

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sulawesi merupakan salah satu kawasan biogeografi paling unik di wilayah tropis yang terbentuk melalui sejarah geologi dan evolusi yang kompleks. Keberadaan Garis Wallace menjadikan wilayah ini sebagai zona transisi antara biota Oriental dan Australasia, sehingga menghasilkan komposisi flora dan fauna yang khas dengan tingkat endemisitas tinggi serta struktur komunitas yang berbeda dibandingkan wilayah di sekitarnya (Widjaja et al., 2014; White et al., 2021; Skeels et al., 2023). Kondisi tersebut menempatkan Sulawesi sebagai salah satu pusat keanekaragaman hayati penting di Indonesia, termasuk dalam hal potensi sumber daya genetik tanaman pangan lokal. Sulawesi Tenggara sebagai bagian dari kawasan ini memiliki kekayaan hayati yang perlu dikaji secara ilmiah guna mendukung upaya konservasi dan pemanfaatan berkelanjutan.

Secara ekologis, Sulawesi Tenggara dicirikan oleh kondisi lingkungan yang sangat beragam, meliputi variasi topografi dari dataran rendah hingga wilayah pegunungan, perbedaan jenis tanah, serta variasi suhu dan kelembapan. Keragaman agroekologi tersebut membentuk berbagai zona ketinggian tempat yang berpotensi memengaruhi distribusi, pertumbuhan, dan adaptasi tanaman. Variasi lingkungan ini dapat mendorong terjadinya diferensiasi morfologi maupun genetik pada populasi tanaman yang tumbuh di dalamnya. Oleh karena itu, wilayah Sulawesi Tenggara menjadi lokasi yang relevan untuk mengkaji hubungan antara faktor lingkungan dan keragaman genetik tanaman pangan lokal.

Dalam konteks ketahanan pangan nasional, Indonesia masih menghadapi tantangan akibat tingginya ketergantungan terhadap beras sebagai sumber karbohidrat utama. Pertumbuhan jumlah penduduk yang terus meningkat, disertai keterbatasan dan degradasi lahan pertanian, menuntut adanya diversifikasi pangan berbasis komoditas lokal yang adaptif dan berkelanjutan (FAO, 2020; Wada et al., 2021). Salah satu kelompok komoditas yang berpotensi mendukung diversifikasi tersebut adalah tanaman umbi-umbian, yang dikenal memiliki kemampuan adaptasi luas, relatif toleran terhadap cekaman abiotik, serta dapat dibudidayakan dengan input rendah (Maghfirah et al., 2022).

Talas merupakan salah satu tanaman umbi tropis yang memiliki potensi besar sebagai sumber pangan alternatif. Tanaman ini mencakup spesies *Colocasia esculenta* (L.) dan *Xanthosoma sagittifolium* (L.), yang telah lama dibudidayakan dan dimanfaatkan oleh masyarakat di berbagai wilayah tropis dan subtropis. Talas dikenal sebagai tanaman multifungsi karena hampir seluruh bagian tanamannya dapat dimanfaatkan, baik umbi,

daun, maupun pelepahnya. Umbi talas berperan sebagai sumber karbohidrat, sedangkan daun dan tangkai daunnya dapat diolah menjadi sayuran. Selain itu, talas juga mengandung protein, mineral, dan vitamin yang berkontribusi terhadap nilai gizinya, serta berpotensi dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional maupun bahan baku obat-obatan (Hellin Mardina, 2022).

Di Indonesia, keragaman talas tergolong tinggi dan tersebar luas di berbagai wilayah. Spesies *C. esculenta* (L.) merupakan jenis yang paling banyak dibudidayakan, dengan berbagai kultivar lokal seperti talas Sutura, Ketan, Pandan, Hitam, dan Lompong yang banyak ditemukan di Jawa Barat dan Jawa Tengah. Selain itu, kimpul dari spesies *X. sagittifolium* (L.) juga dibudidayakan di Sumatra, Sulawesi, dan sebagian Kalimantan. Inventarisasi plasma nutfah oleh Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi menunjukkan adanya puluhan aksesori talas lokal dengan variasi morfologi pada warna tangkai, bentuk daun, serta ukuran umbi. Kondisi ini menunjukkan bahwa Indonesia memiliki sumber daya genetik talas yang besar dan potensial untuk dikembangkan lebih lanjut.

Secara khusus di Sulawesi Tenggara, talas tidak hanya dimanfaatkan sebagai bahan pangan rumah tangga, tetapi juga memiliki nilai sosial dan budaya dalam tradisi kuliner masyarakat. Tanaman ini tumbuh pada berbagai zona ketinggian tempat dengan kondisi lingkungan yang berbeda. Perbedaan suhu, kelembapan, dan karakteristik tanah pada setiap zona ketinggian diduga berpengaruh terhadap variasi morfologi dan tingkat keragaman genetik talas yang berkembang di wilayah tersebut. Keragaman genetik menjadi aspek fundamental dalam menentukan kemampuan adaptasi tanaman terhadap lingkungan, ketahanan terhadap cekaman, serta peluang pengembangan varietas unggul yang sesuai dengan kondisi agroekologi lokal.

Kajian keragaman tanaman dapat dilakukan melalui pendekatan morfologi dan molekuler secara komplementer. Analisis morfologi memberikan informasi awal mengenai variasi fenotipik berdasarkan karakter yang mudah diamati, seperti bentuk, ukuran, dan warna organ tanaman. Namun demikian, karakter morfologi sering kali dipengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga belum sepenuhnya merepresentasikan variasi genetik yang sebenarnya. Oleh karena itu, pendekatan molekuler diperlukan untuk memperoleh gambaran keragaman genetik yang lebih akurat pada tingkat DNA. Salah satu teknik yang banyak digunakan dalam studi keragaman genetik tanaman adalah marka molekuler Inter Simple Sequence Repeat (ISSR), yang memiliki tingkat polimorfisme tinggi, tidak memerlukan informasi sekuens awal, serta efektif dalam mengungkap variasi genetik dan hubungan kekerabatan antaraksesi (Alemu & Atnafu, 2017; Sammour et al., 2025; Bidyananda, 2024).

Meskipun talas memiliki potensi besar sebagai sumber pangan

alternatif dan sumber daya genetik penting, informasi ilmiah mengenai tingkat keragaman morfologi dan genetik talas lokal di Sulawesi Tenggara pada berbagai zona ketinggian tempat masih terbatas. Penelitian yang mengintegrasikan analisis morfologi dan molekuler untuk mengkaji pola hubungan antara variasi fenotipik dan keragaman genetik serta implikasinya terhadap strategi konservasi plasma nutfah talas juga belum banyak dilaporkan.

Berdasarkan kondisi tersebut, diperlukan penelitian yang mengkaji secara komprehensif keragaman morfologi dan genetik talas (*Colocasia esculenta* (L.) dan *Xanthosoma sagittifolium* (L.)) pada berbagai zona ketinggian tempat di Sulawesi Tenggara dengan menggunakan pendekatan morfologi dan marka molekuler ISSR. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah dalam perumusan strategi konservasi dan pengelolaan plasma nutfah talas berbasis kondisi agroekologi lokal, serta mendukung pengembangan varietas talas yang adaptif dan berkelanjutan sebagai bagian dari upaya penguatan ketahanan pangan daerah.

1.2. Landasan Teori

1.2.1 Karakteristik Tanaman Talas

Tanaman talas merupakan salah satu jenis umbi tropis dari famili *Araceae* yang memiliki peran penting sebagai sumber pangan alternatif kaya karbohidrat setelah padi, jagung, dan ubi kayu. Penelitian terkini menunjukkan bahwa talas memiliki komposisi gizi yang unik, meliputi pati berkualitas tinggi dengan potensi indeks glikemik rendah, kandungan serat yang melimpah, serta senyawa bioaktif seperti flavonoid, antosianin, dan berbagai mineral penting seperti kalium, kalsium, dan besi (Ferdaus et al., 2023). Komposisi tersebut menjadikan talas tidak hanya bernilai sebagai sumber energi, tetapi juga memiliki potensi fungsional bagi kesehatan. Secara taksonomi dan historis, talas diduga berasal dari kawasan Asia Selatan, khususnya India, atau Asia Tenggara seperti Malaysia, sebelum akhirnya menyebar luas ke berbagai wilayah dunia, termasuk Cina, Jepang, wilayah Asia Tenggara lainnya, Kepulauan Pasifik, Afrika Barat, hingga Karibia, melalui jalur migrasi dan perdagangan manusia. Di Indonesia, tanaman ini telah lama dikenal dan ditemukan tumbuh baik di dataran rendah maupun di daerah pegunungan, baik sebagai tanaman budidaya maupun yang tumbuh secara alami di alam liar (Amirudin, 2013).

Talas yang umum dikonsumsi masyarakat terutama berasal dari *Colocasia esculenta* L. dan *Xanthosoma sagittifolium* (famili *Araceae*). *C. esculenta* dikenal sebagai talas atau keladi, sedangkan *X. sagittifolium* sering disebut kimpul. Kedua spesies ini telah lama didomestikasi dan dibudidayakan di wilayah tropis karena menghasilkan umbi (corm atau

cormel) yang dapat dimakan dan menjadi sumber karbohidrat penting (Matthews, 2004; Lebot, 2009). Secara morfologi, *C. esculenta* umumnya memiliki satu corm utama dengan beberapa cormel, sedangkan *X. sagittifolium* cenderung membentuk beberapa umbi samping yang berkembang dari batang bawah tanah.

Secara etnobotani, talas liar merujuk pada tipe-tipe *Colocasia esculenta* maupun kerabatnya dari famili *Araceae* yang tumbuh secara alami di habitat lembap seperti rawa, tepi sungai, dan lahan tergenang, tanpa melalui proses seleksi budidaya oleh manusia. Bentuk liar umumnya memiliki ukuran umbi lebih kecil, kadar kalsium oksalat lebih tinggi, serta tekstur lebih kasar dibandingkan kultivar budidaya, sehingga kurang diminati sebagai bahan pangan apabila tidak melalui pengolahan intensif (Purseglove, 1972; Lebot, 2009). Proses domestikasi yang berlangsung lama di kawasan Asia–Pasifik telah menghasilkan kultivar dengan mutu umbi yang lebih baik, cita rasa lebih netral, dan kandungan oksalat yang lebih rendah. Meskipun pemanfaatannya sebagai bahan konsumsi relatif terbatas, talas liar memiliki peran strategis sebagai sumber keragaman genetik, terutama terkait sifat adaptif terhadap cekaman lingkungan seperti genangan, naungan, dan kondisi tanah marginal. Dari aspek ekonomi, talas budidaya memiliki nilai pasar yang lebih jelas karena diperdagangkan dalam bentuk umbi segar maupun produk olahan. Data Food and Agriculture Organization (FAO, 2022) menunjukkan bahwa talas dan kerabatnya termasuk komoditas umbi tropis penting dengan permintaan yang relatif stabil di pasar lokal dan regional. Sebaliknya, talas liar tidak memiliki nilai komersial langsung yang signifikan, namun sangat penting dalam konservasi plasma nutfah dan sebagai sumber genetik bagi program pemuliaan tanaman jangka panjang.

1.2.2 Keragaman Genetik Tanaman Talas

Keragaman genetik adalah variasi materi genetik yang terdapat di antara individu-individu dalam suatu spesies atau populasi, yang mencakup perbedaan urutan DNA, sifat biokimia, fisiologi, hingga karakter morfologi (Brown, 1983; Rao & Hodgkin, 2002). Variasi ini merupakan salah satu dari tiga tingkat keragaman hayati selain keragaman spesies dan ekosistem. Tingkat keragaman genetik yang tinggi memberikan kemampuan adaptasi yang lebih baik terhadap perubahan lingkungan, serangan hama dan penyakit, maupun tekanan abiotik (Bhandari *et al.*, 2017).

Keragaman genetik dapat timbul melalui mutasi, rekombinasi genetik, aliran gen, dan penyimpangan genetik (Yilmaz & Boydak, 2006). Proses meiosis dengan pertukaran materi genetik antar kromosom homolog menjadi salah satu mekanisme utama pembentukan kombinasi gen baru. Variasi ini dapat diukur melalui analisis jarak genetik, keragaman alel, serta indeks polimorfisme. Dalam konteks pemuliaan, keragaman genetik yang luas

menjadi prasyarat penting untuk menghasilkan varietas unggul baru (Martono, 2020). Semakin besar keragaman plasma nutfah, semakin besar pula peluang ditemukan sifat-sifat unggul seperti toleransi kekeringan, ketahanan penyakit, maupun produktivitas tinggi (Adriyani *et al.*, 2014). Oleh karena itu, eksplorasi plasma nutfah menjadi langkah strategis dalam konservasi sumber daya genetik sekaligus pengembangan varietas adaptif di berbagai ekosistem (Rais, 2004).

Dalam perspektif pembangunan pertanian berkelanjutan, pengelolaan keragaman genetik merupakan hal yang fundamental. Ranjiith dan Francesco, (2022) menegaskan bahwa sumber daya genetik merupakan fondasi untuk sistem pertanian yang berkelanjutan. Studi etnobotani di India menunjukkan bahwa keragaman genetik aroid dimanfaatkan secara berbeda-beda oleh masyarakat, mencerminkan peran penting sumber daya genetik pada tingkat rumah tangga (Verma *et al.*, 2023). Evaluasi berbasis agromorfologi juga terbukti efektif untuk menyeleksi keragaman yang dapat dieksploitasi, sebagaimana dilaporkan Emmanuel *et al.* (2024) pada *Colocasia* dan *Xanthosoma*.

Talas (*C. esculenta* L. dan *X. sagittifolium*) merupakan salah satu tanaman pangan dengan potensi strategis karena hampir seluruh bagiannya dapat dimanfaatkan sehingga disebut sebagai zero-wastage crop (Aditika *et al.*, 2022). Keragaman morfologi talas terlihat pada ukuran umbi, bentuk daun, warna batang, serta pola pertumbuhan yang berbeda antara ekotipe lahan basah dan lahan kering (Martin *et al.*, 2014). Keragaman ini merupakan potensi penting untuk menghasilkan varietas unggul yang sesuai dengan kondisi agroekologi tertentu, termasuk di Sulawesi Tenggara yang memiliki topografi dan iklim beragam. Selain itu, keragaman genetik talas juga memiliki arti penting dalam konteks global karena dapat menunjang pemanfaatannya secara berkelanjutan untuk ketahanan pangan (Aditika *et al.*, 2022).

1.2.3 Penggunaan ISSR untuk Karakterisasi Molekuler

Isolasi DNA merupakan tahap krusial dalam analisis molekuler, karena kualitas DNA yang diperoleh sangat menentukan keberhasilan teknik berbasis PCR. DNA yang murni dan stabil menjadi syarat utama agar marka molekuler seperti ISSR, SSR, maupun SNP dapat bekerja optimal dalam mendeteksi variasi genetik pada tanaman (Amiteye, 2021).

Secara umum, isolasi DNA adalah proses pemisahan DNA dari komponen sel lainnya, seperti protein, lipid, dan RNA, sehingga diperoleh DNA murni yang siap digunakan untuk analisis (Surzycki, 2000). Pada tanaman, jaringan yang paling sering digunakan adalah daun muda karena kandungan metabolit sekundernya lebih rendah dibandingkan jaringan lain. Prinsip isolasi DNA mencakup tiga tahap utama, yaitu lisis sel, pemisahan DNA dari kontaminan, dan pemurnian (Fajarwati *et al.*, 2012).

Sumber DNA pada tumbuhan dapat berasal dari inti sel (DNA nuklear), mitokondria, atau kloroplas. Pada tahap lisis, detergen digunakan untuk merusak membran sel, protease untuk menguraikan protein, dan RNase untuk menghilangkan RNA. DNA yang telah dilepaskan kemudian diendapkan menggunakan etanol atau isopropanol, lalu dilarutkan kembali dalam buffer atau air bebas nuklease (Nova, 2020).

Kualitas DNA hasil isolasi sangat dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder, seperti fenolik, polisakarida, dan tanin, yang dapat mengganggu proses pemurnian serta menurunkan kualitas DNA (Milligan, 1992). Oleh karena itu, metode isolasi sering dimodifikasi sesuai karakteristik spesies tanaman yang digunakan. Dalam penelitian molekuler, isolasi DNA merupakan tahap awal penting sebelum analisis menggunakan marka molekuler seperti ISSR. Teknik isolasi dapat dilakukan secara manual yang relatif murah tetapi membutuhkan waktu lebih lama, atau menggunakan kit komersial yang lebih cepat dan praktis, misalnya Genomic DNA Mini Kit (Plant) yang banyak diaplikasikan dalam penelitian genetik tanaman (Roslim & Ana, 2021).

1.2.4 Marka Molekuler *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR)

Marka molekuler *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) merupakan teknik berbasis PCR yang menargetkan daerah di antara dua sekuens mikrosatelit pada DNA genom, biasanya dengan motif pengulangan basa dua hingga tujuh nukleotida (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Keunggulan utama ISSR terletak pada kemampuannya menghasilkan tingkat polimorfisme yang tinggi tanpa memerlukan informasi sekuens awal DNA, sehingga sangat cocok digunakan pada spesies dengan informasi genom yang terbatas (Yulita *et al.*, 2014; Alemu & Atnafu, 2017).

Sebagai metode multilokus, ISSR mampu mengamplifikasi banyak fragmen DNA sekaligus sehingga efektif untuk berbagai tujuan, seperti sidik jari genetik, analisis filogenetik, identifikasi varietas, analisis struktur populasi, serta seleksi dalam pemuliaan tanaman (Vijayan, 2005; Ng *et al.*, 2015). Produk amplifikasi ISSR umumnya berukuran 200–2.000 bp dan dapat diperoleh dalam waktu relatif singkat. Keunggulan ISSR juga terletak pada kemampuannya yang menggabungkan kesederhanaan RAPD, spesifisitas SSR, dan daya informasi AFLP, menjadikannya salah satu penanda molekuler paling efisien untuk studi keanekaragaman hayati tanaman (Trojanowska & Bolibok, 2004).

Penggunaan marka ISSR telah terbukti efektif pada berbagai tanaman umbi, termasuk *C. esculenta* L.. Analisis menggunakan ISSR mampu mengungkap variasi genetik, hubungan kekerabatan, dan adaptasi terhadap lingkungan (Reddy, 2002; Isshiki *et al.*, 2008). Penelitian terbaru menunjukkan efektivitas ISSR dalam mendeteksi polimorfisme tinggi, seperti yang

dilaporkan Abd-dada *et al.* (2023) pada *Euphorbia resinifera* di Maroko. Hal ini menegaskan bahwa ISSR merupakan alat yang efisien untuk mengevaluasi keragaman genetik, sehingga sangat relevan diterapkan pada studi keragaman talas lokal di Sulawesi Tenggara. Selain itu, ISSR juga berhasil digunakan untuk membedakan genotipe talas yang tahan maupun rentan terhadap penyakit hawar daun, memperkuat perannya sebagai penanda penting dalam penelitian dan pemuliaan tanaman (Nair *et al.*, 2018).

1.3 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana tingkat keragaman morfologi talas pada berbagai zona ketinggian tempat?
2. Bagaimana tingkat keragaman genetik talas pada berbagai zona ketinggian tempat berdasarkan analisis marka molekuler *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR)?
3. Bagaimana hubungan antara variasi morfologi dan keragaman genetik talas pada setiap zona ketinggian tempat?
4. Bagaimana implikasi hasil analisis morfologi dan molekuler tersebut dalam mendukung strategi konservasi dan pengelolaan plasma nutfah talas?

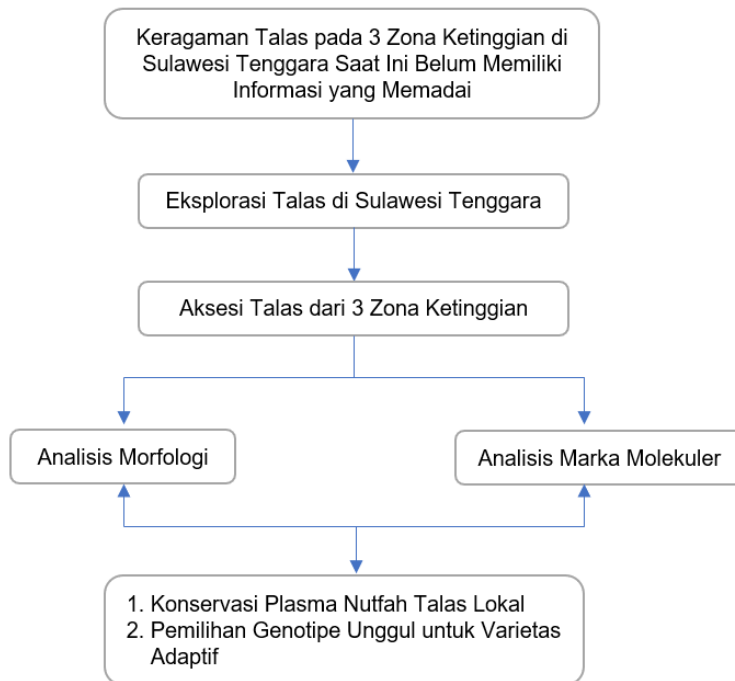
1.4 Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis tingkat keragaman morfologi dan genetik talas pada berbagai zona ketinggian tempat di Sulawesi Tenggara. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengidentifikasi dan membandingkan karakter morfologi talas pada setiap zona ketinggian, menilai tingkat keragaman genetik menggunakan marka molekuler *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR), serta menganalisis hubungan antara variasi morfologi dan keragaman genetik yang terbentuk pada masing-masing ketinggian tempat. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk mengungkap pola hubungan kekerabatan antaraksesi berdasarkan integrasi data morfologi dan molekuler.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pola keragaman morfologi dan genetik talas pada berbagai zona ketinggian tempat di Sulawesi Tenggara. Secara teoritis, penelitian ini dapat memperkaya kajian tentang adaptasi dan variasi genetik talas pada kondisi agroekologi yang berbeda. Secara praktis, hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar dalam perumusan strategi konservasi plasma nutfah talas lokal serta mendukung program pemuliaan untuk menghasilkan varietas talas unggul yang adaptif terhadap variasi ketinggian dan kondisi lingkungan tumbuh di Sulawesi Tenggara.

1.5 Kerangka Pikir

Secara sistematis kerangka pikir dalam penelitian ini dapat digambarkan pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa lokasi yang meliputi kegiatan eksplorasi, karakterisasi morfologi, dan analisis molekuler talas. Eksplorasi talas lokal dilakukan di Provinsi Sulawesi Tenggara yang mencakup Kabupaten Kolaka Utara, Kolaka Timur, Konawe Utara, Konawe Kepulauan, dan Konawe Selatan. Karakterisasi morfologi tanaman talas dilakukan di Greenhouse Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, sedangkan analisis keragaman genetik menggunakan marka molekuler ISSR dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Tanaman, Departemen Budidaya Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 hingga Juni 2024.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan tanaman dan bahan kimia. Aksesori talas yang digunakan untuk analisis morfologi berasal dari Kabupaten Kolaka Utara (KLU), Kolaka Timur (KLT), Konawe Utara (KUT), Konawe Kepulauan (KKP), dan Konawe Selatan (KSL). Bahan yang digunakan untuk analisis molekuler antara lain nitrogen cair, DNA Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid Biotech Ltd, Taiwan) yang terdiri dari GPX1 buffer, GP2 buffer, GP3 buffer, W1 buffer, Wash buffer, Elution buffer, Rnase, dan alkohol 70%. Bahan untuk teknik PCR meliputi primer ISSR, DreamTaq PCR Master mix (Thermo Scientific, USA), dan ddH₂O. Bahan untuk elektroforesis meliputi agarosa, loading dye, DNA ladder 100 bp (Geneaid Biotech Ltd, Taiwan), buffer TAE (Tris-acetate-EDTA), GelRed (Vivantis Technologies, Malaysia) dan air destilata.

Peralatan yang dibutuhkan terdiri dari peralatan lapangan dan peralatan untuk analisis molekuler. Peralatan lapangan meliputi meteran, cangkul, pisau, box penyimpanan, GPS (*Global Positioning System*), kamera digital, kompas, *soil tester*, dan alat pengukur suhu dan kelembaban udara. Peralatan yang digunakan ketika analisis molekuler diantaranya terdiri dari timbangan digital, mortar, pestel, tabung PCR (*Polymerase Chain Reaction*), *microtube*, *micropipet*, tabung *erlenmeyer*, cetakan gel agarosa, *vortex*, *centrifuge*, *freezer*, *microwave*, elektroforesis, *UV transilluminator*.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

2.3.1 Tahapan Eksplorasi Talas di Sulawesi Tenggara

Pelaksanaan eksplorasi dilakukan setelah seluruh persyaratan administratif dipenuhi, termasuk izin penelitian dari instansi berwenang di tingkat provinsi/kabupaten serta persetujuan dari pemerintah daerah dan

masyarakat setempat sebagai pemilik atau pengelola lahan. Eksplorasi dilakukan berdasarkan Panduan Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Talas oleh Minantyorini dan Somantri pada tahun 2002. Panduan ini mencakup beberapa informasi penting seperti lembaga pengoleksi, nomor koleksi, tanggal koleksi dari sampel asli, nama provinsi, lokasi, latitude/lintang, longitude/bujur, altitude/ketinggian, sumber material koleksi, serta lingkungan sumber koleksi (termasuk curah hujan, iklim, dan suhu).

Informasi penting lainnya adalah status sampel, tipe/jenis contoh, jumlah sampel yang diambil, dan tingkat keberadaan talas di lokasi pengambilan sampel. Setelah mengumpulkan data yang diperlukan, langkah berikutnya adalah melakukan eksplorasi dengan metode pengamatan secara morfologi pada tanaman talas yang memiliki ciri-ciri berbeda. Pada tahap ini, dilakukan identifikasi dan pencatatan secara rinci mengenai karakteristik fisik dan morfologi dari setiap tanaman talas yang diamati. Selanjutnya, umbi talas yang telah diidentifikasi akan diambil untuk dilakukan analisis morfologi secara menyeluruh. Umbi talas ini akan ditanam kembali dengan memastikan bahwa umur tanaman yang digunakan untuk analisis adalah sama. Hal ini dilakukan agar hasil analisis dapat dibandingkan secara konsisten.

2.3.2 Analisis Morfologi

Setiap aksesi talas yang ditemukan pada lokasi eksplorasi dikoleksi dan dianalisis lebih lanjut. Analisis dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu analisis morfologi dan analisis molekuler, untuk memperoleh gambaran yang lebih jelas mengenai tingkat variasi genetik antar populasi. Pengamatan karakter morfologi mengacu pada Pedoman Karakterisasi *Colocasia* dari IPGRI (1991) yang digunakan sebagai standar dalam penilaian deskriptor morfologi tanaman talas.

Karakter morfologi yang diamati meliputi panjang daun (cm), lebar daun (cm), panjang pelepah (cm), panjang petiole total (cm), rentang tanaman (cm), tinggi tanaman (cm), jumlah anakan, panjang cormus (cm), diameter cormus (mm), bobot cormus (g), jumlah cormel, dan bobot cormel (g). Setiap aksesi diamati dalam 3 ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap 49 karakter kuantitatif dan kualitatif, sesuai panduan IPGRI (1991). Pengamatan karakter kuantitatif dilakukan setiap dua minggu sekali, dimulai saat tanaman berumur 3–4 bulan setelah tanam hingga menjelang panen, sedangkan karakter kualitatif diamati satu kali pada umur 3,5 bulan setelah tanam. Sementara itu, pengamatan terhadap umbi (cormus dan cormel) dilakukan pada saat panen, yaitu pada umur 5 bulan setelah tanam untuk menilai karakter hasil dan komponen produksi tanaman.

2.3.3 Analisis Molekuler

a. Isolasi DNA Talas Lokal Sulawesi Tenggara

Prosedur ekstraksi DNA genom dari daun talas muda lokal akan mengikuti prosedur kit isolasi DNA Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid Biotech Ltd, Taiwan). Sampel daun tanaman talas sebanyak 50 mg akan digerus menggunakan mortar dan pestel steril. Setelah itu, tambahkan nitrogen cair pada daun yang telah digerus dan pindahkan campuran ini ke dalam microtube 1.5 ml yang sebelumnya telah diisi dengan 400 μ L buffer GPX1 dan 5 μ L Rnase kemudian divortex. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit dengan dibolak balik setiap 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 100 μ L buffer GP2, divortex, dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 3 menit. Sampel kemudian dipindahkan ke dalam collection tube 2 ml, yang telah dipasang filter column dan disentrifugasi pada 10.000 x g selama 1 menit. Setelah disentrifugasi supernatan dipindahkan ke dalam tabung mikro baru 1,5 ml. Kemudian ditambahkan campuran buffer GP3 dan isopropanol sebanyak 1,5 volume supernatan dan divortex selama 5 detik. Supernatan kemudian dipindahkan ke dalam tabung 2 ml GD baru, selanjutnya supernatan disentrifugasi pada kecepatan 14.000–16.000 x g selama 2 menit. Selanjutnya, sebanyak 400 μ L buffer W1 ditambahkan ke dalam GD kolom dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 14.000–16.000 x g selama 30 detik, kemudian hasil filtrasi dibuang. Pada GD kolom yang telah disentrifugasi di tambahkan etanol dan washing buffer sebanyak 600 μ L, dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 14.000–16.000 x g selama 1 menit, dan filtrat yang dihasilkan kemudian dibuang.

GD column kemudian akan ditempatkan pada 2 ml collection tube yang baru dan disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 14.000-16.000 x g untuk mengeringkan matriks kolom. Selanjutnya dipindahkan ke kolom GD pada 2 ml collection tube baru dan disentrifugasi selama 3 menit pada 14.000-16.000 x g untuk mengeringkan GD kolom. GD kolom yang telah dipindahkan ke collection tube baru kemudian ditambahkan Elution buffer yang telah dipanaskan sebanyak 100 μ L ke bagian tengah GD kolom dan didiamkan selama 3-5 menit untuk memastikan kelarutan DNA dalam elution buffer atau TE buffer selanjutnya disentrifugasi kembali pada 14.000-16.000 x g selama 30 detik.

Konsentrasi DNA diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Kemurnian DNA ditentukan berdasarkan rasio nilai absorbansi antara kedua panjang gelombang tersebut. Selanjutnya, kualitas DNA dievaluasi melalui elektroforesis pada gel agarosa 2% yang telah diberi pewarna GelRed (Vivantis Technologies, Malaysia), kemudian dijalankan selama 45 menit. Setelah proses elektroforesis, gel diamati menggunakan UV transilluminator dan

didokumentasikan untuk mengidentifikasi pita DNA yang berpendar. DNA yang memenuhi kriteria kemurnian dan kualitas tersebut selanjutnya digunakan sebagai template pada reaksi PCR.

b. Amplifikasi DNA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan primer Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) yaitu UBC 807, UBC 809, UBC 810, UBC 811, UBC 817, UBC 808, UBC 815, UBC 818, UBC 840, UBC 843, dan UBC 845. Prosedur amplifikasi ini mengacu pada metode yang telah dijelaskan oleh Grativol et al. (2011) dan Nair et al. (2018). Reaksi amplifikasi dilaksanakan menggunakan mesin Polymerase Chain Reaction (PCR) dengan total volume reaksi sebesar 25 μL untuk setiap sampel. Campuran reaksi terdiri atas 3 μL DNA template (10 ng/ μL), 2 μL primer ISSR (10 pmol/ μL), 12,5 μL PCR mix (GoTaq Green Master) dari Promega, serta 7,5 μL ddH₂O sebagai pelarut, sehingga diperoleh sistem reaksi yang optimal untuk amplifikasi DNA.

Selanjutnya, proses PCR dijalankan melalui beberapa tahapan, dimulai dengan tahap denaturasi awal pada suhu 95°C selama 3 menit. Tahap ini diikuti oleh 35 siklus yang masing-masing mencakup denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, annealing pada suhu 54°C selama 50 detik, dan extension pada suhu 72°C selama 60 detik. Setelah siklus selesai, reaksi dilanjutkan dengan tahap extension final pada suhu 72°C selama 10 menit, kemudian didinginkan pada suhu 4°C selama 5 menit untuk menstabilkan hasil amplifikasi. Sebagai langkah berikutnya, DNA hasil amplifikasi dianalisis melalui proses elektroforesis pada gel agarosa 2% menggunakan buffer 1× TAE yang telah ditambahkan GelRed sebagai pewarna interkalasi. Elektroforesis dilakukan selama 120 menit dengan tegangan 100 V menggunakan DNA ladder 100 bp sebagai penanda ukuran fragmen. Setelah proses selesai, gel diamati menggunakan UV transilluminator untuk menampilkan pita-pita DNA yang berpendar, yang menunjukkan keberhasilan amplifikasi fragmen DNA target.

2.4 Analisis Data

Data yang dikumpulkan dianalisis untuk mengevaluasi keragaman genetik tanaman talas. Prosedur analisis data dilakukan dengan pendekatan berikut:

1. Morfologi Kuantitatif

Data morfologi kuantitatif dianalisis menggunakan indeks standar untuk karakteristik tanaman. Perhitungan dilakukan dengan perangkat lunak Microsoft Excel 2019 untuk mengevaluasi distribusi dan konsistensi karakteristik yang diamati.

2. Morfologi Kualitatif

Data morfologi kualitatif dianalisis lebih lanjut menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) yang dilakukan melalui perangkat lunak PAST4.03. Metode ini membantu mengidentifikasi komponen utama dari data morfologi untuk memvisualisasikan perbedaan antar genotipe.

3. Molekuler untuk Marker Profile

Analisis molekuler untuk menentukan profil penanda genetik dilakukan dengan perangkat lunak PopGene version 1.32 (Yeh *et al.*, 1999). Data marker DNA dievaluasi untuk menghitung keragaman genetik menggunakan berbagai parameter seperti frekuensi alel dan indeks diversitas genetik.

4. Molekuler untuk PCoA dan AMOVA

Analisis molekuler berupa *Principal Coordinate Analysis* (PCoA) dan *Analisis Molecular Variance* (AMOVA) dilakukan menggunakan GenAlEx.

- PCoA membantu memvisualisasikan hubungan genetik antar populasi.
- AMOVA mengevaluasi variasi genetik dalam dan antar populasi, menggunakan rumus:

$$\Phi_{PT} = \frac{\sigma^2_{antara}}{\sigma^2_{total}}$$

di mana σ^2_{antara} adalah varian antar populasi, dan σ^2_{total} adalah varian total.

5. Molekuler untuk Dendrogram

Analisis kluster dilakukan untuk menghasilkan dendrogram menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) dengan perangkat lunak NTSYS-pc (Rohlf, 1998).