

**VALIDASI MARKA SSR HASIL DESAIN GENOM INTI DAN
KERAGAMAN GENETIK *Arenga pinnata* Merr. PADA
PROVENANSI MAROS DAN SINJAI**

*VALIDATION OF SSR MARKER DESIGNED FROM NUCLEAR GENOME
AND GENETIC DIVERSITY OF *Arenga pinnata* Merr. FROM MAROS
AND SINJAI PROVENANCES*

ANDI SIFA ZULFIANA



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**



**VALIDASI MARKA SSR HASIL DESAIN GENOM INTI DAN
KERAGAMAN GENETIK *Arenga pinnata* Merr. PADA PROVENANSI
MAROS DAN SINJAI**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Magister Ilmu Kehutanan

Disusun dan diajukan oleh

ANDI SIFA ZULFIANA

kepada

FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2021



HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

VALIDASI MARKA SSR HASIL DESAIN GENOM INTI DAN
KERAGAMAN GENETIK *Arenga pinnata* Merr. PADA PROVENANSI
MAROS DAN SINJAI

Disusun dan diajukan oleh:

ANDI SIFA ZULFIANA
Nomor Pokok: M012191034

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 1 Juli 2021

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Komisi Penasehat

Ketua

Anggota

Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P

Prof. Dr. Ir. H. Muh. Restu, M.P

Ketua Program Studi S2
Ilmu Kehutanan,

Dekan Fakultas Kehutanan,

Prof. Dr. Ir. Muh. Dassir, M.Si



Dr. A. Mujetahid M., S. Hut., M. P



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Andi Sifa Zulfiana
Nomor Mahasiswa : M012191034
Program Studi : Ilmu Kehutanan

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

Makassar,

Yang menyatakan



Andi Sifa Zulfiana



PRAKATA

Puji Syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT berkat segala limpahan rahmat, petunjuk, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian sampai penyusunan tesis dengan judul :”Validasi Marka SSR Hasil Desain Genom Inti dan Keragaman Genetik *Arenga pinnata* Merr. pada Provenansi Maros dan Sinjai”.

Gagasan yang melatari tajuk permasalahan ini timbul dari hasil pengamatan penulis terhadap kebutuhan gula yang tinggi dan aren sebagai bahan baku pembuatan gula merah dan salah satu sumber mata pencaharian masyarakat.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P. dan Bapak Prof. Dr. Ir. Muh.Restu, M.P., selaku dosen pembimbing yang senantiasa meluangkan waktu memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan Tesis ini
2. Ibu Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P., Bapak Mukrimin, S.Hut, M.P., PhD., dan Ibu Dr. Ir. Astuti, S.Hut., M.Si., IPU selaku dosen penguji dan seluruh staf pengajar yang telah mencurahkan ilmunya selama menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin

anda Andi Alam Bakti, S.Sos dan Ibunda Dra. Andi Ida Nirwana,
akku tercinta Andi Muh. Khaidir, S.Sos dan Adikku tercinta Andi
. Yudha terima kasih atas segala doa dan dukungan,



kebersamaan, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan

4. Sri Wahyuni Jufri, S.Hut., Indriyani Astuti, S.Hut., Nurpaesha, S.Hut., Iswanto, S.Hut., M.Si., Muh. Bima Akzad, S.Hut., terima kasih atas segala doa dan dukungan, kebersamaan, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan
5. Keluarga besar P1B terima kasih atas segala doa, motivasi dan kasih sayangnya
6. Kepada Saudara-saudara seperjuangan di Laboratorium Bioteknologi dan pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Unhas, adik-adikku dan staff terima kasih atas bantuan, motivasi, persaudaraan, dan kebersamaannya selama ini
7. Kepada semua pihak yang turut membantu dalam penelitian ini namun tidak disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya

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

Makassar, Juni 2021

Andi Sifa Zulfiana



ABSTRAK

ANDI SIFA ZULFIANA. *Validasi Marka SSR Hasil Desain Genom Inti dan Keragaman Genetik Arenga pinnata Merr. pada Provenansi Maros dan Sinjai* (dibimbing oleh Siti Halimah Larekeng dan Muhammad Restu).

Arenga pinnata Merr., juga dikenal sebagai aren, merupakan jenis pohon yang dikategorikan sebagai pohon serba guna. Nira aren memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan gula merah. Pohon aren di provenansi Maros dan Sinjai memiliki potensi karena memiliki kandungan gula dan keragaman genetik yang tinggi. Informasi mengenai keragaman genetik suatu spesies sangat penting untuk memilih strategi pemuliaan. Marka SSR yang dirancang dari genom inti dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada tanaman aren. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memvalidasi primer SSR yang di desain dari genom inti dan menganalisis keragaman genetik aren dari provenansi Maros dan Sinjai. Keragaman genetik dalam provenansi tergolong tinggi (55%). Kajian ini dilakukan secara komprehensif sebagai informasi dasar pemuliaan aren. Validasi dan analisis keragaman genetik dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin dengan menggunakan sampel DNA sebanyak 50 DNA aren. Validasi dari 54 primer SSR hasil desain menghasilkan 12 primer polimorfik. Hasil keragaman genetik pada penelitian ini diarahkan sebagai sumber informasi dalam melakukan rekayasa genetika, perolehan benih unggul, menciptakan karakter-karakter unggulan baru serta deteksi dini resistensi terhadap penyakit pohon.



ABSTRACT

ANDI SIFA ZULFIANA. *Validation of SSR Marker Designed From Nuclear Genome and Genetic Diversity of Arenga pinnata Merr. From Maros and Sinjai Provenances* (supervised by Siti Halimah Larekeng and Muhammad Restu).

Arenga pinnata Merr., also known as sugar palm, is a tree species categorized as a multi-purpose tree. Its sap has high economic value because of utilizing as the raw material of brown sugar. Sugar palm trees in Maros and Sinjai have potential due to their sugar content and high genetic diversity. The information about the genetic diversity of a species is vital in order to select a breeding strategy. SSR markers designed from the nuclear genome can be used for analyzing genetic diversity in sugar palm. The objective of this study was to validate the designed SSR primers from the nuclear genome and analysis the genetic diversity of sugar palm from Maros and Sinjai provenances. The genetic diversity in the provenance was classified as high (55%). The study was comprehensively performed as basic information for sugar palm breeding. The validation and analysis of genetic diversity were carried out at the Laboratory of Biotechnology and Tree Breeding, Faculty of Forestry, Universitas Hasanuddin, using 50 DNAs of sugar palm as DNA samples. The validation of the 54 SSR-designed primers observed 12 polymorphic primers. The genetic diversity information of this study will be used in genetic engineering, selection of superior seeds and tree characters, and early detection of tolerant trees to diseases.



DAFTAR ISI

PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Aren	7
A. Provenansi	12
B. Penanda Molekuler	13
C. Keragaman Genetik	17
D. Kerangka Pikir Peneltian	20
III. METODE PENELITIAN	22
A. Waktu dan Tempat Penelitian	22
B. Alat dan Bahan	22
C. Prosedur Penelitian	23
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	38
A. Validasi Hasil Seleksi Primer	38
B. Analisis Keragaman Genetik	40
C. Hubungan Kekerabatan Keseluruhan Individu pada Provenansi dan Provenansi Sinjai	46
D. PENUTUP	50
Kesimpulan	50



B. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN	60



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nama Primer dan Sekuen Primer SSR Spesifik Aren Hasil Desain Genom Inti	26
Tabel 2. Hasil Amplifikasi Primer SSR Aren (<i>Arenga pinnata</i> Merr.)	29
Tabel 3. Rumus Analysis of Molecular Variance (AMOVA)	35
Tabel 4. Primer-Primer Mikrosatelit yang telah Diseleksi	39
Tabel 5. Parameter yang mencirikan Keragaman Genetik Aren Provenansi Maros dan Sinjai	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian	21
Gambar 2. Prosedur Analisis Keragaman Genetik	37
Gambar 3. Diagram <i>Analysis of Molecular Variance</i> (AMOVA) Aren Provenansi Maros dan Sinjai	45
Gambar 4. Dendogram Kekerabatan Genetik Aren Provenansi Maros (Hitam) dan Sinjai (Merah) menggunakan hasil desain primer SSR Aren	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Elektroforegram seleksi primer 3	61
Lampiran 2. Elektroforegram seleksi primer 4	61
Lampiran 3. Elektroforegram seleksi primer 10	61
Lampiran 4. Elektroforegram seleksi primer 12	61
Lampiran 5. Elektroforegram seleksi primer 15	61
Lampiran 6. Elektroforegram seleksi primer 23	62
Lampiran 7. Elektroforegram seleksi primer 25	62
Lampiran 8. Elektroforegram seleksi primer 42	62
Lampiran 9. Elektroforegram seleksi primer 47	62
Lampiran 10. Elektroforegram seleksi primer 50.....	62
Lampiran 11. Elektroforegram seleksi primer 51.....	63
Lampiran 12. Elektroforegram seleksi primer 53.....	63
Lampiran 13. Jarak Genetik Aren Provenansi Maros dan Sinjai.....	64



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kebutuhan gula nasional dari waktu ke waktu mengalami peningkatan. Swasembada gula selain diupayakan melalui pengembangan tebu sebagai bahan baku, juga diupayakan sumber bahan baku lainnya seperti tanaman aren dan kelapa (Nawansih et al., 2017).. Produk-produk unggulan aren sebagai sumber pangan dan energi antara lain gula merah, gula semut, nira segar, kolang-kaling, dan minuman beralkohol serta bahan kerajinan, maupun bahan bangunan (Manambangtua et al., 2018).

Berdasarkan data Dinas Kehutanan Jawa Tengah (2010), sentra produksi utama aren terdapat di 14 Provinsi, diantaranya Maluku, Maluku Utara, Papua, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Jawa Barat, Jawa Tengah, Banten, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Bengkulu, Kalimantan Selatan, dan Nanggroe Aceh Darussalam. Total luas areal di 14 provinsi sentra tanaman aren di Indonesia sekitar 70.000 ha (Wulantika, 2019). Sulawesi Selatan merupakan sentra produksi aren sebagai sumber pendapatan keluarga dan memiliki areal ketiga terluas

ran aren setelah provinsi Jawa Barat dan Papua (Akuba, 2004).



Luas pertanaman aren di Sulawesi Selatan sekitar 6.060 ha. Aren ditemukan tumbuh di kabupaten Maros seluas 251 ha dan kabupaten Sinjai 35 ha. Kemampuan produksi gula aren rata-rata 4.121 ton/tahun (BPS, 2017). Sebaran alami (provenansi) di beberapa lokasi diduga memiliki keanekaragaman genetik yang tinggi dan berguna sebagai sumber kehidupan bagi petani.

Areal tanaman aren di Indonesia yang begitu luas, belum diimbangi dengan penerapan teknologi budidaya yang baik, sehingga hasil yang diperoleh belum optimal (Indasary et al., 2019). Belum digunakannya teknik budidaya yang baik dikhawatirkan menyebabkan sumber genetik aren yang memiliki potensi hasil nira tinggi akan musnah.

Aren dengan sifat dan populasi yang riskan akan kelestariannya harus dioptimalkan keberadaannya dengan program pemuliaan pohon sebagai sumber keragaman genetik atau plasma nutfah. Plasma nutfah merupakan sumber gen yang dapat dimanfaatkan untuk peningkatan kualitas hasil tanaman (Sari, 2013).

Salah satu faktor penentu dalam keberhasilan strategi pemuliaan maupun konservasi yaitu melalui studi keragaman genetik. Suatu populasi dengan keragaman genetik tinggi, mempunyai kemampuan untuk mempertahankan diri dari serangan penyakit dan perubahan iklim ekstrim, serta mampu hidup dalam kondisi lestari (Sulistyaawati et al., 2014).

Keragaman genetik berbasis informasi agromorfologis untuk aluasi keragaman genotipik, saat ini dirasakan sudah tidak



memadai lagi. Aplikasi marka molekuler menjadi suatu keharusan untuk meningkatkan efisiensi dalam menganalisis kekerabatan, pemetaan gen, dan *Marker-Assisted Selection* (MAS) (Hardianti et al., 2017). Penanda molekuler dapat menunjukkan perbedaan genetik pada tingkat yang lebih rinci dan tanpa gangguan faktor lingkungan serta melibatkan teknik yang memberikan hasil keragaman genetik yang cepat (Putri et al., 2016).

Mikrosatelit atau juga dikenal sebagai SSR (*Simple Sequence Repeat*) merupakan marka yang paling populer digunakan dalam studi genetik dan pemuliaan. Penggunaan marka SSR relatif mudah, sangat informatif, lokusnya spesifik, dan mampu membaca sifat kodominan, sehingga dapat diaplikasikan untuk analisis keanekaragaman genetik (Ting et al., 2010; Yu, 2002; Hafizah et al., 2018; Arif et al., 2019). Selain itu, SSR sangat polimorfik, banyak dan tersebar diseluruh genom, tidak ambigu, dan berdasarkan pada teknologi berbasis PCR (Chen et al., 2007; Asmono et al., 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Wicaksono (2017) mengenai keragaman genetik pada Kakao mempermudah pemilihan tetua dalam perakitan klon unggul baru. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa marka SSR merupakan alat bantu yang cukup potensial untuk menentukan tetua persilangan yang diharapkan dapat meningkatkan peluang heterosis pada keturunannya.



Penelitian keragaman genetik aren melalui pendekatan molekuler
naman aren telah banyak dilakukan. Beberapa penelitian tersebut

diantaranya empat populasi aren berdasarkan penanda isozim (Haryjanto & Ismail, 2011), plasma nutfah aren Sumatera Utara (Putri et al., 2013), aren asal Sulawesi Tenggara (Harahap, 2014), dan aren asal Tapanuli Selatan (Harahap, 2017) masing-masing berdasarkan penanda RAPD. Informasi kemampuan produksi gula aren di provenansi Maros dan Sinjai harus diikuti dengan informasi keragaman genetik untuk menunjang pemuliaan aren.

Teknologi sekuensing dan analisis bioinformatika memberikan peluang dalam mendesain marka molekuler, salah satunya desain marka SSR. Beberapa spesies telah menghasilkan desain primer SSR salah satunya dari *family* Rosaceae (Li et al., 2013). Penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Nirawati (2020) yaitu desain primer SSR aren yang berasal dari genom kloroplas telah sampai kepada tahap seleksi primer yang dapat teramplifikasi pada aren provenansi Maros dan provenansi Sinjai. Hasil penelitian tersebut, diperoleh 46 primer aren yang teramplifikasi.

Hasil penelitian yang memanfaatkan marka SSR aren hasil pengembangan atau hasil desain untuk evaluasi keragaman genetik aren belum pernah dilakukan. Keuntungan penggunaan marka molekuler hasil desain berdasarkan genom inti aren dari provenansi Sulawesi Selatan, diasumsikan akan lebih mampu memberikan keakuratan hasil. Penelitian

lanjutkan penelitian Nirawati (2020) yaitu validasi hasil seleksi primer digunakan untuk analisis keragaman genetik. Primer SSR yang telah



di desain oleh Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin diharapkan akan memperbesar peluang polimorfisme untuk menganalisis keragaman genetik aren sebagai dasar pemuliaan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang yang telah dikemukakan sebelumnya, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah hasil desain marka SSR mampu mengamplifikasi dan menghasilkan polimorfisme tinggi pada aren dari provenansi Maros dan Sinjai?
2. Bagaimana tingkat keragaman genetik aren pada dua provenansi Sulawesi Selatan berdasarkan hasil desain marka SSR?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Memvalidasi seleksi primer SSR aren hasil desain genom inti yang optimal untuk mengevaluasi keragaman genetik aren provenansi Maros dan Sinjai.
2. Mengkarakterisasi tingkat keragaman genetik aren provenansi Maros dan Sinjai.



D. Kegunaan Penelitian

Marka-marka SSR yang ditemukan pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi percepatan kegiatan pemuliaan pohon untuk mendapatkan sifat unggulan yaitu melalui evaluasi keragaman genetik. Keragaman genetik yang tinggi direkomendasikan sebagai sumber genetik dan untuk pembangunan kebun benih yang bahan tanamannya bermutu tinggi. Informasi dasar genomik dan molekuler aren akan sangat berguna dalam mendukung program pemuliaan aren di masa yang akan datang.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Aren

Aren (*Arenga pinnata* Merr.) adalah salah satu spesies yang termasuk dalam famili Aracaceae. Aren merupakan jenis tanaman tahunan, berukuran besar, berbentuk pohon soliter tinggi hingga 12 m, diameter setinggi dada (DBH) hingga 60 cm (Ramadani et al., 2008). Pohon aren dapat tumbuh mencapai tinggi dengan diameter batang sampai 65 cm dan tinggi 15 m bahkan mencapai 20 m dengan tajuk daun yang menjulang di atas batang (Lempang, 2012). Waktu pohon masih muda, batang aren belum kelihatan karena tertutup oleh pangkal pelepah daun, ketika daun paling bawahnya sudah gugur, batangnya mulai kelihatan. Permukaan batang ditutupi oleh serat ijuk berwarna hitam yang berasal dari dasar tangkai daun.

Berdasarkan karakter tinggi batang dan umur berbuah tanaman, aren terbagi atas dua tipe yaitu aren tipe dalam dan aren tipe genjah. Aren tipe dalam mempunyai postur yang lebih tinggi dengan umur berbuah yang lebih lama dibandingkan aren tipe genjah. Aren provenansi Maros dan Sinjai merupakan aren tipe dalam. Penentuan sifat unggul tanaman

upaya pengumpulan karakter-karakter spesifik merupakan indikator



mutlak yang dijadikan acuan dalam program pemuliaan aren dimasa mendatang (Nirawati, 2020).

Pohon aren adalah salah satu jenis tumbuhan palma yang memproduksi buah, nira dan pati atau tepung di dalam batang. Hasil produksi aren ini semuanya dapat dimanfaatkan dan memiliki nilai ekonomi. Akan tetapi hasil produksi aren yang banyak diusahakan oleh masyarakat adalah nira yang diolah untuk menghasilkan gula aren dan produk ini memiliki pasar yang sangat luas. Negara-negara yang membutuhkan gula aren dari Indonesia adalah Arab Saudi, Amerika Serikat, Australia, Selandia Baru, Jepang dan Kanada (Lay & Heliyanto, 2011).

Jenis tanaman aren tumbuh menyebar secara alami di negara-negara kepulauan bagian tenggara, antara lain Malaysia, India, Myanmar, Laos, Vietnam Kepulauan Ryukyu, Taiwan dan Philipina (Lempang, 2012). Tanaman aren banyak terdapat dan tersebar hampir di seluruh wilayah Nusantara, khususnya di daerah-daerah perbukitan yang lembab (Hartawan, 2020). Aren tumbuh secara individu maupun secara berkelompok (Alam & Suhartati, 2000). Heyne (1950) melaporkan bahwa tanaman aren sering tumbuh mulai dari permukaan laut sampai ketinggian 1.300 m dari permukaan laut. Tanaman ini lebih menyukai tempat dengan ketinggian 500-1.200 mdpl (Suharjo, 2019). Tanaman aren dapat tumbuh

baik pada tinggi tempat 500 mdpl – 800 m di atas permukaan air (Widarawati, 2018). Kondisi tanah yang cukup sarang atau bisa



meneruskan kelebihan air, seperti tanah yang gembur, tanah vulkanis di lereng gunung, dan tanah yang berpasir di sekitar tepian sungai merupakan lahan yang ideal untuk pertumbuhan aren. Suhu lingkungan yang terbaik rata-rata 250⁰ C dengan curah hujan setiap tahun rata-rata 1.200 mm.

Buah aren berupa buah buni, yaitu buah yang berair tanpa dinding dalam yang keras. Tiap buah aren mengandung tiga biji. Inti biji (endosperm) berwarna putih agak bening dan lunak. Inti biji inilah yang disebut kolang-kaling dan biasa digunakan sebagai bahan makanan (Sarmi et al., 2016). Kolang kaling banyak digunakan sebagai bahan campuran beraneka jenis makanan dan minuman.

Aren mulai berbunga pada umur 12 sampai 16 tahun, bergantung pada ketinggian tempat tumbuh dan sejak itu aren dapat disadap niranya dari tandan bunga jantan selama 3 sampai 5 tahun (Lempang, 2012). Tanaman aren yang sehat setiap tandan memiliki bunga jantan yang bisa menghasilkan nira sebanyak 900-1.800 liter/tandan. Tanaman aren yang pertumbuhannya kurang baik hanya rata-rata 300-400 liter/tandan (Riyadi & Hardianto, 2018). Setiap setahun, aren dapat disadap sampai 4 tandan bunga per pohon, dan setiap tandan bunga dapat disadap 3-5 bulan. Nira segar berasa manis, berbau khas nira dan tidak berwarna. Rasa manis pada nira disebabkan kandungan karbohidratnya mencapai 11,28%. Nira

uru menetes dari tandan bunga mempunyai pH sekitar 7 (pH pengaruh keadaan sekitarnya menyebabkan nira aren mudah



terkontaminasi dan mengalami fermentasi sehingga rasa manis pada nira aren cepat berubah menjadi asam (pH menurun).

Produk-produk nira dapat digolongkan dalam dua kelompok, yaitu yang tidak mengalami proses fermentasi dan yang mengalami fermentasi (Harmawan, 2019). Nira aren yang masih segar dan rasanya manis dapat langsung diminum. Nira aren segar juga terutama digunakan sebagai bahan baku pengolahan gula aren. Produktivitas nira aren berkisar antara 8-22 liter/pohon/hari dan berbeda antar lokasi dan ketinggian tempat. Di Jawa Tengah, produktivitas nira aren dapat mencapai 20-30 liter/pohon/hari (Natawijaya et al., 2018). Kadar gula nira dapat mencapai 14%, tetapi rendemen umumnya rata-rata 10%. Sepuluh liter nira aren diperoleh 1 kg gula, bergantung kadar gula dan kandungan lainnya pada nira. Produksi nira diperkirakan 533.860.000 liter/tahun (Barlina et al., 2020).

Fisik gula aren mempunyai kekhasan tersendiri apabila dibandingkan dengan gula dari sumber yang lain (gula tebu, gula bit). Kekhasan gula aren antara lain lebih muda larut, keadaannya kering dan bersih serta mempunyai aroma khas (Rumokoi, 1990). Gula aren mengandung glukosa cukup tinggi yang dapat membersihkan ginjal sehingga kita terhindar dari penyakit ginjal (Sapari, 1994). Kekhasan gula aren dari segi kimia yaitu mengandung sukrosa kurang lebih 84% dibandingkan dengan gula tebu dan gula bit yang masing-masing hanya

17% sehingga gula aren mampu menyediakan energi yang lebih dari gula tebu dan gula bit. Kandungan gizi gula aren (protein,



lemak, kalium dan posfor) lebih tinggi dari gula tebu dan gula bit (Suharjo, 2019).

Penelitian mengenai korelasi karakteristik morfologi dan faktor lingkungan terhadap kandungan gula aren telah dilakukan oleh (Nirawati, et al., 2020). Hasil penelitian menunjukkan korelasi yang cukup sampai sangat lemah. Karakter morfologi yang menunjukkan hubungan yang positif dengan nilai korelasi $r=0,2$ (cukup) adalah karakter panjang anak daun, jumlah anak daun dan tinggi batang. Karakter lingkungan yang menunjukkan korelasi yang cukup adalah karakter intensitas cahaya di bawah tegakan, dengan nilai signifikansi yang berpengaruh nyata terhadap kandungan gula aren. Arah korelasi untuk faktor lingkungan ini arah hubungannya negatif artinya tidak searah. Hal ini menggambarkan semakin tinggi intensitas cahaya di bawah tegakan maka akan menyebabkan pengurangan terhadap kandungan gula nira aren.

Penelitian mengenai karakter fisiologi aren provenansi Maros dan Sinjai telah dilakukan oleh (Nirawati, et al. 2020). Karakteristik stomata, trikoma dan klorofil menggambarkan tentang karakteristik fisiologis kaitannya dengan pertumbuhan dan produktifitas tanaman. Hasil uji parameter jumlah stomata kiri menunjukkan korelasi positif dengan jumlah stomata kanan dan lebar stomata kiri, dengan nilai korelasi yang signifikan, begitupula dengan empat parameter klorofil yaitu klorofil

kiri dengan klorofil tengah kiri, klorofil b dengan total klorofil
lkkan korelasi positif yang sangat signifikan sedangkan klorofil



ujung kiri dengan klorofil tengah kiri, klorofil ujung kiri dengan klorofil tengah kanan menunjukkan korelasi positif yang signifikan. Sedangkan korelasi ketiga parameter fisiologis stomata, trikoma dan klorofil terhadap kandungan gula dan elevasi menunjukkan korelasi positif yang signifikan pada parameter lebar stomata kiri dengan elevasi sedangkan korelasi klorofil ujung kiri menunjukkan korelasi negatif yang signifikan terhadap kandungan gula nira aren.

B. Provenansi

Provenansi berarti asal atau sumber. Istilah ini biasa digunakan oleh para pemulia pohon untuk menerangkan tempat asal benih atau sumber benih alami suatu jenis pohon. Suatu jenis pohon yang banyak diketahui agak luas penyebarannya, dijumpai adanya variasi geografis (ras geografis) tergantung pada faktor-faktor yang mempengaruhi dikenal adanya ras-ras altitudinal, ras-ras iklim dan ras-ras edapis. Variasi yang terjadi dapat berangsur-angsur sifatnya (variasi iklim) atau tiba-tiba (variasi ekotipik). Perbedaan ras terutama tampak pada sifat-sifat fisiologinya seperti daya tahan terhadap kekeringan, panas dan sebagainya yang mempengaruhi cocok tidaknya ras tersebut tumbuh pada suatu daerah tertentu. Jenis pohon memiliki variasi genetik yang berasosiasi dengan asalnya (*provenous*) yang sering kali lebih besar

gkan dengan variasi genetik antar individu pohon pada tegakan
ama (Jumani, 2010). Menurut Suhendi (1995), benih alami



(provenansi) memerlukan proses aklimatisasi, naturalisasi dan domestikasi. Proses ini dikaitkan dengan percobaan program provenansi untuk menghindari kerugian dan kegagalan serta untuk menilai keberhasilan pertumbuhan di suatu tempat tertentu.

C. Penanda Molekuler

Gen adalah unit fundamental dari semua variasi biologis dan merupakan bahan mentah evolusi. Gen adalah sumber dari berbagai macam bentuk kehidupan, komunitas, dan ekosistem (Mukhopadhyay & Bhattacharjee, 2016). DNA adalah suatu molekul, kumpulan atom yang bersatu membentuk unsur baru yang berbeda dari unsur dasar dan merupakan substansi dasar penyusun gen. Gen berada dalam setiap tubuh makhluk hidup yang berfungsi sebagai unit dasar hereditas. Gen terdapat pada untaian rantai yang disebut dengan kromosom dalam sel. DNA digunakan sebagai alat untuk menyeleksi sifat dan karakter dengan penanda molekuler (Rimbawanto, 2008).

Penanda genetik adalah bagian yang mudah diidentifikasi dari material genetik, digunakan untuk membedakan sel, individu, populasi, atau spesies. Penggunaan penanda genetik dimulai dengan mengambil protein atau bahan kimia untuk penanda biokimia atau DNA dan penanda molekuler serta jaringan tanaman. Penanda genetik merupakan alat bantu

identifikasi genotip suatu individu (Semagn et al., 2006).



Penanda molekuler merupakan suatu fragmen DNA yang berada pada suatu lokasi tertentu pada genom yang memiliki kaitan dengan suatu karakter. Polimorfisme atau keragaman alel yang dihasilkan dari suatu penanda merupakan gambaran keragaman atau variasi yang terjadi pada setiap gen individu (Hartwell et al., 2018). Penanda molekuler yang ingin digunakan bergantung pada faktor-faktor seperti kesesuaian penelitian dan konten informasi yang diinginkan (Yu, 2002).

Penanda molekuler dapat menunjukkan perbedaan genetik pada tingkat yang lebih rinci dan tanpa gangguan faktor lingkungan serta melibatkan teknik yang memberikan hasil keragaman genetik yang cepat. Berbagai jenis penanda molekuler berbeda potensinya dalam mendeteksi perbedaan antara individu, biayanya, fasilitas yang dibutuhkan, konsistensi dan replikasi hasil (Mohammadi & Prasanna, 2003; Sudré et al., 2007).

Penanda DNA berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menjadi teknologi pilihan karena menjanjikan efisiensi dan akurasi dalam identifikasi. Penanda DNA berbasis PCR diantaranya *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Simple Sequence Repeat* (SSR), *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR), dan *Randomly Amplified DNA Fingerprinting* (RAF) (Mulsanti, 2011).

Mikrosatelit dikenal dengan istilah *Simple Sequence Repeat* adalah kelas terkecil dari sekuen berulang. Sekuen sederhana



yang berulang, terdiri atas dua, tiga, atau empat nukleotida. Salah satu contoh umum SSR adalah dinukleotida berulang (CA)_n, dengan menunjukkan jumlah total nukleotida berulang yang terdapat pada kisaran 0 dan 100. Marker tersebut sering menunjukkan polimorfisme inter dan intra spesifik dengan level tinggi. Reaksi PCR untuk SSR dilakukan dengan primer *forward* dan *reverse* yang berkaitan/*anneal* pada ujung 5 dan 3 dari DNA cetakan. Fragmen produk PCR biasanya dipisahkan pada gel poliakrilamid dengan pewarnaan AgNO₃, dengan autoradiografi atau dengan sistem deteksi menggunakan *fluoresens* (Mcculloch & Stevens, 2011).

Simple Sequence Repeat (SSR) merupakan penanda molekuler yang mengapit daerah *non coding* dengan urutan basa pendek berulang yang terdapat pada lokus tertentu (Weising et al., 2005). Penggunaan marka SSR relatif mudah (Ting et al., 2010), sangat informatif, lokusnya spesifik, dan mampu membaca sifat kodominan, sehingga dapat diaplikasikan untuk analisis keanekaragaman genetik (Yu, 2002).

SSR adalah motif sederhana urutan basa nitrogen yang terdapat pada kromosom suatu organisme. Urutan itu berulang-ulang sebagai motif yang unik. Para ilmuwan memanfaatkannya dengan memetakan urutan tersebut pada kromosom suatu organisme, sehingga penggunaan marka SSR memiliki kemampuan mendeteksi suatu populasi segregasi seakurat

(ane et al., 2002).



Penggunaan marka SSR menggunakan teknik PCR, terdistribusi pada seluruh kromosom sehingga diharapkan semakin tinggi kemungkinan untuk mendapatkan marka yang terpaut dengan suatu sifat tertentu yang menjadi sekuen target. Pembukaan peta keterpautan SSR di dalam merakit varietas baru juga dapat menghemat waktu, tenaga, dan dana (Jannati et al., 2009).

Penanda SSR telah digunakan secara luas untuk analisis genetik suatu populasi, karena informatif dan berhasil menjelaskan hubungan antara individu dan populasi. SSR telah umum digunakan untuk menilai keragaman genetik dalam pemuliaan pohon dan tingkat perkawinan, introgresi dari spesies lain, diferensiasi genetik (Rahal et al., 2020).

Analisis variasi genetik menggunakan penanda SSR adalah analog dengan metode lama yakni elektroforesis protein. Sejumlah SSR diaplikasikan untuk mendeteksi sejumlah alternatif alel pada lokus genetik spesifik. Alel-alel individu mencerminkan frekuensi yang berbeda antar populasi yang berbeda (Bradley et al., 1998; Cintamulya, 2012).

SSR sebagai penanda DNA digunakan untuk menunjukkan bahwa klon kakao mempunyai keragaman genetik tinggi yang diperlukan dalam upaya pengembangan varietas unggul baru, dapat mengetahui hubungan kekerabatan antar klon, dan mendeteksi adanya duplikasi pada klon kakao hasil eksplorasi. Karakterisasi secara molekuler dengan marka

ngat penting dilakukan dalam proses identifikasi tanaman, karena mengetahui hubungan kekerabatan antar klon dan mendeteksi



adanya duplikasi pada klon kakao hasil eksplorasi (Izzah et al., 2019). Keragaman genetik menggunakan primer-primer yang dikembangkan dari jenis tertentu lebih memberikan polimorfisme tinggi, misalnya pada cherry (J. Zhang et al., 2016), peach (Li et al., 2013), gandum (Huang et al., 2020).

D. Keragaman Genetik

Keragaman genetik merupakan konsep mengenai derajat keanekaragaman gen dalam suatu spesies yang diukur dari variasi genetik (unit-unit kimia atau sifat-sifat warisan yang diturunkan dari suatu generasi ke generasi lainnya) yang terkandung dalam gen-gen individu organisme dari suatu jenis, sub jenis, varietas atau keturunan. Keragaman genetik dalam populasi suatu jenis organisme mengemukakan bahwa tidak ada suatu individu yang penampilannya persis sama dengan individu lainnya. Setiap sifat yang dapat diamati memiliki kisaran bentuk, ukuran dan warna yang variasinya ditentukan oleh sifat genetik jenis tersebut (Ramdhanil, 2002).

Pengetahuan keragaman genetik suatu jenis dalam suatu populasi merupakan suatu langkah yang penting dalam rangka upaya konservasi sumber daya genetik. Upaya konservasi dan pemuliaan tanaman memerlukan informasi keragaman genetik yang digunakan oleh

tanaman untuk meningkatkan produksi tanaman, memproteksi, mengkonservasi tanaman yang keberadaannya terancam



punah, serta sebagai dasar dalam kegiatan perakitan varietas (Yüzbaşıoğlu et al., 2006; Boer, 2007; Tilahun et al., 2013).

Keragaman genetik memainkan peran yang sangat penting dalam adaptabilitas suatu spesies karena ketika lingkungan suatu spesies berubah, variasi gen yang besar diperlukan agar spesies dapat bertahan hidup dan beradaptasi. Spesies yang memiliki derajat keragaman genetik yang tinggi pada populasinya akan memiliki lebih banyak variasi alel yang dapat diseleksi untuk merakit varietas unggul yang baru (Elfrod & Stansfield, 2007).

Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan memanfaatkan plasma nutfah yang tersedia di alam dan melalui persilangan. Usaha perbaikan genetik tanaman memerlukan adanya plasma nutfah dengan keragaman genetik yang luas (Hutami et al., 2016; Martono, 2020).

Menurut Jie et al. (2002), heterogenitas lingkungan merupakan salah satu faktor ekologi yang sangat berpengaruh pada keragaman genetik suatu populasi dalam suatu daerah. Komponen biotik dan abiotik dalam suatu lingkungan juga memicu mekanisme epigenetik seperti metilasi DNA yang pada dasarnya turut mempengaruhi keragaman genetik, khususnya pada tanaman (Zhang et al., 2009).

Pendekatan yang sering digunakan untuk mengukur besarnya genetik, yaitu dengan menggunakan penanda genetik (*genetic* dan sifat kuantitatif. Pendekatan penanda genetik dapat



dipisahkan menjadi dua yaitu penanda genetik secara morfologi dan penanda genetik molekuler. Pendekatan penanda molekuler yang mampu dalam mendeteksi gen dan sifat-sifat tertentu, evaluasi keragaman dan evolusi pada tingkat genetik (SawHoon et al., 1999).

Variasi genetik merupakan dasar untuk program pemuliaan tanaman. Variasi genetik yang tinggi berpengaruh terhadap kemampuan suatu jenis untuk beradaptasi. Variasi genetik yang tinggi akan menghasilkan sifat resisten atau tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim, sehingga serangan hama dan penyakit dapat dihindari (Siregar & Olivia, 2012). Penanda molekuler digunakan secara luas untuk identifikasi keragaman genetik, pemetaan genetik dan hubungan kekerabatan. Penanda SSR yang didasarkan pada PCR dengan primer acak tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan efektif untuk analisis keragaman genetik (Boer, 2007).

Pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor lingkungan. Kecepatan tumbuh dapat ditingkatkan dengan tindakan pemuliaan. Sifat tanaman yang didominasi oleh faktor genetik mungkin akan nampak dalam suatu lingkungan tertentu dibandingkan lingkungan yang lain. Perbedaan genetik terhadap ketahanan *frost* tidak akan nampak apabila tanaman ditanam di daerah bebas *frost*, tetapi hal ini akan menjadi penting apabila tanaman yang sama ditanam di daerah temperatur rendah

musim pertumbuhan (Maimunah, 2015). Analisis kluster



(kelompok) merupakan teknik multivariat yang bertujuan untuk mengelompokkan objek-objek berdasarkan karakteristik yang dimiliki.

Penelitian untuk keragaman genetik aren menggunakan penanda genetik molekuler telah dilakukan, seperti: keragaman genetik tanaman *Arenga pinnata* Merr. di Tapanuli Selatan dengan menggunakan marka RAPD. Sebanyak 24 aksesori aren di daerah Tapanuli Selatan, meliputi Angkola Barat, Angkola Selatan, Batangtoru dan Sipirok dianalisis keragaman genetiknya menggunakan marka RAPD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ke empat lokasi yang diteliti memiliki keragaman genetik tinggi (Harahap, 2017).

E. Kerangka Pikir Penelitian

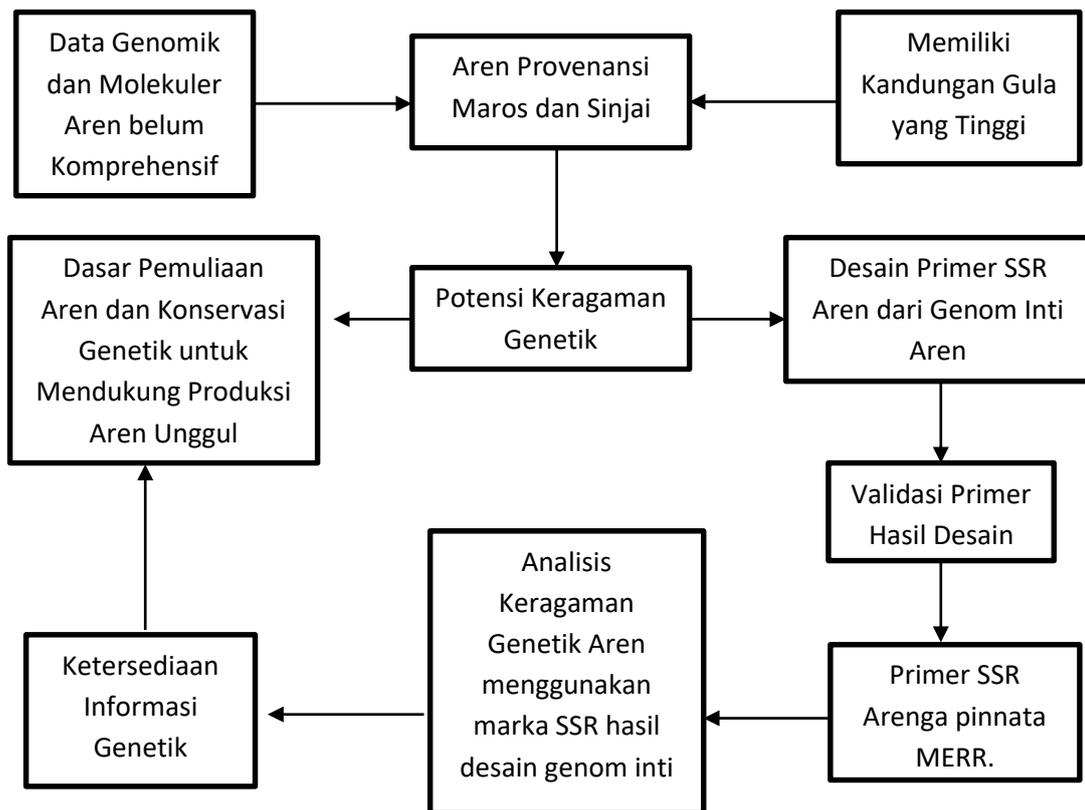
Pohon aren merupakan tanaman yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi dan dikenal sebagai bahan baku pembuatan gula merah, penyebarannya sangat luas di Indonesia. Kabupaten Maros dan Sinjai merupakan sentra utama produksi aren di Sulawesi Selatan (Suhesti & Hadinoto, 2015; Manambangtua et al., 2018).

Aren provenansi Maros dan Sinjai memiliki potensi kandungan gula yang tinggi dan memiliki sebaran alami dengan keragaman yang tinggi (Nirawati, 2020). Penelitian dengan menggunakan pendekatan molekuler merupakan salah satu cara untuk mempertahankan kualitas

analisis molekuler dengan menggunakan marka SSR merupakan satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk mengetahui faktor



genetika dan yang paling banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik. Pemuliaan aren dan konservasi genetik aren memerlukan analisis keragaman genetik aren provenansi Maros dan Sinjai dengan penanda SSR spesifik aren hasil desain genom inti yang dikembangkan oleh Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Penelitian ini menjadi solusi yang tepat untuk informasi genetik dalam mendukung kegiatan pemuliaan pohon aren, khususnya Sulawesi Selatan, dan meningkatkan kuantitas aren.



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

