

SKRIPSI

**KERAGAMAN GENETIK POPULASI KAYU KUKU
(*Pericopsis mooniana*) BERDASARKAN MARKA ISSR
(*Inter Simple Sequence Repeat*)**

Oleh:

NURUL ADILA FAUZIYYAH

M011171555



PROGRAM STUDI KEHUTANAN

FAKULTAS KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

HALAMAN PENGESAHAN

KERAGAMAN GENETIK POPULASI KAYU KUKU (*Pericopsis mooniana*) BERDASARKAN MARKA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)

Disusun dan diajukan oleh

NURUL ADILA FAUZIYYAH
M011171555

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi
program sarjana Program Studi Kehutanan Fakultas

Kehutanan Universitas Hasanuddin

pada tanggal Maret 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

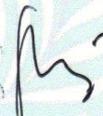
Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Dr. Siti Halima Larekeng, S.P. M.P
NIP. 19820209201504 2 002



Gusmiaty, S.P., M.P
NIP. 19791120200912 2 002

Mengetahui

Ketua Program Studi Kehutanan



Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P.
NIP. 19680410199512 2 001



PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nurul Adila Fauziyyah
NIM : M011171555
Program Studi : Kehutanan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

“Keragaman Genetik Populasi Kayu Kuku (*Pericopsis Mooniana*) Berdasarkan
Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)”

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

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

Makassar, Maret 2024
Yang Menyatakan



Nurul Adila Fauziyyah

ABSTRAK

NURUL ADILA FAUZIYYAH. KERAGAMAN GENETIK POPULASI KAYU KUKU (*Pericopsis mooniana*) BERDASARKAN MARKA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), dibawah bimbingan Siti Halimah Larekeng dan Gusmiaty.

Kayu kuku merupakan salah satu yang tergolong kayu mewah, karena dilihat dari tampilannya yang memiliki corak berupa garis-garis dekoratif, permukaan kayu licin dan juga kelihatan mengkilap sehingga kayu ini memiliki harga yang cukup mahal di pasaran dunia.. Berdasarkan UNEP-WCMC tahun 2014, *Pericopsis mooniana* yang termasuk kedalam family leguminosae saat ini terancam punah dari Asia Tenggara maka dari itu perlu untuk dilindungi. Akibat dari maraknya penebangan yang tidak disertai dengan rehabilitasi menyebabkan tingkat regenerasi alami pun terbatas sehingga menyebabkan kelangkaan pada kayu kuku. *Inter simple sequence repeats* (ISSR) adalah penanda yang paling sering digunakan untuk DNA karena kelebihanannya yang sangat dominan diantara penanda yang lain dibandingkan dengan penanda molekuler RAPD, penerapannya lebih besar yakni dapat mendeteksi lebih banyak pita DNA, sehingga akurasi identifikasi dan eksplorasi polimorfisme menjadi lebih tinggi, keterulangan (*reproducibility*) dan juga terpercaya. Tujuan dari penelitian adalah Menentukan primer ISSR yang dapat digunakan untuk keragaman genetik kayu kuku dan menganalisis keragaman genetik dengan penanda ISSR pada kayu kuku. Hasil dari penelitian ini adalah Primer yang dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik kayu kuku adalah primer UBC 813, UBC 814, UBC 824, dan UBC 827. Keragaman genetik kayu kuku menggunakan marka ISSR tergolong tinggi.

Kata kunci: Keragaman Genetik; *Peicopsis mooniana* ; Marka ISSR

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya kepada Allah SWT atas berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Keragaman Genetik Populasi Kayu Kuku (*Pericopsis Mooniana*) Berdasarkan Marka Issr (*Inter Simple Sequence Repeat*)” guna memenuhi syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Sarjana (S1) di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin Makassar.

Penghormatan dan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis persembahkan kepada Bapak tercinta **Mansyur** dan Ibu tersayang **Hadaria Dahlan** yang senantiasa mendoakan, memberikan perhatian, kasih sayang, nasihat, dan semangat kepada penulis. Serta kepada saudaraku terkasih **Muhammad Irsyam Maulana** dan adikku **Nur Ain Mansyur**. Saya ucapkan banyak terima kasih buat Ibu **Emmi Dahlan, S.KM, M.Kes** yang telah banyak memberi masukan serta motivasi selama saya menyelesaikan tugas akhir dan semua keluarga terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini. Semoga di hari esok penulis kelak menjadi anak yang membanggakan.

1. Ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.** dan **Gusmiaty, S.P., MP**, selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membantu dan mengarahkan penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Bapak **Budy Arti, S.Hut., M.Si** dan Ibu **Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P.**, selaku penguji yang telah membantu dalam memberikan saran, guna perbaikan baik dalam teknis dan dalam penulisan skripsi ini.
3. Ketua Program Studi Kehutanan Ibu **Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P.**, serta Bapak/Ibu Dosen dan seluruh Staf Administrasi Fakultas Kehutanan atas bantuannya.
4. Ibu **Dr. Andi Detti Yuniarti, S.Hut., M.P.**, selaku Dosen Penasehat Akademik, terima kasih atas motivasi dan arahnya selama penulis menempuh Pendidikan di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.
5. Bapak **Iswanto, S.Hut, M.Si** yang telah membantu proses penelitian.
6. 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., Yusril Suryamsah, S.Hut** serta teman-

teman Biotek 2017, terkhusus **Annisa Nur Islami,S.Hut., Atisa Muslimin, S.Hut.,M.Hut., Devi Nurvaula Sari,S.Hut., Kiki Sulo, S.Hut., Iser Purwanti Ayu, S.Hut.,Imelda Taruk Datu,S.Hut., Nurul Musdalifah,S.Hut.,M.Hut., Sulastri Indriani, S.Hut., Feby Natasha,S.Hut dan Yusharina Yahya, S.Hut.,** terimakasih atas bantuan, diskusi-diskusi dan masukan-masukan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

7. Rekan satu tim yang membantu selama penelitian **Michely Jauwdy Stevic, S.Hut dan kadek Rastiani, S.Hut.,** saya ucapkan terima kasih atas bantuan, kekompakan dan kerjasamanya selama penelitian.
8. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2017 Kehutanan Unhas **Fraxinus 2017 dan Kelas D Aja** khususnya **Juarni, S.Hut., Lisa Arianti, S.Hut, Devi Nurvaula Sari, S.Hut., Andi Mutmainnah Mujihah, S.Hut., Nurfadillah, S.Hut., Faisal Sudrajat, S.Hut., Muhammad Arya Jurabi, S.Hut., All Usman M Rimosan , Andika Pramudya, dan Andi Nur Jaya Azis** terima kasih atas kebersamaan, pembelajaran, diskusi dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
9. **Muhammad Ilham Akbar,S.T.,** terimakasih atas bantuan, support, dan perhatiannya.

Terakhir penulis ucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam semua proses baik dalam penyusunan tugas akhir dan juga selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

Makassar, Maret 2024

Nurul Adila Fauziyyah

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Kegunaan.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kayu Kuku (<i>Pericopsis mooniana</i>).....	4
2.1.1 Taksonomi Pohon	4
2.1.2 Morfologi Pohon	4
2.1.3 Penyebaran dan Habitat	4
2.1.4 Manfaat Pohon	5
2.2 Keragaman Genetik.....	5
2.3 Penanda Molekuler Berdasarkan 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.....	11
3.3.3 Elektroforesis.....	12
3.4 Analisis Data.....	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16

4.1	Seleksi Primer	16
4.2	Analisis Keragaman Genetik	19
4.3	Analisis Hubungan Kekerabatan Seluruh Populasi.....	21
V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	26
5.1	Kesimpulan	26
5.2	Saran.....	26
	DAFTAR PUSTAKA	28
	LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 1.	Nama Primer dan Sekuen Primer ISSR yang diseleksi.....	11
Tabel 2.	Nama Primer ISSR Hasil Amplifikasi	18
Tabel 3.	Jumlah Pita, Nilai He dan nilai PIC	19

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 1.	Prosedur Penelitian Analisis Keragaman Genetik.....	14
Gambar 2.	Elektroforegram hasil amplifikasi PCR primer ISSR UBC 813	16
Gambar 3.	Elektroforegram hasil amplifikasi PCR primer ISSR UBC 824	16
Gambar 4.	Elektroforegram hasil amplifikasi PCR primer ISSR UBC 823.....	16
Gambar 5.	Jarak genetik antar populasi	23
Gambar 6.	Dendogram kekerabatan genetik kayu kuku.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1	Dokumentasi Alat.....	14
Lampiran 2	Lampiran Bahan	16
Lampiran 3	Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	16
Lampiran 4	Gambar Elektroforegram Seleksi Primer Tidak Digunakan.....	16

I . PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sulawesi memiliki banyak jenis kayu lokal yang tumbuh dan dipelihara, beberapa diantaranya mengalami penurunan produktivitas diakibatkan karena pemanfaatannya yang semakin banyak diminati oleh berbagai kalangan. Jenis kayu lokal yang dimaksud yaitu kayu kuku (*Pericopsis mooniana*). Kayu kuku merupakan salah satu yang tergolong kayu mewah, karena dilihat dari tampilannya yang memiliki corak berupa garis-garis dekoratif, permukaan kayu licin dan juga kelihatan mengkilap sehingga kayu ini memiliki harga yang cukup mahal di pasaran dunia (Nurtjahjaningsih *et al.*, 2015).

Kayu kuku berdasarkan lokasi tempat tumbuhnya berada secara terpisah di hutan pantai dimana dapat juga ditemukan disepanjang aliran sungai maupun bisa juga tumbuh di hutan yang tergenang (Yudohartono *et al.*, 2019). Kayu kuku dapat pula beradaptasi pada lahan yang memiliki mutu rendah karena memiliki faktor pembatas seperti ketersediaan air yang biasanya susah didapatkan disekitar tempat tumbuh (Suhartati, *et al.*, 2018).

Munandar (2004) menyatakan bahwa melalui laporan *Rain Forest Action* bahwa kayu kuku digolongkan sebagai tanaman hutan yang mengalami penurunan produktivitas dan mengakibatkan terancam punah (*vulnerable tree species*) (Yudohartono *et al.*, 2019). Berdasarkan UNEP-WCMC tahun 2014, kayu kuku yang termasuk kedalam family leguminosae saat ini terancam punah dari Asia Tenggara maka dari itu perlu untuk dilindungi. Akibat dari maraknya penebangan yang tidak disertai dengan rehabilitasi menyebabkan tingkat regenerasi alami pun terbatas sehingga menyebabkan kelangkaan pada kayu kuku (Restu, *et al.*, 2018). (Restu, *et al.*, 2018) menjelaskan bahwa hilangnya keragaman genetik disebabkan akibat dari pengrusakan hutan dengan cara penebangan liar sehingga menurunkan aliran gen dan mengakibatkan gr (keterbatasan evolusi dari spesies).

Permasalahan yang dihadapi adalah masih kurangnya informasi potensi genetik tanaman tersebut. Keragaman genetik dapat diukur dengan pendekatan secara morfologi maupun molekuler. Marka molekuler adalah DNA yang

teridentifikasi, ditemukan pada lokasi tertentu pada genom, diwariskan dari generasi ke generasi berikutnya dengan mengikuti hukum pewarisan sifat. Penanda molekuler yang umum digunakan antara lain Isozim, *Random Amplified Microsatelite Polymorphisms (RAMP)*, *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*, *Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)*, *Mikrosatelit atau Simple Sequence Repeats (SSRs)* dan *Inter Simple Sequence Repeats (ISSRS)* (Panahi dan Neghab, 2013). Kelemahan dari penanda molekuler tersebut antara lain *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)* membutuhkan teknik yang kompleks, *Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)* mempunyai reproduktibilitas rendah, sedangkan *Amplified Fragment Length Polymorphic (AFLPs)* membutuhkan informasi sekuens untuk desain primer yang digunakan (Miah *et al.*, 2013).

ISSR adalah penanda yang paling sering digunakan untuk DNA karena kelebihan yang sangat dominan diantara penanda yang lain dibandingkan dengan penanda molekuler RAPD, penerapannya lebih besar yakni dapat mendeteksi lebih banyak pita DNA, sehingga akurasi identifikasi dan eksplorasi polimorfisme menjadi lebih tinggi, keterulangan (*reproducibility*) dan juga terpercaya (Pereira, 2017; Li dan Ge, 2001).

1.2 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan dari penelitian adalah :

1. Menentukan primer ISSR yang dapat digunakan untuk keragaman genetik kayu kuku.
2. Menganalisis keragaman genetik dengan penanda ISSR pada kayu kuku.

Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah diharapkan dapat memberikan informasi dasar dalam kegiatan pemuliaan jenis kayu kuku 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 Kayu Kuku (*Pericopsis mooniana*)

2.1.1 Taksonomi Pohon

Kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW) merupakan jenis dari famili fabaceae yang tergolong kedalam salah satu jenis kayu mewah yang penyebarannya berada di pulau Sulawesi dan Kalimantan (Mansur, 2015). Klasifikasi dari tanaman kayu kuku sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Genus : *Pericopsis*
Spesies : *Pericopsis mooniana* THW

2.1.2 Morfologi Pohon

Pohon kuku berukuran sedang sampai besar, tingginya dapat mencapai dari 30-40 meter yang tumbuh khususnya di daerah dataran rendah. Sedangkan pohon kayu kuku yang tumbuh alami di hutan pantai dapat mencapai dari 25-40 meter dengan ukuran diameter batang 35 – 100.

2.1.3 Penyebaran dan Habitat

Kayu kuku terbagi atas 5 spesies akan tetapi ada 4 spesies yang telah ditemukan di Benua Afrika. Spesies *P.mooniana* menurut area penyebarannya terbilang sangat luas meliputi Srilanka, Asia Tenggara seperti Malaysia, Indonesia, Filipina, dan juga Oceansias (Papua New Guinea). Penyebaran kayu kuku yaitu mulai dari wilayah Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Halmahera (Suhartati, 2015). Kayu kuku tumbuh di hutan tropika Indonesia, merupakan jenis flora pohon komersial atau tanaman khusus yang dapat diperdagangkan dan mempunyai nilai pasar yang tinggi. (Akbar dan Rusmana, 2013) menyebutkan pohon kayu kuku tumbuh alami pada hutan yang sifatnya hijau sepanjang tahun (*evergreen*) atau semi deciduous seperti di hutan pantai dan hutan dipinggiran sungai.

Menurut Soerianegara dan Lemmens (1994), Salah satu habitat alami dari jenis ini yaitu berada di CA Lamedai, kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara.

Dengan kondisi habitat pada daerah dataran rendah dengan ketinggian 200-350 m dpl, tumbuh pada jenis tanah regosol yang relatif subur. Tumbuh pada curah hujan berkisar 750-2.000 mm atau curah hujan bulanan < 60 mm dan juga dapat tumbuh pada tanah yang tidak tergenang air, berlempung, topografi berbukit dengan keadaan lereng yang pada ketinggian < 30 m dpl.

2.1.4 Manfaat Pohon

Kayu kuku mempunyai manfaat yang begitu banyak yaitu digunakan untuk membuat perabotan rumah, vinir, maupun cocok juga untuk konstruksi berat misalnya geladak kapal, jembatan, bantalan kereta api, juga untuk kusen dan bak kendaraan. Selain itu, kayu kuku ini memiliki kesamaan dengan kayu jati karena dilihat dari kegunaan estetika dengan warna dekoratif yang bagus (Dinas Kehutanan dan Perkebunan Rokan Hulu, 2013 dalam Munandar, 2010). Selain itu dilihat dari segi keawetannya kayu kuku dapat bertahan sampai 15 tahun jika disimpan pada kondisi kering (Lemmens *et al.*, 1994).

2.2 Keragaman Genetik

Keragaman genetik adalah upaya yang sangat berpengaruh dalam menyusun strategi pemuliaan pohon. Karakter genetik suatu jenis pohon baik yang terdapat dalam satu tempat tumbuh maupun yang berbeda provenansi, hal ini disebabkan karena perbedaan genetik. Hal ini akan menunjukkan sifat dan kekhasan suatu tegakan. Sehingga tegakan atau provenansi yang memiliki karakter genetik yang baik dapat menjadi sumber yang tepat untuk kegiatan pemuliaan pohon. Keragaman genetik dapat diamati dengan pengamatan karakter genetik, sifat yang diamati adalah DNA (Deoxyribonucleic Acid) yang sulit dipengaruhi lingkungan. Oleh karena itu, untuk mengetahui tingkat variasi bitt antar provenansi dan dalam provenansi dapat dilakukan dengan melihat karakter genetik. Selain itu, keragaman genetik sangat penting dalam upaya menyediakan informasi bagi kegiatan pengembangan dan peningkatan hasil produksi serta upaya konservasi. Salah satu usaha yang dapat dilakukan untuk mempersingkat waktu pemuliaan adalah menganalisis secara molekuler (Gusmiaty *et al.*, 2012).

Keanekaragaman genetik adalah penelitian tentang klasifikasi individu atau populasi dibandingkan dengan individu atau populasi lain. Keanekaragaman genetik mengukur tingkat variasi populasi genetik yang merupakan sumber keanekaragaman hayati. Gen adalah unit dasar keanekaragaman hayati, yang

menjadi bahan baku evolusi dan sumber keanekaragaman spesies tumbuhan, hewan, komunitas, serta tolak ukur kondisi ekosistem. Gen mengandung unit kromosomal yang menyusun protein spesifik dan bervariasi di setiap individu. Adanya variasi genetik membentuk dan menentukan berbagai jenis individu, populasi, subspecies, spesies, dan kingdom hidup di bumi.

Keragaman genetik individu mencerminkan adanya alel yang berbeda-beda dalam genom, dengan demikian ditentukan genotipe yang berbeda dalam populasi. Frekuensi alel yang berbeda dapat dipengaruhi melalui kawin acak, migrasi, mutasi, seleksi alam, ataupun efek kombinasi faktor tersebut. Variasi genetik dari sifat yang muncul juga dapat diamati dengan tingkat polimorfisme, yaitu perbedaan fenotip dalam sebuah populasi di habitat yang sama.

2.3 Penanda Molekuler Berdasarkan ISSR

ISSR merupakan salah satu penanda molekuler yang telah banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik. Penanda ISSR mempunyai banyak kelebihan apabila dibandingkan dengan penanda molekuler lainnya yang sejenis seperti RAPD yang mempunyai polimorfisme fragmen DNA lebih tinggi, terpercaya, murah, dan reproduibel (Li dan Ge, 2001). ISSR merupakan penanda molekuler dengan teknik yang cukup mudah dan sederhana serta dapat pula mendeteksi polimorfisme pada lokus intermikrosatelit menggunakan primer yang didesain dari motif mikrosatelit (SSR) dinukleotida maupun trinukleotida sehingga lebih stabil, polimorfisme dan reproduibilitasnya tinggi (Ziekiewicz *et al.*, 1994).

Penanda molekuler ISSR merupakan penanda molekuler yang umumnya digunakan untuk studi keanekaragaman genetika, penanda gen, pemetaan genom dan biologi evaluasi berbagai tanaman (Reddy *et al.*, 2002). Penanda molekuler ISSR menggunakan primer tunggal untuk menargetkan daerah identik antara mikrosatelit, yaitu daerah pengulangan *simple sequence repeat* (SSR).

Primer ISSR terdiri atas 8 unit dinukleotida berulang (atau 6 unit trinukleotida berulang) dan satu atau lebih jangkar nukleotida yang dirancang untuk menargetkan akhir wilayah mikrosatelit dan mencegah dimerisasi primer. Urutan berulang pada SSR yang tidak dipisahkan oleh menargetkan akhir wilayah mikrosatelit dan mencegah dimerisasi primer. Urutan berulang pada SSR yang

tidak dipisahkan oleh ISSR akan cenderung mengalami *self annealed* primer ISSR menghasilkan polimorfisme setiap kali salah satu genom kehilangan urutan berulang atau ketika terjadi delesi, insersi atau translokasi yang mengubah jarak antara urutan berulang. Biasanya dinukleotida jangkar mengait pada ujung 3 atau 5 menunjukkan polimorfisme tinggi (Blair *et al.*, 1999).

ISSR adalah fragmen DNA dengan ukuran 100-3000 bp berlokasi di antara wilayah mikrosatelit, wilayah amplifikasi sekuen DNA yaitu pada inter-SSR bagian flanked genom secara berlawanan pada area yang dekat dengan sekuen berulang (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Penanda molekuler ISSR memiliki beberapa kelebihan antara lain sederhana, cepat, efisien, mampu menghasilkan panjang produk amplifikasi antara 200-2.000bp. Selain itu, penanda ISSR tidak dipengaruhi musim dan lingkungan (Azrai, 2005), tidak memerlukan data sekuen terlebih dahulu, hanya membutuhkan 5-50 ng cetakan (template) DNA per reaksi, 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). (Aprilianingsih *et al.*, 2021) pada umumnya bersifat dominan meskipun kadang kadang bersifat kodominan (Kumar *et al.*, 2009), dan dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik dan analisis kekerabatan (Trojanowska dan Bolibok, 2004).

Teknik ini sangat produktif karena penggunaan primer panjang, yang memungkinkan untuk suhu penempelan primer yang tinggi. ISSR ini menggabungkan keunggulan dari penanda AFLP dan SSR dengan kemudahan RAPD. Pita polimorfik adalah gambaran pita DNA yang muncul pada ukuran tertentu, tetapi pada sampel yang lain tidak ditemukan. Polimorfik disebabkan oleh tidak adanya amplifikasi pada suatu lokus yang dipicu oleh adanya perbedaan urutan basa nukleotida pada titik penempelan primer. Adanya pola pita DNA yang polimorfik disebabkan oleh perbedaan susunan basa pada masing-masing sampel DNA. Oleh karena itu, tidak semua sampel DNA dapat menghasilkan pita pada suatu lokus tertentu.

Sampel DNA yang dapat menghasilkan pita menandakan bahwa DNA tersebut memiliki sekuens yang komplemen dengan primer. Perbedaan ini dapat

dijadikan petunjuk adanya keragaman genetik baik yang terdapat di dalam maupun di antara populasi. Polimorfisme yang dihasilkan dengan teknik PCR RAPD disebabkan adanya perubahan basa nukleotida, delesi, dan insersi (Semagn, Bjornstad, & Ndjiondjop, 2006; Williams *et al.*, 1990). Tidak adanya amplifikasi DNA di beberapa primer kemungkinan karena urutan basa primer tersebut tidak komplemen dengan urutan basa atau hilangnya potongan pada DNA template. Selain itu perlu diperhatikan bahwa visualisasi pita polimorfik tidak selalu jelas (*smear*). Hal ini terjadi bila jumlah salinan fragmen DNA rendah. Jelas tidaknya pita ini menentukan primer atau lokus yang akan digunakan dalam analisis.