

SKRIPSI

**KERAGAMAN GENETIK GIAM (*HOPEA CELEBICA*) PADA
PROVENANSI LUWU DAN KONAWE BERDASARKAN
PENANDA ISSR (*INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS*)**

Disusun dan diajukan oleh
MICHELY JAUWDY STEVIC
M011171547



PROGRAM STUDI KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

LEMBAR PENGESAHAN

**KERAGAMAN GENETIK GIAM (*HOPEA CELEBICA*) PADA
PROVENANSI LUWU DAN KONAWA BERDASARKAN PENANDA ISSR
(*INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS*)**

Disusun dan diajukan oleh :

MICHELY JAUWDY STEVIC
M011171547

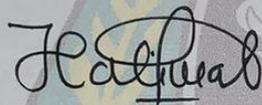
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk
dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin
pada tanggal 30 Agustus 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

UNIVERSITAS HASANUDDIN

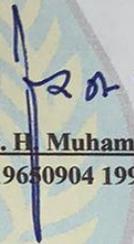
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.
NIP. 19820209 201504 2 002



Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Restu, M.P.
NIP. 19630904 199203 1 003



Dr. Forest. Muhammad Alif K.S., S.Hut., M.Si.
NIP. 19790831 200812 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Michely Jauwdy Stevic
NIM : M011171547
Prodi : KEHUTANAN
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

**Keragaman Genetik Giam (*Hopea celebica*) Pada Provenansi Luwu dan
Konawe Berdasarkan Penanda ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*)**

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

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

Makassar, 30 Agustus 2021

Yang menyatakan,



Michely Jauwdy Stevic

ABSTRAK

Michely Jauwdy Stevic (M011171547). Keragaman Genetik Giam (*Hopea celebica*) Pada Provenansi Luwu Dan Konawe Berdasarkan Penanda ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*). Dibawah Bimbingan Siti Halimah Larekeng dan Muhammad Restu

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam hayati (*mega diversity*) dan memiliki keanekaragaman yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Salah satu pulau besar di Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, unik dan bersifat endemik adalah pulau Sulawesi. Dalam skala internasional *Hopea celebica* adalah tumbuhan endemik Sulawesi yang masuk dalam kategori nyaris punah akibat perusakan habitat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui primer ISSR yang digunakan pada analisis keragaman genetik serta bagaimana tingkat keragaman genetik *H. celebica* pada Provenansi Luwu dan Konawe. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Mei 2021 di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar. Sampel yang digunakan berjumlah 50 sampel *H. celebica* yang merupakan sampel koleksi dari Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon. Metode penelitian yang dilakukan adalah dengan cara menyeleksi 10 primer ISSR yang selanjutnya dilanjutkan dengan menganalisis keragaman genetik dari *H. celebica*. Primer ISSR yang dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik *H. celebica* adalah primer UBC 810, UBC 813, UBC 814, UBC 820, UBC 822, UBC 823, dan UBC 827. Analisis keragaman genetik *H. celebica* dilihat dari jumlah pita, nilai He dan nilai PIC. Analisis hubungan kekerabatan *H. celebica* dilihat dari jarak genetik dan dendrogram yang datanya telah dimasukkan ke dalam *software* Darwin 6.0. Hasil dari keragaman genetik *H. celebica* pada kedua provenan yaitu Luwu dan Konawe tergolong tinggi dimana hasil tersebut dinilai dapat sangat membantu dalam proses pemuliaan *H. celebica*.

Kata kunci : *Hopea celebica*, ISSR, Keragaman genetik

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan atas anugerah, rahmat, karunia dan izin-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian dan penyusunan skripsi dengan judul “**Keragaman Genetik Giam (*Hopea celebica*) Pada Provenansi Luwu dan Konawe Berdasarkan Penanda ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats)**”.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan berbagai kendala. Tanpa bantuan dari berbagai pihak, penyusunan skripsi ini tidak akan selesai dengan baik. Untuk itu, dengan penuh kerendahan hati, penulis menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada beberapa pihak, terutama kepada:

1. Ibu **Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.** dan **Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Restu, M.P.** selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membantu dan mengarahkan penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Bapak **Iswanto, S.Hut., M.Si** dan Bapak **A. Siady Hamzah, S.Hut., M.Si** selaku penguji yang telah membantu dalam memberikan saran, guna perbaikan baik dalam teknis dan dalam penulisan skripsi ini.
3. Ketua Program Studi Kehutanan Bapak **Dr Forest. Muhammad Alif K.S. S.Hut., M.Si** dan **Prof. Dr. Ir. Yusran, S.Hut., M.Si., IPU** selaku Dosen Penasehat Akademik, serta Bapak/Ibu Dosen dan seluruh Staf Administrasi Fakultas Kehutanan.
4. Kakak-kakak, teman-teman, adik-adik, dan keluarga besar di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, terkhusus kakak **Fitriani S.Hut., Muh. Bima Akzad, S.Hut, M.Hut., Yusniar, S.Hut, M.Hut** dan **Alisyah Andini** serta teman-teman Biotek 2017, terkhusus **Atisa Muslimin, S.Hut., Musdalifah, S.Hut., Kiki Sulo, S.Hut., Iser Purwanti Ayu, S.Hut., Devi Nurvaulasari, S.Hut, Feby Natasha S.Hut** dan **Yushariana Yahya** terimakasih atas bantuan, diskusi-diskusi dan masukan-masukan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

5. Rekan satu tim yang membantu selama penelitian **Kadek Rastiani** dan **Nurul Adila Fauziyah** saya ucapkan terima kasih atas bantuan, kekompakan dan kerjasamanya selama penelitian.
6. Keluarga Besar PDR-MK Fahutan Unhas dan PDR-MK 2017 khususnya **Dini Albertin S.Hut, Mery, Peboy, Geby, Tiyas, Grace, Ega Cyntia W, S.Hut., Brigitta Audrynne, S.Hut., Dwi, Meisy, Kemal S.Hut, Jupe, Faden, Dijey, Gelo, Nehe** penulis ucapkan terimakasih untuk kebersamaan, kekeluargaan, untuk setiap doa dan setiap pembelajaran yang telah didapatkan penulis selama ini.
7. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2017 Kehutanan Unhas Fraxinus 2017 dan Kelas D Aja khususnya **Ardiana S.Hut, Fanny Fadillah S.Hut, Alm. Fadly, Lisa S.Hut, Hamzah S.Hut, Faisal, Sarif, Arya, Wahyu** terima kasih atas kebersamaan, pembelajaran, diskusi dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
8. Terkhusus penulis ucapkan terima kasih kepada **Ade Kristian Radeng, S.Hut** terimakasih atas bantuan, diskusi-diskusi, dan support yang diberikan selama penulis melakukan penyusunan skripsi ini.
9. Sahabat-sahabatku **Usi, Aurel, Pia, Tiara, Apri** dan **Rahasia Negara Squad** terimakasih atas segala support yang diberikan kepada penulis.
10. Terkhusus, penulis mendedikasikan skripsi ini untuk Bapak **Alm. Stevanus Ranto** dan Ibu **Marice Limbongan**, untuk setiap hal yang telah diberikan dalam hal mendidik dan membesarkan penulis. Serta mengucapkan banyak terima kasih kepada adik terkasih **Inri Patricia Stevic** atas motivasi yang diberikan.

Penulis sangat menyadari bahwa di dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Penulis

Michely Jauwdy Stevic

DAFTAR ISI

| | |
|--------------------------------------|-----|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| LEMBAR PENGESAHAN..... | ii |
| PERNYATAAN KEASLIAN..... | iii |
| ABSTRAK | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2. Tujuan dan Kegunaan | 2 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 3 |
| 2.1 Giam..... | 3 |
| 2.1.1 Taksonomi Pohon..... | 3 |
| 2.1.2 Morfologi Pohon | 3 |
| 2.1.3 Penyebaran dan Habitat..... | 4 |
| 2.1.4 Manfaat Pohon | 4 |
| 2.2 Keragaman Genetik | 5 |
| 2.3 Penanda Molekuler | 6 |
| 2.4 Penanda ISSR | 7 |
| III. METODE PENELITIAN | 10 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 10 |
| 3.2 Alat dan Bahan..... | 10 |
| 3.3 Prosedur Penelitian | 10 |
| 3.3.1 Pengambilan Sampel..... | 10 |
| 3.3.2 Seleksi Primer | 10 |
| 3.3.3 Elektroforesis | 11 |
| 3.4 Analisis Data..... | 12 |

| | |
|--|----|
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 14 |
| 4.1 Seleksi Primer | 14 |
| 4.2 Analisis Keragaman Genetik | 17 |
| 4.3 Analisis Hubungan Kekerabatan Seluruh Populasi | 18 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | 23 |
| 5.1 Kesimpulan | 23 |
| 5.2 Saran | 23 |
| DAFTAR PUSTAKA | 24 |
| LAMPIRAN | 31 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Judul | Halaman |
|---------------|---|----------------|
| Gambar 1. | Prosedur Penelitian Analisis Keragaman Genetik | 13 |
| Gambar 2. | Elektroforegram hasil amplifikasi PCR primer ISSR UBC 814 | 14 |
| Gambar 3. | Elektroforegram hasil amplifikasi PCR primer ISSR UBC 830 | 15 |
| Gambar 4. | Dendogram Kekerabatan Genetik Giam Pada 2 Provenansi..... | 21 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Judul | Halaman |
|--------------|--|----------------|
| Tabel 1. | Nama Primer dan Sekuen Primer ISSR yang diseleksi | 11 |
| Tabel 2. | Nama Primer ISSR Hasil Amplifikasi Pada Giam dan nilai PIC | 16 |
| Tabel 3. | Jumlah Pita dan nilai He | 17 |
| Tabel 4. | Jarak Genetik Giam Seluruh Provenansi | 19 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Judul | Halaman |
|-----------------|---------------------------------------|----------------|
| Lampiran 1. | Dokumentasi alat yang digunakan..... | 32 |
| Lampiran 2. | Dokumentasi bahan yang digunakan..... | 34 |
| Lampiran 3. | Dokumentasi Penelitian..... | 36 |

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam hayati (*mega diversity*) dan memiliki keanekaragaman yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia (Fajarwati, 2016). Salah satu pulau besar di Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, unik dan bersifat endemik adalah pulau Sulawesi. Alasan utama yang menyebabkan pulau Sulawesi memiliki flora dan fauna yang unik dan bersifat endemik adalah pulau Sulawesi tidak pernah menyatu secara utuh dengan benua Asia dan Australia yang mengapitnya (Sutrisna *et al.*, 2018).

Berdasarkan IUCN tahun 2015, Giam adalah tumbuhan endemik Sulawesi dalam kategori genting (*endangered*) dan nyaris punah (*Critical Endangered*) akibat fragmentasi populasi dan perusakan habitat. Giam banyak dimanfaatkan sebagai bahan konstruksi bangunan, campuran kosmetik dan coklat (Sudarmonowati *et al.*, 2020).

Kegiatan pembibitan Giam biasanya dilakukan dengan biji (generatif). Biji diunduh saat masih berada di pohon. Semai (bibit cabutan) dapat diperoleh disekitar pohon induk. Biji Giam harus langsung ditanam sesaat setelah diunduh karena daya kecambah biji akan menurun drastis jika disimpan dalam waktu yang lama (Wulandari *et al.*, 2015).

Pemuliaan pohon merupakan suatu upaya yang dapat dilakukan untuk menghasilkan perbaikan genetik untuk peningkatan hasil, baik secara kualitas maupun kuantitas dari generasi ke generasi. Program pemuliaan dapat terarah dengan baik dan tujuannya dapat tercapai, memerlukan strategi pemuliaan yang tepat berdasarkan keragaman secara morfologi maupun genetik (Gusmiaty *et al.*, 2012).

Keragaman genetik merupakan faktor yang sangat berpengaruh dalam menyusun strategi pemuliaan pohon. Karakter genetik suatu jenis pohon yang terdapat dalam satu tempat tumbuh maupun yang berbeda provenansi dapat berbeda, ditunjukkan melalui sifat dan kekhasan suatu tegakan. Tegakan atau provenansi yang memiliki karakter genetik yang baik dapat menjadi sumber

yang tepat untuk kegiatan pemuliaan pohon (Langga *et al.*, 2012).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mempersingkat waktu pemuliaan adalah menganalisis secara molekuler (Langga *et al.*, 2012). Teknik molekuler berdasarkan DNA telah banyak dikembangkan dan digunakan sebagai alat yang sangat baik untuk menganalisis genom tanaman. Penanda molekuler yang umum digunakan salah satunya yaitu *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). ISSR merupakan bagian mikrosatelit yang tidak mengkode protein (*non coding region*) dan biasanya berupa mononukleotida, dinukleotida atau trinukleotida (Widiastuti *et al.*, 2013). Penanda ISSR memperbaiki kekurangan teknik *Random Amplified Polimorphic DNA* (RAPD) dimana ISSR lebih sensitif mendeteksi keragaman genetik pada tingkat rendah dan relatif mudah serta sama ekonomisnya dengan teknik RAPD (Bradford, 2008). Penanda ISSR telah banyak digunakan pada beberapa tanaman kehutanan diantaranya pada jenis *Gmelina arborea* (Kumar *et al.*, 2014), jenis *Pinus gerardiana* (Gul *et al.*, 2021) dan tanaman Gaharu (*Aquilaria spp*) (Azhari *et al.*, 2015).

Kajian keragaman genetik pada tanaman Giam dengan menggunakan penanda ISSR ini akan sangat membantu dalam proses pemuliaan sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai Keragaman Genetik Spesies Giam khususnya pada Provenansi Luwu dan Konawe.

1.2. Tujuan dan Kegunaan

Tujuan dari penelitian adalah :

1. Menentukan primer ISSR yang dapat digunakan untuk keragaman genetik Giam
2. Menganalisis keragaman genetik dengan penanda ISSR pada Giam berdasarkan penanda ISSR pada Provenan Luwu dan Konawe.

Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah diharapkan dapat memberikan informasi dasar dalam kegiatan pemuliaan jenis Giam melalui analisis keragaman genetik. Hasil dari analisis keragaman genetik diharapkan dapat menjadi bahan informasi mengenai uji keragaman genetik menggunakan penanda ISSR.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Giam

Tanaman dengan nama ilmiah *Hopea celebica* Burck atau yang mempunyai sebutan tanaman Giam di Indonesia. Tanaman ini mempunyai banyak nama lokal di antaranya Balau Mata Kucing, Hulo Dereh, Kerih (Maros), Hulodere, Damar Derehitem, Damar Derehitem Lotang, Bisik-Bisik, Rinni-Rinni, Sareh Pareh, Torinih (Malili), Rode, Dama'dere dan Mata Kucing (Sulawesi Selatan), Jangkang Putih (Sudarmonowati *et al.*, 2020).

2.1.1 Taksonomi Pohon

Tanaman Giam adalah spesies tanaman dalam familia Dipterocarpaceae. Habitat tumbuh di kawasan hutan semi evergreen dataran rendah. Dengan klasifikasi sebagai berikut (Ashton, 1998) dalam (Sudarmonowati *et al.*, 2020) :

| | |
|---------|-------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Phylum | : Trachaeophyta |
| Class | : Magnoliosida |
| Ordo | : Theales |
| Family | : Dipterocarpaceae |
| Genus | : <i>Hopea</i> |
| Species | : <i>Hopea Celebica</i> |

2.1.2 Morfologi Pohon

Pohon sedang-besar, tinggi 40 m, diameter 100 cm, kadang berbanir. Batang berwarna sawo matang atau hitam kelabu, beralur banyak, mengelupas kecil-kecil, kulit bagian dalam berwarna putih sampai merah muda kekuningan. Damar berwarna putih sampai kuning pucat. Daun bundar telur-melanset, menjangat, tepi tergulung balik, ujung meruncing, pangkal agak tidak simetris, menumpul-membaji, panjang daun 15–20 cm, lebar 6–8 cm, sedikit mengkilap, sedikit kaku, urat daun sekunder 8–12 pasang, melengkung pada pinggir daun, kadang terdapat kelenjar (domatia) pada ketiak sekunder. Tangkai daun besar, panjang 1–2 cm. Bunga dan buah dalam susunan malai. Buah bersayap 2 besar dan 3 kecil;

ukuran buah kecil; tulang pada sayap buah ada 7 (Soerianegara dan Lemmens 1994) dalam (Sudarmonowati *et al.*, 2020). Populasi tidak lebih dari 150 dengan kerapatan individu 3–5 individu/ha.

Masa berbunga jenis ini tidak dapat diprediksi. Interval antara berbuah dan buah matang adalah sekitar 3 bulan. Regenerasi dilakukan secara alami melalui biji, biasanya semai dan anakan berlimpah di bawah pohon induknya (Soerianegara dan Lemmens 1994) dalam (Sudarmonowati *et al.*, 2020).

2.1.3 Penyebaran dan Habitat

Giam adalah tanaman endemik Sulawesi (Malili, Maros) dan dijumpai pada hutan primer dengan ketinggian di bawah 500 mdpl. Populasi jenis ini terus menurun akibat pembukaan lahan perkebunan, dan industri skala besar, misalnya yang terjadi di sepanjang pesisir Danau Matano, pembukaan lahan untuk perkebunan merica (Rudianto 2017) dalam (Sudarmonowati *et al.*, 2020).

Jenis ini dijumpai di kawasan in situ hutan Desa Matano dan Nuha di tepian Danau Matano, Kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan. Upaya konservasi ex situ juga sudah dilakukan di kebun raya wilayah Sulawesi (Kebun Raya Kendari, Kebun Raya Jompie, Kebun Raya Pucak, Kebun Raya Massenrempulu, Kebun Raya Minahasa). Aksi Konservasi yang diajukan adalah perluasan kawasan konservasi, baik in situ maupun ex situ (Sudarmonowati *et al.*, 2020).

2.1.4 Manfaat Pohon

Giam sebagai penghasil damar berkualitas tinggi, kayunya sangat disukai penduduk untuk membuat perahu, lesung dan kincir penumbuk padi karena awet dan tidak mudah pecah. Jenis ini dipakai sebagai balok, tiang dan papan dalam bangunan perumahan dan jembatan atau sebagai balok penyangga, baik dalam tanah maupun dalam air (Martawijaya *et al* 1981; Ashton 1982). Kayu Giam selain untuk perkapalan juga dipakai untuk tong air, ambang jendela, kerangka rumah, telenan dan barang bubutan (Soerianegara dan Lemmens 1994). Resin untuk membuat lem, obat-obatan, obor, vernis, cat minyak dan untuk bahan makanan (Rudianto, 2017) dalam (Sudarmonowati *et al.*, 2020).

2.2 Keragaman Genetik

Keragaman genetik adalah suatu tingkatan biodiversitas yang mengacu pada jumlah total variasi genetik dalam keseluruhan spesies yang terdapat pada sebagian atau seluruh permukaan bumi yang dapat didiami. Informasi keragaman genetik diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk kegiatan konservasi. Sedangkan untuk pemuliaan, keragaman genetik yang luas diperlukan dalam kegiatan seleksi untuk merakit tanaman unggul. Analisis genetik, penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman dan kegiatan yang berkaitan dengan konservasi sumber daya genetik (Ardiyani *et al.*, 2014).

Analisis keragaman genetik dari setiap sumber daya genetik yang tersedia perlu dilakukan untuk mendapatkan data deskripsi atau karakter spesifik dari masing-masing genotipe baik secara morfologi maupun molekuler. Informasi keragaman genetik diperlukan untuk mengetahui kemiripan atau jarak genetik antar genotipe. Jarak genetik inilah yang dapat digunakan sebagai dasar untuk menentukan genotipe tetua yang akan digunakan dalam proses pemuliaan. Persilangan antar genotipe yang memiliki jarak genotipe terjauh akan memberikan hasil terbaik pada program pemuliaan tanaman (Degewione *et al.*, 2011).

Keragaman morfologi, kandungan kimia dan genetik suatu spesies dipengaruhi oleh faktor perbedaan habitat atau lingkungan tempat tumbuhnya (Wu *et al.*, 2013). Keragaman suatu spesies dapat diketahui dengan menggunakan berbagai karakter antara lain morfologi, profil kandungan kimia, dan penanda molekuler. Karakter morfologi dan profil kimia mempunyai keterbatasan yaitu sangat dipengaruhi oleh lingkungan dan fase perkembangan spesies (Domayti *et al.*, 2011). Penggunaan marka molekuler merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi kelemahan karakter morfologi. Sampai saat ini telah banyak dikembangkan teknik molekuler untuk mengetahui keragaman genetik suatu spesies (Touil *et al.*, 2016).

Informasi mengenai keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk adaptasi ekologi dalam jangka pendek dan

evolusi dalam jangka panjang (Lande dan Shannon, 1996).

Keanekaragaman genetik pada suatu spesies dapat terjadi karena adanya perbedaan lokasi atau tempat tumbuhnya (Svitlana *et al.*, 2018). Informasi tentang keanekaragaman genetik pada suatu spesies dapat menggambarkan daya adaptasi, seleksi genotipe dan untuk merakit varietas baru, sidik jari genetik, serta pengelolaan plasma nutfah (Fu *et al.*, 2008). Keanekaragaman tersebut dapat diketahui dengan menggunakan berbagai karakter. Karakter morfologi merupakan karakter yang banyak digunakan sebagai dasar dalam identifikasi dan analisis keanekaragaman. Karakter morfologi mudah diamati, namun membutuhkan, waktu pengamatan yang lama, bagian tumbuhan harus diperoleh secara lengkap dan membutuhkan ketelitian dan kemampuan dalam mencandra saat di lapangan serta mudah terpengaruh oleh kondisi lingkungan (Meng *et al.*, 2011).

Karakterisasi berdasarkan karakter morfologi perlu diperkuat menggunakan karakter lain seperti penanda molekuler. Plastisitas dalam satu spesies menyebabkan adanya variasi karakter kualitatif maupun kuantitatif, proses tersebut terjadi untuk merespon dan beradaptasi terhadap perubahan kondisi lingkungan (Noorani *et al.*, 2013).

Pita DNA yang dihasilkan karena polimorfisme melalui elektroforesis dapat dianalisis untuk melihat keanekaragaman genetik dari suatu kelompok organisme. Analisis variasi genetik dapat dilakukan dengan cara membuat kesepakatan biner, seperti jika ada pita pada suatu posisi berat molekul dianggap bernilai 1, jika tidak ada bernilai 0. Beberapa program statistik khusus yang dapat digunakan antara lain NT-Sys, Popgen, Arlequin dan Treecon. Masing-masing software digunakan sesuai dengan kebutuhan analisis (Suryanto, 2003).

2.3 Penanda Molekuler

Deoxiribose Nucleic Acid (DNA) adalah bahan yang diwariskan dan merupakan unsur pokok kromosom yang disebut nuklein atau bahan yang ada hubungannya dengan nukleus. DNA merupakan material dasar dari hereditas dan makromolekul biologi untuk penyimpanan informasi genetik (Finkeldey, 2005). Selkoe dan Toonen (2006), mengatakan DNA merupakan substansi dasar penyusun gen. Gen berada dalam setiap tubuh makhluk hidup yang berfungsi

sebagai unit dasar hereditas. Pendekatan secara genetik dapat mengidentifikasi tanaman dalam melakukan pemuliaan atau untuk mengetahui variasi genetik. Penilaian keragaman genetik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia dan molekuler DNA.

Penanda molekuler atau penanda DNA merupakan suatu sekuen pendek DNA yang menunjukkan adanya polimorfisme antar individu yang berbeda dalam satu spesies. Penanda molekuler mempunyai tingkat polimorfisme yang sangat tinggi, jumlahnya tidak terbatas, tidak dipengaruhi oleh lingkungan, dan tingkat heritabilitasnya hampir 100%. Suatu penanda dikatakan efektif apabila dapat membedakan antara dua tetua yang berbeda genotipenya dan dapat dideteksi dengan mudah dalam populasi yang diuji (Wirnas 2005).

Penanda molekuler akan menganalisis hubungan pada tingkat DNA sehingga perubahan yang tidak terlihat dengan penanda lainnya dapat diketahui. Manfaat penanda molekuler untuk identifikasi suatu individu atau genotipe, derajat kekerabatan antar genotipe, adanya variasi genetika dalam suatu populasi tanaman, determinasi gen atau kompleks gen yang diinginkan dalam suatu genotipe spesifik, dan pengembangan varietas tanaman baru melalui transformasi (Brown *et al.*, 1996).

2.4 Penanda ISSR

Saat ini penanda ISSR mulai banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik. Penanda ISSR dikembangkan dari kebutuhan untuk mengeksplorasi microsatellite repeats tanpa menggunakan DNA hasil sequencing. Teknik ini didasarkan pada amplifikasi segmen DNA antara dua *microsatellite repeated region*. Penanda molekuler ISSR merupakan salah satu penanda dengan motif sekuen berulang. Ada kalanya terdapat penambahan sekuen nukleotida baik pada bagian ujung 3' maupun ujung 5' seperti (CA)₈ RG dan (CA)₈ RY. ISSR adalah fragmen DNA dengan ukuran 100-3000 bp berlokasi di antara wilayah mikrosatelit (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

ISSR merupakan daerah bukan gen yang tidak mengkode protein (non coding region) dan berada diantara dua lokus mikrosatelit. ISSR menggunakan primer tunggal yang pada bagian ujung 3' dan 5' terdapat penambahan sekuen

nukleotida (Adeyose *et al.*, 2012; Akter *et al.*, 2015). Keunggulan ISSR antara lain: tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan musim, tidak membutuhkan informasi sekuen terlebih dahulu, berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR), DNA cetakan yang digunakan lebih sedikit (5-50 ng per reaksi), wilayah sekuen tersebar diseluruh genom sehingga menghasilkan pola polimorfisme lebih tinggi dibandingkan dengan teknik Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) dan dapat diaplikasi pada tingkat spesies (Son *et al.*, 2012; Riupassa *et al.*, 2015; Sulassih *et al.*, 2011).

Primer yang dibuat berdasarkan urutan sekuen mikrosatelit yang menyebar di sepanjang genom dan bersifat co-dominant perlu digunakan untuk mengeksplorasi variasi genetik. Primer inter-simple sequence repeat (ISSR) yang mengamplifikasi sekuen di antara mikrosatelit dapat dengan cepat membedakan individu-individu yang berkerabat dekat (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Sekuen mikrosatelit ini tersebar di sepanjang genom eukariotik (Tautz dan Renz 1984). Amplifikasi dengan primer ISSR dapat memperlihatkan sejumlah lokus per primer dibandingkan dengan analisis RAPD (Wolff *et al.*, 1995). Primer-primer ini tidak memerlukan lokus spesifik karena primer-primer tadi akan mencari setiap tempat di dalam genom yang mengandung motif mikrosatelit (Fang dan Roose, 1997).

Penanda molekuler ISSR memiliki beberapa kelebihan antara lain sederhana, cepat, efisien, mampu menghasilkan panjang produk amplifikasi antara 200-2.000bp. Penanda ISSR tidak dipengaruhi musim dan lingkungan (Azrai, 2005), tidak memerlukan data sekuen terlebih dahulu, ISSR tersebar di seluruh genom, dapat menghasilkan pola polimorfisme lebih tinggi dari pada RAPD (Guo *et al.*, 2009), menghasilkan polimorfisme pada tingkat kultivar (Lu *et al.*, 2011), pada umumnya bersifat dominan meskipun kadang-kadang bersifat kodominan (Kumar, 2009), dan dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik dan analisis kekerabatan (Trojanowska dan Bolibok, 2004).

Penanda ISSR menghasilkan pita yang lebih polimorfisme daripada RAPD, bahkan 6.5 kali lebih tinggi dibanding RAPD karena panjang primer yang lebih panjang dari primer RAPD (Quian *et al.*, 2001) lebih cepat dan lebih mudah digunakan (Lanham dan Brennan, 1999).

Penanda ISSR ini telah berhasil digunakan untuk mempelajari keragaman

genetik pada teh (Mondal, 2002). ISSR menunjukkan polimorfisme yang cukup untuk membedakan antara berbagai kultivar krisan (Wolff *et al.*, 1995). ISSR berhasil menunjukkan keragaman genetik pada purwoceng (Rahmah, 2013). ISSR mampu membedakan keragaman genetik *Gloriosa superba* L. yang diinduksi dengan mutagen (Selvarasu, 2017). ISSR adalah penanda pilihan untuk menilai keanekaragaman genetik cocoa (Charters dan Wilkinson, 2000).