

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

Nurul Afriani Arif
H052182001



PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

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

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

Program Studi
Biologi

Disusun dan diajukan oleh

**Nurul Afriani Arif
HO52182001**

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

TESIS

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

Disusu dan diajukan oleh

Nurul Afriani Arif
Nomor Pokok H052182001

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

Menyetujui,
Komisi Penasehat,

Anggota Penasehat,

Ketua Penasehat,

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

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

Diketahui,

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas MIPA

Universitas Hasanuddin,

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



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

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Afriani Arif

Nomor Mahasiswa : H052182001

Program Studi : Biologi

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

Makassar, 05 februari 2021

Yang menyatakan



Nurul Afriani Arif

KATA PENGANTAR

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

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

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

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

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

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada :

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

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

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

Makassar, Januari 2021

Penulis

ABSTRAK

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

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

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

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

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

ABSTRACT

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

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

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

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

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

DAFTAR ISI

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

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

DAFTAR TABEL

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

DAFTAR GAMBAR

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

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

DAFTAR LAMPIRAN

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

DAFTAR SINGKATAN

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

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada tesis ini yaitu sebagai berikut:

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

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian pada tesis ini yaitu sebagai berikut:

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

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

D. Manfaat penelitian

Manfaat penelitian pada tesis ini yaitu sebagai berikut:

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Hasil Penelitian

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

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

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

B. Tinjauan Teori Dan Konsep

1. Morfologi Jeruk Keprok Selayar *Citrus reticulata* Blanco

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

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

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

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

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

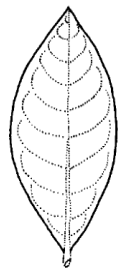
Buah *Citrus reticulata* Blanco seperti bola tertekan, panjangnya berkisar 5-8 cm. dengan diameter rata-rata 5,19 cm. Buah *Citrus reticulata* Blanco termasuk golongan buah sejati tunggal berdaging dan berair tipe buah jeruk (*Hesperedium*).

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

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

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

2. Pembagian daun (*Leaf division*)



Gambar 1. Helaian Daun (*Leaf Lamina*)

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

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

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

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

5. Bentuk helai daun (Leaf lamina shape)

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

b. Bulat telur (*ovate*)

c. Bulat telur terbalik (*obovate*)

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

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

6. Bentuk tepi daun (Leaf lamina margin)

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



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

7. Ujung Daun (Leaf apex)

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

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

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

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

2. Marka Molekuler

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

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

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

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

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

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

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

3. *Simple Sequence Repeat (SSR)*

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

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

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

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

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

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

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

4. Kabupaten Selayar

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

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

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

5. Kabupaten Bantaeng

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

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