengembangan varietas dan konservasi, identitas varietas menjadi hal yang penting. Berbagai metode karakterisasi untuk menentukan identitas varietas pada jeruk telah banyak dikembangkan, diantaranya karakterisasi morfologi, biokimia, dan molekuler (yulianti, 2016).

Pemanfaatan marka molekuler sebagai alat bantu seleksi lebih menguntungkan dibandingkan seleksi secara fenotipe. Seleksi dengan bantuan marka molekuler didasarkan pada sifat genetic tanaman saja tanpa pengaruh faktor lingkungan (Kurniasih, 2012).

Salah satu marka molekulernya yang biasa digunakan untuk analisis keragaman genetik adalah mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeat* (SSR) (Roder et al 1995). Metode ini mempunyai tingkat polimorfisme yang tinggi, lokus yang spesifik, mudah diperbanyak, hanya membutuhkan sedikit DNA dan mempunyai sifat kodominan (Pugh et al, 2014).

Oleh karna itu penelitian ini dilakukan untuk melihat karakter morfologi dan molekuler dari jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dalam hal konservasi tumbuhan jeruk keprok kabupaten selayar *Citrus reticulata* Blanco yang ada di Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng dengan cara karakterisasi morfologi dan genetik menggunakan marka molekuler *Simple Sequence Repeat* (SSR).

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada tesis ini yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana Perbandingan morfologi jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco yang berada di Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng.
2. Bagaimana karakter molekuler jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco asal kabupaten selayar dan Kabupaten Bantaeng berdasrakan karakterisasi marka molekuler.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian pada tesis ini yaitu sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui karakter morfologi jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco yang berada di Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng.
2. Untuk melihat karakter genetik jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar dan kabupaten Bantaeng

berdasarkan karakterisasi marka molekuler menggunakan metode *Simple Sequence Repeat* (SSR).

D. Manfaat penelitian

Manfaat penelitian pada tesis ini yaitu sebagai berikut:

1. Untuk memberikan pengetahuan tentang karakterisasi morfologi dan genetik pada jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco.
2. Upaya mengkonservasi jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco di Sulawesi Selatan Khususnya Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Hasil Penelitian

Karakterisasi morfologi merupakan teknik yang cepat, karena difokuskan untuk mengamati bentuk morfologi yang tampak, akan tetapi Teknik karakterisasi tersebut memiliki keterbatasan yaitu dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga akan memberikan hasil yang berbeda-beda bergantung pada tempat tumbuhnya (Suparman, 2012)

Keragaman genetik merupakan variasi gen dalam satu spesies baik diantara populasi-populasi yang terpisah secara geografis maupun diantara individu-individu dalam satu populasi. Adanya keanekaragaman morfologi erat kaitannya dengan keanekaragaman genetik (Sijapati et al., 2018).

Identifikasi molekuler memerlukan tahapan awal yaitu isolasi DNA genom. Prinsip isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel lainnya seperti protein dan karbohidrat. Isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia (Murtiyaningsi, 2017).

B. Tinjauan Teori Dan Konsep

1. Morfologi Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

Jeruk keprok Selayar merupakan salah satu komoditas hortikultural unggulan (Pasandaran 1996) dan spesifik daerah Sulawesi Selatan.

Tanaman ini sudah lama diusahakan oleh petani dengan keuntungan usaha tani yang cukup tinggi, B/C 5,70 (Taufik *et al.*2014). Jeruk diintroduksi ke Pulau Selayar pada tahun 1925 (Hatta, 2013).

Munte cina atau dalam beberapa refrensi ilmu pertanian disebut jeruk keprok (species; *Citrus reticulata* Blanco). Tanaman ini dibudidayakan di Selayar sudah cukup lama oleh petani. Menurut Roesmiyanto dan Hutagalung (1989) jeruk di introduksi ke Selayar tahun 1925. Munte cina merupakan komoditas unggulan hortikultura yang spesifik. Dikatakan spesifik karena tidak dimiliki didaerah yang lain, sehingga merupakan keunggulan absolut. Sentra-sentra penghasil jeruk di Selayar misalnya di Batangmata Kecamatan Bontomate. (Alin, 2013).

Citrus reticulata Blanco merupakan tanaman yang berbentuk pohon dengan tinggi mencapai 2-8 m. pohon *Citrus reticulata* Blanco mempunyai bentuk tajuk yang tidakberaturan, dahan kecil dan menyebar serta mempunyai cabang yang banyak. Daun *Citrus reticulata* Blanco termasuk daun majemuk dan mempunyai tangkai pendek. Daun terdiri dari dua bagian yaitu *lamina* dan *petiole*. *Lamina* (helaian daun) berbentuk bulat telur atau lanset dengan bentuk ujung runcing sedikit tumpul, demikian juga pangkalnya meruncing. Bunga *Citrus reticulata* Blanco merupakan bunga majemuk. Berdasarkan susunannya, ada yang menyerupai bentuk payung, berbentuk tandan dan ada yang berbentuk malai. Diameter bunga berkisar antara 1,5-2,5 cm. bunga *Citrus reticulata* Blanco termasuk bunga yang berjenis kelamin ganda (*hermaphroditus*) berwarna putih dengan kelopak

berbentuk cawan dan bulat telur, bunga muncul pada bagian ketiak daun atau pada ujung cabang. (Tjitrosoepomo 2005 dalam fifith, 2018).

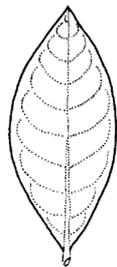
Buah *Citrus reticulata* Blanco seperti bola tertekan, panjangnya berkisar 5-8 cm. dengan diameter rata-rata 5,19 cm. Buah *Citrus reticulata* Blanco termasuk golongan buah sejati tunggal berdaging dan berair tipe buah jeruk (*Hesperedium*).

Karakterisasi *Citrus reticulata* Blanco, secara morfologi dilakukan berdasarkan *Descriptors For Citrus* (IPGRI 1999). Diantara karakter yang diamati yaitu :

1. Siklus hidup vegetatif (*Vegetative life cycle*)

Jenis siklus hidup vegetative jeruk keprok yaitu *Evergreen* merupakan Jenis tumbuhan yang mempertahankan daunnya sepanjang tahun.

2. Pembagian daun (*Leaf division*)



Gambar 1. Helaian Daun (*Leaf Lamina*)

Jenis pembagian daun pada jeruk keprok yaitu Beranak daun 1 (*simple*) merupakan Satu tangkai daun terdiri dari satu helai daun.

3. Intensitas warna hijau (*Intensity of green colour of leaf blade*)

4. Bentuk perlekatan daun (*Leaf Lamina attachment*)

Bentuk perlekatan daun pada jeruk keprok berbentuk *Sessile* yaitu Tidak mempunyai sayap daun

5. Bentuk helai daun (Leaf lamina shape)

a. Jorong (*elliptic*) = jika panjang : lebar = $(11/2 - 2) : 1$

b. Bulat telur (*ovate*)

c. Bulat telur terbalik (*obovate*)

d. Lanset (*lanceolate*) jika panjang : lebar = $(3-5) : 1$

e. Bulat/bundar (*orbicular*) jika panjang : lebar = $1 : 1$

6. Bentuk tepi daun (Leaf lamina margin)

Bentuk tepi daun pada jeruk keprok yaitu Berliuk (*sinuate*) merupakan Sinus dan angulusnya tumpul – bergelomban.



Gambar 2. Bentuk tepi daun (*Leaf lamina margin*)

7. Ujung Daun (Leaf apex)

a. Runcing (*acutus*): jika pertemuan kedua tepi daun membentuk sudut lancip ($< 90^0$). Terdapat pada daun-daun bangun: bulat memanjang, segitiga sama kaki, segitiga sama sisi, belah ketupat.

b. Meruncing (*acuminatus*): seperti pada ujung runcing, tetapi pertemuan ke dua tepinya jauh lebih tinggi dan tampak sempit panjang, serta runcing.

- c. Tumpul (*obtusus*): jika pertemuan kedua tepi daunnya membentuk sudut tumpul ($>90^{\circ}$)

Karakter morfologi merupakan Teknik yang mudah dan cepat, karena difokuskan untuk mengamati bentuk morfologi yang tampak. Akan tetapi, Teknik karakterisasi tersebut memiliki keterbatasan yaitu dipengaruhi oleh lingkungan sehingga memberikan hasil yang berbeda-beda bergantung pada tempat tumbuhnya (suparman, 2012).

2. Marka Molekuler

Analisis keanekaragaman genetik tanaman dapat dilakukan secara morfologi dengan pengamatan langsung terhadap fenotip maupun dengan menggunakan marka molekuler. Karakter pada morfologi telah lama digunakan untuk mengidentifikasi varietas, spesies, genus, maupun family dari satu jenis tanaman. Karakter pada morfologi memiliki kelemahan karena seringkali dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Marka molekuler memiliki kelebihan dibandingkan dengan marka fenotipe, dapat meningkatkan efisiensi seleksi dan pemuliaan tanaman dengan cara seleksi secara tidak langsung terhadap karakter yang diharapkan, tetapi terhadap marka molekuler yang terpaut dengan karakter tersebut selain itu, marka molekuler tidak diregulasi lingkungan sehingga tidak dipengaruhi oleh kondisi dimana tanaman tersebut berada, juga marka tersebut dapat terdeteksi pada semua tahap perkembangan tanaman (Mohan *et al* dalam Kurniasih, 2012).

Menurut Marra (2013), definisi marka (penanda) molekuler adalah sekuen DNA yang dapat diidentifikasi, dan terdapat pada lokasi tertentu pada genom, dan dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya.

Linoss (2014) berpendapat bahwa marka molekuler adalah DNA yang teridentifikasi, ditemukan pada lokasi tertentu pada genom, diwariskan dari generasi ke generasi berikutnya dengan mengikuti hukum pewarisan sifat. Sehingga dari beberapa pengertian tersebut dapat disimpulkan pengertian Marker molekuler merupakan sekuen DNA yang teridentifikasi pada genom dan dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya dengan mengikuti hukum pewarisan sifat.

Marker molekuler dapat dianggap sebagai bagian yang tidak mudah mengalami perubahan akibat aktifitas genetik seperti mutasi dan insersi atau proses seleksi alam. Sehingga pada proses evolusi daerah tersebutlah yang tetap akan diwariskan oleh ancestor (leluhur) kepada keturunan berikutnya. Marka molekuler memiliki beberapa kelebihan antara lain:

- a. Marka molekuler tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang sangat bervariasi sehingga marka molekuler merupakan daerah yang conserve.
- b. Marka molekuler terdapat pada semua genom, sehingga banyak ditemukan pada semua genom individu yang akan dilihat polimorfismenya.
- c. Marka molekuler sangat conserve sehingga perubahan yang terjadi sangatlah sedikit, maka dapat dijadikan penanda bahwa organisme

tersebut masih dalam satu kelompok atau tidak dilihat dari marke tersebut.

Menurut Varma (2011) pemilihan marka berdasarkan atas mode pewarisan, sensitivitas, perbandingan terhadap suatu masalah, dan reproduibilitas. Marka molekular dibagi atas marka dominan dan marka kodominan. Marka ko-dominan adalah salah satu marka yang dapat mengidentifikasi semua alel yang ada pada suatu lokus tertentu, sedangkan marker dominan hanya mengungkap alel dominan tunggal saja tetapi pada lokus yang sama. Data ko-dominan umumnya lebih tepat daripada data dominan tetapi marka dominan biasanya membutuhkan waktu lebih cepat dan lebih mudah mendapatkan data.

3. *Simple Sequence Repeat (SSR)*

Salah satu marka molekuler yang telah digunakan secara luas adalah *Simpel Sequence Repeat (SSR)* atau mikrosatelit. Marka ini telah digunakan dalam berbagai studi, diantaranya studi keragaman genetik atau identifikasi varietas tanaman (Pugh, 2004).

Mikrosatelit atau Simple Sequence Repeats (SSR) adalah salah satu penanda DNA berdasarkan teknik PCR (Varshney et al. 2005). SSR adalah lokus spesifik, kodominan dan marka molekuler yang didasarkan pada sekuen DNA repetitif. SSR tersusun atas dua sampai enam nukleotida seperti (AT)_n, (AGC)_n, atau (GACA)_n yang tersebar pada genom makhluk hidup eukariotik. Variasi alel pada lokus mikrosatelit dengan mudah dapat diperoleh dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik. Penanda ini

menggunakan primer (potongan pendek DNA sintetik) yang mengandung motif mikrosatelit pendek pada ujung 3' atau 5' atau mengapit daerah mikrosatelit. Saat ini mikrosatelit dapat dipakai sebagai alat dalam program pemuliaan karena kemampuan yang tinggi dalam mendeteksi perbedaan urutan basa, sampai satu pasang basa. Penggunaan mikrosatelit relatif mudah karena menggunakan teknik PCR. Melalui teknik PCR DNA yang sudah diisolasi diperbanyak secara *in vitro* dengan menggunakan urutan nukleotida sebagai primer (potongan DNA sintetis yang dibuat pabrik). Proses perbanyak menggunakan alat yang disebut "DNA Thermal Cycler" (Thermolyne). Hasil perbanyak DNA melalui teknik PCR dimulai dari satu molekul DNA kemudian diperbanyak sampai 100 juta molekul DNA yang sama dalam waktu 30 menit (Goldstein, 2018).

Mikrosatelit sangat bermanfaat sebagai penanda genetik karena bersifat kodominan, memiliki polimorfis alel sangat tinggi, cukup mudah, dan ekonomis dalam pengujiannya (Taudz, 2013).

Analisis lokus mikrosatelit dapat dilakukan dengan amplifikasi *in vitro* pada daerah ulangan nukleotida menggunakan PCR (Saiki *et al.* 1988), menggunakan primer spesifik lokus yang komplemen dengan urutan susunan daerah nukleotida yang berulang. Sekuen mikrosatelit yang pendek menyebabkan sekuen tersebut dapat diamplifikasi menggunakan PCR secara efisien, dengan sekuen pengapitnya sebagai primer. Variasi jumlah ulangan mikrosatelit dapat dideteksi menggunakan elektroforesis hasil amplifikasi produk DNA pada suatu gel dengan standar sekuen, yang

mampu memisahkan fragmen dengan perbedaan setara dengan satu nukleotida (Taudz, 2013).

Adanya mikrosatelit yang berlimpah dalam genom, dan tingkat polimorfisme yang tinggi dan mudah untuk dianalisis, membuat mikrosatelit menjadi pilihan marka untuk pemetaan genetik dan analisis keterpautan pada hampir sebagian spesies. Analisis mikrosatelit secara teratur menggunakan PCR hanya memerlukan jumlah bahan nukleotida sangat sedikit dan dapat digunakan secara otomatis, sehingga merupakan nilai tambah bagi mikrosatelit sebagai penanda (marka), baik studi untuk gen maupun pemetaan genom (Jannati *et al*, 2014)

4. Kabupaten Selayar

Kabupaten Selayar merupakan daerah kepulauan dengan luas wilayah 903,35 km². Menurut laporan Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Kabupaten Selayar (1998), Daerah terletak pada ketinggian tempat 0–600 m dari permukaan laut, dengan topografi datar sampai bergelombang. Pada lahan yang baru ditanami jeruk, kesuburan tanah tergolong cukup baik.

Pertanaman jeruk di Kabupaten Selayar terdapat pada lima kecamatan yaitu bontomatene, bontosikuyu, bontoharu, pasimasunggu dan pasimarannu. Pertanaman terluas terdapat di bontomatene. Menurut petugas pertanian dan masyarakat setempat, jeruk dengan mutu terbaik dihasilkan dari Batang mata dan Batang matasapo. Pertanaman jeruk di tempat ini terletak pada ketinggian 50-200 m dari permukaan laut dengan

keadaan tanah berbatu karang. Menurut petani pengalaman petani, jeruk sangat baik tumbuhnya pada tanah yang demikian (Dinas Pertaniantanaman Pangan Kabupaten Selayar, 1996).

5. Kabupaten Bantaeng

Kabupaten Bantaeng merupakan sebuah Kabupaten dengan luas wilayah 539,83 km². Kabupaten Bantaeng mempunyai iklim tropis basah bulan oktober sampai maret merupakan musim hujan, dan kemarau jatuh antara bulan april sampai september. Temperatur udara 18 sampai 28°C. Wilayah terdiri dari pesisir pantai, lembah daratan dan bukit pegunungan berada pada ketinggian 0 sampai lebih dari 1.000 m diatas permukaan laut.

Adapun penerapan budidaya jeruk keprok Selayar di Kabupaten Bantaeng, pengkajian dilakukan dikecamatan Bissapu pada bulan Mei sampai Desember 2004 dengan melibatkan masing-masing petani kooperator dan non koperator (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan, 2015).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Pendekatan dan Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksploratif.

B. Pengelolaan Peran Sebagai Peneliti

Penulis berperan sebagai peneliti dan instrumen penelitian hanya menjadi pendukung penelitian. Kehadiran peneliti sebagai partisipan penuh.

C. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Maret 2020. Pengambilan sampel yang dilakukan di Kabupaten Selayar yaitu Kecamatan Bontomatene desa Batang Matasapo dan lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Bantaeng yaitu Kecamatan Bissapu desa Bonto Langkasa. Selanjutnya tahap pengerjaan sampel yang dilakukan di Laboratorium Molekuler Science Building dan Laboratorium Biologi Terpadu Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mikropipet, freezer -72°C, gunting, Laminar air Flow, mortal, *pestle*, spatula steril, gelas ukur, tabung mikro 2 ml, 1,5 ml dan 0,5 ml, *water bath*, *sentrifuge*, erlenmayer, elektroforesis, mesin PCR (*polymerase Chain Reaction*), nampan, oven, Shaker, Autoclave, pinset, baskom dan mikro pipet, *ependorf*, microwave, *gel documentation*.

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan yaitu pengambilan sampel daun mudah jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco Kabupaten Selayar 5 sampel dari tetua jeruk keprok Selayar Desa Batang Matasapo (CrTs1, CrTs2, CrTs3, CrTs4, CrTs5), 5 sampel diambil dari kabupaten bantaeng Desa Bonto Lankasa (CrBBs1, CrBBs2, CrBBs3, CrBBs4, CrBBs5, primer SSR, Genomic DNA mini kit (plant), Rnase, TE buffer, Nanodrop dan primer ssr dengan locus GB-CU-098, GB-CU-038, GB-CU-182, GB-CU-014, GB-CU-133 dan geneid mini kit plant, Air ultra pure steril, @primer Mix (F dan R) µl, Go Taq green Master Mix, Agar rose 2% .

Tabel 1. Daftar Lokus dan Sequence 5 Pasang Primer SSR

No	Lokus SSR	Repeat Type	Primer Sequence	PIC
1	GB-CU-098	(AC)8	^F TCTTCTCCCAGTTGGGGT ^R CCGGACCCAGAATCAGTC	0.485
2	GB-CU-038	(AG)2(GA)(AG)4	^F AACGACGGCATACTGC ^R GAGTCCTCCTCCCTGTCC	0.525
3	GB-CU-182	(TC)11, (TG)5GG(TG)2	^F GCTGATGCAAAATCGGAG ^R GCCATTTCTTTTCCACC	0.514
4	GB-CU-104	(TG)2(T)2(TG)4	^F AGATTGCAGACTGGCGAA ^R ACACAAATCACACTCGCAGA	0.643
5	GB-CU-133	(TG)2(T)(TG)6,(TG)5 (GC)(TG)3	^F TGCAGTCTGTGTGTGTTT ^R TGACACAACCTTGACCTTGTAC	0.674

E. Teknik Pengumpulan data

Pada penelitian ini pengumpulan data diambil mulai dari pengambilan sampel ekstraksi DNA, penentuan kualitas DNA pada sampel, optimasi PCR sampai dengan Running PAGE DNA Hasil Amplifikasi dengan Marka SSR.

F. Teknik Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan melihat jumlah alel yang dihasilkan untuk masing-masing primer untuk karakterisasi molekuler dan ciri fenotipe yang dihasilkan tiap sampel. Dan melakukan skoring, jika terdapat ciri yang muncul dinilai 1 dan jika tidak terdapat nilai ciri dinilai 0. Analisis pengelompokan berdasarkan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Arithmetic*) dengan soft ware NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multyvariate Analysis System*).

G. Pengecekan Validitas Temuan

Peneliti melakukan usaha-usaha untuk memperoleh keabsahan temuannya yaitu peneliti hadir di lapangan untuk pengambilan sampel, observasi yang mendalam, triangulasi (Sumber, metode dan teori) dan data dapat dilihat melalui aplikasi NTSYS versi 2.0 dengan matriks jarak kesamaan morfologi maupun genetik dan dendogram.

H. Tahap Penelitian dan Jadwalnya

1. Pengambilan sampel dan Preparasi Sampel

Pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan Januari-Maret, dengan 2 lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Selayar yaitu Desa Batang Matasapo Kecamatan Bonto Matene, lokasi di Kabupaten Bantaeng yaitu Desa Bonto Llangkasa Kecamatan Bissapu Sampel diambil dengan metode pengambilan lima titik dengan mengamati dan mengukur ciri morfologinya.

Preparasi sample yang telah diambil di 2 lokasi dengan metode pengambilan 5 titik pengambilan sampel, daun yang diambil daun muda yang tidak cacat.

2. Isolasi DNA

Protokol yang digunakan untuk ekstraksi DNA adalah prosedur ekstraksi berbasis Genomic DNA mini kit plant. Sampel daun muda segar dari 10 sampel digerus masing-masing 50-100 mg, lalu ditambahkan buffer ekstraksi kit geneaid, kemudian sampel yang telah digerus dipindahkan ke

dalam Eppendorf berukuran 2 ml. Ditambahkan 400µl GP1, kemudian divortex. Diinkubasi di water bath pada suhu 60°C selama 75 menit (setiap 10 menit campuran dibolak-balik dan 15 menit terakhir) kemudian ditambahkan GP2 buffer, kemudian divortex dan diinkubasi di dalam es selama 10 menit. Ditambahkan 700 µl isopropanol dingin, kemudian disimpan dalam freezer -20 °C selama 1 x 24 jam. Selanjutnya disentrifuge pada 10.000 rpm selama 5 menit. Kemudian Diletakkan filter coloum pada tabung ependorf 2 ml. kemudian larutan dipindahkan ke filter coloum. Dicentrifuge dalam 100 rpm selama 1 menit. Selanjutnya coloum di buang. Kemudian ditambahkan 2,5 µl GP3 lalu dibolak balik. Kemudian GD coloum diletakkan pada tabung Eppendorf 2 ml, kemudian larutan di pindahkan menggunakan mikro pipet kedalam GD coloum. Dicentrifugasi selama 2 menit (sementara elusi dipanasi). Pada GD coloum ditambahkan WD buffer lalu dicentrifuge 10.000 rpm selama 1 menit. Cairan di buang pada tube selanjutnya ditambahkan 600µl wash buffer lalu di centrifuge dalam 10.000 rpm selama 1 menit kemudian cairan pada tube di buang. GD coloum dicentrifuge Kembali pada 10.000 rpm selama 3 menit. GD coloum dipindahkan ke tube 1,5 ml, kemudian ditambahkan elition buffer 100µl (yang telah dipanaskan) tepat pada tengah coloum lalu dibiarkan dalam suhu ruang selama 5-10 menit. Lalu dicentrifuge pada 10.000 rpm selama 1 menit. GD coloum dibuang dan larutan yang di peroleh pada tube 1,5 ml adalah larutan DNA, ditambahkan RNase sebanyak 3µl pada larutan DNA. Larutan DNA disimpan sebagai stok dalam freezer suhu -20 °C. stok larutan

DNA untuk menyimpan dalam jangka waktu yang lama digunakan freezer - 80 °C.

3. Penentuan Kualitas dan kuantitas DNA

DNA hasil isolasi selanjutnya diuji kualitas dan kuantitasnya menggunakan elektroforesis gel agarose 1 % dan Nanodrop 2000 spektrofotometer untuk melihat konsentrasi dan kemurniannya. Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan protein diukur pada panjang gelombang 280 nm. Batas kemurnian yang diterima dalam analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1.8 – 2.0.

4. Pengenceran DNA

Larutan DNA stok diencerkan menjadi 10 ng/ µl sebagai larutan stok kerja untuk PCR lalu disiapkan 100 µl larutan stok kerja atau secukupnya sesuai dengan jumlah kebutuhan reaksi PCR, menghitung seberapa banyak larutan DNA stok yang akan dilarutkan, menggunakan rumus berikut:

$$M_1V^1=M_2V^2$$

$$(20 \text{ ng/ } \mu\text{l})(V_1)=(10 \text{ ng/ } \mu\text{l})(100 \mu\text{l})$$

$$V_1=(10\text{ng/ } \mu\text{l})(100 \mu\text{l})/(20\text{ng/ } \mu\text{l})$$

$$V_1=50 \mu\text{l}$$

Dimana M adalah konsentrasi DNA stok (Misalnya 20 ng/ µl) V1 adalah volume stok yang akan dilarutkan, M2 adalah konsentrasi larutan kerja yang disiapkan (misalnya, 100 µl). Kemudian diambil volume yang

sesuai dari larutan DNA stok, dipindahkan ke dalam tabung mikro 0,5 ml, dan ditambahkan nano pure sampai 100 μ l.

5. Optimasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Template DNA dari masing-masing sampel jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco diamplifikasi menggunakan 4 primer SSR yang telah dikembangkan oleh Lanaud et al (1999) dan (Kurniasih et al 2012). DNA Hasil Amplifikasi dengan Marka SSR. Kemudian Larutan DNA (50 ng/ μ l) dimasukkan pada plate master kemudian ditutup dengan rapat untuk mengurangi penguapan dan disimpan pada suhu 4 °C. Untuk PCR, diambil 1 μ l atau sekitar 10 ng sampel DNA dari plate master ke microplate PCR menggunakan pipet *multichannel*. DNA tersebut ditempatkan pada *well*. Disiapkan PCR dalam tabung mikro dengan mencampurkan komponen-komponen penyusunnya seperti pada table berikut ini:

Tabel 2. Komposisi PCR Mix

Larutan Stok	Volume/Reaksi
DNA Sampel	1 μ l
Air ultra pure steril	5 μ l
@primer Mix (F dan R) μ M	0,5 μ l
Go Taq green Master Mix	6 μ l
Volume reaksi total	12,5 μ l

Diambil campuran PCR Mix Kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tbung PCR menggunakan mikro pipet 10 μ l atau pipet. Sekanjutnya ditambahkan satu tetes mineral oil dan ditutup plate dengan aluminium foil. Kemudian Mikroplate diletakkan dalam PCR dan dilakukan proses PCR menurut program seperti pada tabel berikut ini

Tabel 3. Kondisi PCR

Step	Reaksi	Kondisi
1	Denaturasi Awal	95°C selama 5 menit
2	Denaturasi	94 °C selama 30 detik
3	Annealing	Suhu disesuaikan dengan primer 72 °C selama 1 menit
4	Pemanjangan	Kembali ke step 2, 29 kali
5	Pengulangan siklus	72 °C selama 5 menit
6	Pemanjangan akhir	40°C tdk terhingga
7	Penyimpanan	

Setelah proses PCR selesai, microplate diangkat dan disimpan produk PCR pada -20°C atau 4°C.

6. Pembuatan Gel Agarose 2% dan elektroforesis hasil PCR

Pembuatan gel agarose, Disiapkan instrument elektroforesis. Pada bagian kaki dipasang selotip dan sisir diletakkan pada posisinya. Lalu disiapkan gel agarose 2% (w/v) dengan cara menimbang 2,0 g agarose dimasukkan kedalam erlenmayer *Flash* kering berukuran 500 ml dan tambah 100ml buffer TBE 0,5 X, dipanaskan dalam microwave selama 3 menit atau sampai semua agarose benar-benar sudah meleleh. Larutan dibiarkan sampai dingin sekitar 50°C atau sampai erlenmayer. Sebelum dituang dalam cetakan ditambah 2 tetes EtBr. Selanjutnya gel dituangkan kedalam cetakan dan dibiarkan sampai gel memadat selama 1 jam. Tangka elektroforesis diisi secukupnya (kira-kira sampai menutupi seluruh gel dengan buffer TBE 0.5 µl. Sisir gel diangkat dari cetakan dengan hati-hati dan gel dengan cetaknya diletakkan di dalam rangka elektroforesis. DNA hasil PCR dipipet sebanyak 4 µl dan dimasukkan kedalam masing-masing sumur gel dengan hati-hati. Dimasukkan 2 µl penanda berat molekul

(marker) pada sumur pertama dan terakhir. Elektroforesis dilakukan pada tegangan listrik 110 Volt selama 80 menit. Gel diletakkan diatas UV Transiluminator dan visualisasi DNA dengan menggunakan gel dokumentasi. Posisi pita ditentukan dengan cara membandingkan posisi pita DNA sampel dan marker.

7. Skoring dan Analisis Data

Analisis data dimulai dengan scoring pita, pengkodean data, dan analisis karakter. data diolah menggunakan program *numerical taxonomy and multivariate analysis system* (NTSYS) versi 2.0 hasil yang diperoleh berupa dendogram yang menunjukkan hubungan kekerabatan dan jarak kesamaan yang dimiliki oleh seluruh aksesi yang diteliti. Koefisien kesamaan dihitung dengan rumus *simple cocf matching* (SCM) sebagai berikut:

$$SMC = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

Keterangan:

a = jika pita muncul pada kedua OTU (*Operational Taxonomy Unit*)

b = jika pita muncul pada OTU 1 dan tidak muncul OTU 2

c = jika pita tidak muncul pada OTU 1 tapi muncul pada OTU 2

d = jika pita tidak muncul pada kedua OTU

Pengelompokan dilakukan dengan menggunakan metode *Unweigthed Pairgroup Method Arithmetic* (UPGMA).

4 Pengamatan Morfologi

Pengamatan dilakukan terhadap morfologi tanaman yang merujuk pada buku *Descriptors for citrus (International Plant Genetic resource institute,1999)*.

Tabel 4. Pengamatan Morfologi

Kuantitatif	Kualitatif
Panjang daun	Warna daun
Lebar daun	Tipe tepi daun
Jumlah mahkota	Warna mahkota bunga
Jumlah benang sari	Warna anther
Panjang duri	
Jumlah kelopak	Warna kelopak

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Morfologi Batang, Daun dan Bunga Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

Hasil pengamatan dilakukan terhadap jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco pada dua lokasi pengambilan sampel dengan masing-masing 5 titik pengambil sampel pada tiap lokasi yaitu di Kabupaten Selayar Kecamatan Bontomatene Desa Batang Matasapo dan lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Bantaeng Kecamatan Bissapu Desa Bonto Langkasa.

Adapun hasil karakterisasi morfologi menunjukkan bahwa terdapat keragaman pada 10 sampel jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dengan melakukan pengamatan secara kuantitatif meliputi pengukuran Panjang daun, lebar daun, jumlah mahkota, jumlah benang sari, Panjang duri, jumlah kelopak dan secara kualitatif meliputi warna daun, tipe tepi daun, warnamahkota bunga, warna anther dan warna kelopak, hasil dapat dilihat pada table di bawah ini.

Warna kelopak	hijau									
Jumlah Kelopak	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Jumlah benang sari	14	14	13	15	13	15	13	14	14	15
Warna putik	kuning									

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

Data morfologi dibuat berupa data biner menggunakan metode UPGMA (*Unweighed Pairgroup Method Arithmetic*) untuk memberikan nilai kesamaan dari suatu ciri morfologi, jika ciri atau suatu karakter yang terdapat pada suatu sampel maka diberi nilai 1 dan jika ciri atau karakter tersebut tidak muncul maka diberi nilai 0 dapat dilihat pada table 6.

Tabel 6. Data binner Karakter Morfologi Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

Ciri	Sampel Jeruk Selayar									
	CrT1	CrT2	CrT3	CrT4	CrT5	CrB1	CrB2	CrB3	CrB4	CrB5
Bentuk Batang Silindris	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Panjang duri 3-5cm	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Panjang duri 5,1-7,0cm	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Daun Hijau Mengkilap	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tepi Daun <i>Sinuate</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Panjang Daun 5-6cm	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Panjang Daun 6,1-7 cm	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Lebar Daun 2-3 cm	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Lebar Daun 3-4 cm	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0
Warna Mahkota Putih	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Jumlah Mahkota 5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Warna Kelopak Hijau	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Jumlah Kelopak 4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Jumlah Benang Sari 13	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
Jumlah Benang Sari 14	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0
Jumlah Benang Sari 15	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Warna Putik Kuning	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

1 : Nilai untuk ciri yang muncul pada sampel

0 : Nilai untuk ciri yang tidak muncul pada sampel

Data biner yang telah dibuat yang akan menentukan hasil matriks morfologi jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco berdasarkan *Simple matching Coefisient* untuk melihat derajat kesamaan dari satu sampel dengan sampel yang lainnya dapat dilihat pada table 7.

Tabel 7. Matriks Jarak Kesamaan Morfologi Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

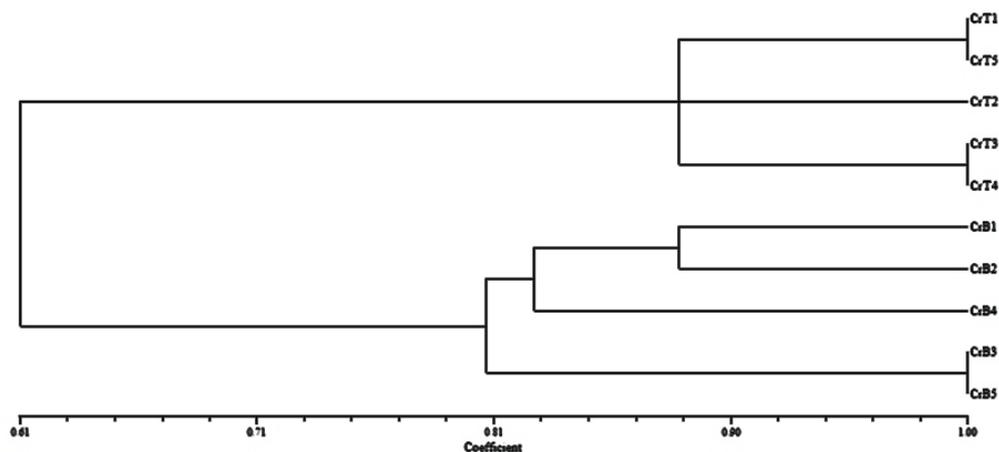
Rows/cols	CrT1	CrT2	CrT3	CrT4	CrT5	CrB1	CrB2	CrB3	CrB4	CrB5
CrT1	1.00									
CrT2	0.88	1.00								
CrT3	0.88	0.88	1.00							
CrT4	0.88	0.88	1.00	1.00						
CrT5	1.00	0.88	0.88	0.88	1.00					
CrB1	0.52	0.52	0.64	0.64	0.52	1.00				
CrB2	0.64	0.64	0.76	0.76	0.64	0.88	1.00			
CrB3	0.52	0.64	0.52	0.52	0.52	0.88	0.76	1.00		
CrB4	0.76	0.64	0.64	0.64	0.76	0.76	0.88	0.76	1.00	
CrB5	0.52	0.64	0.52	0.52	0.52	0.88	0.76	1.00	0.76	1.00

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

Berdasarkan matriks kesamaan morfologi jeruk keprok Selayar *Cirtus reticulata* Blanco dianalisis menggunakan software NTSYS versi 2.0 dengan tujuan untuk melihat kemiripan atau similaritas dari kesepuluh sampel yang diambil dari 2 lokasi yang berbeda, dapat dilihat pada gambar



Gambar 3. Dendrogram Morfologi Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

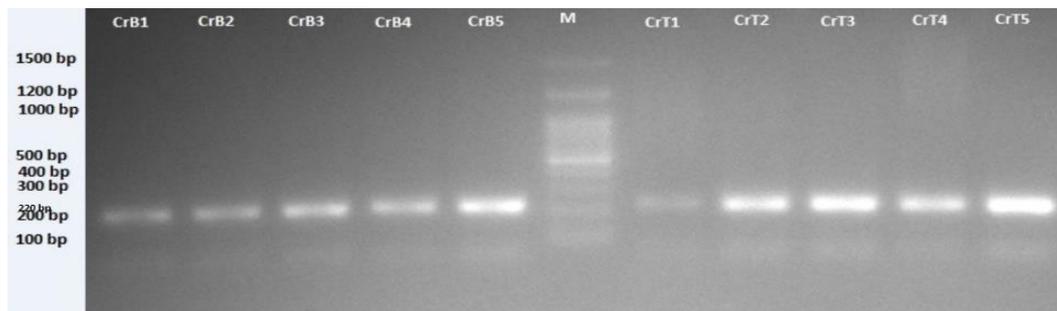
CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

0,61 : Koefisien terendah

1,00 : Koefisien tertinggi

2. Hasil Amplifikasi *Polymerase Chain Rection* (PCR) dari Beberapa Locus *Simple Sequence Repeat* (SSR)

Hasil Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*) berdasarkan Marka *Simple Sequence Repeat* (SSR). Ada beberapa lokus SSR yang digunakan berdasarkan nilai *Polymorfict Information Content* (PIC) dengan lokus pertama yang digunakan yaitu lokus GB-CU-098 dengan nilai PIC 0.485 kemudian diamplifikasi secara invitro menggunakan PCR dengan hasil sebagai berikut :



Gambar 4. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU-098.

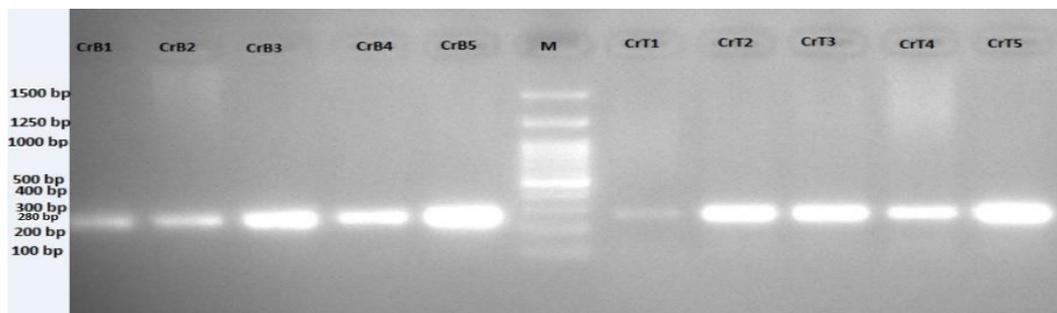
Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

M : Marker

Lokus GB-CU-133 yang digunakan selanjutnya memiliki nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) yaitu 0.674 dengan sampel masing-masing yang sama dapat dilihat hasil dari amplifikasi PCR pada gambar 5



Gambar 5. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU-133.

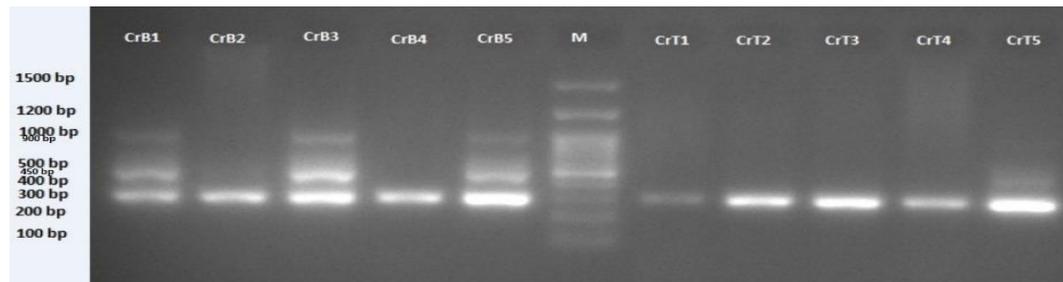
Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

M : Marker

Kemudian Locus GB-CU-038 yang digunakan selanjutnya memiliki nilai *Polymorfict Information Content* (PIC) yaitu 0.525 dengan sampel masing-masing yang sama dapat dilihat hasil dari amplifikasi PCR pada gambar 6.



Gambar 6. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU-038.

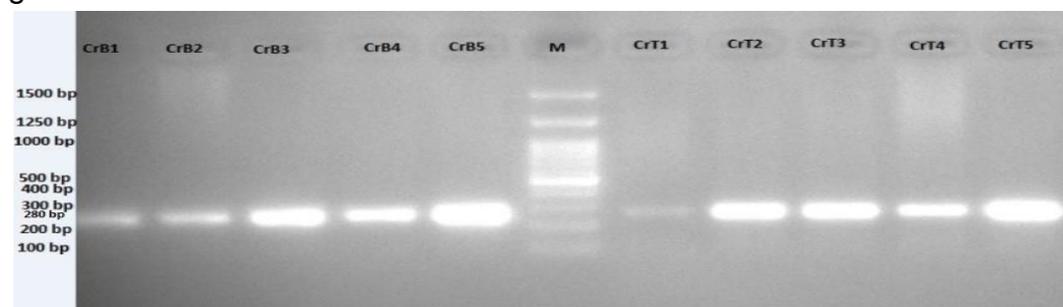
Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

M : Marker

Selanjutnya lokus GB-CU-104 yang digunakan selanjutnya memiliki nilai *Polymorfict Information Content* (PIC) yaitu 0.643 dengan sampel masing-masing yang sama dapat dilihat hasil dari amplifikasi PCR pada gambar 7.



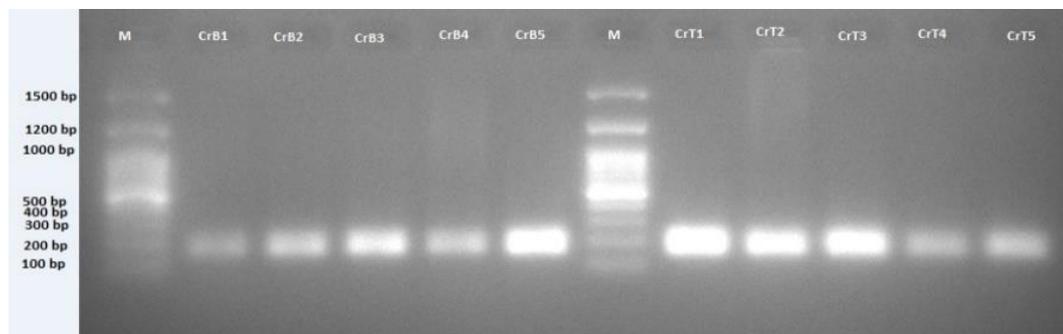
Gambar 7. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU- 104.

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 :*Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 :*Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

Lokus terakhir GB-CU-182 yang digunakan selanjutnya memiliki nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) yaitu 0.514 dengan sampel masing-masing yang sama dapat dilihat hasil dari amplifikasi PCR pada gambar 8.



Gambar 8. Profil SSR Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dari 2 Lokasi Sampling Menggunakan Marker 100 bp dan Primer GB-CU-182.

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 :*Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 :*Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

Data Karakterisasi Genetik berdasarkan lima primer SSR (*Simple Sequence Repeat*) yang telah di visualisasikan melalui *Gel documentation* dibuahkan data biner berdasarkan metode UPGMA (*Unweighed Pairgroup Method Arithmetic*) untuk memberikan nilai dari kesamaan suatu ciri dari marka genetik dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Data Binner Hasil Amplifikasi PCR dengan 5 Primer SSR

1	9	10								
	CrB1	CrB2	CrB3	CrB4	CrB5	CrT1	CrT2	CrT3	CrT4	CrT5
220 bp	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
200 bp	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
250 bp	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900 bp	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
450 bp	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
300 bp	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
280 bp	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

1 : Nilai untuk ciri yang muncul pada sampel

0 : Nilai untuk Ciri yang tidak muncul pada sampel

Pengelolaan data untuk melihat tingkat similaritasnya (indeks similarity) berdasarkan *simple matching coef* (SCM) untuk melihat jarak genetik dapat dilihat tabel 9.

Tabel 9. Matriks Jarak Genetik 10 Sampel Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco Berdasarkan 5 primer SSR

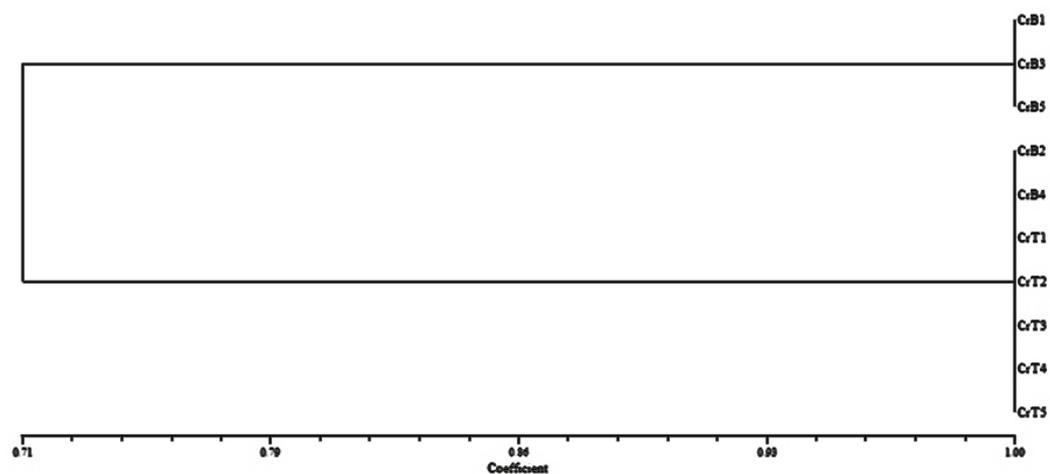
Rows/cols	CrB1	CrB2	CrB3	CrB4	CrB5	CrT1	CrT2	CrT3	CrT4	CrT5
CrB1	1.00									
CrB2	0.71	1.00								
CrB3	1.00	0.71	1.00							
CrB4	0.71	1.00	0.71	1.00						
CrB5	1.00	0.71	1.00	0.71	1.00					
CrT1	0.71	1.00	0.71	1.00	0.71	1.00				
CrT2	0.72	1.00	0.71	1.00	0.71	1.00	1.00			
CrT3	0.73	1.00	0.71	1.00	0.71	1.00	1.00	1.00		
CrT4	0.74	1.00	0.71	1.00	0.71	1.00	1.00	1.00	1.00	
CrT5	0.75	1.00	0.71	1.00	0.71	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

Pita-pita DNA ini kemudian dianalisis untuk mengetahui jarak kekerabatan jeruk keprok selayar *Citrus reticulata* Blanco antara dua lokasi pengambilan sampel Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng menggunakan aplikasi NTSYS versi 2.0 dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Dendrogram Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco Menggunakan Aplikasi NTSYS.

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

0,71 : Koefisien terendah

1,00 : Koefisien Tertinggi

B. Pembahasan

Tanaman jeruk memiliki daya adaptasi yang luas sehingga daerah disekitar pantai hingga di pegunungan yang beriklim tropis bisa ditanami jeruk keprok, pada kedua lokasi pengambilan sampel jeruk keprok Selayar yaitu Kabupaten Selayar dengan luas perkebunan 100m² persegi meskipun pada awalnya terdapat kurang lebih 3-4 hektar luas lahan perkebunan namun menurut pemilik kebun karena penurunan produktifitas dan serangan hama sehingga lahan dipersempit dan Kabupaten Bantaeng dengan luas perkebunan 100m² × 200m². Adapun pembahasan dari hasil penelitian diatas meliputi:

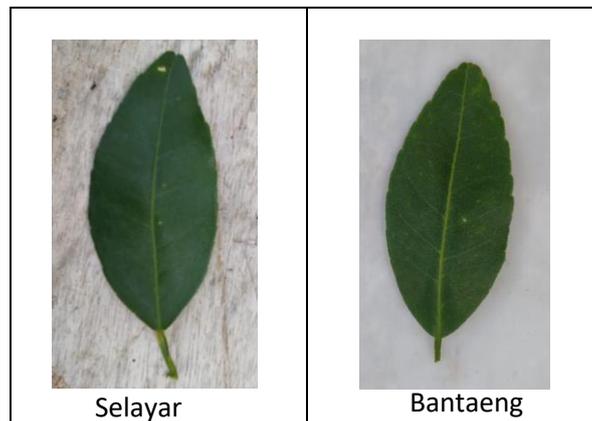
1. Morfologi Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Balco

Menurut van Steenis dalam buku Flora Voor de Scholen in Indonesia, jeruk keprok selayar merupakan jenis tanaman dengan tinggi pohon 2-8 meter. Tangkai daun bersayap sangat sempit sampai boleh dikatakan tidak bersayap, Panjang 0,5-1,5 cm. Helaian daun berwarna hijau mengkilap berbentuk bulat telur memanjang eleptis atau berbentuk lanset dengan ujung tumpul melekuk kedalam sedikit, tepi daun beringgit sangat lemah dengan panjang 3,5-8 cm bunganya mempunyai diameter 1,5-2,5 cm, berkelamin ganda, buahnya berbentuk bola tertekan dengan panjang 6-9 cm, tebal kulit buah 0,2-0,3 cm daging buahnya berwarna orange dan rantingnya berduri.

Berdasarkan hasil penelitian habitus dari kedua lokasi penelitian jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco memiliki tinggi pohon 2-8 m, pada

lokasi perkebunan jeruk keprok Selayar di Kabupaten Selayar terdapat banyak *lichens* yang menempel pada pohon sedangkan pada perkebunan yang ada di Kabupaten Bantaeng sangat sedikit terdapat *lichens* pada pohon dikarenakan pemilik kebun membersihkan pohon setiap sekali setelah panen buah jeruk (*Citrus reticulata* Blanco).

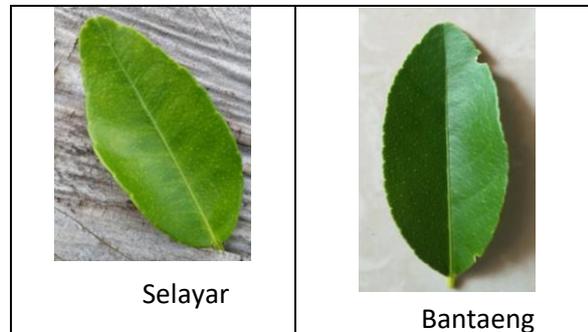
Adapun morfologi daun (*leaf*) berdasarkan hasil penelitian daun berwarna hijau mengkilap dan morfologi perlekatan daun dapat dilihat pada gambar 10 dibawah ini.



Gambar 10. Perbandingan Bentuk Perlekatan Daun (*Leaf Lamina attachment*)

Gambar 9 menunjukkan bahwa bentuk perlekatan daun (*Leaf lamina attachment*) berbentuk *sessile* pada daun jeruk yang berasal dari Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng, tangkai daun tidak bersayap, Adapun daun yang berasal dari Kabupaten Bantaeng memiliki Panjang rata-rata 5-6 cm dan lebar daun 2,6-3,3 cm, daun yang ada di Kabupaten Selayar memiliki Panjang daun rata-rata 6 cm dan lebar daun rata-rata 3,12-

3,44 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur memanjang eleptis atau berbentuk lanset dengan ujung tumpul.



Gambar 11. Bentuk Tepi Daun

Tepi daun jeruk keprok di Kabupaten Bantaeng dan Kabupaten Selayar beringgit sangat lemah. Ranting jeruk keprok yang berasal dari kabupaten Selayar memiliki duri 5-6 cm sedangkan yang berasal dari kabupan Bantaeng Panjang duri 3-5 cm.

Bunga pada jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco merupakan bunga berjenis kelamin ganda (*hermaprodithus*) pada bunga terdapat 5 mahkota bunga berwarna putih dengan kelopak berbentuk cawan bunga muncul pada ketiak daun atau pada ujung cabang, putik bunga berwarna kuning dan benang sari dengan jumlah rata-rata 13-15 benang sari tiap bunga. Bunga jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco memiliki aroma yang harum gambaran morfologi batang daun dan bunga dapat dilihat pada lampira 3.

Berdasarkan tanggapan dari warga setempat dan pemilik kebun jeruk, berdasarkan hasil wawancara bahwa rasa jeruk yang ada di Kabupaten Bantaen berbeda dengan jeruk yang berasal dari Kabupaten Selayar. Daging buah jeruk Keprok yang berasal dari Kabupaten Bantaeng

lebih kenyal dan memiliki banyak kandungan air. Hal ini memungkinkan terjadi di karenakan perbedaan media tanaman terhadap jeruk keprok menurut balitjestro (2020).

Hasil penelitian dapat dilihat pada lampiran 3, menunjukkan bahwa karakter morfologi antara jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco yang berasal dari Kabupaten Selayar dan Kabupaten Bantaeng memiliki perbedaan pada karakter kualitatif seperti duri pada ranting pohon jeruk keprok dan tepi daun yang berigi lemah dan rata-rata lebar daun, namun laju pertumbuhan antar kedua jeruk keprok selayar tidak berbeda nyata secara morfologi. Begitupun dengan hal itu dikemukakan oleh singh, *et al* 1980. Bahwa genotipe yang berasal dari daerah yang sama tidak selalu berbeda dengan kelompok yang sama. Semakin banyak persamaan karakter morfologi yang dimiliki menunjukkan bahwa semakin dekat hubungan kekerabatan, sebaliknya semakin sedikit persamaan karakter morfologi yang dimiliki semakin jauh hubungan kekerabatannya (Sokal,2013).

Perhitungan hasil kemiripan atau indeks similaritas dilakukan dengan menggunakan aplikasi NTSYS versi 2.0 dengan rumus *Simple Matching Coeficient*. Hasil pengukuran kemiripan diperoleh dalam bentuk *Similarity matrix* dan disajikan dalam tabel 7.

Berdasarkan table 7 diketahui bahwa nilai similaritas terendah CrT1 dan CrB1, CrT1 dan CrB3, CrT1 dan CrT5, CrT2 dan CrB1, CrT3 dan CrB3, CrT3 dan CrB5, CrT4 dan CrB3, CrT4 dan CrB5, CrT5 dan CrB1, CrT5 dan

CrB3, CrT5 dan CrT5 yaitu dengan nilai sebesar 52% dengan variasi karakter yang berbedah dari Panjang duri dan ukuran daun serta jumlah benang sari yang berbeda. Nilai similaritas tertinggi terdapat pada hubungan kekerabatan CrT1 dan CrT5, CrT3 dan CrT4, CrB3 dan CrB5 dengan nilai 100% memiliki kesamaan bentuk batang, Panjang duri, warna daun, bentuk daun ukuran daun, warnah mahkota, jumlah benang sari dan warna putik.

Sokal dan Sneat 2013, menyatakan bahwa semakin banyak persamaan karakter yang dimiliki maka semakin besar nilai similaritasnya berarti semakin dekat dengan hubungan kekerabatannya diantara kelompok *OTU* yang diperbandingkan. Sebaliknya semakin banyak perbedaan karakter yang dimiliki maka semakin kecil nilai similaritasnya berarti semakin jauh hubungan kekerabatannya dianta kelompok *OTU* yang diperbandingkan.

Hasil analisis dari software NTSYS versi 2.0 menggunakan dendogram terhadap 10 sampel jeruk keprok Selayar berdasarkan 20 karakter morfologi menghasilkan dendogram yang memisahkan 10 sampel kedalam kelaster utama dengan koefisien kemiripan morfologi dengan koefisien 0,89 atau 89%.

Klaster utama dari sampel Kabupaten Selayar terbagi menjadi 3 yaitu CrT1 dan CrT5, CrT2, CrT3 dan CrT4 dengan koefisien 1 atau 100%. Pengelompokon terjadi karna memiliki kesamaan pada bentuk batang, panajng duri, warna daun tipe tepi daun, rata-rata panjang daun, rata-rata

lebar daun, warna mahkota, jumlah mahkota, jumlah kelopak, warna putik, hanya saja yang membedakan yaitu jumlah benang sari yang dimiliki pada sampel.

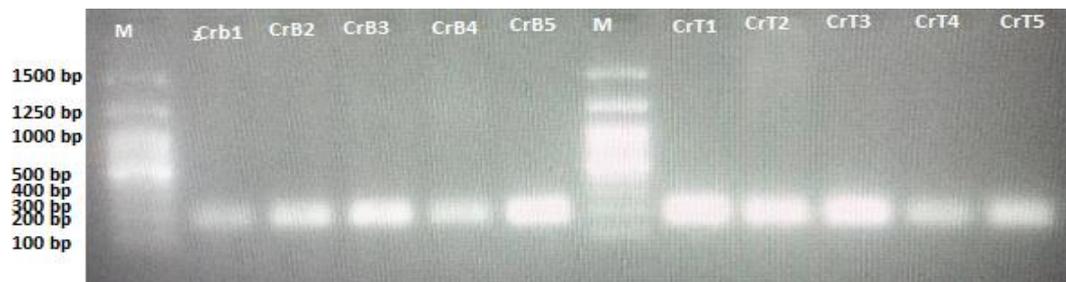
Klaster kedua dari sampel Kabupaten Bantaeng dengan koefisien kemiripan morfologi 0,81 atau 81% terbagi menjadi 2 sub klaster yaitu sub klaster pertama bergabung dengan koefisien 0,82 dengan sampel CrB4 dan pada koefisien 0,89 dengan sampel CrB1 dan CrB2. Sub klaster kedua CrB3 dan CrB5 dengan koefisien 0,81. Pengelompokan terjadi karena ada beberapa sampel yang memiliki persamaan dan perbedaan morfologi diantaranya lebar daun dan jumlah benang sari yang berbeda dengan sampel yang lain.

Lingkungan merupakan salah satu faktor utama dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman, adanya factor tersebut menyebabkan suatu jenis tanaman yang sama berpeluang mengalami perbedaan tampilan morfologi (Oliviera, 2012).

2. Karakter DNA dari Hasil Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*) berdasarkan Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*)

Hasil isolasi DNA dari kedua lokasi pengambilan sampel jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco dengan total 10 sampel dengan masing-masing lokasi memiliki lima sampel yang diambil dari lima titik di setiap lokasi. untuk mengetahui kualitas DNA yang diperoleh dari proses isolasi sehingga dapat digunakan untuk analisis berikutnya yaitu amplifikasi DNA total dengan PCR sebelum dilakukan uji PCR selanjutnya dengan

menggunakan beberapa primer SSR. Hasil dari uji kualitas DNA jeruk keprok Selayar yang dilakukan dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Hasil Elektroforesis dari Kualitas DNA Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

Keterangan:

CrB1 s/d CrB5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Bantaeng nomor sampel 1 sampai 5

CrT1 s/d CrT5 : *Citrus reticulata* Blanco asal Kabupaten Selayar nomor sampel 1 sampai 5

M : Marker

Hasil elektroforesis dari 10 sampel jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco menunjukkan hasil yang baik dilihat dari tanpa adanya *smear* dengan maksud DNA yang dihasilkan terbebas dari kontaminan seperti protein, polisakarida, lemak dan lain sebagainya. Menurut Ibrahim (2011), uji elektroforesis akan menunjukkan berat molekul dari yang besar (tinggi) ke rendah dari DNA genom. Jika DNA genom terisolasi dengan baik maka menunjukkan berat molekul yang besar (tinggi). Hasil isolasi selanjutnya dilakukan pengukuran secara kuantitatif dengan invitrogen dengan panjang gelombang 260/280 nm. Menurut Jorgez dalam Ibrahim 2011, kemurnian DNA yang bagus diharapkan dari panjang gelombang 260/280 nm berkisar antara 1,8-2,0. Tinggi atau rendahnya nilai kemurnian dari DNA sampel ditentukan adanya polisakarida dan kontaminan lainnya.

Namun nilai kemurnian 1,7 dapat digunakan untuk uji amplifikasi (PCR) dan menghasilkan pita yang bersih tanpa *smear* Menurut Langga et al. (2012), tingkat kemurnian tersebut sudah memenuhi persyaratan yang dibutuhkan dalam analisis molekuler karena mendekati nilai kemurnian yang tinggi dan DNA yang dihasilkan cukup bersih.

Hasil visualisasi dari amplifikasi DNA genom dari jeruk keprok dapat dilihat pada Gambar 1. Menggunakan marker 100 bp dengan 5 primer SSR (*Simple Sequence Repeat*) menunjukkan bahwa pada primer BG-CU-133 menghasilkan pita monomorfik pada kisaran 280 bp. GB-CU-038 dengan nilai PIC 0.525 menghasilkan 2 pita polimorfik pada kode sampel CrB1, CrB3 dan CrB5 pada kisaran 450 bp dan 900 bp dan pita monomorfik pada kisaran 300 bp dari keseluruhan sampel. Dari primer GB-CU-182 pita DNA monomorfik pada kisaran 200bp, dan primer GB-CU-104 menghasilkan pita DNA monomorfik pada kisaran 250 bp dan primer GB-CU-098 menghasilkan pita monomorfik berkisar pada 280 bp. Primer-primer yang informatif ditunjukkan oleh nilai PIC *polymorphic information content* $\geq 0,5$ (Sauza, 2017).

Data yang didapatkan kemudian di scoring dalam data binner dengan metode *Unweigthed Pairgroup Method With Arithmetic* (UPGMA) dapat dilihat pada table 7. Berdasarkan hasil amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*) menggunakan 5 primer Marka molekuler SSR (*Simple Sequence Repeat*), memperoleh 56 pita polimorfik dengan ukuran fragmen berkisar 100bp sampai 3000 bp hasil tersebut dibuat dalam data binner

kemudian diolah dengan software NTSYS untuk melihat matriks kesamaan antar sampel dengan menggunakan rumus *Simple matching coefficient* dapat dilihat pada tabel 9. Pada matriks persamaan genetik antara ke-10 sampel yaitu CrB1 dan CrB2, CrB4, CrT1, CrB2 dan CrB3, CrB4, CrB3 dan CrB4, CrT1, CrT2, CrT3, CrT4, CrT5, CrB4 dan CrB5, CrB5 dan CrT1, CrT2, CrT3, CrT4, CrT5 memiliki kesamaan terendah dengan nilai 71%. Indeks kesamaan Nilai tertinggi yaitu CrB1 dan CrB3, CrB5, CrB2 dan CrB4, CrT1, CrT2, CrT3, CrT4, CrT5, CrB3 dan CrB5, CrB4 dan CrT1, CrT2, CrT3, CrT4, CrT5, CrT1 dan CrT2, CrT3, CrT4, CrT5, CrT2 dan CrT3, CrT4, CrT5, CrT3 dan CrT4, CrT5 dengan nilai 100%. Kemudian dihasilkan dendogram (gambar 9) yang menunjukkan tingkat kekerabatan aksesori *Citrus reticulata* Blanco yang dibagi menjadi dua kluster utama dengan koefisien kemiripan 0,71. Menurut Chaerani, 2011. Nilai *SMC* semakin mendekati nilai 1 maka indeks similaritasnya tinggi atau tingkat kesamaannya tinggi.

Hasil dendogram dari dua lokasi pengambilan sampel jeruk keprok selayer *Citrus reticulata* Blanco dari kabupaten selayer dengan kode CrT1, CrT2, CrT3, CrT4, CrT5 dan berasal dari Kabupaten Bantaeng dengan Kode sampel CrB1, CrB2, CrB4, CrB5 yang dikonstruksi menggunakan UPGMA pada gambar diatas struktur dendogram menunjukkan tingkat kemiripan dengan struktur susunan pohon filogenetik. Pada dendogram dimana nilai koefisien semakin mendekati angka 1 maka semakin rendah tingkat keragamannya dan semakin besar nilai similaritas semakin pendek level jarak hal ini menunjukkan banyaknya kesamaan antara variable

(Sarafi, 2016). Menurut Wang x (2018) Hal ini menunjukkan semakin dekatnya hubungan kekerabatan antra spesies. Dendogram pada koefisien 0,71 terbagi menjadi dua grup meskipun tingkat keragamannya tidak begitu jauh akan tetapi terlihat tingkat perbedaan dari nilai koefisien. Dari grup pertama dapat dilihat perbedaan bahwa terletak pada lokasi pengambilan Kabupaten Bantaeng dengan Kode CrB1, CrB3 dan CrB5 memiliki variasi yang sedikit berbeda dilihat dari nilai koefisien. Sedangkan sampel yang berasal dari Kabupaten Selayar dengan kode sampel CrT1, CrT2, CrT3, CrT4 dan CrT5 memiliki kemiripan yang sama persis berdasarkan nilai koefisien yang diperoleh. Sedangkan sampel dengan kode CrB2 dan CrB4 yang berasal dari Kabupaten Bantaeng sama persis dengan nilai koefisien dari sampel Kabupaten Selayar dengan nilai koefisien berada di sekitar angka koefisien 1,0.

Kemiripan karakter morfologi dan karakter genetik dapat dilihat dari matriks kemiripan data karakter morfologi dengan tingkat kemiripan molekuler berdasarkan pola pita DNA. Hasil yang didapatkan dengan 2 klaster yang terbentuk yaitu CrB1, CrB3 dan CrB5 dengan karakter morfologi yang memiliki panjang duri 3,52 cm – 3,8 cm dibandingkan dengan klaster yang lain. Aksesori *Citrus reticulata* Blanco yang berasal dari Kabupaten Selayar memiliki ukuran duri yang lebih Panjang dengan rata-rata 5,3 cm – 6,08 cm. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Murti dan Arunanchalan dalam Zen, S 1995, bahwa penghanyutan genetik dan seleksi pada lingkungan yang berbeda dapat menyebabkan diversitas genetik yang lebih

besar dibandingkan dengan jarak geografi, artinya bahwa meskipun suatu kultivar berasal dari daerah yang sama namun bila lingkungan tempat tumbuhnya berbeda akan mempengaruhi diversitas genetik (Sokal, 2013).

Menurut Hidayat dan Pancoro (2018), organisme yang berada dalam satu kelompok mempunyai anggota-anggota yang memiliki banyak kesamaan karakter atau ciri serta hubungan yang sangat dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang. Hal ini dikarenakan kebun budidaya yang ada di Kabupaten Bantaeng Bibit yang diambil berasal Dari Kabupaten Selayar memungkinkan juga dari hasil sampel yang berbeda tersebut bibit yang pada lokasi perkebunan di Selayar.

Menurut Agisimanto et al. (2007), fenomena distribusi bibit jeruk yang bervariasi telah ikut memicu munculnya keragaman jeruk baru di beberapa lokasi. Hal ini mungkin respon genetik terhadap perubahan dan daya adaptasi jeruk. Seringnya petani menyeleksi mata tunas dari pohon yang baik dan menjadikannya menjadi bibit kemungkinan berpengaruh besar terhadap kemunculan keragaman baru. Untuk itu, perubahan karakter atau sifat pada jeruk keprok berpengaruh terhadap rendahnya nilai koefisien keragaman genetik dari jeruk keprok tersebut.

Menurut International Atomic Energy Agency. 2016, Peningkatan keragaman genetik tanaman dapat dilakukan melalui beberapa cara yaitu introduksi, hibridisasi, seleksi bioteknologi dan mutase. Mutase merupakan perubahan-perubahan yang terjadi pada susunan gen/genom suatu tanaman (Medrano, 2018).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Berdasarkan matrik jarak morfologi jeruk keprok selayar *Citrus reticulata* Blanco antar ke-10 sampel memiliki nilai terendah 52%. Sampel yang memiliki jarak kesamaan tinggi dengan nilai 100% yaitu CrT1 dan CrT5, CrT3 dan CrT4, CrB3 dan CrB5. Dari hasil dendogram menunjukkan terbagi menjadi 2 kluster utama dengan nilai koefisien terendah 0,61, kluster pertama berasal dari Kabupaten Bantaeng dengan nilai koefisien 0,89. Kluster kedua berasal dari Kabupaten Banteng dengan koefisien kemiripan 0,81. Pengelompokan terjadi dikarenakan ada beberapa perbedaan morfologi seperti Panjang daun, lebar daun, Panjang duri dan jumlah benang sari yang dimiliki tiap sampel.
2. Karakterisasi genetik jeruk keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco Dari 10 sampel berdasarkan matriks jarak kesamaan genetik memiliki nilai terendah 71%. Indeks kesamaan nilai tertinggi dengan nilai 100%. Hasil dendogram menunjukkan nilai koefisien 0,71 yang berarti tingkat kesamaan yang tinggi antara kedua lokasi pengambilan sampel dan jumlah 10 total sampel, terdapat tiga sampel dengan kode CrB1, CrB3 dan CrB5 memiliki variasi DNA yang berbeda dilihat dari letak ben pada 450 bp dan 900 bp serta nilai koefisien pada dendogram 0.71.

B. Saran

Adapun saran yang disampaikan oleh penulis selama dalam penelitian dan penulisan karya ilmiah ini yaitu diharapkan penelitian selanjutnya dapat menambah sampel dan mencari dari beberapa lokasi di Sulawesi Selatan dan primer SSR jeruk keprok Selyar *Citrus reticulata*. Perlu menambah karakter morfologi yang lain, Sehingga karakteristik jeruk keprok khususnya di Sulawesi Selatan dapat secara akurat diketahui berbagai karakter morfologi dan genetiknya untuk dipertahankan terlebih untuk di kembangkan kedepannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto D, Martasari C, Supriyanto A, 2007. Perbedaan Primer RAPD Dan ISSR dalam Identifikasi Hubungan Kekerbatan Genetik Jeruk Siam (*Citrus suhuniensis* L. Tan.) Indonesia. *Jurnal Hort.* 17(2):101-110.
- Alin L, Konservasi Spesies Endemik. Website Selayar Online. <http://contrendindonesia.over-blog.com/article-jeruk-selayar-hampir-pun-ah-52519822.html> 31 maret 2013.
- Allen GC, Vergara, Krasynanski S, Kumar S, Thompson WF. 2016. A Modified Protocol For Rapid DNA Isolation From Plant Tissues Using Cetyl Trimethylammonium bromide. *Nat. Prot.* 1:2320-2325.
- Asaad Muh, warda. 2015. Kajian penerapan Teknologi Budidaya Pada Jeruk Keprok Selayar. Perpustakaan Balitjestro.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan. 2018. Buletin Volume.
- Bashari Hanan dkk.2014. Profil Ekosistem Kawasan Wallacea. Critical Ecosystem Partnership Fund.
- Becker, WM, Kleinsmith LJ, Hardin J. 2014. The World of The Cell. Edisi keempat. *The Benjamin Publishing Company.*
- Chaerani, N. Hidayatun, dan D.W. Utami. 2011. Keragaman Genetik 50 Aksesori Plasma Nutfah Kedelai Berdasarkan 10 Penanda Mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen.* 7(2).
- Ebtsam M. Hamza. 2013. Genetic Diversity of Some Citrus Varieties Based on Microsatellite and RAPD Molecular Markers in Egypt. *World Journal of Agricultural Sciences* Vol.9 No.7: 316-324.
- Dinas Pertanian Tanaman Pangan Kabupaten Selayar. 2016. Proposal pengembangan Komoditas Kabupaten Dati II selayar tahun 1997/98. Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultural Kabupaten Selayar: Hal 26
- Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan hortikultural Kabupaten Selayar. 2018 Laporan Tahunan. Dinas Pertanian tanaman pangan dan hortikultural Kabupaten Selayar. Hal 32.
- Doyle JJ, Doyle JL. 2013. *Isolation of plant DNA from fresh tissue.* Focus 12:13–15
- Fifith M. M. 2018. Keragaman Genetik Aksesori Jeruk Keprok *Citrus reticulata* L. Berdasarkan penanda Morfologi Daun dan Molekuler *Inter Simple*

- Sequence Repeat (ISSR). Universitas Islam Negeri MAulana Malik Ibrahim Malang (5-7).*
- Goh Pik Seah Elcy, Mansor Clyde Mahani, Yon Jin Park, Normah Mooh Noor. *Simple Sequence Repeat (SSR) Profilling of Cultivated Limau Madu (Citrus reticulate blanco) in Malaysia.* Original Articlens. 2018.
- Goldstein, D.B., G.W. Roemer, D.A Smith, D.E. Reich and R.K Wayne, 2018. *The Use Of Microsatellit Variation to Infer Population Structure and Demographic History In a Natural Model System.* Genetics, 151: 797-801.
- Hanif, Djoema'ijah, dan A. Supriyanto. 2015. *Uji teknologi penyediaan batang bawah jeruk JC terhadap pertumbuhan dan keragaan bibit siap tempel.* Jurnal Hortikultura 9(4): 282–287
- Hatta M, Armiami dan Wanti Dewayana. 2013. *Jeruk keprok Selayar dan Upaya Pelestariannya.* Instalasi penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian Jenepono.
- Hidayah Murtiyaningsih. 2017. *Isolasi Dna Genom Dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan Rapd (Random Amplified Polimorfic Dna).* <http://jurnal.unmuhjember.ac.id/index.php/AGRITROP>. Vol.15.
- Hidayat T, dan Pancoro A, 2008. *Kajian Filogenetik Molekuler Dan Peranannya Dalam Menyediakan Informasi Dasar Untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek.* Jurnal Agrobiogen. 4(1):35-40.
- Hipi A, Surahman, Ilyas MS, dan Giyanto, 2013. *Seed Genetic Purity Assessment of Maize Hybrid Using Microsatellite Markers (SSR).* International Journal of Applied Science and Technology. 3(5):66-71.
- <https://mwkusuma.wordpress.com/2010/03/31/munte-china-diambang-kepunahan/>
- Huagalung L, As'ad M. Status Hama dan Penyakit jeruk Selayar Sulawesi Selatan. Jurnal Hortikultural Vol.2 No. 3 Hal:47-49.
- International Anatomic Energy Agency. 2016. *Induced Mutations and In Vitro Culture Techniques for Improving Crop Plant Resistance to Diseases.* Grunbach Germany
- Jannati M, Fotouhi R, Pourjan A M, shalehi zivar. 2014 *Genetic diversity analysis of Iranian citrus varieties using micro satellite (SSR) based markers.* Akademi Journal. Vol.1 No.7 :120-125.
- Jeffreys A.J. Wilson V. Thein S.W. 2014. *Hypervariable 'minisatelit' regions in human DNA.* Nature.10: 67-73

- Kusmana Cecep, Hikmat Agus. 2015. *Keanekaragaman Hayati Flora Di Indonesia*. Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. 5: 187-198
- Kurniasih S, Rubiyo, Setiawan A, Purwantara A, dan Sudarsono. 2012. *Analisis keragaman genetik plasma nutfah kakao (Theobroma cacao L.) berdasarkan marka SSR*. Littri.17(4):156-162.
- Lailati, M. 2017. Karakterisasi Morfologi dan Anatomi Daun Genus Garcinia Dataran Tinggi. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indo*. 3(3).
- Linos A, Nikoloudakis N, Katsiotis A, Hagidimitrioua M. 2014. *Genetic structure of the Greek olive germplasm revealed by RAPD, ISSR and SSR markers*. Sci Horti 175: 33–43.
- Marra FP, Caruso T, Costa F, Di Vaio C, Mafrica R, Marchese A. 2013. *Genetic relationships, structure and parentage simulation among the olive tree (Olea europaea L. subsp. europaea) cultivated in Southern Italy revealed by SSR markers*. Tree Genet Genomes 9: 961–973.
- Medrano S H C, Espinosa M A G, Gonzalez M M R. Serafin C I. 2018. Identification of Mexican lemon hybrids using molecular markers SSR *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9: 11-23.
- Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M. 2017. *Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants*. Molecular Breeding. 3(2):87-103
- Oliviera EMS, Resende ED, 2012. Yield of albedo flour and pectin content in the rind of yellow passion fruit. *Cienc Technol Aliment*. 32 (3) 492-498.
- Pasandaran, E. 2016. *Pengembangan komoditas pertanian unggulan dalam rangka globalisasi pasar*. *Prosiding Rapat Kerja Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura*, Bandung 5–7 Desember 1996. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Jakarta. hlm. 10–19.
- Pugh T *et al*. 2014. A new Cacao Linkage Map Based on Codominant Markers: Development and Integration of 201 New Microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet*. 108:1151-11611.
- Profil Kabupaten Bantaeng. 2015. Rencana Terpadu dan Program Infrastruktur Investasi Jangka Menengah Kabupaten Bantaeng
- Richard Frankham. 2013. *Genetic and Biology Conservation*. Elsevier 326 . S22–S29

- Roder MS, Plaschke J, König U, Börner A, Sorrells M, Tanksley SD, dan Ganai MW. 2014. *Abundance, variability, and chromosomal location of microsatellites in wheat*. *Mol. Gen. Genet.* 246:327-333.
- Rholf, F.J., 2018. NTSYpc, Numerical Taxonomy Analisis System Version 2.0. Exeter Software, NewYork.
- Sokal, R H and P.A. Sneath. 2013. *Principial of Numerical Taxonomy*. *W.H. Freeman and Co.* San Fransisco. 291-303.
- Souza, C.P.F., C.F. Ferreira, E.H. de Souza, A.R.S. Neto, J.M. Marconcini, C.A.S. da Silva Ledo, and F.V.D. Souza. 2017. Genetic diversity and ISSR marker association with the quality of pineapple fiber for use in industry. *Ind. Crops Prod.* 104: 263-268.
- Sharafi A A, Abkenar A A, Ali S. 2016. Genetic variation assessment of acid lime accessions collected from south of Iran using SSR and ISSR molecular markers. *Physiol Mol Biol Plants.* 22: 87-95.
- Sijapati J, Rana N, Rana P and Shrestha S. 2018. Optimization of RAPD-PCR Conditions for the Study of Genetic Diversity in Nepalese Isolates of *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Nepal Journal of Science and Technology.* 9: 91-97.
- Su, H *et al.* 2016 The Great Wall Of China: Phisical Barrier To Gene Flow?. *Heredity.* 9: 212-219.
- Suparman. 2012. Marka Molekuler dalam Identifikasi dan Analisis Kekerabatan Tumbuhan Serta Implifikasinya bagi Mata Kuliah Genetika. *Jurnal Bioedukasi.* 1 (1).
- Taufik, M., Nurjanani, H. Muhammad, M.Thamrin, dan M.B. Nappu. 2014. Analisis finansial dan pemupukan berimbang mendukung program rehabilitasi jeruk keprok di Kabupaten Selayar. *Jurnal Hortikultura* 10(2): 144–153.
- Tautz, D., 2013.. *Hypervariablility of Simple Sequence Reapeats as a General Source for Polymorphic DNA Markers*. *Nucleic Acid Res.* 17: 6463-6471.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Wang X, Wang Z, Zhang S, Liu J, Wang X. 2018. Screening citrus SSR molecular marker primers. *Advances in Engineering Research.* 170: 1713-1716
- Whitemore TC, Sidiyasa K, Whitmore TJ. 2015. Tree species enumeration of 0.5 hectare on Halmahera. *Gardens Bulletin Singapore* 40:31-34

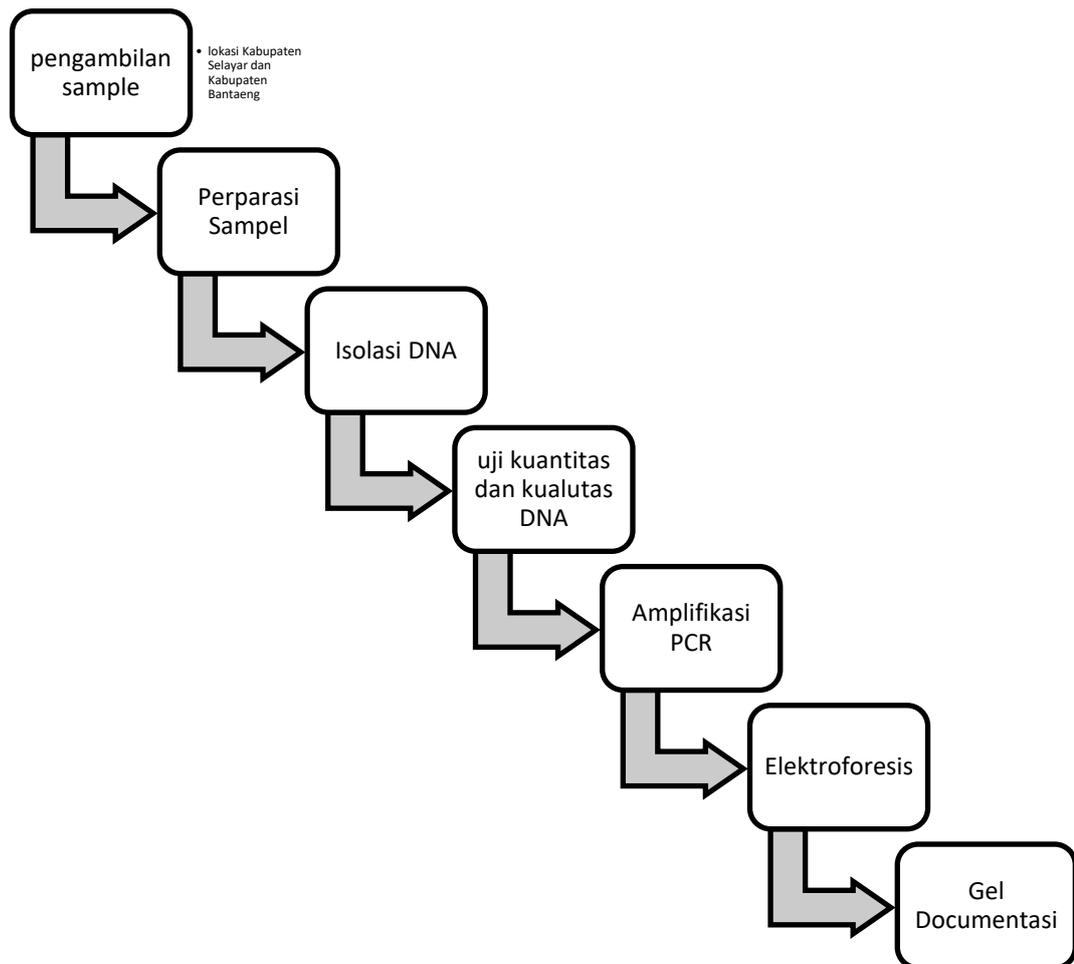
Weising K, Nybon H, Wolff K, and Meyer W. 2014. *DNA Fingerprinting in Plant and Fungi*. CRC Press, Boca Raton, Fla.

Yulianti, F. dkk. 2016. Keragaman Jeruk Fungsional Indonesia Berdasarkan Karakter Morfologis dan Marka RAPD. *Jurnal AgroBiogen*. 12(2).

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant Genetic for Forensik Aplication. *Method Mol Biol*. Vol.10.: 35-52.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



Lampiran 2. Lingkungan Perkebunan Jeruk Keprok Selayar (*Citrus reticulata Blanco*)

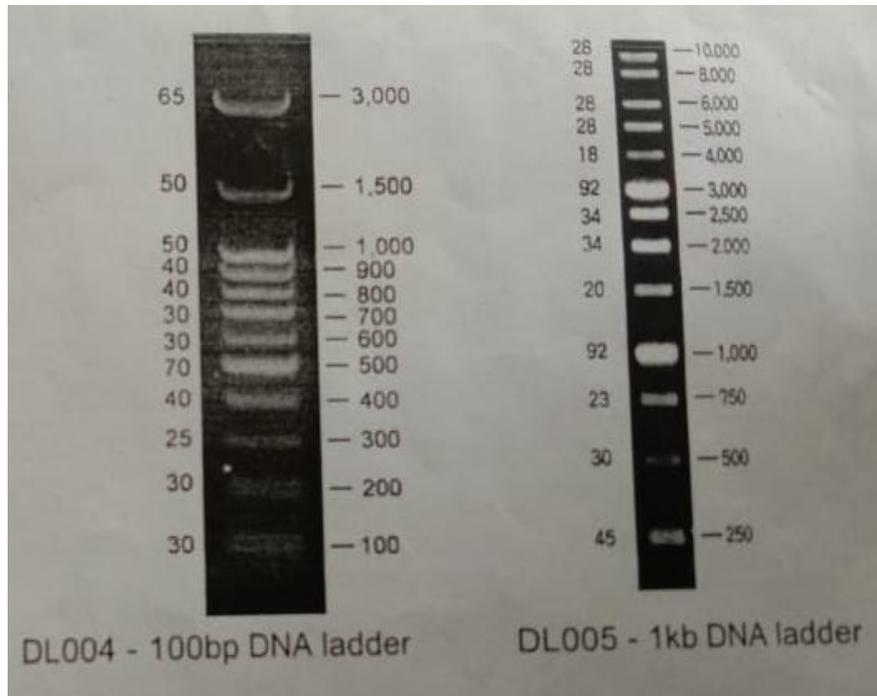
Kabupaten Selayar	Kabupaten Bantaeng
	
<p>Lingkungan sekitar perkebunan jeruk, lahan terbuka dan tidak terlindungi oleh sinar matahari</p>	<p>Lingkungan sekitar perkebunan jeruk, lahan terbuka dan tidak terlindungi oleh sinar matahari</p>
	
<p>Jenis tanah berbatu dan berpasir</p>	<p>Jenis tanah gambut</p>

Lampiran 3. Morfologi Jeruk Keprok Selayar (*Citrus reticulata* Blanco) di Kabupaten Bantaeng

Kode Sampel	Batang	Daun	Bunga
CrB1			
CrB2			
CrB3			
CrB4			
CrB5			

Lampiran 4. Morfologi Jeruk Keprok Selayar (*Citrus reticulata* Blanco) di Kabupaten Selayar

Kode Sampel	Batang	Daun	Bunga
CrT1			
CrT2			
CrT3			
CrT4			
CrT5			

Lampiran 5. Marker

Lampiran 6. Foto Proses Penelitian

Pengambilan Sampel



Perkebunan *Citrus reticulata* di Kabupaten Bantaeng

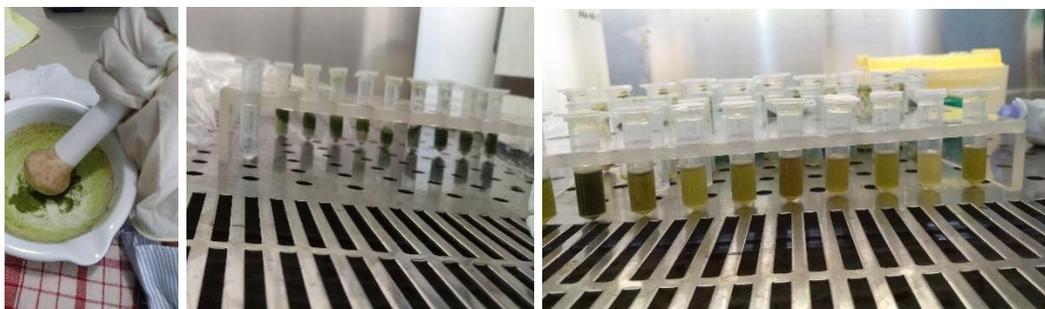


Perkebunan *Citrus reticulata* di Kabupaten Selayar

Preparasi Sampel



Dokumentasi Isolasi DNA



DNA Murni



Uji Kuantitas dan Kualitas



Dokumentasi PCR

