

**BIOSISTEMATIKA KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.) KABUPATEN  
BANTAENG BERBASIS MORFOLOGI ANATOMI DAN MOLEKULER  
SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)**



**SITI ROFIAH**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**BIOSISTEMATIKA KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L. )  
KABUPATEN BANTAENG BERBASIS MORFOLOGI ANATOMI DAN  
MOLEKULER *SIMPLE SEQUENCE REPEAT* (SSR)**

*BIOSYSTEMATICS OF ARABIC COFFEE (Coffea arabica L.)  
BANTAENG DISTRICT BASED ON ANATOMY AND MOLECULAR  
MORPHOLOGY SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)*

**SITI ROFIAH  
H052221002**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**BIOSISTEMATIKA KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L. )  
KABUPATEN BANTAENG BERBASIS MORFOLOGI ANATOMI DAN  
MOLEKULER *SIMPLE SEQUENCE REPEAT* (SSR)**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Biologi

Disusun dan diajukan oleh

SITI ROFIAH

H052221002

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

TESIS

**BIOSISTEMATIKA KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L. ) KABUPATEN  
BANTAENG BERBASIS MORFOLOGI ANATOMI DAN MOLEKULER  
SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)**

**SITI ROFIAH**

**H052221002**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Agustus 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada

Program Studi Magister Biologi  
Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama



Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si.  
NIP. 196702071992031001

Pembimbing Pendamping



Dr. Juhriah, M.Si.  
NIP. 196312311988102001

Ketua Program Studi  
Magister Biologi



Dr. Juhriah, M.Si.  
NIP. 196312311988102001

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si.  
NIP. 197205151997021002

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "BIOSISTEMATIKA KOPI ARABIKA (*COFFEA ARABICA* L.) KABUPATEN BANTAENG BERBASIS MORFOLOGI ANATOMI DAN MOLEKULER *SIMPEL SEQUENCE REPEAT* (SSR)" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si dan Dr. Juhriah, M.Si). Karya ini belum di ajukan dan sedang tidak di ajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau di kutip dari karya yang di terbitkan maupun tidak di terbitkan dari penulis lain telah di sebutkan dalam teks dan telah dicantumkan dalam daftar pustaka tesis ini. Tesis ini telah dipublikasikan di jurnal Biodiversitas (Biodiversitas, under review) sebagai artikel dengan judul "Genetic Diversity of Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) in Bantaeng South Sulawesi Based On Simple Sequence Repeat (SSR) Markers" apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian besar atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar 20 Agustus 2024



SITI ROFIAH  
NIM:H052221002

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan tugas akhir (tesis) ini yang berjudul “Biosistematika Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Kabupaten Bantaeng Berbasis Morfologi Anatomi Dan Molekuler *Simple Sequence Repeat* (Ssr)” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains (M.Si) di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tesis ini terdapat banyak kekurangan, hal tersebut dikarenakan keterbatasan kemampuan dari penulis. Penulis tidak dapat melakukan semuanya tanpa bantuan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar terkhusus kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan dan mendoakan penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis tersebut.

Penulis juga sangat mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Dr. Andi Ilham Latunra M.Si bersama Ibu Dr. Juhriah, M.Si yang senantiasa sabar membimbing dan mengarahkan penulis serta memberikan saran dan kritik sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari peran dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. Dr. Eng. Amiruddin, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta staf pegawainya
3. Dr. Magdalena Litaay, M.Sc., selaku Ketua Departemen Biologi dan Andi Evi Erviani, S.Si., M.Sc., selaku Sekretaris Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
4. Dr. Juhriah, M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
5. Dr. Syahribulan, M.Si., Dr. Eddyman W.ferial S.Si,M.Si dan Dr. Zaraswati Dwyana M.Si selaku dosen penguji yang dengan sabar mengarahkan dan memberikan kritik dan sabar demi perbaikan tesis ini.
6. Seluruh staf dosen yang telah memberikan ilmu dan memotivasi kepada penulis mulai dari awal perkuliahan hingga saat ini.

7. Kepala Balai dan staf Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia yang telah membantu penulis dalam proses pengerjaan penelitian ini.
8. Kepada Pemkot Kabupaten Bantaeng serta masyarakat terutama petani kebun kopi di kecamatan Tompobulu, eremerasa dan Uluere yang telah mengarahkan dan menemani peneliti dalam proses pengambilan data dan sampel dalam proses penelitian ini.
9. Teman-teman angkatan 2022 yang telah berjuang bersama hingga saat ini.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama proses perkuliahan hingga penyusunan tesis ini. Penulis tidak dapat membalas kebaikan Bapak/Ibu/Saudara sekalian.

Dengan penuh rasa hormat penulis mempersembahkan tesis ini dan semoga dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis,

Siti Rofiah  
NIM. H052221002

## ABSTRAK

Siti Rofiah. **Biosistematika Kopi Arabika (*Coffea arabica* L. ) Kabupaten Bantaeng Berbasis Morfologi Anatomi Dan Molekuler *Simple Sequence Repeat* (SSR)**. (dibimbing oleh Dr.Andi Ilham Latunra dan Dr. Juhriah M.Si).

Kabupaten Bantaeng merupakan salah satu kabupaten sentral produksi komoditas kopi arabika di Sulawesi Selatan. Daerah-daerah penghasil kopi yang ada di kabupaten Bantaeng tersebar di beberapa kecamatan. Kecamatan Tompobulu, Eremerasa, Bantaeng, Sinoa, dan Uluere. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan dan keragaman dari varietas kopi arabika secara morfologi, anatomi dan molekuler. Penelitian dilakukan pada dua Lokasi berbeda yang pertama untuk pengambilan data morfologi, sampel anatomi dan molekuler dilakukan di kebun kopi Kabupaten Bantaeng dan pengamatan stomata serta molekuler dilakukan di laboratorium biologi molekuler Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia Maros Sulawesi Selatan. Sebanyak 30 sampel di amati yang terbagi menjadi 3 varietas yaitu 10 sampel andongsari, 10 sampel Lin-S dan 10 sampel Typica. Untuk pengujian molekuler menggunakan 20 marka SSR. Berdasarkan hasil penelitian dari 30 sampel yg terbagi menjadi 3 varietas secara morfologi terbagi menjadi 2 sub klaster yaitu klaster I dan klaster II. Klaster I terdiri dari 19 sampel yang meliputi andongsari dan Lin-S, klaster II terdiri dari 11 sampel yang terdiri dari 1 sampel andongsari dan 10 sampel typica, dengan koefisien similaritas berkisar antara 0,78-0,96. Sedangkan anatomi daun kopi hanya terdapat stomata pada bagian bawah dengan jumlah stomata terbanyak terdapat pada sampel andongsari 7 dengan total 65 stomata dan stomata dengan jumlah terendah terdapat pada sampel typica 9 dengan total 14 stomata. Sedangkan berdasarkan hasil molekuler dengan nilai koefisien similaritas 0,50-1,00 terlihat jelas perbedaan dengan terbagi menjadi dua klaster. Klaster I terdiri dari sampel andongsari dan Lin-S dan klaster II terdiri dari sampel typica. Berdasarkan hasil gabungan antara karakter morfologi anatomi dan molekuler *Coffea arabica* L. nilai koefisien similarity berkisar antara 0,55-0,95 juga terbagi menjadi dua klaster yaitu klaster I dan klaster II dimana hasil dari pembagian klaster ini tidak jauh berbeda dengan hasil dari karakter molekuler pada klaster I andongsari dan Lin-S berada dalam satu klaster yang sama sedangkan typica memisah.

**Keywords:** Biosistematika kopi, *coffea arabica* L. , keragaman genetik, SSR



## ABSTRACT

Siti Rofiah. **Biosystematics of Arabica Coffee (*Coffea Arabica* L.) Bantaeng Regency Based on Morphological Anatomy and Molecular Simple Sequence Repeat (SSR).** (Supervised Dr. Andi Ilham Latunra dan Dr. Juhriah M. Si).

Bantaeng district is one of the central districts for Arabica coffee production in South Sulawesi. Coffee-producing areas in Bantaeng district are spread across several sub-districts. Tompobulu, Eremerasa, Bantaeng, Sinoa, and Uluere sub-districts. This study aims to determine the differences and diversity of arabica coffee varieties morphologically, anatomically and molecularly. The research was conducted in two different locations, the first for morphological data collection, anatomical and molecular samples carried out in the coffee plantation of Bantaeng Regency and stomatal and molecular observations carried out in the molecular biology laboratory of the Cereal Crop Instrument Standard Testing Center Maros South Sulawesi. A total of 30 samples were observed which were divided into 3 varieties, namely 10 samples of Andongsari, 10 samples of Lin-S and 10 samples of Typica. For molecular testing using 20 SSR markers. Based on the results of research from 30 samples which are divided into 3 varieties morphologically divided into 2 sub-clusters, namely cluster I and cluster II. Cluster I consists of 19 samples including andongsari and Lin-S, cluster II consists of 11 samples consisting of 1 andongsari sample and 10 typica samples, with similarity coefficients ranging from 0.78-0.96. While the anatomy of coffee leaves only has stomata on the bottom with the highest number of stomata found in andongsari sample 7 with a total of 65 stomata and the lowest number of stomata found in typica sample 9 with a total of 14 stomata. Meanwhile, based on molecular results with similarity coefficient values of 0.50-1.00, the differences are clearly seen by being divided into two clusters. Cluster I consists of andongsari and Lin-S samples and cluster II consists of typica samples. Based on the combined results of anatomical and molecular morphological characters of *Coffea arabica* L. similarity coefficient values ranging from 0.55-0.95 are also divided into two clusters, namely cluster I and cluster II where the results of this cluster division are not much different from the results of molecular characters in cluster I andongsari and Lin-S are in the same cluster while typica separates.

**Keywords:** Coffee biosystematics, *Coffea arabica* L., genetic diversity, SSR

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	v
UCAPAN TERIMAKASIH .....	vi
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.5 Kerangka Pikir .....	4
BAB II METODE PENELITIAN.....	5
2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	5
2.2 Alat dan Bahan.....	5
2.2.1 Alat .....	5
2.2.2 Bahan.....	6
2.3 Prosedur Kerja .....	6
2.3.1 Pengamatan Morfologi.....	6
2.3.2 Pengamatan Anatomi.....	9
2.3.3 Pengamatan Molekuler .....	9
2.4 Analisis Data .....	11
2.4.1 Morfologi .....	11
2.4.2 Anatomi .....	11
2.4.3 Molekuler .....	12
2.5 Diagram Alir Metode Kerja .....	13

BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN .....	14
3.1 Karakter Morfologi <i>Coffea arabica</i> L .....	14
3.1.1 Analisis Cluster <i>Coffea arabica</i> L .....	17
3.2 Karakter Anatomi.....	20
3.3 Karakter Molekuler .....	25
3.3.1 Uji Kualitas dan Kuantitas DNA <i>Coffea arabica</i> L .....	25
3.3.2 Amplifikasi DNA <i>Coffea arabica</i> L .....	27
3.3.3 Penanda Polimorfik/Informasi .....	34
3.3.4 Hubungan Kekerbatan <i>Coffea arabica</i> L .....	36
3.4 Karakter Gabungan Morfologi Anatomi dan Molekuler .....	43
BAB IV PENUTUP .....	42
4.1 Kesimpulan .....	42
DAFTAR PUSTAKA	
DAFTAR LAMPIRAN	



## DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Marka SSR yang digunakan untuk keragaman genetik kopi arabika ( <i>Coffea arabica</i> L. ) .....	6
2. Tabel Fenetik Morfologi.....	7
3. Matriks kesamaan genetic morfologi <i>Coffea arabica</i> L.....	18
4. Penampakan permukaan atas dan bawah daun <i>Coffea arabica</i> L.....	21
5. Jumlah dan ukuran stomata <i>Coffea arabica</i> L.....	22
6. Karakteristik pengamatan anatomi daun <i>Coffea arabica</i> L.	
7. Varietas Andongsari .....	23
8. Karakteristik pengamatan anatomi daun <i>Coffea arabica</i> L.	
Varietas Lin-S.....	23
9. Karakteristik pengamatan anatomi daun <i>Coffea arabica</i> L.	
Varietas Typica.....	24
10.Uji kualitas dan kuantitas DNA <i>Coffea arabica</i> L. ....	26
11.Profil data 20 marka SSR.....	34
12.Matriks kesamaan genetik molekuler <i>Coffea arabica</i> L.....	38
13.Matriks Kemiripan gabungan morfologi anatomi dan molekuler.....	43

## DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Peta Kabupaten Bantaeng.....	5
2. Morfologi <i>Coffea arabica</i> L. Varietas Andongsari.....	14
3. Morfologi <i>Coffea arabica</i> L. Varietas Lin-S .....	15
4. Morfologi <i>Coffea arabica</i> L. Varietas Typica .....	16
5. Dendogram kemiripan karakter morfologi <i>Coffea arabica</i> L. ....	19
6. Amplifikasi DNA Marka SSRCa003 .....	28
7. Amplifikasi DNA Marka SSRCa016 .....	29
8. Amplifikasi DNA Marka SSRCa018 .....	29
9. Amplifikasi DNA Marka SSRCa019 .....	29
10. Amplifikasi DNA Marka SSRCa023 .....	30
11. Amplifikasi DNA Marka SSRCa026.....	30
12. Amplifikasi DNA Marka SSRCa031 .....	30
13. Amplifikasi DNA Marka SSRCa037 .....	31
14. Amplifikasi DNA Marka SSRCa047 .....	31
15. Amplifikasi DNA Marka SSRCa052 .....	31
16. Amplifikasi DNA Marka SSRCa062 .....	32
17. Amplifikasi DNA Marka SSRCa068 .....	32
18. Amplifikasi DNA Marka SSRCa081 .....	32
19. Amplifikasi DNA Marka SSRCa083 .....	33
20. Amplifikasi DNA Marka SSRCa087 .....	33
21. Amplifikasi DNA Marka SSRCa088 .....	33
22. Amplifikasi DNA Marka SSRCa091 .....	34
23. Amplifikasi DNA Marka SSRCa092 .....	34
24. Amplifikasi DNA Marka SSRCa094 .....	34
25. Amplifikasi DNA Marka SSRCa095 .....	35
26. Dendogram kemiripan molekuler <i>Coffea arabica</i> L. ....	39
27. Dendogram kemiripan gabungan morfologi anatomo dan molekuler <i>Coffea arabica</i> L.....	44

**DAFTAR LAMPIRAN**

1. Morfologi Deskripsi for IPGRI .....	50
2. Anatomi Jenis-Jenis Stomata .....	53





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu hasil perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di antara tanaman perkebunan lainnya dan berperan penting sebagai sumber devisa negara. Kopi merupakan tanaman yang banyak ditemukan pada beberapa negara di belahan dunia dan telah dikonsumsi sebagai minuman. Negara maju dan berkembang tidak ingin ketinggalan untuk mengonsumsi kopi. Kopi yang paling sering beredar di pasaran berasal dari biji kopi (Ajhar, 2020). Indonesia memiliki peran penting dalam pusat perdagangan kopi dunia dengan menempati peringkat ke empat sebagai negara produsen kopi di dunia setelah Brazil, Vietnam dan Kolombia. Kopi merupakan produk unggulan yang di budidayakan hampir di seluruh wilayah Indonesia. Berdasarkan luas tanamn dan provinsi produsen kopi diIndonesia terdapat 10 provinsi yatu, Aceh, Sumatera Utara, Bengkulu, Sumatera Selatan, Lampung, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi Selatan (Anam, 2023).

Kopi yang terdapat di Indonesia memiliki kelebihan dari ragam jenis, varietas, kualitas dan rasa yang bervariasi. Kopi arabika (*Coffea arabica* L.) merupakan salah satu jenis kopi yang memiliki cita rasa khas dan lebih kompleks dibandingkan dengan jenis kopi Robusta, Ekselsa, atau Liberica. Rasa yang khas tersebut disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah kopi. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada kopi terbentuk saat menjadi buah kopi, pada proses pascapanen, dan proses penyangraian biji kopi (Azkiyah, 2022).

Karakteristiknya secara umum kopi memiliki morfologi seperti tumbuh tegak, dan bercabang. Karakteristik morfologi kopi juga berbeda-beda. Pada kopi arabika (*Coffea arabica* L.) memiliki karakteristik, tajuk yang kecil, ramping, sedangkan pada robusta memiliki tajuk yang lebar. Untuk buah secara keseluruhan kebanyakan berbentuk bulat telur, sistem perakaran tunggang dan masuk kedalam tanaman dikotil (Rizwan, 2021). Sedangkan secara anatomi semua bagian kopi memiliki struktur yang berbeda-beda, misalnya pada daun memiliki jumlah dan kerapatan stomata dan trikoma yang berbeda-beda sehingga dalam tiap pohon kemungkinan daunnya akan memiliki jumlah stomata yang berbeda (Mutaqin, 2023).

Pulau Sulawesi merupakan salah satu pulau besar di Indonesia yang memiliki keunikan berupa ukuran lebar pulau yang kecil, bentuk pulau menyerupai huruf K, topografi yang terdiri dari pegunungan di bagian tengah dan utara pulau serta adanya tiga teluk di bagian tengah dan selatan. Topografi yang kompleks terutama di bagian Tengah pulau ini menyebabkan variasi kondisi atmosfer yang tinggi dalam jarak yang pendek yang menyebabkan mendukung untuk sektor pertanian dan perikanan (Andarini, 2020). Sulawesi merupakan salah satu daerah penghasil kopi di Indonesia yang masuk kedalam sektor pertanian. Pada tahun 2019

luas perkebunan kopi di Sulawesi mencapai 114 ribu hektar dan pada periode tahun 2011 hingga 2019, Sulawesi Utara menghasilkan kopi sebanyak 26,25 ribu ton, Sulawesi Tengah sebanyak 24,98 ribu ton, Sulawesi Selatan sebanyak 256,85 ribu ton, Sulawesi Tenggara sebanyak 26,5 ribu ton, Gorontalo sebanyak 39,24 ribu ton dan Sulawesi Barat sebanyak 38,27 ribu ton. Hasil panen kopi dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jumlah curah hujan ( Nurman, 2021).

Di Indonesia khususnya Provinsi Sulawesi Selatan telah dilakukan penelitian pada kopi Arabika (*Coffea arabica* L.). Kabupaten Enrekang memiliki kebun kopi khususnya spesies Arabika. Kopi Arabika (*Coffea arabica* L) yang terdapat di kabupaten Enrekang memiliki beberapa varietas seperti Lin S-288, Lin S-795 Arabusta, Hibrido de timor, serta Lini Catimor (Muslimin, 2018). Selain itu kopi arabika juga tersebar di beberapa kabupaten lain yang ada di Sulawesi Selatan yaitu Gowa, Toraja dan Bantaeng. Kopi arabika di Sulawesi Selatan yang tercatat memiliki beberapa varietas seperti, Tipika, Line-S, Catimor, PM 88 dan USDA , Abisenia dan Kartika (Latunra, 2013).

Sebagai salah satu kabupaten yang terletak di bagian pesisir selatan Provinsi Sulawesi Selatan, Kabupaten Bantaeng merupakan kabupaten tertua dari kabupaten - kabupaten lain dibagian selatan. Kabupaten Bantaeng berjarak 120 km dari Kota Makassar, Ibukota Provinsi Sulawesi Selatan dengan luas wilayah tercatat 395,83 km<sup>2</sup> (39.583 ha) yang terbagi atas 8 kecamatan, 21 kelurahan dan 46 desa. Secara geografis berada pada posisi 50 21'13" - 50 35'26" Lintang Selatan dan 1190 51'42" - 1200 05'27" Bujur Timur, memiliki wilayah pantai yang memanjang pada bagian barat ke timur kota dan wilayah daratannya mulai dari tepi laut Flores sampai pegunungan sekitar Gunung Lompobattang dengan ketinggian tempat dari permukaan laut 0-25 m sampai ketinggian lebih dari 1.000m diatas permukaan laut. Pada ketinggian 100-500 m dari permukaan laut, Kabupaten Bantaeng merupakan wilayah terluas atau 29,6 % dari luas wilayah seluruhnya dan terkecil adalah wilayah dengan ketinggian dari permukaan laut 0 – 25 m atau hanya 10,3 % dari luas wilayahnya (Bantaeng, 2023).

Kabupaten Bantaeng merupakan salah satu kabupaten sentral produksi komoditas kopi Arabika di Sulawesi Selatan. Daerah-daerah penghasil kopi yang ada di kabupaten Bantaeng tersebar di beberapa kecamatan. Kecamatan Tompobulu, Eremerasa, Bantaeng, Sinoa, dan Uluere. Berdasarkan data statistika Kabupaten Bantaeng yang di keluarkan oleh Badan Pusat Statistika (BPS), luas perkebunan kopi di Kabupaten Bantaeng mencapai 3840 ha pada tahun 2019 dan pada tahun 2020 luasnya 2537,5 ha. Produksi kopi yang dihasilkan sejak tahun 2019 mencapai kurang lebih 1.744 ton ( Ma'wah, 2022).

Secara umum masyarakat awam di kabupaten Bantaeng hanya mengetahui jenis kopi berdasarkan nama yang familiar contohnya seperti kopi arabika (*Coffea arabica* L.). Faktanya kopi arabika (*Coffea arabica* L.) memiliki varietas. Varietas ini juga menentukan kualitas kopi yang dihasilkan. Selain itu hubungan kekerabatan genetik pada tanaman kopi juga sangat penting misalnya pada kopi arabika (*Coffea arabica* L.) akan sangat penting untuk program pemuliaan dan usaha konservasi.

Penanda molekular adalah perangkat umum yang digunakan untuk mengidentifikasi variasi genetik dari berbagai organisme. Sebuah penanda DNA dianggap memiliki keunggulan dibandingkan dengan jenis penanda lainnya karena kemampuannya untuk mengidentifikasi individu dengan keandalan dan ketepatan yang tinggi serta tidak terpengaruh oleh perubahan lingkungan (Budi,2021).

Berdasarkan karakteristik dan varietas yang ada mengenai kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di Sulawesi Selatan khususnya daerah Bantaeng dan fakta-fakta tentang kurangnya pengetahuan tentang varietas kopi yang ada di Kabupaten Bantaeng mendasari peneliti ingin melakukan penelitian terhadap karakteristik morfologi, anatomi dan molekular pada kopi arabika (*Coffea arabica* L.) tiap varietas yang akan muncul untuk mengidentifikasi perbedaan dan keragaman yang akan muncul.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

- a. Bagaimana karakteristik morfologi tiap varietas dari kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng ?
- b. Bagaimana perbedaan bentuk anatomi tiap varietas dari kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng ?
- c. Bagaimana keragaman molekular yang muncul dari tiap varietas kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian adalah :

- a. Untuk mengetahui perbedaan karakteristik morfologi tiap varietas dari kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng
- b. Untuk mengetahui perbedaan bentuk anatomi tiap varietas dari kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng
- c. Untuk mengetahui keragaman molekular yang muncul dari tiap varietas kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng

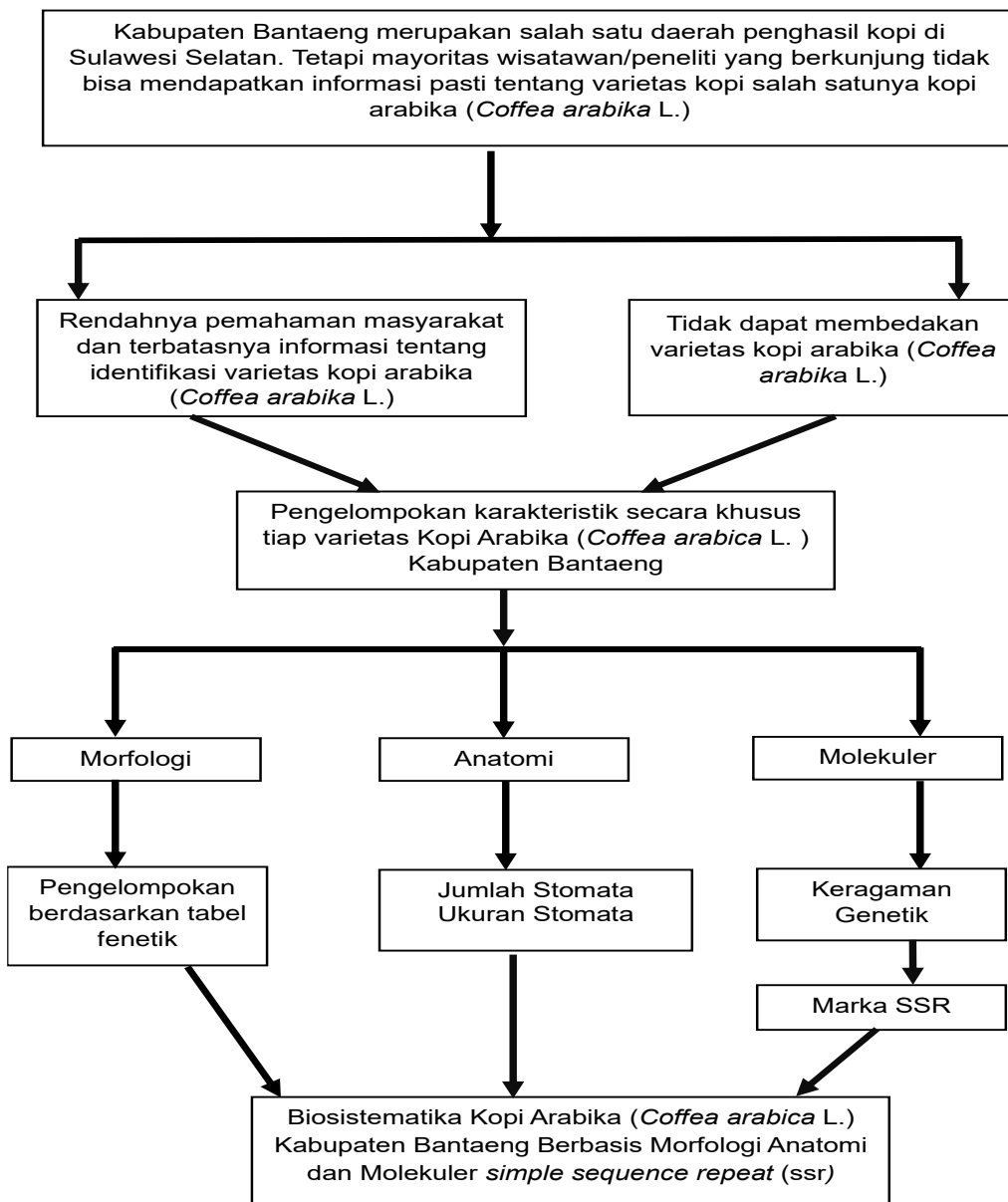
## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian tentang biosistemika morfologi anatomi dan molekular kopi arabika (*Coffea arabica* L.) di kabupaten Bantaeng dapat memberikan beberapa manfaat diantaranya:

1. Menambah informasi tentang perbedaan karakteristik morfologi tiap varietas dari kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang ada di kabupaten Bantaeng. Pengetahuan tambahan kepada masyarakat awam khususnya para petani yang menanam kopi bagaimana mengetahui perbedaan jenis varietas dalam satu spesies dengan hanya melihat secara kasat mata melalui bentuk seperti ukuran daun, batang dan buah.

2. Menambah informasi tentang struktur anatomi khususnya jumlah dan kerapatan stomata serta ukuran stomata pada daun tiap varietas kopi arabika (*Coffea arabica* L.)
3. Memberikan informasi keragaman molekuler yang muncul dari tiap varietas kopi arabika (*Coffea arabica* L.) bagi pemulia dan peneliti kopi, dengan menggunakan penanda molekuler berbasis SSR.

### 1.6 Kerangka Pikir

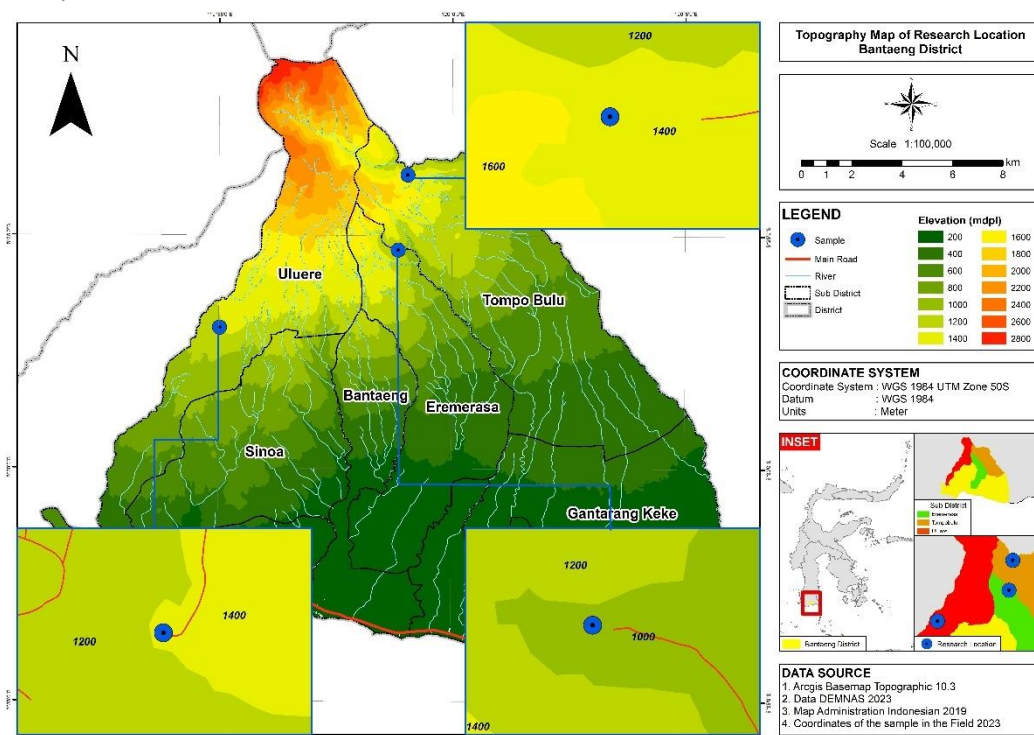


## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2023 - Maret 2024. Pengambilan sampel daun kopi di wilayah kebun kopi Kabupaten Bantaeng dan pengamatan anatomi serta molekuler di Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serelia Kabupaten Maros .



Gambar 2.1 Peta Kabupaten Bantaeng  
Sumber: Google Art

#### 2.2 Alat dan Bahan

##### Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian morfologi dan anatomi adalah, Loop (kaca pembesar), label, plastik sampel, pingset presisi, meteran, jangka sorong, pensil dan pulpen, kertas kosong, soil meter, mikroskop digital, mikroskop binokuler, object glass, deck glass, scalpel, spidol permanen, timbangan digital, silet, tali, jergen dan camera.

Pengamatan molekuler menggunakan alat yaitu: autoclave, termos es, timbangan analitis, gunting, mortar, sendok plastic, pingset, pestel, spatula, tabung

mikrosentrifus 1,5 ml, pipet mikro, tip mikro, waterbath, vortex mixer, sentrifus, erlenmeyer, gelas ukur, magnetic stirer, hot plate, freezer, mesin PCR, perangkat elektroforesis, nampan, UV transilluminator, kamera dan spektrofotometer.

## Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada pengamatan morfologi dan anatomi yaitu, alkohol 70%, solotip, cat kuku bening dan tisu . Sedangkan untuk ekstraksi DNA yaitu , tisu, handsoon, bufer CTAB,  $\beta$ -merkaptotanol, chloroform isoamylalcohol (chisam), isopropanol, etanol, bufer tris (TE). Bahan elektroforesis yaitu akuades, agarosa, TBE 0,5 x , loading dye, etidium bromida (EtBr), ultrapure water, akrilamid 8%, amonium persulfat, temed dan marker Ladder 100 bp, enzim KAPA2G Fast HotStart ReadyMix, mineral oil, silver nitrate, NaOH, formal.

Primer yang digunakan untuk keragaman genetik kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yaitu:

Tabel 2.1 Marka SSR yang digunakan untuk keragaman genetik kopi arabika (*Coffea arabica* L. )

No	Primer	Sekuen Primer	
		Forward	Reverse
1	SSRCa 003	ATGATTTCGTAGGTGGAGTGG	GAGAAGAGAGAGGAAGGGAAA
2	SSRCa 016	AGCAGATTCCATCCTTATCCT	ATTTTTGGCACGGTATGTTC
3	SSRCa 018	GTCTCGTTTCACGCTCTC TC	GACAAACCTGAGGGGAAAGA
4	SSRCa 019	GGGTTAGATAGAGCA AGA ATG A	GCAGAGATGATCACA AGTCC
5	SSRCa 023	GACCCTTGCCTTTTGTTG	CTAAGCCGCAA TGACAGA
6	SSRCa 026	GAATCTGGT GGGCTTTGA	CCACTA ATCCATTCCATTCC
7	SSRCa 031	TCGGACAGATTAGGGGTTT	TAGAAGGGCTTTGACTGGAC
8	SSRCa 037	TTTTGGCTTCAATCTTGCTC	AAGTCCAAGACCAA AGATG
9	SSRCa 047	TAGAGGGTCTTTTCGCAGTTT	AGGAGCAGTTGTTGTTTTCC
10	SSRCa 052	GATGGAAACCCAGAAAAGTTG	ATTTCTATGGACCGGCAAC
11	SSRCa 062	AAGTTA TTAGGGCAAGAGTGGA	CTGTGA AGGTGTGGAGTTTT
12	SSRCa 068	ATGTTGTTGGAGGCATTTTC	GCCATTCATCCATTCATTC
13	SSRCa 081	GTTCTTTCCGCCGTC AAT	AAG GAG AGGGGA AGA AAATG
14	SSRCa 083	TCCAACAACATTAAGCGTATTC	TGTTCCCTCGTTCCCTCTCTCT
15	SSRCa 087	TCACTCTCGCAGACACACTAC	GGGTAATTATGACGAGGGACA
16	SSRCa 088	TACCTCTCCTCCTCCTTCT	GAGTGCTAGGAG AGGGAG AG
17	SSRCa 091	CGTCTCGTATCACGCTCTC	GAG AGA GAAGCCATG ATTTGA
18	SSRCa 092	ATAGCCTGAGCCGTA ACCA	TGGTGGAGTTTGTGTTGAAGAG
19	SSRCa 094	GTGTCCTAG GGA AGGGTA AG	AAAACCTTTCCGTCCACTT
20	SSRCa 095	GAGAGAGCCGAGTGA AGAGA	TTACCCACTTTTTCCACCTC

Sumber : (Misio,2009)

## 2.3 Prosedur Kerja

### 2.2.1 Pengamatan Morfologi

Ciri morfologi kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang diamati meliputi organ batang, daun, bunga, buah dan biji. Keseluruhan pada sampel biji kopi di ambil kemudian diamati dimulai dari bagian umum ke khusus, bagian dasar ke ujung, dan bagian luar ke dalam. Pengamatan juga dilakukan berdasarakan reverensi dari IPGRI

(*International Plant Genetic Resources Institute*) tentang morfologi kopi. Data pengamatan kemudian ditransformasikan ke dalam bentuk skor berupa data interval.

Pengamatan morfologi yang dilakukan di kabupaten Bantaeng di lakukan dengan menentukan penandaan titik lokasi pengamatan dengan bantuan aplikasi offline maps yang kemudian di masukan ke dalam google earth. Selanjutnya pengamatan dilakukan kemudian di masukan kedalam tabel fenetik referensi IPGRI.

Tabel 2.2 Karakter Morphologic Untuk Analisis Kekerupaan/Fenetik Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Berdasarkan varietas yang Berbeda Di Kabupaten Bantaeng

No	Karakter	Jenis Karakter
1	Habitus Tanaman	Semak =1 Tiang=2 Pohon=3
2	Perkembangan vegetatif	Monopodial = 1 Simpodial =2
3	Karakteristik Percabangan	Sedikit cabang =1 banyak cabang =2 Cabang Primer =3 Primer (dgn byk cbg sekunder)=4
4	Bentuk Stipul	Bulat=1 Bulat telur=2 Segitiga=3 Deltate=4 Trapeziform=5
5	Warna daun muda	Kehijauan=1 Hijau=2 Kecoklatan=3 Coklat kemerahan=4 Perunggu=5
6	Bentuk daun	Bulat=1 Bulat telur=2 Berbentuk Bulat Panjang=3 Pisau pembedah=4
7	Bentuk ujung daun	Bulat=1 Tumpul=2 Akut=3 Tajam=4 Apikulat=5 Spatula=6

8	Panjang daun	< 14 cm =1 14-18cm=2 > 18 cm =3
9	Lebar daun	< 7 cm =1 7-9 cm=2 > 9 cm =3
10	Panjang tangkai daun	< 1 cm =1 ≥ 1 cm =2
11	Warna tangkai daun	Hijau=1 Coklat tua=2
12	Warna tunas muda	Hijau=1 Coklat tua=2
13	Warna daun dewasa	Hijau=1 Coklat tua=2
14	Posisi bunga	Aksial=1 Terminal=1
15	Perbungaan di kayu tua	Ada=1 Tidak ada=2
16	Jumlah bunga per axil	≤ 5 =1 >5 =2
17	Jumlah bunga per fasikula	≤ 5 =1 >5 =2
18	Jumlah fasikula per node	≤ 5 =1 >5 =2
19	Panjang tangkai bunga	<1 =1 ≥1 =2
20	Jumlah kelopak per bunga	≤ 5 =1 >6 =2
21	Jumlah benang sari per bunga	≤ 5 =1 >6 =2
22	Warna buah masak	Kuning Orange=1 Kuning Orange=2 Orange=3 Orange merah=4 Merah=5 Ungu=6 Hitam=7



23	Bentuk buah	Berbentuk agak bundar=1 Bulat=2 Bulat telur=3 Berbentuk bulat panjang=4 Bujur=5
24	Panjang buah	≤ 15 mm =1 > 15 mm =2 ≤ 13 mm =3 > 13 mm =4
25	Ketebalan buah	≤ 13 mm =1 > 13 mm =2
26	Berat buah	≤ 2 gr =1 > 2 gr =2
27	Panjang Biji	≤ 13 mm =1 > 13 mm =2
28	Lebar Biji	< 8 mm =1 ≥ 8 mm =2
29	Ketebalan Biji	< 6 mm =1 ≥ 6 mm =2
30	Warna Biji	Kuning=1 Coklat =2
31	Bentuk Biji	Bulat=1 Bulat telur=2 Berbentuk Bulat Panjang=3
32	Berat Biji	< 1 gr =1 ≥ 1 gr =2
33	Keliling batang	< 17 cm =1 17-24 cm=2 > 24- 30 cm=3 >30 cm= 4
34	Diameter batang	< 17 cm =1 17-24 cm=2 > 24- 30 cm=3 >30 cm= 4

---

Sumber : Descriptors for IPGRI International Plant Genetic Resources  
Institute IPGRI Coffee (*Coffea spp. and Psilanthus spp*) (1996)

### 2.2.2 Pengamatan Anatomi

Pengamatan dilakukan untuk mengetahui jumlah stomata, ukuran stomata dan kerapatan stomata. Pengambilan sampel dilakukan di tiga lokasi berbeda di

kabupaten Bantaeng. Lokasi pertama di kebun kecamatan Tompobulu, kebun dua kecamatan Eremerasa dan kebun ketiga di kecamatan Uluere.

Metode yang digunakan yaitu metode *stomatal printing* dengan mengoleskan kutek (cat kuku) yang berwarna transparan pada permukaan bawah daun (abaksial) dan atas daun (adaxial). Setelah mengering (10-15 menit), ditemplei potongan selotip lalu dikelupas secara perlahan-lahan. Replika permukaan daun diletakkan di atas objek gelas yang sudah diberi grid 0,25mm x 0,25mm, lalu diamati dibawah mikroskop dan dihitung jumlah stomata dan densitasnya. Penggunaan pewarna kuku sebagai bahan pencetak stomata dapat mempertahankan kondisi stomata tetap terbuka meskipun hasil cetakan cukup beragam dari yang tidak tercetak sama sekali hingga dapat tercetak dengan jelas ( Sihotang, 2017).

### **2.2.3 Pengamatan Molekuler**

#### **Isolasi DNA**

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi modifikasi bufer CTAB (Khan et al., 2004). Sampel daun muda pada tanaman kopi di ambil dan di potong-potong kecil. Daun ditimbang masing-masing 0,4 g per sampel lalu dimasukkan ke dalam mortar. Setelah itu digerus hingga halus dengan menggunakan pestel dengan menambahkan bufer CTAB dan diusahakan tidak berbusa. Sampel yang telah halus dimasukkan ke dalam dua tabung mikro dengan volume yang sama. Kemudian ditambahkan  $\beta$ -merkaptoetanol 10  $\mu$ l setiap tabung mikro. Tabung mikro lalu diinkubasi dalam waterbath pada suhu 60°C selama 60 menit dengan teknik setiap 15 menit tabung dibolak-balik. Setelah 60 menit, tabung dikeluarkan dari waterbath, didinginkan lalu ditambahkan chloroform isoamylalcohol (chisam), kemudian dihomogenkan menggunakan vortex mixer selama 10 menit. Tabung mikro disentrifugasi dengan kecepatan 11600 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi adalah terbentuknya 3 lapisan yaitu supernatan, pellet dan chisam. Supernatan (cairan bening yang paling atas) dipindahkan dengan hati-hati ke tabung mikro 1,5 ml lalu ditambahkan isopropanol dingin. Tabung diputar-putar hingga terbentuk untaian DNA berupa benang-benang halus. Tabung kemudian disentrifugasi selama 10 menit untuk mengendapkan DNA di dasar tabung. Selanjutnya supernatan dibuang sehingga yang tersisa hanya endapan pellet DNA. Kemudian pellet DNA dicuci dengan menambahkan etanol 70% dingin dan didiamkan selama 10 menit. Selanjutnya etanol 70% dingin kemudian dibuang dengan hati-hati agar pellet DNA tidak ikut terbuang. Kemudian ditambahkan lagi etanol 70% dingin untuk pencucian kedua, didiamkan 10 menit lalu etanol 70% dingin dibuang kembali. Pellet DNA lalu dikeringkan dengan cara membalik tabung diatas nampan yang telah dilapisi kertas tisu. Setelah kering ke dalam tabung yang berisi pellet DNA ditambahkan bufer tris-EDTA lalu diinkubasi menggunakan waterbath selama 60 menit. Setelah DNA larut dalam bufer Tris-EDTA, dihomogenkan dan disentrifugasi.

## Uji Kuantitas DNA dengan Spektrofotometer

Uji kuantitas DNA dilakukan dengan cara memipet 3 µl larutan DNA kopi lalu mengukurnya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Spektrofotometer akan membaca dan mengeluarkan hasilnya di layar monitor berupa nilai konsentrasi dan kemurnian DNA setiap genotipe yang diukur.

## Amplifikasi DNA Dengan PCR (Polymerase Chain Reaction)

Larutan DNA hasil pengukuran dengan spektrofotometer diencerkan (setara 10 ng/µl) sebanyak 1 µl dimasukkan ke dalam microplate. Larutan pereaksi (PCR-mix) ditambahkan terdiri atas air bebas nuklease 2,25 µl per reaksi, @Primer Mix (F dan R) 5 µM 0,5 µl per reaksi, dan enzim KAPA2G Fast HotStart ReadyMix 2x 6,25 µl per reaksi. PCR-mix sebanyak 9 µl dimasukkan ke dalam microplate yang berisi DNA, ditambahkan 1 tetes mineral oil lalu microplate ditutup. Langkah tersebut dilakukan dengan menggunakan sebanyak 20 primer SSR. Program PCR yang digunakan yaitu predenaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, suhu penempelan primer (annealing) disesuaikan untuk masing-masing primer selama 30 detik, dan pemanjangan (extention) pada suhu 72°C selama 30 detik, siklus denaturasi ekstensi diulang sebanyak 35 kali, pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 7 menit dan pendinginan pada suhu 25°C selama 4 menit. Setelah proses PCR selesai, dilakukan proses elektroforesis pada gel poliakrilamid 8%. Untuk elektroforesis dalam 2 page dengan 2 plate digunakan larutan akrilamid 8% sebanyak 100 µl, TEMED 100 µl, dan amonium persulfat (APS) 1.000 µl. Campuran larutan tersebut dimasukkan ke plate kaca dan dipasang cetakan sisir diantara dua plate sampai gel memadat (mengalami polimerisasi). Setelah itu cetakan sisir dari kedua plate diangkat dan plate dimasukkan kerangkaian alat elektroforesis vertikal yang berisi larutan TE 1x. Sampel DNA yang telah di-PCR dipipet sebanyak 4 µl dimasukkan ke dalam masing-masing sumur gel dan 2 µl marker sebagai penanda pada sumur gel. Pertama dan terakhir. Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan listrik 100 V selama 1 jam sampai warna pertama mencapai bagian paling bawah gel. Gel poliakrilamid hasil elektroforesis dicuci dengan akuades kemudian direndam dalam larutan silver nitrat selama 5 - 7 menit lalu dibilas dalam akuades ± 2 detik. Selanjutnya direndam dalam larutan NaOH yang telah dicampur formaldehida 3.000 µl/l sambil digoyang secara perlahan sampai muncul pita-pita DNA. Visualisasi pita-pita DNA dilakukan menggunakan kamera di atas white table.

## 2.4 Analisis Data

### 2.4.1 Morfologi

Data karakterisasi morfologi dianalisis menggunakan metode deskriptif kualitatif. Ciri morfologi terpilih disajikan dalam bentuk skor. Skor ciri yang dipilih bisa berupa multistate yang ditransformasikan dengan angka 0, 1, 2, dan seterusnya.

Hasil skor ciri morfologi disusun dalam bentuk matriks data dengan menggunakan program microsoft excel. Selanjutnya matrik data dianalisis untuk melihat kemiripan. Matriks keserupaan digunakan untuk membuat dendrogram dengan program SAHN (*Sequential, Agglomerative, Hierarchical and Nested*) dan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) yang terdapat pada software NTSys pc. 2.02i (Rohlf 2001).

Analisis data secara keseluruhan menggunakan 34 ciri. Selanjutnya 34 ciri tersebut disederhanakan kembali dengan cara memutar matriks ciri terhadap sampel dan dianalisis menggunakan UPGMA dalam program komputer Numerical Taxonomy and Multivariate System (NTSys) versi 2.2. Dendrogram yang dihasilkan juga menunjukkan hubungan keamatan antar ciri. Pemilihan ciri berdasarkan dendrogram kelompok ciri mempertimbangkan syarat-syarat karakter *distinct*, *uniform*, dan *stable* dengan memperhatikan kesederhanaan demi kepraktisan. Ciri yang terpilih digunakan untuk mengelompokkan Kembali sampel kopi yang diteliti.

#### 2.4.2 Anatomi

Pengumpulan data dilakukan secara kuantitatif dengan menghitung jumlah stomata daun kopi. Pengamatan stomata dilakukan menggunakan Mikroskop NIKON Eclipse E200 dengan dua ukuran yaitu 10X, NA 0,25 WD 7,0mm untuk mengamati jumlah dan indeks stomata dan banyak epidermis yang muncul dan ukuran 40X, NA 0,65 WD 0,65mm untuk mengukur panjang dan lebar stomata.

Untuk menghitung jumlah Indeks stomata (IS) dihitung berdasarkan rumus (Wallis 1965) :

$$IS = \frac{S}{(S + E)} \times 100\%$$

Keterangan:

- IS = indeks stomata
- S = jumlah stomata
- E = jumlah sel epidermis

Ukuran stomata atau Stomata Size (SS) dapat diukur dengan rumus Franco (Tambaru, 2023) sebagai berikut:

$$SS = P \times B \times K$$

Keterangan:

- P = Panjang
- B = lebar
- K = konstanta Franco (0,79)

#### 2.4.3 Molekuler

Analisis data dilakukan dengan metode skoring terhadap pita DNA hasil PCR yang muncul pada elektroforesis gel poliakrilamid 8%. Pita-pita yang terlihat dianggap sebagai satu alel. Pita-pita DNA yang memiliki laju migrasi yang sama

dianggap sebagai lokus yang sama. Pada laju migrasi yang sama, setiap pita yang terlihat diberi skor 1, pita yang tidak terlihat diberi skor 0. Sampel yang tidak teramplifikasi diberi skor 9 dan dianggap sebagai data yang hilang, sehingga hasil skoring pita berupa data biner. Data biner yang diperoleh selanjutnya akan dihitung koefisien similarity dengan menggunakan rumus simple matching coefficient (SMC) (Verma et al., 2019).

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

dimana a : skor 1,1; b : skor 1,0; c : skor 0,1; d. skor 0,0 Data hasil skoring selanjutnya dianalisis menggunakan program Unweighted PairGroup Method with Arithmetic (UPGMA)- Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested (SAHN) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1. (Rohlf, 2000).

Pengelompokan dilakukan dengan memilih fitur clustering pada program NTSYS ver 2.1 untuk memperoleh pengelompokan dalam bentuk dendogram. Dari dendogram akan diketahui genotipe yang memiliki jarak genetik yang jauh. Data hasil skoring dianalisis menggunakan perangkat lunak PowerMarker 3,25 (Liu & Muse, 2005) untuk mengetahui statistika seperti nilai frekuensi alel utama, diversitas genetik, heterozigositas, dan PIC (Polymorphism Information Content) yang dihasilkan oleh marka-marka yang digunakan pada penelitian.

Nilai PIC dihitung menurut formulasi Hildebrand et al. (1992) sebagai berikut:

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

PIC j adalah nilai Polymorphism Information Content marka ke-j, adalah frekuensi alel ke-i pada marka ke-j, dan n adalah jumlah alel pada marka ke-j.

## 2.5 Diagram Alir Metode Kerja

