

**KERAGAMAN GENETIK AKSESI JERUK KEPROK (*Citrus reticulata* L.) BERDASARKAN PENANDA MORFOLOGI DAUN DAN MOLEKULER *INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS* (ISSR)**

SKRIPSI

Oleh:  
**FIFITH MAULIDATUL MAHFUDHOH**  
NIM. 14620051



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2018**

**KERAGAMAN GENETIK AKSESI JERUK KEPROK (*Citrus reticulata* L.) BERDASARKAN PENANDA MORFOLOGI DAUN DAN MOLEKULER *INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS* (ISSR)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:  
**FIFITH MAULIDATUL MAHFUDHOH**  
NIM. 14620051

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2018**


**KERAGAMAN GENETIK AKSESI JERUK KEPROK (*Citrus reticulata* L.) BERDASARKAN PENANDA MORFOLOGI DAUN DAN MOLEKULER *INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS* (ISSR)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FIFITH MAULIDATUL MAHFUDHOH**  
NIM. 14620051

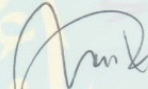
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal : 28 Juni 2018

Dosen Pembimbing I



Suyono, M.P.  
NIP. 19710622 200312 1 002

Dosen Pembimbing II




Baiq Dina Mariana, S.P. M.Sc.  
NIP. 19810112 200604 1 001

Tanggal, 5 Juli 2018

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi



  
Romadhoni M.Si., D.Sc.  
NIP. 19810201 200901 1 019

**KERAGAMAN GENETIK AKSESI JERUK KEPROK (*Citrus reticulata* L.) BERDASARKAN PENANDA MORFOLOGI DAUN DAN MOLEKULER *INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS* (ISSR)**

SKRIPSI

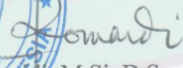
Oleh:  
**FIFITH MAULIDATUL MAHFUDHOH**  
NIM. 14620051

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan  
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 05 Juli 2018

Penguji Utama	<u>Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP.19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji	<u>Didik Wahyudi, M.Si</u> NIP. 19860102201801 1 001	
Sekretaris Penguji	<u>Suyono, M.P</u> NIP. 19710622 200312 1 002	
Anggota Penguji I	<u>Baiq Dina Mariana, S.P. M.Sc</u> NIP. 19810112 200604 1 001	
Anggota Penguji II	<u>M. Mukhlis Fahrudin, M.SI</u> NIPT. 201402011409	



Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi  
  
Romadi, M.Si., D.Sc  
NIP.19810201 200901 1 019

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fifith Maulidatul Mahfudhoh

NIM : 14620051

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

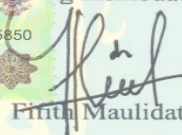
Judul Skripsi : Keragaman Genetik Aksesori Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L.)  
berdasarkan Penanda Morfologi Daun dan Molekuler *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 7 Juni 2018



ig membuat pernyataan



Fifith Maulidatul Mahfudhoh

NIM : 14620051

## MOTTO

*“Perumpamaan orang mukmin yang membaca al-Quran adalah seperti jeruk manis yang baunya harum dan rasanya manis”* (HR. Bukhari, Muslim, Nasai, dan Ibnu Majah).

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Karyaku ini akan ku persembahkan kepada :

1. Untuk kedua orang tuaku tercinta, Bapak Abd. Ghoni (Alm.) dan Ibu Umiyah yang sudah membesarkanku dengan penuh kasih sayang, selalu memberikan bimbingan dan semangat untuk meraih kesuksesanku.
2. Ketiga saudara laki-laki ku yang bernama Moh. Anwar Shodiq, Shofiyul Umam dan Khoirul Aqib yang selalu memberi semangat, serta motivasi kepada penulis sampai saat ini.
3. Serta teruntuk "kamu" yang selalu dalam do'a.



## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan hidayah serta inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tugas akhir ini dengan judul **“Keragaman Genetik Aksesori Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L.) berdasarkan Penanda Morfologi Daun dan Molekuler *Inter Simple Sequence Repeats (ISSR)*”** ini dapat diselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah mengantarkan manusia dari jaman kegelapan menuju jalan kebenaran.

Penyusunan tugas akhir ini tentunya tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Abd. Haris, M.Ag, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Romaidi, M. Si., D. Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Suyono, M.P selaku dosen pembimbing dan bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.Si selaku dosen pembimbing agama yang senantiasa memberikan bimbingan dengan penuh keikhlasan dan kesabaran dalam penyusunan tugas akhir ini.
5. Bu Baiq Dina Mariana, S.P. M.Sc dan bapak Dr. Dita Agisimanto, S.P., M.P. selaku dosen pembimbing dari Balitjestro yang selalu membimbing dan memberikan motivasi dan ilmu-ilmu baru sehingga penulisan tugas akhir dapat terselesaikan.
6. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen wali yang selalu memberikan saran, nasehat dan dukungan kepada penulis.
7. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, bapak Didik Wahyudi, M.Si dan ibu Azizatur Rahmah, M.Sc, selaku dosen penguji yang telah memberikan

- saran yang membangun sehingga dapat membantu terselesainya tugas akhir ini.
8. Seluruh dosen dan Laboran Jurusan Biologi yang telah memberikan bimbingan dan ilmu yang luas kepada penulis
  9. Kedua orang tuaku Bapak Abd. Ghoni (Alm.) dan Ibu Umiyah, yang selalu memberikan semangat, dan do'a untuk meraih kesuksesanku.
  10. Untuk mbak Meike Tya Kusuma S.Si dan mbak Shaddiqah Munawaroh Fauziah S.Si terimakasih banyak telah membantu dalam hal penulisan dan mempelajari tentang ISSR.
  11. Teman-teman mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, khususnya untuk keluarga Telomer Angkatan 2014 yang telah memberikan dukungan, motivasi dan pengalaman yang tidak akan terlupakan

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tugas akhir ini masih terdapat banyak kekurangan dan penulis berharap semoga penulisan tugas akhir ini dapat bermanfaat kepada para pembaca khususnya penulis secara pribadi. Amin yaa robbal alamin

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 7 Juni 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>COVER</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>v</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
<b>البحث الملخص</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Hipotesis .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
1.6 Batasan Masalah .....	7
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Jeruk Keprok ( <i>C. reticulata</i> L.) .....	8
2.1.1 Klasifikasi <i>C. reticulata</i> L. ....	8
2.1.2 Morfologi <i>C. reticulata</i> L. ....	8
2.1.3 Syarat Tumbuh <i>C. reticulata</i> L. ....	12
2.2 Sebaran <i>C. reticulata</i> L. di Indonesia.....	13
2.3 Genetika <i>C. reticulata</i> L. ....	15
2.4 Karakterisasi Plasma Nutfah .....	16
2.4.1 Karakterisasi Morfologi Daun <i>C. reticulata</i> L. ....	18
2.4.2 Karakterisasi Molekuler Tanaman <i>C. reticulata</i> L. dengan Markah <i>Inter-Simple Sequence Repeat</i> (ISSR).....	22

<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
3.1 Rancangan Penelitian .....	25
3.2 Waktu dan Tempat .....	25
3.3 Alat dan Bahan .....	25
3.3.1 Alat .....	25
3.3.2 Bahan .....	27
3.4 Prosedur Kerja .....	28
3.4.1 Analisis Morfologi .....	28
3.4.2 Analisis Molekuler .....	29
3.5 Analisis Data .....	33
3.5.1 Data Morfologi .....	33
3.5.2 Data Molekuler .....	35
3.5.3 Korelasi Data Morfologi dan Molekuler .....	35
3.6 Analisis Integrasi Sains dan Islam .....	36
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1 Karakter Morfologi dan Hubungan Kekerbatan <i>C. reticulata</i> L. ....	37
4.2 Karakter Molekuler dan Hubungan Kekerbatan <i>C. reticulata</i> L. ....	59
4.3 Korelasi Hubungan Kekerbatan Karakter Morfologi dan Molekuler <i>C. reticulata</i> L. ....	73
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>77</b>
5.1 Kesimpulan .....	77
5.2 Saran .....	77
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>78</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>83</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon <i>C. reticulata</i> L. di Kebun Percobaan Punten .....	9
Gambar 2.2 Bentuk Daun ( <i>Leaf Lamina attachment</i> ).....	20
Gambar 2.3 Bentuk Lamina Daun ( <i>Leaf lamina shape</i> ) .....	21
Gambar 2.4 Bentuk Tepi Daun ( <i>Leaf lamina margin</i> ) .....	21
Gambar 2.5 Bentuk Sayap Daun ( <i>Petiole wing shape</i> ).....	22
Gambar 4.1 Tipe Daun <i>Simple</i> .....	37
Gambar 4.2 Intensitas Warna Hijau ( <i>intensity of green colour of leaf blade</i> ) ....	38
Gambar 4.3 Tipe Perlekatan Helai Daun ( <i>leaf lamina attachment</i> ).....	39
Gambar 4.4 Tipe Bentuk Helai Daun ( <i>leaf lamina shape</i> ).....	40
Gambar 4.5 Tipe Bentuk Tepi Helai Daun ( <i>leaf lamina margin</i> ).....	41
Gambar 4.6 Tipe Bentuk Ujung Daun ( <i>leaf apex</i> ) .....	42
Gambar 4.7 Tipe Bentuk Ada/tidaknya Sayap Daun .....	43
Gambar 4.8 Tipe Bentuk Sayap Daun ( <i>petiole wing shape</i> ).....	44
Gambar 4.9 Fenogram Karakterisasi Morfologi 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> L.....	50
Gambar 4.10 Hasil Uji Kualitatif DNA .....	59
Gambar 4.11 Hasil Uji Kualitatif DNA .....	59
Gambar 4.12 Hasil Uji Kualitatif DNA .....	60
Gambar 4.13 Pola Pita Penanda ISSR dengan menggunakan Primer 52 dan Primer 53 pada 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> L.....	64
Gambar 4.14 Pola Pita Penanda ISSR dengan menggunakan Primer 56 dan Primer 58 pada 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> L.....	65
Gambar 4.15 Pola Pita Penanda ISSR dengan menggunakan Primer 59 pada 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> L.....	66
Gambar 4.16 Fenogram Karakterisasi Molekuler 45 aksesori <i>C. reticulata</i> L .....	71

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Daftar Sampel Aksesori <i>C. reticulata</i> L.....	26
Tabel 3.2 Sekuen Primer ISSR.....	28
Tabel 3.3 Komponen PCR .....	32
Tabel 3.4 Kategori Nilai berdasarkan Karakter Morfologi.....	33
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Panjang Helai Daun.....	45
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Lebar Helai Daun .....	45
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Panjang Sayap Daun.....	46
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Lebar Sayap Daun .....	46
Tabel 4.5 Nilai Similaritas 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> L. berdasarkan Karakter Morfologi.....	48
Tabel 4.6 Kriteria <i>goodness of fit</i> berdasarkan Nilai Korelasi .....	57
Tabel 4.7 Hasil Uji Kuantitatif DNA .....	60
Tabel 4.8 Profil Pita Hasil Amplifikasi dari 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> menggunakan Primer ISSR .....	63
Tabel 4.9 Nilai Similaritas 45 Aksesori <i>C. reticulata</i> L. berdasarkan Karakter Molekuler .....	69

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Karakterisasi Morfologi 45 Akses *C. reticulata* L.....83



## ABSTRAK

Mahfudhoh, Fifith Maulidatul. 2018. **Keragaman Genetik Akses Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L.) berdasarkan Penanda Morfologi Daun dan Molekuler *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR)**. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.  
Pembimbing: (1) Suyono, M.P dan (2) M. Mukhlis Fahrudin, M.SI

---

**Kata Kunci:** *Citrus reticulata* L., karakterisasi, penanda morfologi, ISSR

Koleksi plasma nutfah *C. reticulata* L. di Kebun Percobaan Punten milik Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) Batu belum dikarakterisasi secara menyeluruh. Karakterisasi *C. reticulata* L. selama ini masih dilakukan secara sederhana, yaitu dengan karakterisasi morfologi. Karakterisasi morfologi merupakan teknik yang mudah dan cepat, akan tetapi, teknik karakterisasi tersebut memiliki keterbatasan yaitu dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga akan memberikan hasil yang berbeda-beda bergantung pada tempat tumbuhnya. Keterbatasan dari markah morfologi dapat diatasi dengan menggunakan markah molekuler yang berbasis DNA. Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan adalah metode *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik 45 aksesii jeruk keprok (*Citrus reticulata* L.) berdasarkan karakter morfologi dan molekuler ISSR serta korelasi antara karakter morfologi dan molekuler.

Penelitian morfologi dilakukan di Kebun Percobaan Punten milik Balitjestro, Batu. Data morfologi diuraikan secara deskriptif sesuai buku panduan *Descriptors for Citrus* (IPGRI 1999), dan dibuat dendogram. Sedangkan analisis karakterisasi molekuler dilakukan di Laboratorium Terpadu, Balitjestro. Data pola pita ISSR dianalisis secara kuantitatif berdasarkan muncul tidaknya pita pada gel dan dibuat dendogram. Hubungan kekerabatan antara karakterisasi morfologi dan molekuler dianalisis menggunakan koefisien kemiripan Dice. Korelasi antara keduanya dianalisis menggunakan statistik Z Mantel dengan prosedur MXCOMP pada program NTSYS.

Hasil penelitian menunjukkan hubungan kekerabatan berdasarkan karakterisasi morfologi mempunyai nilai koefisien kemiripan genetik antara 0.41 sampai 1.00 dan diperoleh nilai *goodness of fit* sebesar 0.84 % (baik), sedangkan nilai koefisien kemiripan genetik pada karakterisasi molekuler didapatkan hasil antara 0.76 sampai 1.00, dan diperoleh *goodness of fit* sebesar 0.91 % (sangat baik). Nilai korelasi antara karakter morfologi dan molekuler ISSR didapatkan nilai  $r$  sebesar  $-0.00840$   $P = < 0.321$  (sangat lemah). Sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil korelasi pengelompokan 45 aksesii *C. reticulata* berdasarkan karakterisasi morfologi tidak konsisten dengan hasil yang diperoleh dari analisis pola pita DNA, sehingga matriks kemiripan yang berasal dari data morfologi tidak dapat digunakan untuk menduga kemiripan genetik.

## ABSTRACT

Mahfudhoh, Fifith Maulidatul. 2018. **Genetic Diversity of Mandarin (*Citrus reticulata* L.) Based on Leaf Morphology and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers.** Thesis. Department of Biology. Faculty of Science and Technology. State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang.

Supervisor: (1) Suyono, M.P and (2) M. Mukhlis Fahrudin, M.SI

---

Keywords : *Citrus reticulata* L., characterization, morphological marker, ISSR

The Collection of Nutfah of plasm (*C. reticulata* L.) in Punten Experimental Garden for Citrus and Subtropical Research Institute (Balitjestro) Batu has not been fully characterized. The Characterization of *C. reticulata* L. has been done in simple terms, namely morphological characterization. Morphological characterization is an easy and fast technique; however, the characterization technique has a limitation that is influenced by the environment, so it will give different results depending on the growth. Limitations of morphological markers can be resulted by using molecular markers based on DNA. One of the molecular techniques is the method of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). The research aims at determining the genetic diversity of 45 of accessions of tangerine orange (*Citrus reticulata* L.) based on the morphological and molecular characters of ISSR and the correlation between morphological and molecular characters.

The morphology study was conducted at Balitjestro Punten Experimental Garden, Batu. Morphological data were described descriptively according to the guide book of the Descriptors for Citrus (IPGRI 1999) and made dendogram. The molecular characterization analysis was done in Laboratory of Balitjestro. The ISSR band pattern data was analyzed quantitatively based on the appearance of bands on the gel and it was made dendogram. The kinship relationship between morphological and molecular characterization was analyzed using Dice's resemblance coefficient of. The correlations of both were analyzed using Z Mantel statistics with the MXCOMP procedure on the NTSYS program.

The research results showed that the relationship of kinship based on morphological characterization has the value of genetic similarity coefficient of 0.41 to 1.00 and obtained goodness of fit value amounted 0.84% (good), the value of genetic similarity coefficient on the molecular characterization was obtained between 0.76 to 1.00, and obtained goodness of fit amounted 0.91% (very good). The correlation value between morphological and molecular character of ISSR was obtained r value of -0.00840  $P = < 0.321$  (very weak). The results of *C. reticulata* accession groupings based on morphological characters were inconsistent that were obtained results from DNA band pattern analysis, so genetic similarities from morphological data cannot be used to predict the genetic similarities.

## ملخص البحث

محفوضة. فيفط مولدة. 2018. التنوع للانضمام الجيني البرتقال اليوسفي (*Citrus reticulata* L.) القائم علامات المورفولوجية والجزئية *Inter Simple Sequence Repeats*. البحث الجامعي. قسم علم الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف: سيونو، الماجستير، مخلص فحراجلين، الماجستير

الكلمات الرئيسية: *Citrus reticulata* L. ، توصيف ، علامة مورفولوجية ، ISSR مجموعات بلازما نطفة *C. reticulata* L في حديقة التجريبية فونتين لمعهد بحوث الحمضيات وشبه الاستوائية (Balitjestro) باتو لا توصيف *C. reticulata* L عبارات بسيطة ، وهذا من خلال التوصيف المورفولوجي. التوصيف المورفولوجي هو الاسلوب السهل والسريع، ومع ذلك، فإن تقنيات توصيف لها القيود التي تتأثر البيئة، لذلك سوف تعطي نتائج مختلفة تبعا للمكان النبات. يمكن أن يتغلب على قيود العلامات المورفولوجية باستخدام الواسمات الجزئية المستندة إلى DNA . واحدة من التقنيات الجزئية التي تستخدمها هي طريقة (ISSR) *Inter Simple Sequence Repeat* . يهدف هذا البحث إلى تحديد التنوع للانضمام 45 الجيني البرتقال اليوسفي (*Citrus reticulata* L.) القائم علامات المورفولوجية والجزئية *Inter Simple Sequence Repeats*

أجري البحث المورفولوجية في حديقة التجريبية فونتين لمعهد بحوث الحمضيات وشبه الاستوائية باتو. يتم وصف البيانات المورفولوجية بشكل وصفي طبقاً لدليل *Descriptors for Citrus* (IPGRI 1999). وجعلت ديندوكرام. أجرى تحليل التوصيف الجزئي في المختبر Balitjestro تم تحليل بيانات نمط النطاق ISSR كميًا على أساس ظهور العصابات على هلام و نشأت ديندوكرام. تم تحليل علاقة القرابة بين التوصيف المورفولوجي والجزئي تحلل باستخدام معامل التشابه النرد. تم تحليل المجموعة بين الاثنين باستخدام إحصائيات مان تيل Z ManTel مع إجراء MXCOMP في برنامج NTSYS

دلت النتائج أن هناك وجود علاقة القرابة بناء على التوصيف المورفولوجي لديها معامل التشابه الجيني بين 0:41 حتي 01:00 وحصلت القيمة *goodness of fit* بقدر 0.84% (جيد)، بلغت قيمة معامل التشابه الجيني في نتائج التوصيف الجزئي بين 0.76 إلى 1:00، وحصلت القيمة *goodness of fit* بقدر 0.91% (جيد جدا). قيمة الارتباط بين الصفة المورفولوجية والجزئية ISSR حصلت على قيمة  $P = < 0.321$  - 0.00840 (ضعيف جدا). نتيجة تجميع لانضمام *C. reticulata* L. على أساس الصفات المورفولوجية هي ليست متسقة مع النتائج التي حصلت عليها من تحليل أنماط DNA ، بحيث المسافات الجينية المستمدة من البيانات الشكلية لا تمكن أن تستخدم لتقدير التشابه الجيني.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan makhluk ciptaan Allah SWT yang mempunyai banyak manfaat. Pada tumbuhan tersebut terdapat beberapa zat yang dapat dimanfaatkan oleh manusia, misalnya vitamin, minyak dan beberapa zat-zat yang lain. Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat Asy-Syu'ara (42) ayat 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : *"Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?"*

Berdasarkan ayat tersebut dapat diketahui bahwasanya Allah SWT telah menciptakan bermacam-macam tumbuhan yang baik, dan kita sebagai hamba-Nya diperintah untuk memperhatikannya. Kata “زَوْجٍ كَرِيمٍ” yang bermakna tumbuhan yang baik dapat diartikan memiliki banyak sekali manfaat bagi manusia dan makhluk hidup yang lain (Shihab, 2002). Salah satu tumbuhan yang memiliki banyak manfaat yaitu jeruk (*Citrus spp.*).

Kita sebagai hamba-Nya juga harus selalu bersyukur atas nikmat yang telah diberikan Allah SWT. Hal tersebut telah dijelaskan dalam al-Quran surat Ar-Rahman (55) ayat 10-13 :

وَالْأَرْضَ وَضَعَهَا لِلْأَنْعَامِ (١٠) فِيهَا فَاكِهَةٌ وَالنَّخْلُ ذَاتُ الْأَكْمَامِ (١١) وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ

(١٢) فَبِأَيِّ آلَاءِ رَبِّكُمَا تُكَذِّبَانِ (١٢)

Artinya : “Dan Allah telah meratakan bumi untuk makhluk(Nya). Di bumi itu ada buah-buahan dan pohon kurma yang mempunyai kelopak mayang. Dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya. Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan bumi seisinya untuk dimanfaatkan oleh hamba-Nya. Salah satu nikmat Allah SWT yang dapat dimanfaatkan manusia berdasarkan ayat tersebut adalah فاكهة yang artinya buah-buahan. Tanaman *Citrus* termasuk dalam kelompok buah-buahan (فاكهة) yang dimanfaatkan buahnya untuk dikonsumsi.

Jeruk (*Citrus* spp.) merupakan salah satu genus yang berasal dari famili Rutaceae dan mempunyai jenis yang beraneka ragam (Cottin, 1997 dalam Karsinah *et al.*, 2002). Keragaman jenis genetik *Citrus* yang tinggi ditunjukkan oleh beragamnya aksesori yang dikoleksi oleh Balitjestro yaitu sekitar 228 aksesori *Citrus*.

Jenis *Citrus* yang banyak dibudidayakan di Indonesia saat ini adalah jeruk nipis (*C. aurantium*), jeruk pamelon (*C. grandis*), jeruk purut (*C. hystrix*), jeruk manis (*C. sinensis*), jeruk lemon (*C. medica*), dan jeruk keprok (*C. reticulata*) (Balitjestro, 2012). Akan tetapi, yang dianggap sebagai *Citrus* yang asli hanya ada tiga kelompok, yaitu jeruk pamelon (*C. maxima*), jeruk sitron (*C. medica*), dan jeruk keprok (*C. reticulata*), sedangkan jenis *Citrus* lainnya merupakan hasil persilangan dari ketiga jenis kelompok tersebut (Barret, 1976 dalam Hardiyanto, 2007).

*C. reticulata* L. merupakan salah satu jenis *Citrus* yang populer di kalangan masyarakat. Ciri khas dari *C. reticulata* L. yaitu mempunyai rasa yang

lebih segar karena terdapat campuran rasa manis dan sedikit rasa asam. Dari segi penampilannya *C. reticulata* L. lebih menarik dibandingkan *Citrus* yang lain, yaitu memiliki tekstur kulit yang mudah dikupas dan tidak berasa pahit (Widyawati, 2017). Rasa buah *Citrus* yang manis dijelaskan dalam hadist berikut:

عَنْ أَبِي مُوسَى رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ قَالَ: قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَثَلُ الْمُؤْمِنِ الَّذِي يَقْرَأُ الْقُرْآنَ مَثَلُ  
الْأَنْزَجَةِ رِيحُهَا طَيِّبٌ وَطَعْمُهَا طَيِّبٌ

Artinya :*Dari Abu Musa r.a. berkata bahwa Rasulullah saw. bersabda: “perumpamaan orang mukmin yang membaca al-Quran adalah seperti jeruk manis yang baunya harum dan rasanya manis”* (HR. Bukhari, Muslim, Nasai, dan Ibnu Majah).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa *Citrus* mempunyai rasa yang manis. Rasa manis menyebabkan *Citrus* menjadi buah yang banyak diminati oleh masyarakat. Selain karena rasanya yang manis dan menyegarkan, harganya murah dan mudah diperoleh *C. reticulata* L. juga memiliki kandungan gizi yang tinggi yaitu vitamin C, vitamin A, dan zat mineral lainnya sehingga tidak mengherankan jika permintaan terhadap *C. reticulata* L. tetap tinggi. Rata-rata pertumbuhan nilai impor *C. reticulata* L. pada tahun 2012-2017 lebih tinggi dibanding rata-rata pertumbuhan nilai eksportnya (Kementerian Pertanian, 2016).

*C. reticulata* L. mampu tumbuh di berbagai wilayah yang ada di Indonesia. Banyak daerah sentra produksi *C. reticulata* L. yang membudidayakan varietas lokal dengan nama yang berbeda, akan tetapi memiliki morfologi yang sama. Untuk keperluan pengembangan varietas dan konservasi, identitas varitas menjadi hal yang penting. Berbagai metode karakterisasi untuk menentukan identitas varietas pada *Citrus* telah banyak dikembangkan, diantaranya karakterisasi morfologi, biokimia, dan molekuler (Yulianti, 2016).

Koleksi plasma nutfah *C. reticulata* L. yang ada di Indonesia ditanam di Kebun Percobaan Punten milik Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) Batu dan sampai saat ini belum dikarakterisasi secara menyeluruh. Karakterisasi *C. reticulata* L. selama ini masih dilakukan secara sederhana, yaitu dengan karakterisasi morfologi. Karakter morfologi yang banyak digunakan sebagai informasi tanaman *C. reticulata* L. 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 Stuessy (1991 dalam Lailati, 2017) dalam organ daun memiliki banyak informasi paling banyak dan dapat menjadi solusi yang tepat untuk proses identifikasi. Daun *C. reticulata* L. memiliki bentuk dan ukuran yang bervariasi, diantaranya ada yang mempunyai sayap daun dan tidak mempunyai sayap daun.

Karakterisasi 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 akan memberikan hasil yang berbeda-beda bergantung pada tempat tumbuhnya (Suparman, 2012). Persilangan, mutasi, heterozigositas, dan poliembrioni juga akan mempengaruhi karakter morfologi yang nampak, sehingga karakterisasi morfologi tidak tepat digunakan untuk mendukung program pemuliaan tanaman (Moore, 2001 dalam Yulianti *et al.*, 2016).

Oleh karena itu hasil karakterisasi morfologi perlu didukung dengan metode lain, Keterbatasan dari markah morfologi dapat diatasi dengan

menggunakan marka molekuler yang berbasis DNA. Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan adalah metode *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). Metode ini dikembangkan berdasarkan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penanda ISSR merupakan jenis marka berbasis PCR yang menggunakan sekuen mikrosatelit dan tidak mengkode protein. Keunggulan dari penanda ISSR yaitu aplikasi yang sederhana, konsisten, mudah dilakukan, dapat diulang, dan menggunakan kuantitas cetakan DNA rendah (10-30 bp) (Zietkiewicz *et al.*, 1994 dalam Yulianti, 2010), tidak diperlukan data sekuen awal (Guo *et al.*, 2009), DNA yang digunakan lebih sedikit (5-50 ng per reaksi) (Son *et al.*, 2012; Syahrudin 2012; Sulassih *et al.* 2013), dan bersifat dominan (Kumar, 2009).

Penanda ISSR telah banyak digunakan diantaranya untuk mengetahui variasi genetik yang terdapat pada jeruk keprok SoE hasil radiasi sinar gamma (Yulianti, 2010), mengetahui keragaman calon indukan jeruk keprok Tawangmangu (*C. reticulata* blanco ssp.) (Nuryandani, 2013) dan mengetahui keragaman genetik mutan harapan yang terdapat pada generasi MV1 *Citrus reticulata* Blanco (Husain, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi tentang keragaman genetik *C. reticulata* L. yang ditanam di Kebun Percobaan Punten Batu menggunakan penanda morfologi dan molekuler ISSR.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hubungan kekerabatan 45 aksesori *C. reticulata* L. adaptif Indonesia berdasarkan karakter morfologi?

2. Bagaimana hubungan kekerabatan 45 akses *C. reticulata* L. adaptif Indonesia berdasarkan markah molekuler ISSR?
3. Bagaimana kolerasi hubungan kekerabatan 45 akses *C. reticulata* L. berdasarkan karakterisasi morfologi dan molekuler ISSR?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui hubungan kekerabatan 45 akses *C. reticulata* L. adaptif Indonesia berdasarkan karakter morfologi?
2. Mengetahui hubungan kekerabatan 45 akses *C. reticulata* L. adaptif Indonesia berdasarkan markah molekuler ISSR?
3. Mengetahui kolerasi hubungan kekerabatan 45 akses *C. reticulata* L. berdasarkan karakterisasi morfologi dan molekuler ISSR.

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Nilai korelasi ( $r$ ) antara karakter morfologi dan molekuler ISSR mempunyai nilai yang rendah. Hal tersebut diduga disebabkan keragaman pengaruh lingkungan (morfologi) lebih besar dari genotipnya.

### 1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memberikan informasi kepada peneliti mengenai hubungan kekerabatan 45 akses *C. reticulata* L. yang berada di Balitjestro Batu berdasarkan karakterisasi morfologi dan molekuler ISSR.

2. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai jenis-jenis *C. reticulata* L. yang ada di Indonesia.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Karakterisasi secara morfologi menggunakan 45 aksesori daun *C. reticulata* L. yang berasal dari kebun Percobaan Puntan milik Balitjestro Batu.
2. Karakter morfologi yang diamati pada penelitian ini meliputi : siklus hidup vegetatif, tipe daun, intensitas warna hijau, perlekatan helai daun, bentuk helai daun, bentuk tepi helai daun, ujung daun, ada/tidaknya sayap daun, bentuk sayap daun, panjang helai daun, lebar helai daun panjang sayap daun, dan lebar sayap daun.
3. Karakterisasi molekuler menggunakan daun/tunas muda dari 45 aksesori *C. reticulata* L. yang berasal dari kebun percobaan Puntan milik Balitjestro Batu.
4. Primer yang digunakan untuk karakterisasi kekerabatan aksesori *C. reticulata* L. adalah ISSR, yang berjenis ISSR 52,53,56,58 dan 59.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Jeruk Keprok (*C. reticulata* L.)

##### 2.1.1 Klasifikasi *C. reticulata* L.

Menurut Soelarso (1996) klasifikasi tanaman *C. reticulata* L. sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rutales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Spesies	: <i>C. reticulata</i> L.

##### 2.1.1 Morfologi *C. reticulata* L.

*C. reticulata* L. merupakan jenis tanaman yang berbentuk pohon dengan tinggi mencapai 2-8 m. (Van Steenis, 1975). Penelitian Giyanti (2001) menjelaskan bahwa tinggi pohon *C. reticulata* L. berkisar antara 4,86 – 8,97 m. dan berdiameter 8,27 – 24,82 cm. Martasari (2005) pohon *C. reticulata* L. mempunyai bentuk tajuk yang tidak beraturan, dahan kecil dan menyebar, serta mempunyai cabang yang banyak. Van Steenis (1975) pohon *C. reticulata* L. memiliki ranting yang tidak berduri.



Gambar 2.1. Pohon *C. reticulata* L. di Kebun Percobaan Punten, Batu (Dokumen Pribadi, 2018).

Daun *C. reticulata* L. termasuk daun majemuk (Tjitrosoepomo, 2005), berukuran kecil dan mempunyai tangkai pendek (Martasari, 2005). Daun terdiri atas dua bagian yaitu *lamina* dan *petiole*. Helaian daun (*lamina*) pada *C. reticulata* L. berbentuk bulat telur atau lanset dengan bentuk ujung runcing sedikit tumpul, demikian juga pangkalnya meruncing (Cahyono, 2005), dan tepi bergerigi atau beringgit. Panjang daun berkisar antara 3,5-8 cm (Van Steenis, 1975). Tangkai daun pada tanaman ini bervariasi, yaitu terdapat sayap (*petiole*) dan tidak bersayap (*petiole*), panjang tangkai daun berkisar 0,5-1,5 cm (Van Steenis, 1975). Pada permukaan atas daun mengandung lilin, pectin, licin (Cahyono, 2005) Daun *C. reticulata* L. berwarna hijau tua mengkilat pada dan berwarna hijau muda bagian bawah (Martasari, 2005).

Bunga *C. reticulata* L. merupakan bunga majemuk. Berdasarkan susunannya, ada yang menyerupai bentuk payung, berbentuk tandan dan ada yang berbentuk malai (Soelarso, 1996). Diameter bunga tersebut berkisar antara 1,5-2,5

cm. Bunga *C. reticulata* L. termasuk bunga yang berjenis berkelamin ganda (*hermaphroditus*) (Van Steenis, 1975). Pada bunga tanaman tersebut mempunyai mahkota bunga (5 helai), berwarna putih atau kekuningan dengan kelopak berbentuk cawan dan bulat telur (Martasari, 2005). Bunga muncul pada bagian ketiak daun atau pada ujung cabang. Bunga tanaman ini berukuran kecil dan mengeluarkan aroma harum (Martasari, 2005).

Buah *C. reticulata* L. berbentuk seperti bola tertekan, panjangnya berkisar 5-8 cm (Van Steenis, 1975) dengan diameter rata-rata 5,19 cm (Giyanti, 2001). Buah *C. reticulata* L. termasuk golongan buah sejati tunggal berdaging (*carnosus*), karena pada satu bunga menghasilkan satu bakal buah dan tidak pecah saat masak. Tjitrosoepomo (2005) pada jenis buah ini, bagian dinding buah (*pericarpium*) dapat dibedakan menjadi tiga lapisan, diantaranya : kulit luar (*epicarpium*), kulit tengah (*mesocarpium*), dan kulit dalam (*endocarpium*).

Ciri khusus dari *C. reticulata* L. yaitu kulit yang mudah dikupas, dengan tebal kulit berkisar 0,2 - 0,3 cm (Van Steenis, 1975). Tjitrosoepomo (2005) pada kulit buah *Citrus*, terdiri atas tiga lapisan yaitu : a) kulit luar (*flavedo*) yang bersifat kaku dan banyak mengandung minyak atsiri, yang awalnya berwarna hijau dan apabila masak akan berubah warna menjadi kuning, b) kulit tengah (*albedo*) yang berbentuk seperti spon yang terdiri atas jaringan bunga karang berwarna putih, dan c) kulit dalam yang bersekat dan membentuk suatu ruang. Pada juring buah *C. reticulata* L. mengandung banyak biji. Biji berbentuk bulat telur terbalik dengan permukaan mengkilat (Martasari, 2005) dan berwarna coklat muda (Giyanti, 2001).

Bobot buah *C. reticulata* L. rata-rata mencapai 200 g/buah. Daging buah *C. reticulata* L berwarna oranye dan banyak mengandung air. Buah *C. reticulata* L. mempunyai rasa yang manis, sedikit asam dan mempunyai aroma yang tajam (Giyanti, 2001). Karakteristik pada *C. reticulata* L. termasuk rasa yang berbeda merupakan bukti kekuasaan Allah SWT. Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat Ar-Ra'd (13) ayat 4 :

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنْوَانٌ وَغَيْرُ صِنْوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ  
وَنُفِصِّلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya : “Dan di bumi Ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir” (Ar-Ra'd : 4).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT melebihkan pada tanam-tanaman tersebut rasanya. Hal tersebut merupakan tanda-tanda kebesaran Allah bagi hamba yang mau berfikir. Abdullah (2005) menjelaskan bahwa adanya perbedaan pada jenis buah-buahan tersebut dapat dilihat berdasarkan bentuk, warna, daun dan bunganya. Terdapat buah yang mempunyai rasa manis, pahit, sepat, asam, dan rasa bermacam-macam atau bercampur rasanya dan adapula yang berubah rasa dengan izin Allah SWT.

### 2.1.2 Syarat Tumbuh *C. reticulata* L.

Tanaman *Citrus* dapat tumbuh pada ketinggian yang berbeda, yaitu pada dataran rendah dan dataran tinggi, tergantung pada varietas masing-masing (Soelarso, 1996). Dataran rendah yang dapat digunakan pertumbuhan *Citrus* berkisar 0-700 m dpl sedangkan pada dataran tinggi berkisar 800-1.200 m dpl (Redaksi Agromedia, 2009). Tinggi atau rendahnya suatu lokasi penanaman akan berpengaruh terhadap kualitas buah jeruk. Lokasi penanaman pada ketinggian yang kurang tepat akan menyebabkan pertumbuhan tanaman *Citrus* menjadi kurang optimal sehingga menyebabkan gagalnya pembentukan bunga menjadi buah (Soelarso, 1996).

Tanah merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan pertumbuhan *Citrus*. Tanah yang baik dan sesuai akan membuat tanaman-tanaman tersebut menjadi subur, seperti firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat Al-A'raf (7) ayat 58 :

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا ۗ كَذَلِكَ  
نُصِرَفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يُشْكُرُونَ

Artinya : “Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur” (Al-A'raf : 58).

Ayat di atas menjelaskan bahwasanya tanah yang baik akan membuat tanaman-tanaman tersebut menjadi subur dengan seizin Allah SWT. Begitu pula dengan tanah yang digunakan untuk pertumbuhan jeruk. Tanah yang sesuai akan menjadikan pertumbuhan tanaman *Citrus* menjadi subur. Tipe tanah yang cocok

untuk pertumbuhan *Citrus* adalah lempung sampai lempung berpasir (Soelarso, 1996). Lahan yang ideal untuk pertumbuhan *C. reticulata* L. yaitu lahan yang memiliki lapisan tanah mencapai kedalaman 150 cm dan tidak terdapat lapisan yang kedap air serta kedalaman air tanah mencapai  $\pm 75$  cm (Sutopo, 2011).

pH tanah yang baik untuk pertumbuhan *C. reticulata* L. yaitu bersifat netral berkisar 5,5 – 6,5. pH tanah dibawah angka 5, maka akan menyebabkan daun *Citrus* menjadi kuning dan pertumbuhan buah tidak berkembang dengan baik. Sedangkan jika pH di atas angka 7 maka tanaman tersebut akan kekurangan unsur borium pada pucuk daun. Jika *C. reticulata* L. ditanam pada di luar kisaran pH tersebut, maka lahan harus dinetralisasi terlebih dahulu dengan cara pemberian kapur (Setiawan, 2004 dalam Nalia, 2009).

## 2.2 Sebaran *C. reticulata* L. di Indonesia

*Citrus* adalah salah satu jenis tanaman buah yang berasal dari Asia. Cina dipercaya sebagai lokasi pertama kali *Citrus* tumbuh. *C. reticulata* L. sudah tumbuh di Indonesia baik secara alami atau dibudidayakan sejak ratusan tahun yang lalu (Deptan, 2012).

Sejarah penanaman *C. reticulata* L. di Indonesia tidak banyak dikenal orang. Kebanyakan orang beranggapan bahwa berbagai *C. reticulata* L. yang ada sekarang merupakan peninggalan dari orang-orang Belanda sewaktu tinggal di Indonesia. Orang-orang Belanda mendatangkan berbagai jenis *Citrus* yang berasal dari Amerika, Italia, dan Palestina. Terdapat beberapa jenis *Citrus* yang populer saat ini, diantaranya jeruk siam, keprok Garut, dan keprok Batu. Namun, jenis

jeruk-jeruk tersebut tidak diketahui dengan jelas dari mana asalnya (Martasari, 2005).

Kebanyakan *C. reticulata* L yang dibawa ke Indonesia saat itu mampu tumbuh dengan baik pada daerah tertentu. Bahkan sebagian besar tanaman tersebut telah menampilkan beberapa karakter yang berbeda sesuai dengan tempat pertumbuhannya, sehingga masyarakat yang ada didaerah tersebut menganggap bahwa jeruk-jeruk tersebut memang asli dari daerahnya dan pada akhirnya jeruk-jeruk tersebut diberi nama lokal yang sesuai dengan lokasi pertumbuhan masing-masing (Martasari, 2005).

Allah SWT berfirman dalam Qur'an surah At-Thaha (20) ayat 53 :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya : “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (At-Thaha:53).

Maksud dan penjelasan ayat ini yaitu bahwa Allah SWT menumbuhkan dengan air hujan itu tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam. Sesungguhnya nikmat Allah SWT sangat besar untuk para hambanya. Meskipun tidak disebutkan secara spesifik tentang jeruk, tanaman tersebut termasuk salah satu nikmat Allah. Allah menumbuhkan jeruk-jeruk tersebut dengan beranekaragam jenisnya. Begitu pula dengan keanekaragaman jenis jeruk keprok yang ada di Indonesia.

Jenis *C. reticulata* L. yang banyak ditanam di Indonesia saat ini diantaranya : keprok Brasitepu, keprok Cina Konde (Garut-Jawa Barat), keprok

Frimong/Freemont (Sumedang-Jawa Barat), keprok Garut (Jawa Barat), keprok Grabag (Magelang), keprok Kacang (Solok-Sumatra Barat), keprok Madura (Pamekasan-Madura), keprok Batu 55 (Batu- Jawa Timur), keprok Tawangmangu (Karanganyar-Jawa Tengah), keprok SoE (Mollo Utara-Nusa Tenggara Timur) (Martasari, 2005), keprok Siompu (Sulawesi Tenggara), dan jenis jeruk keprok yang lain keprok Tejakula (Bali) (Balitjestro, 2012).

### 2.3 Genetika *C. reticulata* L.

Perbaikan kualitas tanaman jeruk keprok dapat dilakukan salah satunya melalui kegiatan pemuliaan tanaman. Kegiatan pemuliaan tanaman yang banyak dikembangkan saat ini yaitu jeruk tanpa biji (*seedless*) (Purwito, 2015). *C. reticulata* L. termasuk kelompok golongan Citrus yang mempunyai jumlah kromosom sebanyak  $2n=2x=18$  (diploid). Teknik yang tepat untuk mendapatkan tanaman Citrus tanpa biji (triploid) ( $2n=3x=27$ ) yaitu dengan cara menyilangkan tanaman Citrus yang bersifat tetraploid ( $2n=4x=36$ ) dengan tanaman jeruk diploid yang bersifat ( $2n=2x=18$ ) (Wu dan Mooney, 2002).

Penggandaan kromosom dengan colchisin dapat dilakukan untuk memperbaiki varietas tanaman jeruk. Colchisin merupakan suatu senyawa yang dapat menyebabkan terjadinya poliploidi tanaman yaitu tanaman dapat memiliki tiga atau lebih kromosom pada sel-selnya. Poliploidi pada tanaman akan menyebabkan tanaman tersebut menjadi lebih besar (daun, bunga, buah, batang dan akar,) sehingga karakter tanaman yang akan menjadi lebih baik (Sulistianingsih *et al.*, 2004).

## 2.4 Karakterisasi Plasma Nutfah

Karakterisasi merupakan suatu proses identifikasi sifat spesifik yang terdapat pada suatu tanaman yang dapat digunakan untuk membedakan diantara jenis dan individu pada jenis suatu tanaman (Chaerani, 2011). Karakterisasi tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, sitologi, dan penanda molekuler (Jamsari, 2008).

Syahrudin (2012) pembagian karakter morfologi dibagi menjadi dua jenis yaitu a) karakter yang bersifat kuantitatif dan b) karakter yang bersifat kualitatif. Karakter yang bersifat kuantitatif yaitu karakter yang tidak dapat dibedakan secara sederhana, namun harus diukur dengan alat ukur tertentu yang hasilnya bersifat kuantitatif (Syahrudin, 2012). Karakter yang bersifat kuantitatif digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada jeruk diantaranya tinggi tanaman, panjang daun, lebar daun, panjang buah, lebar buah, diameter kelopak bunga dan karakter lain (Rahayu, 2017), sedangkan karakter yang bersifat kualitatif merupakan karakter yang dapat dibedakan secara tegas dan sederhana tanpa adanya proses pengukuran (Syahrudin, 2012). Karakter kualitatif yang digunakan untuk menganalisis keragaman genetik jeruk diantaranya warna daun, bentuk buah, warna buah dan karakter lainnya (Rahayu, 2017).

Karakter morfologi merupakan ekspresi fenotipe dari individu dan populasi, yang diregulasi oleh gen, dan interaksinya dengan lingkungan. Beberapa peneliti telah menggunakan karakter morfologi untuk mengevaluasi keragaman genetik mutan pada jeruk keprok SoE (*Citrus reticulata* Blanco) (Husain, 2016), seleksi sitologi digunakan untuk mengetahui jumlah kloroplas dan kromosom

(Martasari, 2008), dan penanda molekuler yang digunakan untuk identifikasi dan pengelompokan kekerabatan tanaman (Suparman, 2010).

Sesungguhnya Allah SWT menciptakan manusia pada dasarnya memiliki dua peran atau fungsi, yaitu sebagai hamba Allah SWT serta bertugas untuk menjadi khalifah di muka bumi. Seorang khalifah harus mampu memahami isi kandungan al-Quran, baik secara tertulis maupun tidak tertulis.

Allah SWT berfirman dalam al-Quran surah Al-Baqoroh (2) ayat 30 :

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا  
وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ ۗ

Artinya :*“Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi". Mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui" (Al-Baqoroh: 30).*

Ayat di atas menjelaskan bahwa kedudukan manusia dimuka bumi ini adalah sebagai khalifah Allah SWT atau pemimpin yang diberi tugas untuk memelihara, melestarikan alam, mengambil manfaat, serta mengelola kekayaan alamnya sehingga terwujud kedamaian dan kesejahteraan segenap manusia. Untuk mampu melakukan tugas tersebut, terutama dalam rangka mengambil manfaat serta mengelola kekayaan alam manusia harus lebih dahulu mengidentifikasi jenis dan manfaat tumbuhan sesuai dengan kegunaannya. Salah satu cara yang dapat dilakukan manusia adalah dengan melakukan kegiatan karakterisasi.

### 2.4.1 Karakterisasi Morfologi Daun *C. reticulata* L.

Penanda morfologi merupakan jenis markah molekuler yang didasarkan pada karakter fenotipe yang dapat diamati secara langsung (Sulassih 2011). Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat Az-Zumar (39) ayat 21 :

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا  
أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهَيِّجُ فَتْرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَبْصَارِ ۝

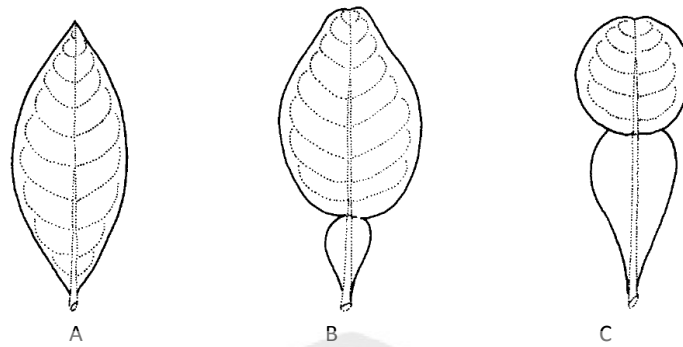
Artinya: “Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkannya dengan air itu tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu ia menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikannya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal.” (QS. Az-Zumar : 21).

Maksud dan penjelasan ayat di atas yaitu bahwa Allah SWT memerintahkan kita sebagai umat manusia diperintah untuk memperhatikan tanaman yang bermacam-macam warnanya, pertumbuhan dan perkembangannya hingga siklus hidupnya sempurna. Manusia diperintahkan untuk mengambil pelajaran dalam hal ini berkaitan dengan perubahan fenotip tanaman selama siklus hidup tanaman tersebut agar manusia dapat mengambil manfaat sebesar-besarnya.

Hasil analisis morfologi yang didasarkan dari kemiripan karakter diharapkan dapat menggambarkan hubungan kekerabatan diantara takson atau individu suatu tanaman (Rustiarni *et al.*, 2011). Akan tetapi markah ini juga mempunyai kekurangan diantaranya yaitu hasil yang didapatkan kurang akurat, karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Karakterisasi *C. reticulata* L., secara morfologi dilakukan berdasarkan *descriptors for citrus* (IPGRI 1999). Diantara karakter yang diamati yaitu :

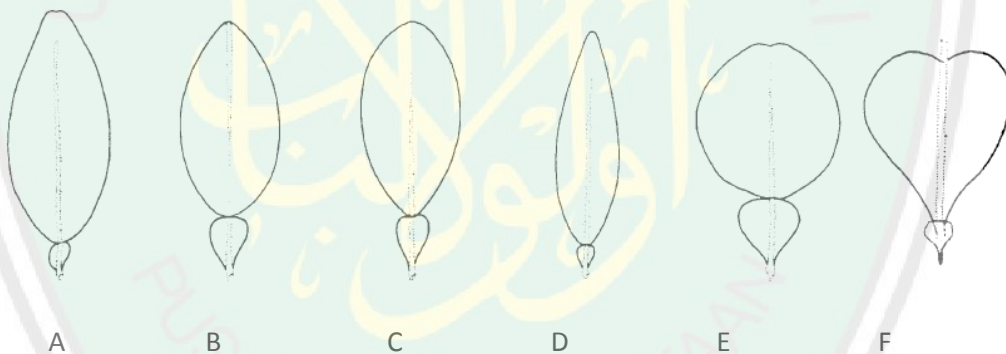
- 1) Siklus hidup vegetatif (*Vegetative life cycle*)
  - a) *Evergreen* : Jenis tumbuhan yang mempertahankan daunnya sepanjang tahun.
  - b) *Deciduous* : Jenis tumbuhan yang menggugurkan daunnya secara serentak pada suatu musim.
  - c) *Semi-persistent* : Jenis tumbuhan yang mempunyai dua musim yaitu pada musim tertentu akan mempertahankan daunnya akan tetapi pada musim yang berikutnya akan menggugurkan daunnya secara serentak.
- 2) Pembagian daun (*Leaf division*)
  - a) Beranak daun 1 (*simple*) : Satu tangkai daun terdiri dari satu helai daun
  - b) Beranak daun 2 (*bifoliate*) : Satu tangkai daun terdiri dari dua helai daun
  - c) Beranak daun 3 (*trifoliate*) : Satu tangkai daun terdiri dari tiga helai daun
  - d) Beranak daun 5 (*pentafoliate*) : Satu tangkai daun terdiri dari lima helai daun
- 3) Intensitas warna hijau (*Intensity of green colour of leaf blade*)
- 4) Bentuk perlekatan daun (*Leaf Lamina attachment*)
  - a) *Sessile*: Tidak mempunyai sayap daun
  - b) *Brevipetiole* : Ukuran sayap daun lebih pendek dibandingkan helai daun
  - c) *Longipetiole* : Petiole lebih panjang dari lamina atau sama panjangnya dengan lamina daun.



Gambar 2.2. Bentuk daun (*Leaf Lamina attachment*)

5) Bentuk helai daun (*Leaf lamina shape*)

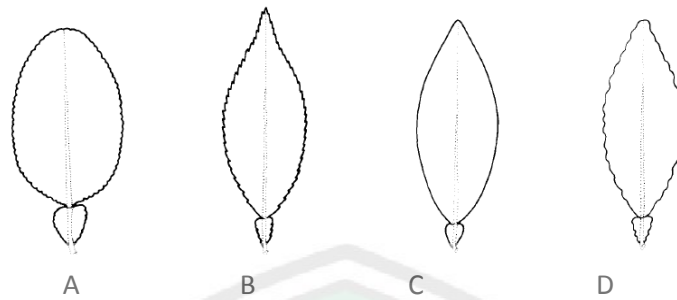
- a) Jorong (*elliptic*) = jika panjang : lebar =  $(1\frac{1}{2} - 2) : 1$
- b) Bulat telur (*ovate*)
- c) Bulat telur terbalik (*obovate*)
- d) Lanset (*lanceolate*) jika panjang : lebar =  $(3-5) : 1$
- e) Bulat/bundar (*orbicular*) jika panjang : lebar =  $1 : 1$



Gambar 2.3. Bentuk lamina daun (*Leaf lamina shape*)

6) Bentuk tepi daun (*Leaf lamina margin*)

- a) Beringgit (*crenate*) : Sinusnya lebih tajam dan angulus tumpul
- b) Bergigi (*dentate*) : Sinus tumpul dan angulus lancip
- c) Rata (*entire*) : Pinggiran daun rata seperti garis
- d) Berliuk (*sinuate*) : Sinus dan angulusnya tumpul – bergelombang



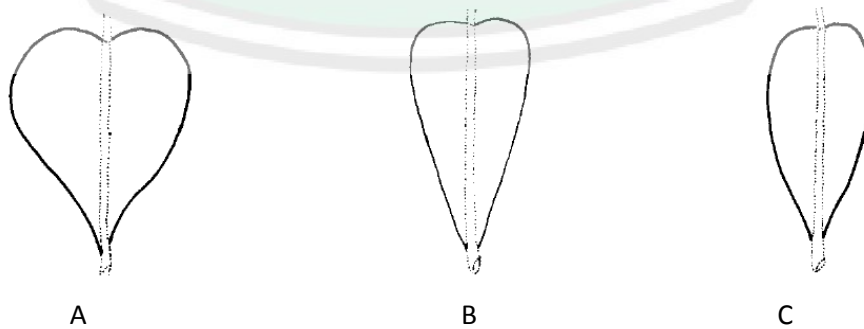
Gambar 2.4. Bentuk tepi daun (*Leaf lamina margin*)

7) Ujung Daun (*Leaf apex*)

- a) Runcing (*acutus*): jika pertemuan kedua tepi daun membentuk sudut lancip ( $< 90^\circ$ ). Terdapat pada daun-daun bangun: bulat memanjang, segitiga sama kaki, segitiga sama sisi, belah ketupat.
- b) Meruncing (*acuminatus*): seperti pada ujung runcing, tetapi pertemuan kedua tepinya jauh lebih tinggi dan tampak sempit panjang, serta runcing.
- c) Tumpul (*obtusus*): jika pertemuan kedua tepi daunnya membentuk sudut tumpul ( $> 90^\circ$ )
- d) Attenuate
- e) Rounded
- f) Emarginate

8) Bentuk sayap daun (*Petiole wing shape*)

- a) Jantung sungsang (*obcordate*)
- b) Segitiga Terbalik (*obdeltate*)
- c) Bulat telur sungsang (*obovate*)



Gambar 2.5. Bentuk sayap daun (*Petiole wing shape*)

#### 2.4.2 Karakterisasi Molekuler Tanaman *C. reticulata* L. dengan Markah ISSR

Markah molekuler yang disebut dengan penanda molekuler merupakan variasi yang terdapat dalam urutan DNA pada lokasi tertentu dalam suatu genom. Pada awal perkembangannya, markah molekuler diawali dengan munculnya markah biokimia seperti isozim, kemudian diganti dengan markah berbasis DNA karena lebih banyak memberikan keuntungan dibandingkan markah lainnya (Hendre & Aggarwal, 2007).

Markah molekuler dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu markah berbasis *polymerase chain reaction* (PCR) dan tidak berbasis PCR. Contoh markah yang berbasis PCR diantaranya *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) dan *Simple Sequence Repeats* (SSR), sedangkan markah molekuler yang tidak berbasis PCR yaitu *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) (Varshney *et al.*, 2007).

Keuntungan menggunakan markah molekuler diantaranya: a) relatif mudah penggunaannya (Kalia *et al.*, 2011), b) hasil tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Kalia *et al.*, 2011), dan c) menghasilkan tingkat polimorfisme yang tinggi (Kumar, 2009).

Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan adalah metode *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). ISSR merupakan markah yang berasal dari daerah mikrosatelit atau *Simple Sequences Repeat* (SSR). SSR merupakan wilayah sekuen nukleotida yang mengalami pengulangan atau *Short*

*Tandem Repeat* (STR) yang tersebar diseluruh genom sedangkan ISSR adalah daerah inter-SSR nya. ISSR merupakan daerah yang bukan gen dan tidak mengkode protein (*non coding region*) dan terletak diantara dua lokus mikrosatelit (Ng dan Tan, 2015).

Mikrosatelit merupakan daerah yang mengalami pengulangan mono, di, atau trinukleotida yang terdiri atas 4 - 10 unit pengulangan, susunan basa yang sedemikian rupa merupakan karakteristik dari nuclear genom dan bervariasi antar spesies atau populasinya (Wahyuni *et al.*, 2004 dalam Nuryandani, 2013).

Hasil amplifikasi akan menghasilkan pola pita ganda dan polimorfisme yang dapat digunakan sebagai studi variasi genetik pada suatu organisme, menganalisis kekerabatan, mengidentifikasi genetik tetua, pembentukan klon dan mempelajari hubungan asal tanaman dengan pusat penyebarannya (Ng dan Tan, 2015).

Kelebihan dari markah ISSR diantaranya bersifat dominan (Kumar, 2009), membutuhkan *template* DNA sedikit sekitar 5-50 mg per reaksi (Sanjay *et al.*, 2011), dan tidak memerlukan informasi sekuen awal, dan dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik pada tingkat spesies dan varietas (Son *et al.*, 2012; Syahrudin 2012; Sulassih *et al.*, 2013).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ISSR berhasil digunakan ISSR dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik kultivar durian di Thailand (Vanijajiva, 2012), konservasi japonica teh di Cina dan Jepang (Lin *et al.*, 2013), analisis keragaman genetik (*Garcinia mangostana*) yang diiradiasi dengan sinar

gamma (Widiastuti, 2013) dan mengetahui kekerabatan genetik pandan asal Jawa Barat (Rahayu *et al.*, 2010).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif untuk mengetahui karakter morfologi dan tingkat kekerabatan kultivar *C. reticulata* L. plasma nutfah koleksi Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) berdasarkan marka molekuler *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR).

#### **3.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2017 di Balitjestro dan di Laboratorium Genetik Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan untuk karakterisasi morfologi yaitu penggaris (*Butterfly*), buku pedoman (IPGRI), plastik klip, kamera dan alat tulis. Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi DNA meliputi mortal, alu, gunting, timbangan analitik (*Kern 770*), rak tube (*Eppendorf*), mikropipet 10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L (*Corning*), pelampung (*float*), water bath (*Memmert*), sentrifugator (*Eppendorf*), freezer (*Aicool*), spin down (*Eppendorf*), dan vortex (*Hwashin*). Uji kuantitas DNA menggunakan alat nano drop (*Micro-spectrofotmeter Nano 200-1002*), sedangkan untuk uji kualitatif DNA menggunakan erlenmeyer 100 mL (*Duran*), gelas ukur (*Herma*), spatula, hotplate, perangkat elektroforesis gel agarosa (*Mupid-exu*), UV transiluminator XR (*Gel Doc XR*), dan komputer (DELL). Alat-

alat yang digunakan untuk amplifikasi DNA yaitu rak tabung PCR (*Eppendorf*), dan mesin Thermal Cycler (*Real time system*).

### 3.3.2 Bahan

#### 3.2.2.1 Material Tanaman

Material tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu koleksi tanaman jeruk keprok sebanyak 45 aksesori yang ada di Balitjestro (Tabel 3.1) :

Tabel 3.1 Daftar sampel aksesori jeruk keprok yang digunakan dalam analisis ISSR

No/Kode	Nama Varietas	Asal
1	K. Akiyar	Tlekung- Batu-Jawa Timur
2	K. Banten	Banten
3	K. Berkerah	Tlekung- Batu-Jawa Timur
4	K. Blinyu 3	Tlekung- Batu-Jawa Timur
5	K. Batu 55	Batu-Jawa Timur
6	K. Borneo Prima	Rantau Pulung-Kalimantan Timur
7	K. Brasitpu	Sumatera Utara
8	K. Cilaku	Tlekung- Batu-Jawa Timur
9	K. Cina Mandarin	Tlekung- Batu-Jawa Timur
10	K. Garut	Garut-Jawa Barat
11	K. Gayo	Aceh
12	K. Grabag	Grabag-Jawa Tengah
13	K. Jepun	Madura-Jawa Timur
14	K. Jepun Madura	Madura-Jawa Timur
15	K. Kacang Singkarak	Singkarak-Sumatera Barat
16	K. Kedu	Kedu-Jawa Tengah
17	K. Kelila	Papua
18	K. Kinabalu	Malaysia
19	K. Kisar	Nusa Tenggara Timur (NTT)
20	K. Konde	Garut-Jawa Barat

21	K. Konde Purworejo	Purworejo-Jawa Tengah
22	K. Licin	Garut-Jawa Barat
23	K. Madu	Medan
24	K. Mandarin Cimahi	Cimahi-Jawa Barat
25	K. Manis Singkarak	Singkarak-Sumatera Barat
26	K. Maseh	Tlekung-Batu-Jawa Timur
27	K. Pulo Tengah	Jambi
28	K. Pulung	Ponorogo-Jawa Timur
29	K. Selayar	P. Slayar-Sulawesi Selatan
30	K. Seraya	Tlekung-Batu-Jawa Timur
31	K. SOE	Nusa Tenggara Timur (NTT)
32	K. Sungai Bamban	Tlekung-Batu-Jawa Timur
33	K. Siompu 1	P. Siompu-Sulawesi Selatan
34	K. Maga	Sumatera Utara
35	K. Riau	Riau
36	K. Tejakula	Singaraja-Bali
37	K. Tawang Mangu	Karanganyar-Jawa Tengah
38	K. Terigas	Sambas-Kalimantan Barat
39	K. Oseola	Introduksi
40	K. Daisy	Introduksi
41	K. Freemont	Introduksi
42	K. Ponkan	Introduksi
43	K. Clementin	Introduksi
44	K. Tankan Bimanu	Tlekung-Batu-Jawa Timur
45	K. Robinson	Introduksi

### 3.2.2.2 Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini yaitu buffer CTAB (Tris HCl (*Bioworid*), Tris EDTA (*Biotech*), NaCl (*Himedia*), PVP (*Invine Scientific*)),  $\beta$ -Mercaptoetanol, Na Asetat (*Gene Chemical*), Klorofom-Isoamilalkohol (CIA) (*Emsure*), Isopropanol (*Lincs*), Ethanol 70 % (*Emsure*), TE

Buffer (*Applichem*), RNase (*Thermo Scientific*), Ethanol absolut (*Emsure*), TBE 0,5x (*Vivantis*), Gel Agarose (*Nzytech*), ddH<sub>2</sub>O (*Nuclease Free Water*), PCR Mix (MgCl (*Promega*), dNTPs, Buffer, Tag Polimerase), Primer, Aquades, marker (*Accu Ruler Maestro*), *loading dye* (*Thermo Scientific*), dan Etidium Bromide (EtBr) (*Ultra Pure*), tisu, glove, masker, tube 2 mL dan 1,5 mL (*Eppendorf*), microtip (10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L)(*Biologix*), tabung PCR, dan *aluminium foil* (*Klinpak*).

Tabel 3.2 Sekuen Primer ISSR yang digunakan

No	Primer	Sekuen		Annealing
1	ISSR 52	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	(GA)8YG	48.8 °C
2	ISSR 53	GAGAGAGAGAGAGAGAA	(GA)8A	45.7 °C
3	ISSR 56	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	(GA)8YT	47.4 °C
4	ISSR 58	CTCTCTCTCTCTCTA	(CT)8A	44.7 °C
5	ISSR 59	CACACACACACACART	(CA)8RT	51.8 °C

Dasar penentuan primer yang digunakan pada penelitian ini yaitu sebelumnya sudah dilakukan optimasi terhadap beberapa jenis primer ISSR yang lain, akan tetapi tidak menghasilkan hasil amplifikasi yang optimal.

### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1 Karakterisasi Morfologi

Identifikasi jeruk keprok secara morfologi dilakukan berdasarkan *descriptors for citrus* (IPGRI 1999). Bagian jeruk keprok yang diamati secara morfologi adalah daun (*Leaf*). Karakter yang diamati diantaranya : Siklus hidup vegetatif (*Vegetative life cycle*), pembagian daun (*Leaf division*), intensitas warna

hijau (*Intensity of green colour of leaf blade*), bentuk daun (*Leaf Lamina attachment*), panjang lamina daun (*Leaf lamina length*), lebar lamina daun (*Leaf lamina width*), bentuk lamina daun (*Leaf lamina shape*), bentuk tepi daun (*Leaf lamina margin*), bentuk ujung daun (*Leaf apex*), ada/tidaknya petiole (*Absence/presence of petiole wings*), lebar petiole (*Petiole wing width*), bentuk petiole (*Petiole wing shape*).

### **3.4.2 Karakterisasi Molekuler**

#### **3.4.2.1 Isolasi DNA Genom**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari daun muda yang masih segar. Setelah dilakukan isolasi, sampel dibersihkan dengan tisu yang sudah dibasahi dengan alkohol 70%.

Isolasi DNA genom pada jeruk terdiri atas tiga tahapan, diantaranya ekstraksi, presipitasi dan purifikasi. Langkah kerja yang dilakukan pada penelitian ini yaitu : sampel daun ditimbang sebanyak 50 mg tanpa tulang daunnya. Sampel digerus sampai halus bersama buffer CTAB 1500  $\mu\text{L}$  dengan menggunakan mortar dan pestil. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro 2 mL dan ditetesi  $\beta$ -Mercaptoetanol sebanyak 20  $\mu\text{L}$  lalu diinkubasi pada suhu  $65^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dengan water bath, bolak-balik tabung mikro setiap 10 menit. Proses selanjutnya yaitu disentrifugasi pada suhu  $22^{\circ}\text{C}$  dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Lapisan supernatan yang telah terpisah diambil sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  dan di pindahkan ke tabung mikro ukuran 1.5 mL yang baru dan di tambah Na Asetat sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dan Kloroform-Isoamilalkohol (CIA) (24:1).

Kemudian disentrifugasi lagi pada suhu 12<sup>0</sup>C, kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Pada tabung tersebut nampak tiga lapisan dan di ambil bagian supernatan untuk di pindah ke tabung mikro baru lalu di tambah isopropanol sebanyak 2/3 dari total volume supernatan. Suspensi di inkubasi dalam lemari es pada suhu -20<sup>0</sup>C selama 1 jam dan disentrifugasi pada suhu 12<sup>0</sup>C, kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit.

Setelah suspensi di sentifugasi, dibuang bagian supernatan dan pelet DNA di cuci dengan menambahkan etanol 70% sebanyak 500  $\mu$ L. Kemudian disentrifugasi lagi pada suhu 9<sup>0</sup>C, 10.000 rpm selama 2 menit dan dibuang supernatan. Disentrifugasi pada suhu 9<sup>0</sup>C, 10.000 rpm selama 30 detik dan dibuang sisa-sisa supernatan dengan cara di pipet. Pelet kemudian dikeringanginkan selama semalam pada suhu ruangan. Pelet yang sudah kering ditambah dengan buffer TE sebanyak 500  $\mu$ L dan ditambah RNase sebanyak 1  $\mu$ L. RNase berfungsi untuk purifikasi DNA. Lalu diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 1 jam dengan water bath. Setelah itu ditambah Na Asetat sebanyak 100  $\mu$ L dan ditambah etanol 70 % sebanyak 1000  $\mu$ L. Suspensi di inkubasi dalam lemari es pada suhu -20<sup>0</sup>C selama 30 menit dan disentrifugasi pada suhu 22<sup>0</sup>C, kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Setelah suspensi di sentifuge, lalu dibuang supernatan dan pelet DNA dicuci dengan menambahkan etanol 70% sebanyak 500  $\mu$ L. Kemudian disentrifugasi lagi pada suhu 22<sup>0</sup>C, kecepatan 13.000 rpm selama 3 menit. Lalu pelet dikeringan dan ditambah dengan buffer TE.

### 3.4.2.2 Uji Kuantitatif DNA

Uji kemurnian DNA dilakukan dengan menggunakan NanoDrop®, sampel DNA yang telah terisolasi diambil sebanyak 1 µL dan dibaca pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Suatu sampel DNA dikatakan murni apabila nilai rasionya berkisar antara 1,8 – 2. Rumus kuantitas =  $\lambda$  260 x 50 x Faktor Pengenceran.

### 3.4.2.3 Uji Kualitatif DNA

Gel agarose 1 % dibuat dengan cara ditimbang gel agarose sebanyak 0,8 gram dan dilarutkan dalam TBE Buffer 80 ml. Kemudian dipanaskan di atas hotplate/kompur (sesekali dikocok) dan ditunggu sampai larutan berubah menjadi bening. Setelah itu dipindah ke erlenmeyer lain untuk ditambah Etidium Bromide (EtBr) sebanyak 2 µL, lalu gel dituang ke dalam cetakan yang sudah diberi sisir (comb). Sisir ini digunakan untuk membuat well (sumuran) pada gel agarose untuk tempat DNA. Gel yang telah memadat dimasukkan ke dalam camber elektroforesis dan ditambah TBE buffer secukupnya sampai gel agarose terendam. Selanjutnya diisi sumur pertama dengan loading dye 1 µL dan DNA ladder sebanyak 1 µL yang sebelumnya sudah dihomogenkan di atas aluminium foil. Sumur yang lain diisi dengan campuran loading dye 1 µL dan DNA sampel yang telah diisolasi sebanyak 5 µL. Gel agarosa di running pada 100 volt selama 50 menit, kemudian divisualisasikan pada UV *transiluminator*.

### 3.4.2.4 Amplifikasi DNA

Sampel DNA yang akan diamplifikasi diambil dari stok DNA yang konsentrasinya telah diencerkan dengan TE buffer menjadi 50 ng. Untuk setiap tabung PCR berisi 15  $\mu\text{L}$  yang terdiri dari:

Tabel 3.3 Komponen PCR

No.	Komponen PCR	Volume ( $\mu\text{L}$ )
1	Buffer	7,5 $\mu\text{L}$
2	MgCl	0,5 $\mu\text{L}$
3	Primer	2 $\mu\text{L}$
4	ddH <sub>2</sub> O	3 $\mu\text{L}$
5	DNA Sampel	2 $\mu\text{L}$
<b>Volume Akhir</b>		<b>15 <math>\mu\text{L}</math></b>

Program *running* PCR sebanyak 35 siklus dengan reaksi: predenaturasi 95°C selama 3 menit, denaturasi 95°C selama 1 menit, suhu annealing (primer 1 53°C, primer 2 54°C) selama 50 detik, elongasi 72°C selama 2 menit, dan terakhir post elongasi 72°C selama 4 menit. dan akhir dari seluruh siklus dikondisikan pada suhu tetap 4°C.

### 3.4.2.6 Elektroforesis Hasil PCR

DNA sampel yang telah di amplifikasi di ambil sebanyak 6,5  $\mu\text{L}$  dan dielektroforesis pada 1,8 % gel agarose dan di running pada 50 volt selama 80 menit. Marker yang digunakan adalah *gene ruler* 1 kb sebanyak 1  $\mu\text{L}$  setelah itu divisualisasikan pada UV *transiluminator*.

### 3.5 Analisis Data

#### 3.5.1 Data Morfologi

Data morfologi tanaman diuraikan secara deskriptif meliputi seluruh variabel pengamatan sesuai dengan buku panduan *Descriptors for Citrus* (IPGRI 1999). Data diubah menjadi data biner dengan pemberian skoring 0 dan 1. Nilai 1 jika karakter yang diamati nampak, sedangkan nilai 0 jika karakter yang diamati tidak nampak. Kemudian dianalisis fenogram dengan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA) yang dihitung melalui SAHN pada program *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.10 berdasarkan koefisien DICE. Untuk menguji keselarasan pengelompokan antara data matrik similaritas dengan fenogram yang terbentuk dapat diuji dengan uji *goodness of fit* ( $r$ ). Untuk mencari nilai  $r$  (Mxcomp) dapat dilakukan dengan cara memasukkan data similaritas morfologi dengan hasil coph morfologi yang terbentuk pada program NTSYS. Berikut ini merupakan kategori penilaian pada karakter morfologi (Tabel 3.4).

Tabel 3.4 Kategori Nilai berdasarkan Karakter Morfologi 45 aksesori *C. reticulata*

No.	Karakter	Tipe	Kode
1.	<i>Vegetative life cycle</i> (Siklus hidup vegetative)	1.1 Evergreen	1
		1.2 Deciduous	1
		1.3 Semi-persistent	1
		1.4 Other	0
2.	<i>Leaf division</i> (Tipe daun)	2.1 Simple	1
		2.2 Bifoliate	1
		2.3 Trifoliate	1
		2.3 Pentafoliate	1
		2.4 Other	0
3.	<i>Intensity of green colour of</i>	3.1 Light	1
		3.2 Medium	1

	<i>leaf blade</i> (Intensitas warna hijau)	<b>3.3</b> Dark <b>3.4</b> Other	1 0
4	<i>Leaf lamina attachment</i> (Bentuk helai daun)	<b>4.1</b> <i>Sessile</i> <b>4.2</b> <i>Brevipetiolate</i> <b>4.3</b> <i>Longipetiolate</i> <b>4.4</b> Other	1 1 1 0
5	<i>Leaf lamina shape</i> (Bentuk helai daun)	<b>5.1</b> <i>Elliptic</i> <b>5.2</b> <i>Ovate</i> <b>5.3</b> <i>Obovate</i> <b>5.4</b> <i>Lanceolate</i> <b>5.5</b> <i>Orbicular</i> <b>5.6</b> <i>Obcordate</i> <b>5.7</b> Other	1 1 1 1 1 1 0
6.	<i>Leaf lamina margin</i> (Bentuk tepi helai daun)	<b>6.1</b> <i>Crenate</i> <b>6.2</b> <i>Dentate</i> <b>6.3</b> <i>Entire</i> <b>6.4</b> <i>Sinuate</i> <b>6.5</b> Other	1 1 1 1 0
7.	<i>Leaf apex</i> (Ujung daun)	<b>7.1</b> <i>Attenuate</i> <b>7.2</b> <i>Acuminate</i> <b>7.3</b> <i>Acute</i> <b>7.4</b> <i>Obtuse</i> <b>7.5</b> <i>Rounded</i> <b>7.6</b> <i>Emarginate</i> <b>7.7</b> Other	1 1 1 1 1 1 0
8.	<i>Absence/presence of petiole wings</i> (Ada/tidaknya sayap daun)	<b>8.1</b> Absence <b>8.2</b> Presence	0 1
9.	<i>Petiole wing shape</i> (Bentuk sayap daun)	<b>9.1</b> <i>Obcordate</i> <b>9.2</b> <i>Obdeltate</i> <b>9.3</b> <i>Obovate</i> <b>9.4</b> Linear (not illustrated)	1 1 1 0
10.	<i>Leaf lamina length</i> (Panjang helai daun)	<b>10.1</b> 65-88 cm ( <i>Short</i> ) <b>10.2</b> 89-114 cm ( <i>Medium</i> ) <b>10.3</b> 115-131 cm ( <i>Long</i> )	1 1 1
11.	<i>Leaf lamina width</i> (Lebar helai daun)	<b>11.1</b> 26-37 cm ( <i>Narrow</i> ) <b>11.2</b> 38-48 cm ( <i>Medium</i> ) <b>11.3</b> 49- 59 cm ( <i>Broad</i> )	1 1 1
12.	<i>Petiole wing length</i>	<b>12.1</b> 5-7 cm ( <i>Short</i> )	1

	(Panjang sayap daun)	<b>12.2</b> 7-9 cm ( <i>Medium</i> )	1
		<b>12.3</b> 9-11 cm ( <i>Long</i> )	1
		<b>12.4</b> Other	0
13.	<i>Petiole wing width</i> (Lebar sayap daun)	<b>13.1</b> 1-2 cm ( <i>Narrow</i> )	1
		<b>13.2</b> 3-4 cm ( <i>Medium</i> )	1
		<b>13.3</b> 5-7 cm ( <i>Broad</i> )	1
		<b>13.4</b> Other	0

### 3.5.2 Data Molekuler

Skoring pita DNA dilakukan terhadap *band* yang muncul dengan pemberian skoring 0 dan 1. 0 jika tidak ada *band* yang muncul, sedangkan 1 jika terdapat *band* yang muncul. Kemudian dianalisis fenogram dengan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA) yang dihitung melalui SAHN pada program *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.10 berdasarkan koefisien DICE. Untuk menguji keselarasan pengelompokan antara data matrik similaritas dengan fenogram yang terbentuk dapat diuji dengan uji *goodness of fit* ( $r$ ). Untuk mencari nilai  $r$  (Mxcomp) dapat dilakukan dengan cara memasukkan data similaritas molekuler dengan hasil coph molekuler yang terbentuk pada program NTSYS.

Analisis kekuatan primer digunakan nilai *Polymorphism information content* (PIC) pada setiap primer yang dihitung menggunakan rumus  $PIC_i = 2f(1-f)$ , PIC merupakan *Polymorphism information content*,  $f$  = frekuensi *band* yang muncul, sedangkan  $1-f$  = frekuensi *band* yang tidak muncul.

### 3.5.3 Analisis Korelasi Marka Morfologi dan Molekuler

Korelasi antara matrik karakter morfologi dan molekuler dapat dihitung berdasarkan similaritas karakter morfologi dan similaritas data molekuler dengan menguji nilai *goodness of fit* “r” berdasarkan korelasi menurut Rohlf (1993). Kedua matrik tersebut diuji korelasi MX COMP pada program *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.10. Hasil yang didapatkan dari perhitungan nilai korelasi kemiripan antara matrik karakter morfologi dengan matrik karakter molekuler, kemudian diuji dengan Z Mantel.

### 3.6 Analisis Intergrasi Sains dan Islam

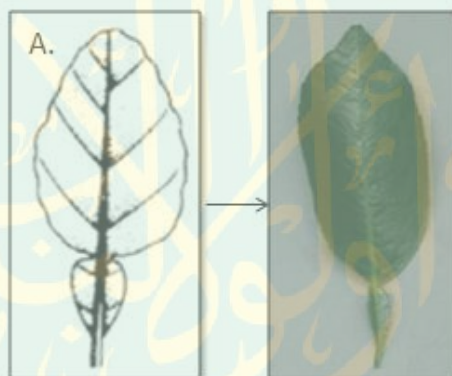
Ilmu pengetahuan terutama di bidang Sains dan teknologi terus berkembang, tetapi seharusnya perkembangannya didasarkan pada Al-Quran dan hadits. Dialog antara konsep islam dan sains merupakan hal yang sangat penting. Sehingga diharapkan hasil penelitian yang didapatkan mampu untuk menumbuhkan kesadaran spiritual dan memperkuat iman kepada Allah SWT.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

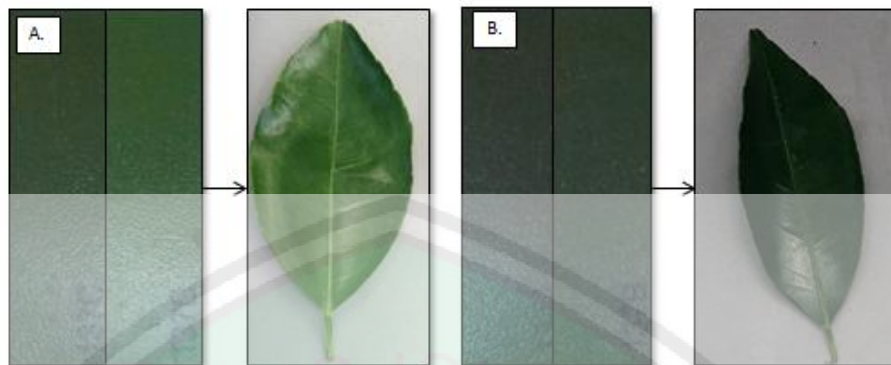
#### 4.1 Karakter Morfologi dan Hubungan Kekerabatan Jeruk Keprok (*C. reticulata* L.)

Hasil karakterisasi morfologi menunjukkan bahwa terdapat keragaman pada 45 aksesori *C. reticulata* L. koleksi milik Balitjestro yang telah diamati. Berdasarkan hasil karakterisasi tersebut menunjukkan bahwa pada semua aksesori yang telah diamati memiliki tipe siklus hidup vegetatif yaitu *evergreen*. *Evergreen* merupakan pohon yang tidak mengalami gugur daun dan hijau sepanjang tahun (Lathifah, 2015).



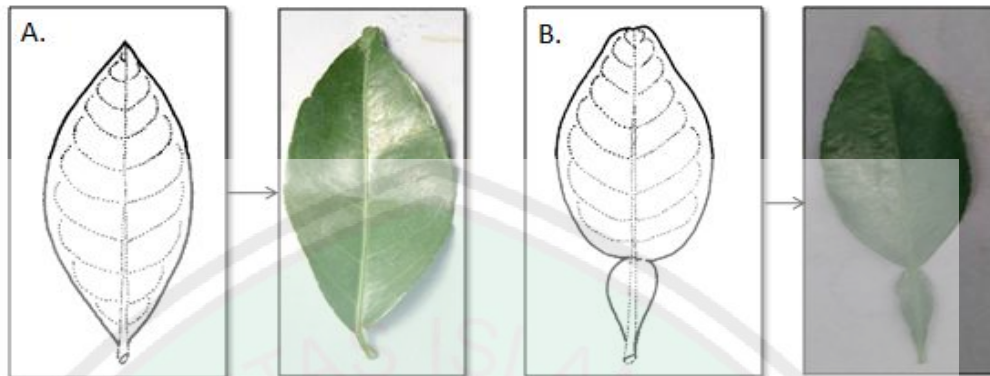
Gambar 4.1 Tipe daun *simple* berdasarkan panduan IPGRI 1999.

Hasil karakterisasi morfologi pada 45 aksesori *C. reticulata* menunjukkan tipe daun berbentuk *simple* pada keseluruhan aksesori yang telah diamati. Selain berbentuk *simple* jenis *Citrus sp.* lain yang berasal dari turunan *Poncirus trifoliata* juga memiliki tipe bentuk daun *trifoliolate*, contohnya yaitu Citrumello, Carrizo citrange, dan Troyer citrange (Yulianti, 2016).



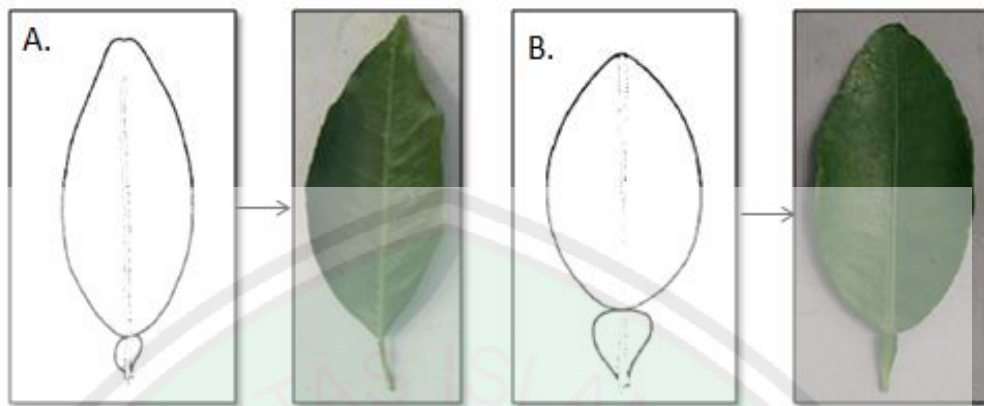
Gambar 4.2 Intensitas warna hijau (*intensity of green colour of leaf blade*) berdasarkan panduan IPGRI 1999 dan *Colour Chart A*. Hijau Medium B. Hijau Gelap

Berdasarkan hasil karakterisasi terhadap karakter intensitas warna daun pada 45 aksesori *C. reticulata* L. dalam penelitian ini ditemukan dua tipe, yaitu hijau medium (*green*) dan hijau gelap (*dark*). Analisis karakter warna daun dilakukan menggunakan pedoman *Colour Chart*. Dari 45 aksesori tersebut terdapat 4 aksesori yang memiliki intensitas warna daun tipe hijau medium (*green*) diantaranya K. Garut, K. Grabag, K. Pulung, dan K. Robinson. Sedangkan 41 aksesori yang lain memiliki intensitas warna daun hijau gelap (*dark*) diantaranya, K. Tejakula, K. SOE, K. Tankan Bimanu, K. Seraya, K. Selayar, K. Borneo Prima, K. Freemont, K. Mandarin Cimahi, K. Maseh, K. Pulo Tengah, K. Cina Mandarin, K. Terigas, K. Blinyu, K. Riau, K. Konde Purworejo, K. Banten, K. Konde, K. Sungai Bamban. K. Berkerah, K. Akiyar, K. Kedu, K. Jepun Madura, K. Kelila, K. Batu, K. Oseola, K. Maga, K. Madu, K. Ponkan, K. Kacang Singkarak, K. Kinabalu, K. Brasitepu, K. Gayo. K. Clementin, K. Jepun, K. Kisar, K. Manis Singkarak, K. Siompu, K. Tawangmangu, K. Licin, K. Daisy dan K. Cilaku.



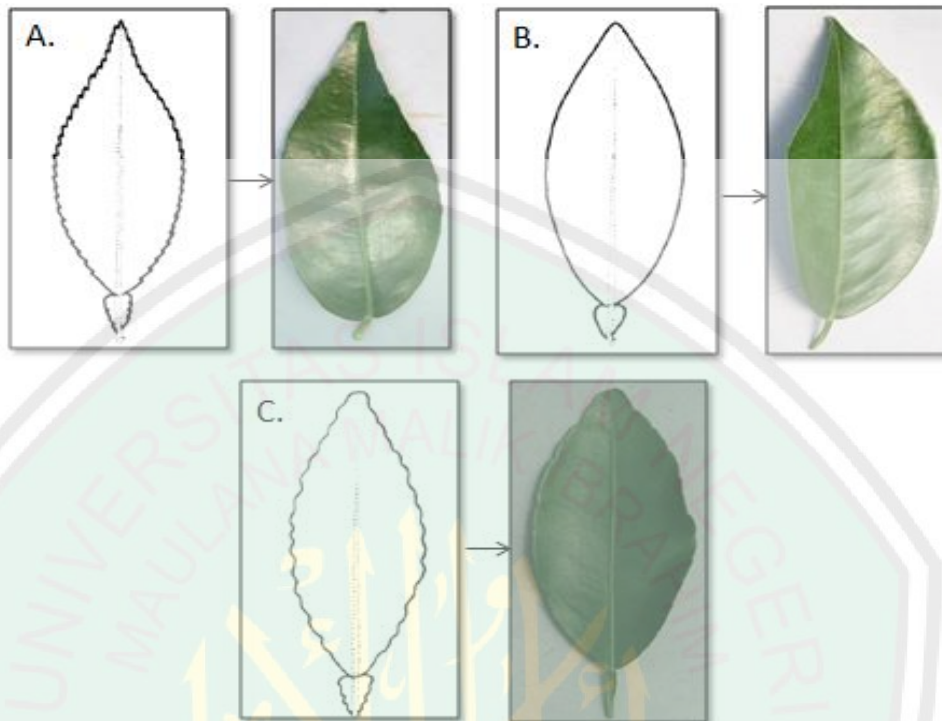
Gambar 4.3 Tipe perlekatan helai daun (*leaf lamina attachment*) berdasarkan panduan IPGRI 1999. A. *Sessile* B. *Brevipetiolate*

Karakter perlekatan helai daun dalam penelitian ini ditemukan dua tipe, yaitu *sessile* dan *brevipetiolate*. Dari 45 aksesi tersebut terdapat 19 aksesi yang memiliki tipe perlekatan helai daun *sessile* diantaranya K. Tejakula, K. SOE, K. Tankan Bimanu, K. Seraya, K. Selayar, K. Borneo Prima, K. Freemont, K. Mandarin Cimahi, K. Maseh, K. Pulo Tengah, K. Cina Mandarin, K. Terigas, K. Blinyu, K. Robinson, K. Riau, K. Konde Purworejo, K. Banten, K. Konde, dan K. Sungai Bamban. Sedangkan 26 aksesi yang lain memiliki tipe perlekatan helai daun *brevipetiolate* diantaranya yaitu K. Garut, K. Berkerah, K. Akiyar, K. Pulung, K. Kedu, K. Jepun Madura, K. Kelila, K. Batu, K. Oseola, K. Maga, K. Madu, K. Ponkan, K. Kacang Singkarak, K. Kinabalu, K. Brasitepu, K. Gayo. K. Clementin, K. Jepun, K. Kisar, K. Manis Singkarak, K. Grabag, K. Siompu, K. Tawangmangu, K. Licin, K. Daisy dan K. Cilaku.



Gambar 4.4 Tipe bentuk helai daun (*leaf lamina shape*) berdasarkan panduan IPGRI 1999. A. Jorong (*Elliptic*) B. Bulat Telur (*Ovate*)

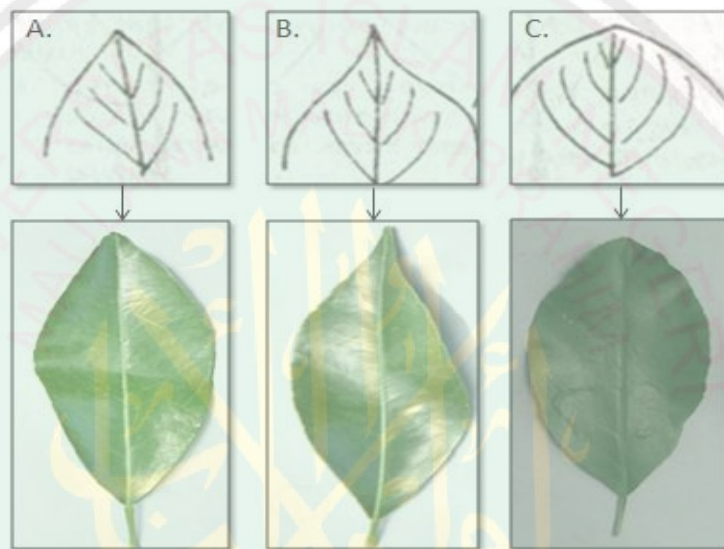
Karakter bentuk helai daun yang ditemukan pada penelitian ini ditemukan dua tipe, yaitu jorong (*elliptic*) dan bulat telur (*ovate*). Dari 45 aksesori tersebut terdapat 25 aksesori yang memiliki bentuk helai daun tipe jorong (*elliptic*) diantaranya K. Garut, K. Clementin, K. Cina Mandarin, K. Pulung, K. Selayar, K. Jepun Madura, K. Blinyu, K. Sungai Bamban, K. Berkerah, K. Mandarin Cimahi, K. Cilaku, K. Kedu, K. Kacang Singkarak, K. Maseh, K. Kisar, K. Banten, K. Akiyar, K. Manis Singkarak, K. Robinson, K. Brasitepu, K. Gayo, K. Terigas, K. Borneo Prima, K. Konde, dan K. Kinabalu. Sedangkan 20 aksesori yang lain memiliki bentuk helai daun tipe bulat telur (*ovate*) yaitu K. Tejakula, K. Grabag, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Siompu, K. Tawangmangu, K. Tankan Bimanu, K. Jepun, K. Freemont, K. Riau, K. Maga, K. SOE, K. Oseola, K. Ponkan, K. Kelila, K. Licin, K. Daisy, K. Pulo Tengah, K. Batu 55, dan K. Madu.



Gambar 4.5 Tipe bentuk tepi helai daun (*leaf lamina margin*) berdasarkan panduan IPGRI 1999. A. Bergigi (*Dentate*) B. Rata (*Entire*) C. Berliuk (*Sinuate*)

Karakter bentuk tepi helai daun dalam penelitian ini ditemukan tiga tipe, yaitu bergigi (*dentate*), rata (*entire*), dan berliuk (*sinuate*). Bergigi (*dentate*) yaitu jika sinus tumpul sedangkan angulusnya lancip. Rata (*entire*), jika tidak dijumpai sinus dan angulus, sedangkan berliuk (*sinuate*), jika sinus dan angulusnya tumpul (Tjitrosoepomo, 2005). Dari 45 aksesori tersebut terdapat 26 aksesori yang memiliki bentuk tepi daun bergigi (*dentate*) diantaranya K. Tejakula, K. Cina Mandarin, K. Pulung, K. Selayar, K. Blinyu, K. Berkerah, K. Mandarin Cimahi, K. Siompu, K. Tawangmangu, K. Tankan Bimanu, K. Kedu, K. Maseh, K. Akiyar, K. Riau, K. Maga, K. SOE, K. Ponkan, K. Robinson, K. Licin, K. Daisy, K. Pulo Tengah, K. Brasitepu, K. Gayo, K. Terigas, K. Borneo Prima, dan K. Madu. 5 Aksesori lain

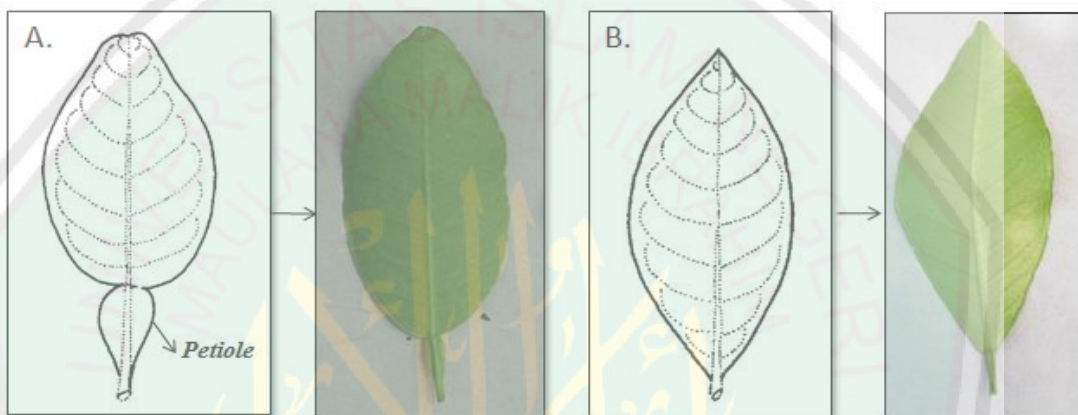
memiliki bentuk tepi helai daun tipe rata (*entire*) yaitu K. Garut, K. Cilaku, K. Kacang Singkarak, K. Freemont, dan K. Kinabalu. Sedangkan 14 aksesori yang lain memiliki bentuk tepi daun tipe berliuk (*sinuate*) yaitu K. Clementin, K. Grabag, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Jepun Madura, K. Sungai Bamban, K. Jepun, K. Kisar, K. Banten, K. Manis Singkarak, K. Oseola, K. Kelila, K. Batu 55, dan K. Konde.



Gambar 4.6 Tipe bentuk ujung daun (*leaf apex*) berdasarkan panduan IPGRI 1999. A. Runcing (*Acute*) B. Meruncing (*Acuminate*) C. Tumpul (*Obtuse*).

Karakter bentuk ujung daun dalam penelitian ini ditemukan tiga tipe, yaitu runcing (*acute*), meruncing (*acuminate*), dan tumpul (*obtuse*). Dari 45 aksesori tersebut terdapat 30 aksesori yang memiliki bentuk ujung daun tipe runcing (*acute*) diantaranya K. Tejakula, K. Clementin, K. Grabag, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Pulung, K. Selayar, K. Jepun Madura, K. Blinyu, K. Sungai Bamban, K. Siompu, K. Cilaku, K. Tankan Bimanu, K. Kedu, K. Kacang Singkarak, K. Jepun, K. Kisar, K. Banten, K. Manis, K. Konde Singkarak, K. Freemont, K. Maga, K. SOE, K. Oseola, K. Ponkan, K. Kelila, K. Borneo Prima,

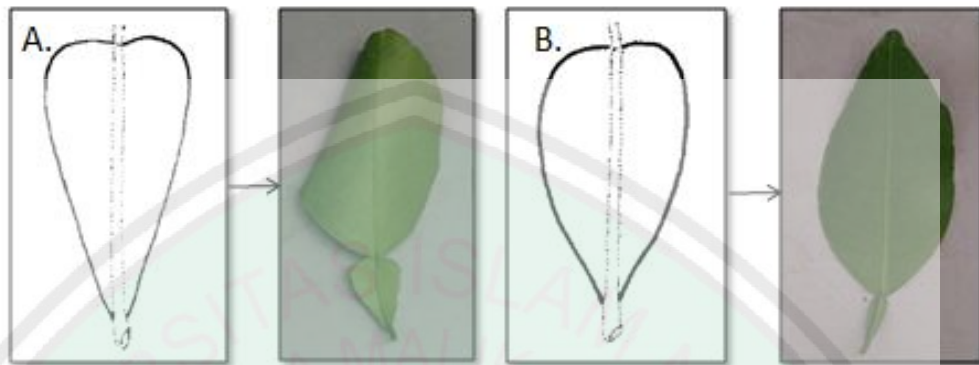
K. Batu 55, K. Kinabalu, dan K. Madu. 14 aksesi lain mempunyai bentuk ujung daun tipe meruncing (*acuminate*) yaitu K. Garut, K. Cina Mandarin, K. Berkerah, K. Mandarin Cimahi, K. Tawang mangu, K. Maseh, K. Akiyar, K. Robinson, K. Pulo Tengah, K. Daisy, K. Licin, K. Brasitepu, K. Gayo, dan K. Terigas. Sedangkan 1 aksesi yang lain mempunyai bentuk ujung daun tipe tumpul (*obtuse*) yaitu K. Riau.



Gambar 4.7 Tipe bentuk ada/tidaknya sayap daun berdasarkan panduan IPGRI 1999. A. Ada Sayap daun B. Tidak ada sayap daun

Hasil analisis karakter ada/tidaknya sayap daun pada 45 aksesi *C. reticulata* L. dalam penelitian ini ditemukan 26 aksesi yang mempunyai sayap daun sedangkan 19 aksesi lainnya tidak mempunyai sayap daun. Diantara 26 aksesi yang mempunyai sayap daun yaitu K. Garut, K. Berkerah, K. Akiyar, K. Pulung, K. Kedu, K. Jepun Madura, K. Kelila, K. Batu, K. Oseola, K. Maga, K. Madu, K. Ponkan, K. Kacang Singkarak, K. Kinabalu, K. Brasitepu, K. Gayo, K. Clementin, K. Jepun, K. Kisar, K. Manis Singkarak, K. Grabag, K. Siompu, K. Tawangmangu, K. Licin, K. Daisy dan K. Cilaku. Sedangkan 19 aksesi yang tidak mempunyai sayap daun yaitu K. Tejakula, K. SOE, K. Tankan Bimanu, K. Seraya, K. Selayar, K. Borneo Prima, K. Freemont, K. Mandarin Cimahi, K.

Maseh, K. Pulo Tengah, K. Cina Mandarin, K. Terigas, K. Blinyu, K. Robinson, K. Riau, K. Konde Purworejo, K. Banten, K. Konde, dan K. Sungai Baman.



Gambar 4.8 Tipe bentuk sayap daun (*petiole wing shape*) berdasarkan panduan IPGRI 1999. A. Segitiga Terbalik (*Obdeltate*) B. Bulat Telur Sungsang (*Obovate*).

Hasil analisis karakter bentuk sayap daun dalam penelitian ini ditemukan dua tipe yaitu segitiga terbalik (*obdeltate*) dan bulat telur sungsang (*obovate*). Dari 45 aksesi diantaranya 26 aksesi yang mempunyai sayap daun sedangkan 19 aksesi lainnya tidak mempunyai sayap daun. Dari 26 aksesi tersebut terdapat 10 aksesi yang memiliki sayap daun berbentuk segitiga terbalik (*obdeltate*) diantaranya K. Garut, K. Clementin, K. Pulung, K. Jepun Madura, K. Berkerah, K. Kedu, K. Jepun, K. Akiyar, K. Kelila, dan K. Batu 55. Sedangkan 16 aksesi lain memiliki sayap daun berbentuk bulat telur sungsang (*obovate*) yaitu K. Grabag, K. Siompu, K. Cilaku, K. Tawang mangu, K. Kacang Singkarak, K. Kisar, K. Madu, K. Manis Singkarak, K. Maga, K. Oseola, K. Ponkan, K. Licin, K. Daisy, K. Brasitepu, K. Gayo, dan K. Kinabalu, dan 19 aksesi lain yang tidak mempunyai sayap daun yaitu, K. Tejakula, K. Cina Mandarin, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Selayar, K. Blinyu, K. Sungai Baman, K. Mandarin

Cimahi, K. Tankan Bimanu, K. Maseh, K. Banten, K. Freemont, K. Riau, K. SOE, K. Robinson, K. Pulo Tengah, K. Terigas, K. Borneo Prima, dan K. Konde.

Hasil pengukuran panjang helai daun pada penelitian ini ditemukan tiga tipe, yaitu pendek (*short*), *medium*, dan panjang (*long*). Berikut ini merupakan hasil pengukuran panjang helai daun (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil pengukuran panjang helai daun

65- 88 cm ( <i>Short</i> )	89-114 cm ( <i>Medium</i> )	115-131 cm ( <i>Long</i> )
K. Tejakula, K. Kedu, K. Cina Mandarin, K. Terigas, K. Konde Purworejo, K. Pulung, K. Blinyu, K. Kacang Singkarak, K. Banten, K. Akiyar, K. Riau, K. Oseola, K. Ponkan, K. Robinson, K. Kelila, K. Brasitepu, K. Gayo, K. Batu 55, K. Konde, K. Kinabalu, dan K. Madu	K. SOE, K. Jepun Madura, K. Tawang mangu, K. Tankan Bimanu, K. Jepun, K. Kisar, K. Maga, K. Garut, K. Grabag, K. Seraya, K. Selayar, K. Clementin, K. Sungai Bamban, K. Licin, K. Berkerah, K. Siompu, K. Borneo Prima, dan K. Cilaku	K. Mandarin Cimahi, K. Maseh, K. Manis singkarak, K. Freemont, K. Daisy, dan K. Pulo Tengah

Hasil pengukuran lebar helai daun pada penelitian ini ditemukan tiga tipe, yaitu pendek sempit (*narrow*), *medium*, dan lebar (*broad*). Berikut ini merupakan hasil pengukuran lebar helai daun (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil pengukuran lebar helai daun

26-37 cm ( <i>Narrow</i> )	38-48 cm ( <i>Medium</i> )	49-59 cm ( <i>Broad</i> )
K. Cina Mandarin, K. Pulung, K. Blinyu, K. Konde Purworejo, K. Kedu, K. Kacang Singkarak, K. Banten, K. Akiyar, K. Riau, K. Oseola, K. Robinson, K. Maga, K. Kelila, K.	K. Tejakula, K. Garut, K. Clementin, K. Grabag, K. Selayar, K. Sungai Bamban, K. Berkerah, K. Cilaku, K. Tawang mangu, K. Jepun, K. Manis Singkarak, K. SOE, K. Licin, K. Borneo Prima, K. Pulo Tengah, dan	K. Seraya, K. Mandarin Cimahi, K. Siompu, K. Maseh, K. Kisar, K. Freemont, dan K. Daisy

Ponkan, K. Brasitepu, K. Gayo, K. Terigas, K. Batu 55, K. Konde, K. Kinabalu, K. Jepun Madura dan K. Madu	K. Tankan Bimanu	
---	------------------	--

Hasil pengukuran panjang sayap daun pada penelitian ini ditemukan empat tipe, yaitu pendek (*short*), *medium*, panjang (*long*), dan tidak ada sayap daun. Berikut ini merupakan hasil pengukuran panjang sayap daun (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Hasil pengukuran panjang sayap daun

5-7 cm ( <i>Short</i> )	7-9 cm ( <i>Medium</i> )	9-11 cm ( <i>Long</i> )	Tidak ada sayap daun
K. Jepun Madura dan K. Oseola	K. Grabag, K. Cilaku, K. Pulung, K. Maga, K. Kacang Singkarak, K. Tawang mangu, K. Kedu, K. Kelila, K. Daisy, K. Gayo, K. Kinabalu, dan K. Madu	K. Garut, K. Akiyar, K. Kisar, K. Manis Singkarak, K. Ponkan, K. Licin, K. Brasitepu, K. Batu 55, K. Clementin, K. Berkerah, K. Jepun, dan K. Siompu	K. Tejakula, K. Cina Mandarin, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Selayar, K. Mandarin Cimahi, K. Tankan Bimanu, K. Maseh, K. Banten, K. Robinson, K. Pulo Tengah, K. Terigas, K. Borneo Prima, K. Konde, K. Freemont, K. Riau, K. Sungai Baman, K. Blinyu, dan K. SOE

Hasil pengukuran lebar sayap daun pada penelitian ini ditemukan empat tipe, yaitu pendek sempit (*narrow*), *medium*, lebar (*broad*) dan tidak mempunyai sayap daun. Berikut ini merupakan hasil pengukuran lebar sayap daun (Tabel 4.4).

Tabel 4.4 Hasil pengukuran lebar sayap daun

1-2 cm ( <i>Narrow</i> )	3-4 cm ( <i>Medium</i> )	5-7 cm ( <i>Broad</i> )	Tidak mempunyai sayap daun
K. Garut, K. Grabag, K. Jepun Madura, K. Cilaku, K. Tawang mangu, K. Maga, K. Oseola, K. Ponkan, K. Licin,	K. Clementin, K. Pulung, K. Berkerah, K. Siompu, K. Kedu, K. Kacang Singkarak, K.	K. Jepun dan K. Akiyar	K. Tejakula, K. Cina Mandarin, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Selayar, K. Mandarin Cimahi, K. Tankan Bimanu, K. Maseh, K. Banten, K. Robinson, K. Pulo Tengah,

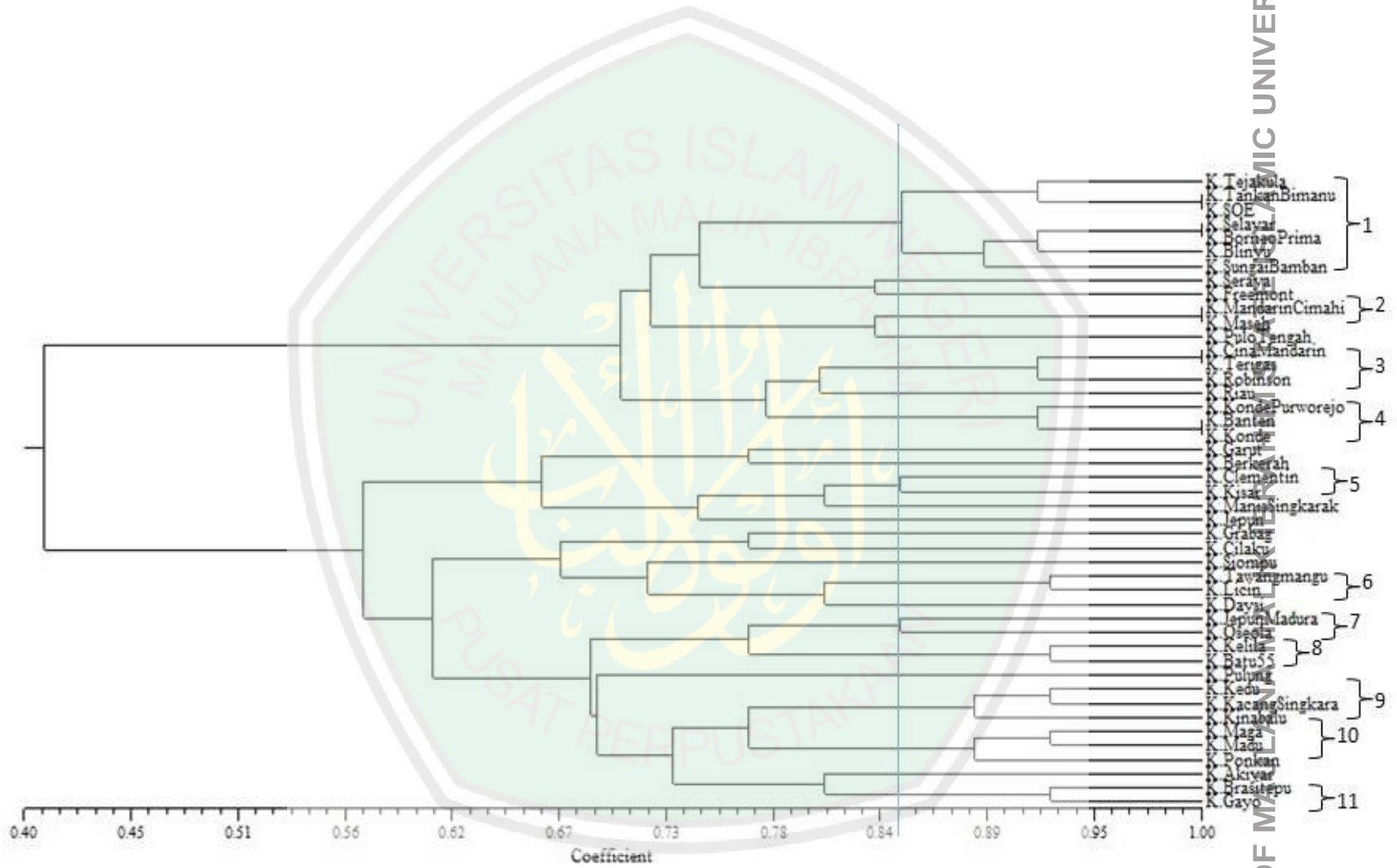
K. Daisy, K. Brasitepu, K. Gayo, K. Kinabalu, dan K. Madu	Kisar, K. Manis Singkarak, K. Kelila, dan K. Batu 55		K. Terigas, K. Borneo Prima, K. Konde, K. Freemont, K. Riau, K. Sungai Bamban, K. Blinyu, dan K. SOE
---	--	--	--

Data hasil pengamatan morfologi selanjutnya dilakukan skoring terhadap beberapa karakter morfologi yang nampak. Hasil nilai similaritas karakter morfologi disajikan pada Tabel 4.6. Sedangkan hasil analisis fenogram disajikan pada Gambar 4.9.





	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1																							
2																							
3																							
4																							
5																							
6																							
7																							
8																							
9																							
10																							
11																							
12																							
13																							
14																							
15																							
16																							
17																							
18																							
19																							
20																							
21																							
22																							
23	1.00																						
24	0.48	1.00																					
25	0.62	0.48	1.00																				
26	0.77	0.56	0.54	1.00																			
27	0.40	0.67	0.24	0.48	1.00																		
28	0.24	0.75	0.48	0.32	0.67	1.00																	
29	0.54	0.40	0.54	0.46	0.40	0.48	1.00																
30	0.40	0.67	0.32	0.48	0.75	0.75	0.56	1.00															
31	0.54	0.56	0.54	0.54	0.40	0.48	0.77	0.40	1.00														
32	0.54	0.48	0.69	0.54	0.40	0.56	0.85	0.48	0.85	1.00													
33	0.24	0.75	0.56	0.32	0.50	0.75	0.32	0.58	0.32	0.40	1.00												
34	0.69	0.56	0.62	0.62	0.40	0.48	0.69	0.40	0.77	0.69	0.32	1.00											
35	0.54	0.24	0.62	0.54	0.32	0.40	0.77	0.56	0.62	0.77	0.32	0.46	1.00										
36	0.46	0.24	0.54	0.46	0.48	0.40	0.77	0.40	0.62	0.69	0.32	0.54	0.77	1.00									
37	0.24	0.58	0.40	0.48	0.75	0.75	0.40	0.83	0.32	0.40	0.67	0.32	0.56	0.56	1.00								
38	0.54	0.48	0.85	0.54	0.24	0.48	0.69	0.32	0.69	0.85	0.56	0.54	0.77	0.69	0.40	1.00							
39	0.46	0.48	0.77	0.46	0.24	0.48	0.77	0.32	0.69	0.77	0.56	0.62	0.69	0.77	0.40	0.92	1.00						
40	0.32	0.83	0.64	0.40	0.58	0.83	0.40	0.67	0.40	0.48	0.92	0.40	0.40	0.40	0.75	0.64	0.64	1.00					
41	0.48	0.75	0.40	0.56	0.67	0.67	0.48	0.92	0.32	0.40	0.67	0.32	0.48	0.32	0.75	0.40	0.40	0.75	1.00				
42	0.77	0.56	0.69	0.69	0.40	0.48	0.62	0.40	0.77	0.77	0.32	0.92	0.54	0.46	0.32	0.62	0.54	0.40	0.32	1.00			
43	0.48	1.00	0.48	0.56	0.67	0.75	0.40	0.67	0.56	0.48	0.75	0.56	0.24	0.24	0.58	0.48	0.48	0.83	0.75	0.56	1.00		
44	0.54	0.56	0.62	0.54	0.40	0.40	0.77	0.32	0.77	0.77	0.40	0.69	0.54	0.62	0.24	0.77	0.85	0.48	0.40	0.62	0.56	1.00	
45	0.46	0.48	0.62	0.46	0.40	0.56	0.92	0.48	0.85	0.92	0.40	0.77	0.69	0.77	0.40	0.77	0.85	0.48	0.40	0.69	0.48	0.85	1.00



Gambar 4.9 Fenogram Karakterisasi morfologi 45 aksesori *C. reticulata*

Hasil analisis UPGMA terhadap 45 aksesori *C. reticulata* berdasarkan 13 karakter morfologi menghasilkan fenogram yang memisahkan 45 aksesori tersebut ke dalam sebelas kluster utama dengan koefisien kemiripan genetik 0.85 (KKG) atau 85%.

Kluster pertama terbentuk pada nilai kemiripan 85%. Pada kluster ini terbentuk menjadi dua sub kluster, yaitu kluster pertama bergabung pada nilai similaritas 92% yang terdiri atas K. Tejakula, K. Tankan Bimanu, dan K. SOE. Pengelompokan yang terjadi karena memiliki kesamaan diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *sessile*, bentuk helai bulat telur (*ovate*), tepi daun bergigi (*dentate*), ujung daun runcing (*acute*), tidak mempunyai sayap daun, dan memiliki lebar helai daun yang lebar (*medium*), sedangkan karakter yang membedakan yaitu pada panjang helai daun. Tipe panjang helai daun pada K. Tejakula berukuran pendek (*short*) sedangkan pada K. Tankan Bimanu dan K. SOE berukuran *medium*. Pada sub kluster ke dua bergabung pada nilai similaritas 89% yang terdiri atas aksesori K. Selayar, K. Borneo Prima, K. Bliny dan K, Sungai Bamban. Pengelompokan yang terjadi karena memiliki kesamaan diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *sessile*, bentuk helai jorong (*elliptic*), tepi daun bergigi (*dentate*), ujung daun runcing (*acute*), dan tidak mempunyai sayap daun. Sedangkan karakter yang membedakan antara empat aksesori tersebut yaitu pada karakter panjang helai daun dan lebar helai daun. Pada K. Selayar, K. Borneo Prima dan K. Sungai Bamban memiliki tipe panjang

daun dan lebar daun berukuran *medium*, sedangkan pada aksesori K. Bliny mempunyai panjang daun yang pendek (*short*) dengan ukuran yang sempit (*narrow*).

Klaster kedua terbentuk pada nilai similaritas 100% yang terdiri atas K. Mandarin Cimahi dan K. Maseh. Pengelompokan yang terjadi karena memiliki kesamaan diantaranya diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *sessile*, bentuk helai daun jorong (*elliptic*), tepi daun bergigi (*dentate*), ujung daun meruncing (*acuminate*), memiliki panjang helai daun berukuran panjang (*long*) dan memiliki lebar helai daun yang lebar (*broad*).

Klaster ketiga terbentuk pada nilai similaritas 92%. Pada klaster ini terbagi menjadi dua sub klaster yaitu sub klaster pertama yang tergabung pada nilai similaritas 100% yang terdiri atas aksesori K. Cina Mandarin dan K. Terigas. Pengelompokan yang terjadi karena memiliki kesamaan diantaranya diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *sessile*, bentuk helai daun jorong (*elliptic*), tepi daun bergigi (*dentate*), ujung daun meruncing (*acuminate*), panjang helai daun tipe pendek (*short*) dan lebar helai daun yang sempit (*narrow*). Sedangkan pada sub klaster kedua terdiri atas aksesori K. Robinson, karakter yang membedakan antara K. Robinson dengan K. Cina Mandarin dan K. Terigas yaitu pada karakter warna daun yang berwarna *medium*.

Klaster keempat terbentuk pada nilai similaritas 92%. Pada klaster ini terbagi menjadi dua sub klaster yaitu sub klaster pertama yang tergabung pada

similaritas 100% terdiri atas aksesori K. Banten dan K. Konde. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *sessile*, bentuk helai daun jorong (*elliptic*), tepi daun berliuk (*sinuate*), ujung daun runcing (*acute*), memiliki panjang helai daun yang pendek (*short*) dan lebar helai daun yang sempit (*narrow*). Sedangkan pada sub kluster kedua terdiri atas aksesori K. Konde Purworejo, karakter yang membedakan K. Konde Purworejo dengan K. Konde dan K. Banten yaitu pada karakter bentuk daun yang berbentuk bulat telur (*ovate*).

Kluster kelima bergabung pada nilai similaritas 85% yang terdiri atas aksesori K. Clementin dan K. Kisar. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *brevipetiolate*, bentuk helai daun jorong (*elliptic*), tepi daun berliuk (*sinuate*), ujung daun runcing (*acute*), memiliki panjang helai daun yang *medium*, panjang sayap daun yang panjang (*long*) dan lebar sayap daun yang *medium*. Sedangkan karakter yang membedakan yaitu terdapat pada karakter helai daun dan bentuk sayap daun. Pada aksesori K. Clementin mempunyai bentuk sayap daun tipe segitiga terbalik (*obdeltate*) dan lebar helai daun yang *medium*, sedangkan pada K. Kisar mempunyai sayap daun berbentuk bulat telur sungsang (*obovate*) dan lebar helai daun yang lebar (*broad*).

Kluster keenam bergabung pada nilai similaritas 92.5% yang terdiri atas K. Tawangmangu dan K. Licin. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki

karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *brevipetiolate*, bentuk helai daun bulat telur (*ovate*), tepi daun bergigi (*dentate*), ujung daun meruncing (*acuminate*), memiliki panjang helai daun dan lebar helai daun ukuran *medium*, dan memiliki lebar helai daun yang *medium*. Sedangkan karakter yang membedakan yaitu pada K. Tawangmangu panjang sayap daun berukuran *medium* sedangkan pada K. Licin berukuran panjang (*long*).

Klaster ketujuh bergabung pada nilai similaritas 85% yang terdiri atas aksesori K. Jepun Madura dan K. Oseola. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *brevipetiolate*, tepi daun berliuk (*sinuate*), ujung daun runcing (*acute*), panjang helai daun ukuran pendek (*short*), lebar helai daun yang sempit (*narrow*), panjang helai daun yang pendek (*short*), dan memiliki lebar helai daun ukuran *medium*. Sedangkan karakter yang membedakan yaitu pada K. Jepun Madura mempunyai tipe daun bentuk jorong (*elliptic*) dan bentuk sayap daun berbentuk segitiga terbalik (*obdeltate*) sedangkan pada K. Oseola mempunyai tipe daun berbentuk bulat telur (*ovate*) dan bentuk sayap daun berbentuk bulat telur sungsang (*Obovate*).

Klaster ke delapan bergabung pada nilai similaritas 92.5% yang terdiri atas aksesori K. Kelila dan K. Batu 55. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan

helai daun *brevipetiolate*, bentuk helai daun bulat telur (*ovate*), tepi daun berliuk (*sinuate*), ujung daun runcing (*acute*), bentuk sayap daun segitiga terbalik (*obdeltate*), panjang helai daun yang pendek (*short*), lebar helai daun yang sempit (*narrow*), dan memiliki lebar helai daun yang *medium*. Sedangkan karakter yang membedakan yaitu pada K. Kelila panjang sayap daun berukuran *medium* sedangkan pada K. Batu berukuran panjang (*long*).

Klaster kesembilan bergabung pada nilai similaritas 88%. pada klaster ini terbagi menjadi dua sub klaster yaitu sub klaster pertama yang bergabung pada nilai similaritas 92.5% yang terdiri atas aksesori K. Kedu dan K. Kacang Singkarak. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *brevipetiolate*, bentuk helai daun jorong (*elliptic*), ujung daun runcing (*acute*), panjang helai daun yang pendek (*short*), lebar helai daun yang sempit (*narrow*), panjang sayap daun yang *medium*. Sedangkan yang membedakan terdapat pada karakter bentuk sayap daun dan bentuk tepi helai daun, Pada K. Kedu bentuk sayap daun berbentuk segitiga terbalik (*obdeltate*) dan helai daun berbentuk bergigi (*dentate*) sedangkan pada K. Kacang Singkarak bentuk sayap daun berbentuk bulat telur sungsang (*obovate*) dan tepi helai daun berbentuk rata (*entire*). Pada sub klaster kedua terdiri atas aksesori K. Kinabalu, yang membedakan antara K. Kinabalu dengan K.Kedu dan K. Kacang Singkarak yaitu terdapat pada karakter tepi helai daun yang berbentuk rata (*entire*), bentuk sayap daun yang berbentuk bulat telur sungsang (*obovate*) dan lebar sayap yang sempit (*narrow*).

Klaster kesepuluh bergabung pada nilai similaritas 88%. pada klaster ini terbagi menjadi dua sub klaster yaitu sub klaster pertama yang bergabung pada nilai similaritas 92.5% yang terdiri atas aksesori K. Maga dan K. Madu. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *brevipetiolate*, bentuk helai daun bulat telur (*ovate*), ujung daun bergigi (*dentate*), ujung daun runcing (*acute*), panjang sayap daun yang *medium*, lebar helai daun dan lebar sayap daun yang sempit (*narrow*). Sedangkan yang membedakan terdapat pada karakter panjang helai daun, pada K. Maga berukuran *medium*, sedangkan pada K. Madu berukuran pendek (*short*). Pada sub klaster kedua terdiri atas aksesori K. Ponkan, yang membedakan K. Ponkan dengan K. Maga dan K. Madu yaitu pada ukuran panjang helai daun yang pendek (*short*), dan panjang sayap daun yang panjang (*long*).

Klaster kesebelas bergabung pada nilai similaritas 92.5% yang terdiri atas aksesori K. Brasitepu dan K. Gayo. Kedua aksesori tersebut bergabung karena memiliki karakter yang sama diantaranya pada siklus hidup vegetatif (*evergreen*), tipe daun berbentuk *simple*, intensitas warna daun hijau gelap (*dark*), perlekatan helai daun *brevipetiolate*, bentuk helai daun jorong (*elliptic*), tepi daun bergigi (*dentate*), ujung daun meruncing (*acuminate*), bentuk sayap daun bulat telur sungsang (*obovate*), panjang helai daun yang pendek (*short*), lebar helai daun yang sempit (*narrow*), dan memiliki lebar helai daun yang *medium*. Sedangkan karakter yang membedakan yaitu pada K. brasitepu panjang sayap daun berukuran panjang (*long*) sedangkan pada K. Gayo berukuran *medium*. Menurut Allard

(1960) bahwa penampilan karakter morfologi yang berbeda pada suatu tanaman sangat dipengaruhi oleh perubahan faktor lingkungan.

Fenogram hasil analisis karakterisasi morfologi di uji nilai *goodness of fit* tujuannya untuk mengetahui kesesuaian antara data matriks dengan fenogram yang terbentuk, dan didapatkan nilai korelasi sebesar 84% ( $r = 0,84$ ) dengan nilai  $P = < 0.0001$  yang menunjukkan kondisi fenogram secara keseluruhan adalah baik. Menurut Rohlf (1993) keselarasan pengelompokan ditentukan dari ketentuan *goodness of fit* berdasarkan nilai korelasi yang disajikan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Kriteria *good ness of fit* berdasarkan nilai korelasi

Level	Kriteria <i>goodness of fit</i>
$0,9 \leq r$	Sangat baik
$0,8 \leq r < 0,9$	Baik
$0,7 \leq r < 0,8$	Lemah
$r < 0,7$	Sangat lemah

Berdasarkan karakterisasi morfologi daun yang telah dilakukan pada 45 aksesori *C. reticulata* L. menunjukkan bahwa pada semua aksesori tersebut memiliki morfologi yang berbeda, termasuk intensitas warna daun, bentuk daun, ujung daun, tepi daun, ada/tidaknya sayap daun, bentuk sayap daun, panjang dan lebar helai daun, serta panjang dan lebar sayap daun. Sesungguhnya perbedaan yang terjadi pada 45 aksesori *C. reticulata* tersebut merupakan bukti kebesaran Allah SWT. Allah SWT berfirman dalam Quran surah At-Thaha (20) ayat 53 :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى

Artinya : “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu

*berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (At-Thaha:53).*

Maksud dan penjelasan ayat ini yaitu bahwasanya Allah SWT menumbuhkan dengan air hujan itu tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam. Salah satunya yaitu keragaman *C. reticulata* L., Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuhan di bumi ini dengan bentuk yang berbeda-beda. Begitu pula dengan keanekaragaman jenis *C. reticulata* L. yang ada di Indonesia. Sesungguhnya nikmat Allah SWT sangat besar untuk para hambanya. Allah SWT berfirman didalam al-Quran surah al-Anfal (8) ayat 2 :

إِنَّمَا الْمُؤْمِنُونَ الَّذِينَ إِذَا ذُكِرَ اللَّهُ وَجِلَتْ قُلُوبُهُمْ وَإِذَا تُلِيَتْ عَلَيْهِمْ آيَاتُهُ زَادَتْهُمْ إِيمَانًا وَعَلَىٰ رَبِّهِمْ يَتَوَكَّلُونَ

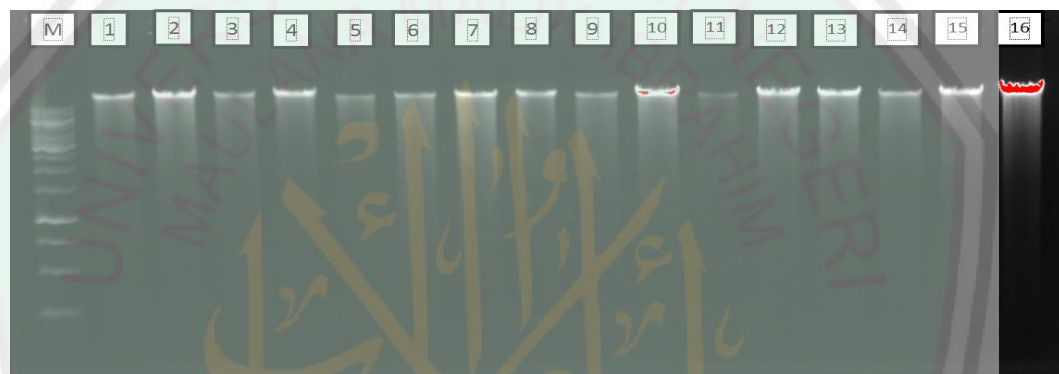
Artinya: “*Sesungguhnya orang-orang yang beriman ialah mereka yang bila disebut nama Allah gemetarlah hati mereka, dan apabila dibacakan ayat-ayat-Nya bertambahlah iman mereka (karenanya), dan hanya kepada Tuhanlah mereka bertawakkal”.*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa salah satu ciri orang yang beriman yaitu apabila disebut nama Allah SWT maka gemetarlah hatinya. Ayat- ayat tersebut yang dimaksudkan tidak hanya ayat-ayat qauliyah saja (ayat suci al-Quran) melainkan juga ayat qauniyah Allah SWT, contohnya yaitu fenomena sains yang terjadi di alam. Dalam hal ini yang dimaksudkan yaitu fenomena yang terjadi pada perbedaan morfologi daun yang terdapat pada 45 aksesi *C. reticulata*. Seharusnya manusia sebagai hamba Allah SWT dapat melihat fenomena-fenomena tersebut dengan tujuan agar bertambah keimanan kepada Allah SWT dan dapat menjaga kelestarian alam yang ada di bumi ini dan tidak merusaknya.

## 4.2 Karakter Molekuler dan Hubungan Kekerbatan Jeruk Keprok (*C. reticulata* L.)

### 4.2.1 Isolasi DNA

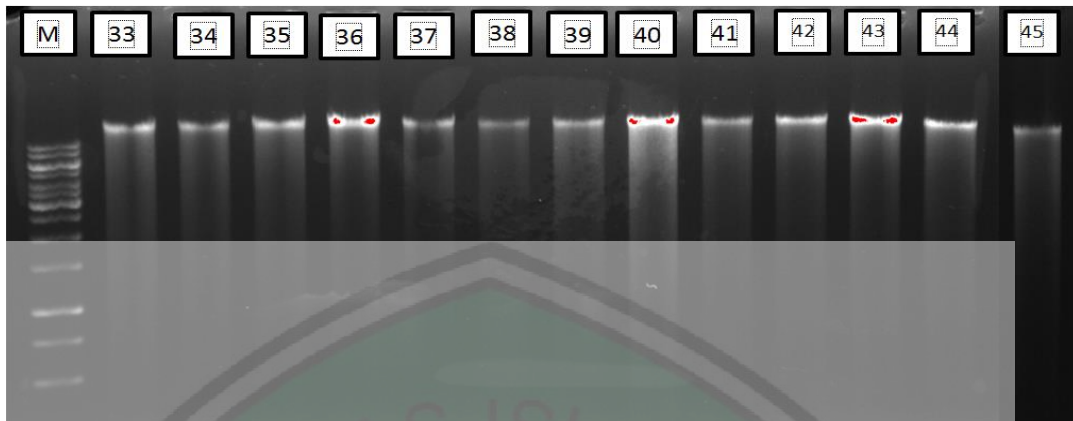
Isolasi DNA *C. reticulata* dilakukan dengan menggunakan metode *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB). DNA hasil isolasi, sebelum di amplifikasi dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif DNA. Uji kualitatif DNA digunakan elektroforesis. Hasil uji kualitatif disajikan pada Gambar 4.10, 4.11, dan 4.12.



Gambar 4.10 Hasil uji kualitatif DNA. Keterangan: M : Marker, 1 : K. Akiyar, 2 : K. Banten, 3 : K. Berkerah, 4 : K. Bliny, 5 : K. Batu 55, 6 : K. Borneo Prima, 7 : K. Brasitpu, 8 : K. Cilaku, 9 : K. Cina Mandarin, 10 : K. Garut, 11 : K. Gayo, 12 : K. Grabag, 13 : K. Jepun, 14 : K. Jepun Madura, 15 : K. Kacang Singkarak, 16 : K. Kedu.



Gambar 4.11 Hasil uji kualitatif DNA. Keterangan: M : Marker, 17 : K. Kelila, 18: K. Kinabalu, 19 : K. Kisar, 20 : K. Konde, 21 : K. Konde Purworejo, 22 : K. Licin, 23 : K. Madu, 24 : K. Mandarin Cimahi, 25 : K. Manis Singkarak, 26 : K. Maseh, 27 : K. Pulo Tengah, 28 : K. Pulung, 29 : K. Selayar, 30 : K. Seraya, 31 : K. SOE, 32 : K. Sungai Baman



Gambar 4.12 Hasil uji kualitatif DNA. Keterangan: M : Marker, 33 : K. Siompu, 34 : K. Maga, 35 : K. Riau, 36 : K. Tejakula, 37 : K. Tawang Mangu, 38 : K. Terigas, 39 : K. Oseola, 40 : K. Daisy, 41 : K. Freemont, 42 : K. Ponkan, 43 : K. Clementin, 44 : K. Tankan Bimanu 45 : K. Robinson.

Hasil uji kualitatif menunjukkan panjang pita DNA yang didapatkan yaitu 10.000 bp dengan memiliki ketebalan pita yang berbeda. Selain memiliki ketebalan pita DNA yang berbeda, juga nampak terjadinya smear pada pita DNA tersebut. Terjadinya smear kemungkinan terjadinya kontaminasi dari protein saat proses isolasi DNA. Menurut Herison (2003), nampaknya pita yang *smear* dikarenakan adanya molekul yang mempunyai bobot yang bervariasi, yang berasal dari DNA yang terdegradasi ataupun materi lain yang tidak diketahui. Uji kuantitatif DNA menggunakan spektrofotometer NanoDrop™ (disajikan pada Tabel 4.7).

Tabel 4.7 Hasil uji kuantitatif DNA

No.	Nama jeruk	260/280	Con ng/μl
1	K. Tejakula	1,90	126,44
2	K. Garut	1,48	97,11
3	K. Clementin	1,53	153,70
4	K. Akiyar	1,75	56,87
5	K. Banten	1,79	95,85
6	K. Berkerah	1,71	53,47
7	K. Blinyu	1,72	93,15
8	K. Batu 55	0,86	151,77
9	K. Borneo Prima	1,53	65,60
10	K. Brasitepu	1,58	81,28

11	K. Cilaku	1,68	74,44
12	K. Cina Mandarin	1,31	58,93
13	K. Gayo	1,26	32,23
14	K. Grabag	1,60	119,22
15	K. Jepun	1,72	109,15
16	K. Jepun Madura	1,58	90,23
17	K. Kacang Singkarak	1,57	87,09
18	K. Kedu	1,82	214,37
19	K. Kelila	1,48	35,78
20	K. Kinabalu	1,68	175,26
21	K. Kisar	1,81	10,07
22	K. Konde	1,09	45,40
23	K. Konde Purworejo	1,29	153,51
24	K. Licin	1,12	47,60
25	K. Madu	1,66	216,43
26	K. Maseh	1,42	92,76
27	K. Pulo Tengah	1,21	126,68
28	K. Pulung	1,52	114,71
29	K. Selayar	1,48	152,22
30	K. Seraya	1,63	91,13
31	K. SOE	2,08	65,36
32	K. Sungai Bamban	1,65	124,29
33	K. Siompu	1,12	3029,4
34	K. Maga	1,90	52,87
35	K. Riau	1,70	86,78
36	K. Mandarin Cimahi	1,64	119,30
37	K. Tawang mangu	1,69	86,92
38	K. Terigas	1,77	52,22
39	K. Oseola	1,38	108,05
40	K. Daisy	1,71	112,63
41	K. Freemont	1,39	65,01
42	K. Ponkan	1,11	149,45
43	K. Manis Singkarak	1,50	151,35
44	K. Tankan Bimanu	1,45	167,73
45	K. Robinson	1,36	95,07

Berdasarkan uji kuantitatif diketahui bahwa konsentrasi DNA hasil isolasi berkisar antara 10.07 ng/μl sampai 3029.4 ng/μl. Sampel DNA yang murni adalah terdapat pada sampel K. Banten (1.8), K.Kedu (1.82), K. Kisar (1.81), K. Maga (1.9), K. Tejakula (1.9), dan K. SOE (2.0). Sedangkan pada sampel yang lainnya

tingkat kemurniannya dibawah 1.8 dan diatas 2.0. Menurut Ruslle (2001) jika nilai kemurnian dibawah 1.8 berarti terdapat kontaminan protein dan fenol. Sedangkan jika nilai kemurnian DNA melebihi 2 berarti terdapat kontaminan RNA. Hal tersebut terjadi karena DNA/RNA akan menyerap cahaya pada gelombang 260 nm, sedangkan kontaminan yang berupa protein atau fenol akan menyerap cahaya pada gelombang 280 nm. Jika hasil uji kualitatif dan kuantitatif DNA bagus, maka DNA dapat dilakukan analisis yang selanjutnya yaitu ke tahap amplifikasi.

#### **4.2.2 Amplifikasi DNA Berdasarkan Penanda ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**

Menurut Henry (1997) penggunaan markah molekuler ISSR dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik suatu tanaman, karena markah molekuler bersifat lebih konsisten dan hasilnya tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Hasil penelitian menunjukkan keragaman genetik dari 45 aksesori *C. reticulata* L. berhasil diamplifikasi dengan menggunakan penanda molekuler ISSR. Hasil masing-masing penanda ISSR menghasilkan hasil amplifikasi dengan ukuran yang berbeda mulai dari 250 sampai 2400 bp dan jumlah pita yang bervariasi dari 3-12. Total pita yang dihasilkan adalah 36 fragmen, diantaranya terdapat 24 pita polimorfik (Tabel 4.8).

Tabel 4.8 Profil pita hasil amplifikasi dari 45 akses *C. reticulata* menggunakan primer ISSR

ISSR	Sequence	Ukuran pita (bp)	Jumlah Pita	Jumlah Pita Polimorfik	Persentase Pita Polimorfik	PIC
52	(GA)8YG	250-2400	12	10	83.3 %	0.19
53	(GA)8A	300-1300	8	5	62.5 %	0.12
56	(GA)8YT	300-1200	8	2	25 %	0.02
58	(CT)8A	500-1250	5	4	80 %	0.07
59	(CA)8RT	400-1000	3	3	100 %	0.41
Total			36	24		
Rata-rata			7.2	4.8		

Hasil profil pita DNA yang telah teramplifikasi memiliki tingkat polimorfik yang berbeda, pada primer ISSR 52 menghasilkan jumlah pita terbanyak yaitu 12 pita, akan tetapi jumlah pita polimorfik sebanyak 10 pita (83.3 %). Pada ISSR 59 jumlah pita yang teramplifikasi sebanyak 3 pita, dan semua pita tersebut polimorfik (100 %). Sedangkan pada primer ISSR 56 jumlah pita yang teramplifikasi sebanyak 8 pita, akan tetapi jumlah pita polimorfik sebanyak 2 pita, sehingga dapat diketahui bahwa tingkat polimorfik terendah terdapat pada primer ISSR 56. Berdasarkan nilai *Polymorphism information content* (PIC) yang terbentuk diketahui pada primer jenis ISSR 59 yang memiliki nilai PIC tertinggi yaitu sebesar 0.41. Menurut Missio *et al.*, (2010) semakin besar nilai PIC dalam suatu penanda, maka semakin baik penanda tersebut digunakan sebagai penanda molekuler. Hasil amplifikasi menggunakan masing-masing primer ISSR ini disajikan pada gambar berikut.







Primer ISSR 52 memiliki sequence DNA (GA)<sub>8</sub>YG. Hasil PCR menggunakan primer ISSR 52 menghasilkan 12 band pada 45 aksesi *C. reticulata* L. yang dianalisis. 10 pita polimorfik sedangkan 2 pita lain monomorfik yaitu pada ukuran 437.5 dan 609.3 bp. Pita monomorfik tersebut menunjukkan adanya sekuen DNA yang sama yang teramplifikasi pada ke 45 sampel.

Primer ISSR 52 memiliki sequence DNA (GA)<sub>8</sub>A. Hasil amplifikasi primer ISSR 53 menghasilkan 8 fragmen DNA dengan kisaran ukuran 300-1300 bp. 5 pita polimorfik sedangkan 3 pita lain monomorfik yaitu pada ukuran 450,583.2, dan 843.7 bp.

Primer ISSR 56 memiliki sequence DNA (GA)<sub>8</sub>YT. Hasil amplifikasi primer ISSR 56 menghasilkan 8 fragmen DNA dengan kisaran ukuran 300-1300 bp. 2 pita polimorfik sedangkan 6 pita lain monomorfik yaitu pada ukuran 394.5, 480.76, 583.33, 708.33, dan 1.125 bp.

Primer ISSR 58 memiliki sequence DNA (CT)<sub>8</sub>A. Hasil amplifikasi primer ISSR 58 menghasilkan 5 fragmen DNA dengan kisaran ukuran 500-1250 bp. 4 pita polimorfik sedangkan 1 pita lain monomorfik yaitu pada ukuran 1.250 bp.

Primer ISSR 59 memiliki sequence DNA (CA)<sub>8</sub>RY. Hasil amplifikasi primer ISSR 59 menghasilkan 3 fragmen yang polimorfik DNA dengan kisaran ukuran 400-1000 bp.

Pengamatan terhadap masing-masing primer ISSR menghasilkan jumlah pita dengan ukuran yang berbeda. Menurut Powell *et al.* (1996) semakin banyak pita yang dihasilkan oleh masing-masing primer menunjukkan bahwa sekuen pada primer tersebut tersebar melimpah dalam genom tanaman.

Perbedaan ukuran DNA tersebut sesungguhnya menunjukkan kebesaran penciptaan Allah SWT. Allah SWT berfirman didalam al-Quran surah al-furqon (25) ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ  
وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: “Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan-Nya, dan dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat”.

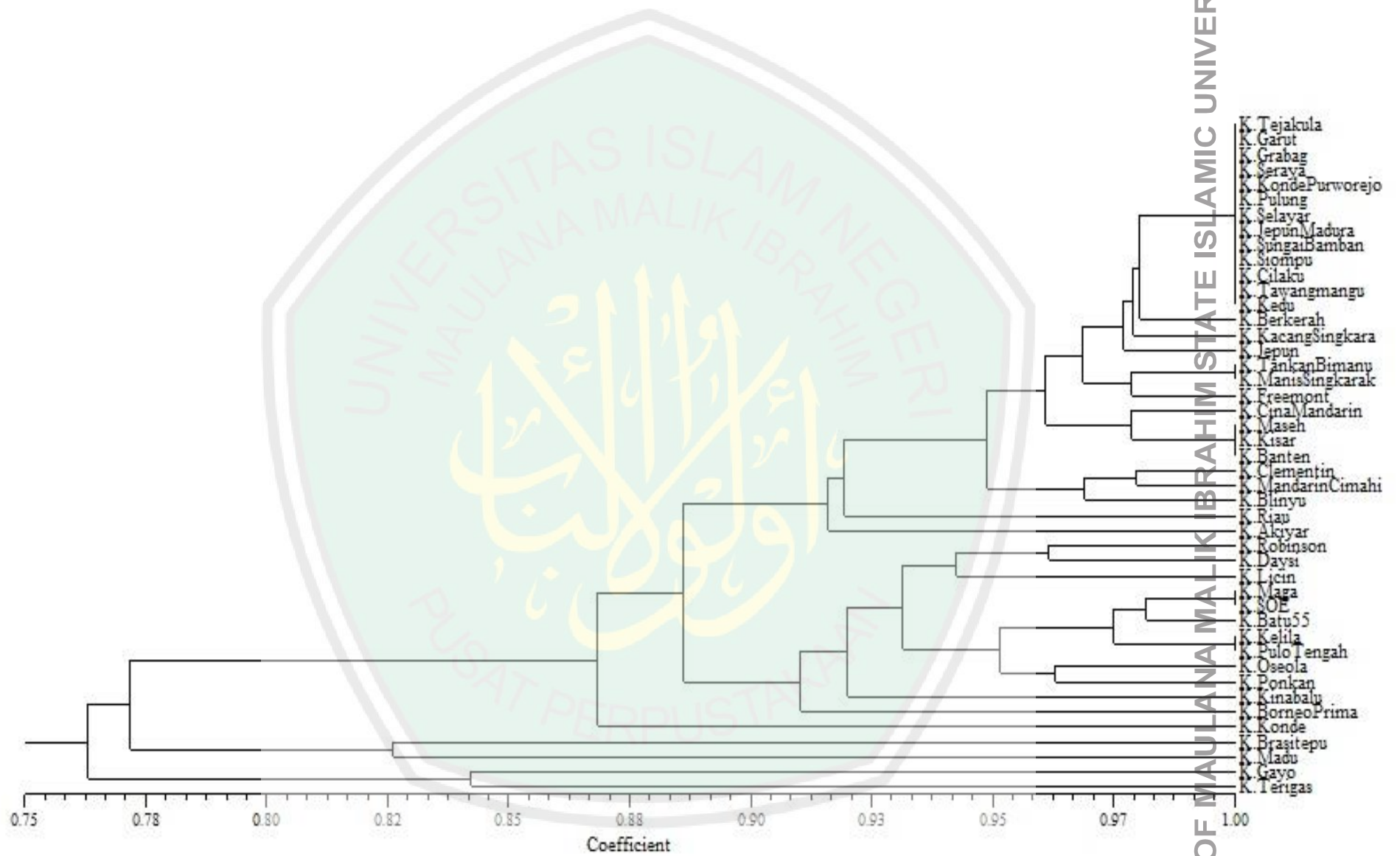
Maksud dari ayat tersebut yaitu bahwasanya Allah SWT menciptakan segala sesuatu dari apa yang diciptakan-Nya sesuai dengan hikmah, berjalan dengan ketentuan-Nya, dan bukan karena nafsu serta kelalaian (Qurthubi, 2008). Makna dari ayat tersebut yaitu bahwasanya Allah SWT menciptakan segala sesuatu, termasuk DNA yang terdapat dalam tubuh makhluk hidup diciptakan dengan ukuran-ukuran yang sangat tepat, sehingga semua ciptaan Allah SWT merupakan yang terbaik agar semua sistem dalam berjalan dengan teratur. Salah satunya yaitu ukuran DNA yang berbeda pada setiap spesies dan secara tidak langsung ukuran DNA telah menjadi penanda bagi suatu spesies.

Hubungan kekerabatan 45 aksesi *C. reticulata* L. ini didasarkan pada hasil amplifikasi menggunakan primer ISSR 52, 53, 56, 58 dan 59. Hasil analisis hubungan kekerabatan kemudian dilakukan skoring terhadap beberapa *band* yang muncul. Hasil nilai *similarity* disajikan pada Tabel 4.10. Hasil fenogram disajikan pada Gambar 4.16.

Tabel 4.10 Nilai Similaritas 45 aksesi *C. reticulata* L. berdasarkan Karakter Molekuler

1	1.00																					
2	1.00	1.00																				
3	0.98	0.98	1.00																			
4	1.00	1.00	0.98	1.00																		
5	0.98	0.98	0.96	0.98	1.00																	
6	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00																
7	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00															
8	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00														
9	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00													
10	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00												
11	0.94	0.94	0.96	0.94	0.92	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	1.00											
12	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.94	1.00										
13	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	1.00									
14	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	1.00							
15	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.94	1.00	0.98	0.96	1.00							
16	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.94	1.00	0.98	0.96	1.00	1.00						
17	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.94	1.00	0.98	0.96	1.00	1.00	1.00					
18	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.92	0.98	0.96	0.94	0.98	0.98	0.98	1.00				
19	1.00	1.00	0.98	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.94	1.00	0.98	0.96	1.00	1.00	1.00	0.98	1.00			
20	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.92	0.98	0.96	0.94	0.98	0.98	0.98	0.96	0.98	1.00		
21	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.94	0.98	0.98	0.98	0.96	0.98	0.98	1.00	
22	0.96	0.96	0.94	0.96	0.98	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.89	0.96	0.94	0.92	0.96	0.96	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	1.00
23	0.96	0.96	0.94	0.96	0.98	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.89	0.96	0.94	0.92	0.96	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	0.94	1.00
24	0.96	0.96	0.94	0.96	0.98	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.89	0.96	0.94	0.92	0.96	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	0.94	1.00
25	0.92	0.92	0.94	0.92	0.94	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.94	0.92	0.90	0.92	0.92	0.92	0.92	0.89	0.92	0.90	0.94	0.91
26	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.92	0.98	0.96	0.94	0.98	0.98	0.98	1.00	0.98	0.96	0.96	0.98
27	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.94	0.96	0.94	0.96	0.96	0.96	0.96	0.98	0.96	0.94	0.94	0.96
28	0.92	0.92	0.89	0.92	0.94	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.89	0.92	0.90	0.88	0.92	0.92	0.92	0.94	0.92	0.90	0.94	0.96
29	0.92	0.92	0.90	0.92	0.90	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.86	0.92	0.91	0.88	0.92	0.92	0.92	0.94	0.92	0.91	0.90	0.92
30	0.92	0.92	0.90	0.92	0.90	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.86	0.92	0.91	0.88	0.92	0.92	0.92	0.94	0.92	0.91	0.90	0.92
31	0.88	0.88	0.86	0.88	0.86	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.82	0.88	0.87	0.85	0.88	0.88	0.88	0.88	0.90	0.88	0.87	0.88
32	0.88	0.88	0.86	0.88	0.86	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.82	0.88	0.87	0.85	0.88	0.88	0.88	0.88	0.90	0.88	0.87	0.88
33	0.88	0.88	0.90	0.88	0.86	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.86	0.88	0.87	0.88	0.88	0.88	0.88	0.90	0.88	0.87	0.86	0.88
34	0.90	0.90	0.88	0.90	0.92	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.84	0.90	0.88	0.86	0.90	0.90	0.90	0.92	0.90	0.88	0.88	0.94
35	0.86	0.86	0.84	0.86	0.88	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.80	0.86	0.85	0.82	0.86	0.86	0.86	0.88	0.86	0.85	0.84	0.90
36	0.84	0.84	0.86	0.84	0.86	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.86	0.84	0.82	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.86	0.84	0.82	0.88
37	0.90	0.90	0.88	0.90	0.92	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.84	0.90	0.88	0.86	0.90	0.90	0.90	0.92	0.90	0.88	0.88	0.94
38	0.71	0.71	0.73	0.71	0.73	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.68	0.71	0.74	0.71	0.71	0.71	0.71	0.73	0.71	0.74	0.68	0.74
39	0.68	0.68	0.70	0.68	0.70	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.70	0.68	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	0.70	0.68	0.67	0.70	0.71
40	0.82	0.82	0.79	0.82	0.84	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.79	0.82	0.80	0.77	0.82	0.82	0.82	0.84	0.82	0.80	0.84	0.86
41	0.84	0.84	0.82	0.84	0.86	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.82	0.84	0.82	0.80	0.84	0.84	0.84	0.86	0.84	0.82	0.86	0.88
42	0.94	0.94	0.92	0.94	0.92	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.88	0.94	0.93	0.91	0.94	0.94	0.94	0.92	0.94	0.93	0.92	0.90
43	0.88	0.88	0.90	0.88	0.86	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.86	0.88	0.86	0.88	0.88	0.88	0.88	0.86	0.88	0.86	0.86	0.83
44	0.90	0.90	0.88	0.90	0.88	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.88	0.90	0.88	0.86	0.90	0.90	0.90	0.88	0.90	0.88	0.92	0.86
45	0.82	0.82	0.84	0.82	0.80	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.80	0.82	0.85	0.82	0.82	0.82	0.82	0.80	0.82	0.85	0.80	0.78

	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1																							
2																							
3																							
4																							
5																							
6																							
7																							
8																							
9																							
10																							
11																							
12																							
13																							
14																							
15																							
16																							
17																							
18																							
19																							
20																							
21																							
22																							
23	1.00																						
24	1.00	1.00																					
25	0.91	0.91	1.00																				
26	0.98	0.98	0.89	1.00																			
27	0.96	0.96	0.91	0.98	1.00																		
28	0.96	0.96	0.91	0.94	0.91	1.00																	
29	0.92	0.92	0.84	0.94	0.92	0.92	1.00																
30	0.92	0.92	0.84	0.94	0.92	0.92	1.00	1.00															
31	0.88	0.88	0.80	0.90	0.88	0.88	0.96	0.96	1.00														
32	0.88	0.88	0.80	0.90	0.88	0.88	0.96	0.96	0.96	1.00													
33	0.88	0.88	0.84	0.90	0.92	0.88	0.96	0.96	0.93	0.93	1.00												
34	0.94	0.94	0.86	0.92	0.90	0.94	0.98	0.98	0.94	0.94	0.94	1.00											
35	0.90	0.90	0.82	0.88	0.86	0.90	0.94	0.94	0.91	0.91	0.94	0.96	1.00										
36	0.88	0.88	0.88	0.86	0.88	0.92	0.92	0.92	0.88	0.88	0.96	0.94	0.94	1.00									
37	0.94	0.94	0.86	0.92	0.90	0.94	0.98	0.98	0.94	0.94	0.94	1.00	0.96	0.94	1.00								
38	0.74	0.74	0.70	0.73	0.74	0.74	0.77	0.77	0.72	0.72	0.77	0.78	0.78	0.76	0.78	1.00							
39	0.71	0.71	0.76	0.70	0.71	0.76	0.74	0.74	0.74	0.74	0.78	0.76	0.80	0.82	0.76	0.82	1.00						
40	0.86	0.86	0.86	0.84	0.81	0.86	0.78	0.78	0.78	0.78	0.74	0.80	0.80	0.77	0.80	0.72	0.84	1.00					
41	0.88	0.88	0.88	0.86	0.83	0.92	0.92	0.92	0.88	0.88	0.88	0.94	0.90	0.92	0.94	0.76	0.82	0.86	1.00				
42	0.90	0.90	0.86	0.92	0.90	0.90	0.98	0.98	0.95	0.95	0.95	0.96	0.93	0.91	0.96	0.75	0.72	0.77	0.91	1.00			
43	0.83	0.83	0.88	0.86	0.88	0.83	0.88	0.88	0.85	0.85	0.88	0.86	0.82	0.84	0.86	0.80	0.82	0.77	0.88	0.91	1.00		
44	0.86	0.86	0.86	0.88	0.86	0.90	0.94	0.94	0.91	0.91	0.91	0.92	0.88	0.90	0.92	0.74	0.76	0.76	0.90	0.96	0.90	1.00	
45	0.78	0.78	0.78	0.80	0.82	0.78	0.83	0.83	0.79	0.79	0.83	0.81	0.81	0.78	0.81	0.83	0.71	0.71	0.75	0.85	0.82	0.81	1.00



Gambar 4.16 Fenogram Karakterisasi Molekuler 45 aksesori *C. reticulata*

Data biner hasil skoring amplifikasi dengan menggunakan 5 jenis primer ISSR diolah dengan software NTSys dan dihasilkan pohon filogenetik yang menunjukkan kekerabatan aksesori *C. reticulata* L. yang dibagi menjadi dua klaster utama dengan koefisien kemiripan genetik 0.765 (KKG) atau 76.5%.

Klaster pertama pada nilai koefisien kemiripan genetik 0.777 (KKG) atau 77.7 %. Klaster pertama terbentuk menjadi dua sub klaster, sub klaster I bergabung pada nilai koefisien kemiripan genetik 0.873 (KKG) atau 87.3 %. Pada sub klaster ini terbagi menjadi dua sub klaster kecil, yaitu sub klaster 1.a dan sub klaster 1.b. Pada sub klaster 1.a mengelompok menjadi dua sub kelompok kecil yaitu sub kelompok a) yang terdiri atas K. Tejakula, K. Garut, K. Grabag, K. Seraya, K. Konde Purworejo, K. Pulung, K. Selayar, K. Jepun Madura, K. Sungai Bamban, K. Simpu, K. Cilaku, K. Tawangmangu, K. Kedu, K. Berkerah, K. Kacang Singkarak, K. Jepun, K. Tawankan Bimanu, K. Manis Singkarak, K. Freemont, K. Cina Mandarin, K. Maseh, K. Kisar, K. Banten, K. Clementin, K. Mandarin Cimahi, K. Blinyu, K. Riau, dan K. Akiyar. Sub kelompok b) yang terdiri atas aksesori K. Robinson, K. Daisy, K. Licin, K. Maga, K. SOE, K. Batu 55, K. Kelila, K.. Pulo Tengah, K. Oseola, K. Ponkan, K. Kinabalu, dan K. Borneo Prima. Pada sub klaster 1.b terdiri atas aksesori K. Konde. Sedangkan pada sub klaster II bergabung pada nilai koefisien kemiripan genetik 0.822 (KKG) atau 82.2 % yang terdiri atas aksesori K. Brasitepu dan K. Madu, dan pada klaster kedua bergabung pada nilai koefisien kemiripan genetik 0.84 (KKG) atau 84 % yang terdiri atas K. Gayo dan K. Terigas.

Fenogram hasil analisis karakterisasi molekuler di uji nilai *goodness of fit* tujuannya untuk mengetahui kesesuaian antara data matriks dengan fenogram yang terbentuk, dan didapatkan nilai korelasi sebesar 91 % ( $r = 0,91$ ) dengan nilai  $P = < 0.0001$  yang menunjukkan kondisi fenogram secara keseluruhan adalah sangat baik.

#### **4.2.3 Korelasi Hubungan Kekerbatan Karakter Morfologi dan Molekuler Jeruk Keprok (*C. reticulata* L.)**

Korelasi antara karakter morfologi dan molekuler ISSR dapat dilihat berdasarkan matriks kemiripan data karakter morfologi dengan tingkat kemiripan molekuler berdasarkan pola pita DNA. Analisis korelasi karakter morfologi dan molekuler dapat dilakukan dengan menguji nilai *goodness of fit* berdasarkan korelasi menurut Rohlf (1993) dengan menggunakan analisis korelasi antara matrik kemiripan morfologi dengan matrik kemiripan molekuler. Hasil yang didapatkan dari perhitungan nilai korelasi kemiripan antara matrik karakter morfologi dengan matrik karakter molekuler, kemudian diuji dengan Z Mantel yang menghasilkan r sebesar kriteria *goodness of fit* (Tabel 4.7) untuk nilai korelasi sebesar  $-0.00840$   $P = < 0.321$  tergolong sangat lemah.

Hasil korelasi tersebut menunjukkan bahwa pengelompokan 45 aksesori *C. reticulata* L. berdasarkan karakterisasi morfologi tidak konsisten dengan hasil yang diperoleh dari analisis pola pita DNA, sehingga matriks kemiripan yang berasal dari data morfologi tidak dapat digunakan untuk menduga kemiripan genetik. Menurut Kartikaningrum (2003) telah banyak peneliti yang menguji keselarasan pengelompokan antara penanda morfologi dengan penanda molekuler

dalam mengevaluasi aksesori plasma nutfah. Akan tetapi sebagian besar tidak berhasil memperoleh pengelompokan yang selaras.

Menurut Tatineni *et al.* (1996) nilai korelasi yang tinggi diperoleh jika penanda morfologi yang digunakan merupakan karakter yang mempunyai daya waris yang tinggi dan stabil. Akan tetapi yang digunakan pada penelitian ini hanya berasal dari bagian daun saja. Sehingga tidak dapat digunakan untuk menduga kemiripan genetik. Berdasarkan perbandingan yang diperoleh diketahui bahwa karakter molekuler lebih akurat dibandingkan karakter morfologi, karena karakter morfologi yang nampak juga dapat dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga memberikan hasil yang kurang akurat. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan dua analisis. Selain itu analisis dengan menggunakan primer ISSR menghasilkan korelasi yang kecil, hal ini dapat disebabkan karena ISSR merupakan daerah yang bukan gen dan tidak mengkode protein (*non coding region*) (Ng dan Tan, 2015). Oleh karena itu studi filogenetika molekuler dengan menggunakan primer ISSR belum mampu menjawab atau mengaitkan dengan klasifikasi yang telah ada berdasarkan karakter morfologi.

Hasil penelitian mengenai keragaman genetik 45 aksesori *C. reticulata* L. berdasarkan penanda morfologi dan molekuler ISSR, telah banyak mengajarkan kita mengenai bukti kekuasaan Allah di dunia ini, bahwasanya segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT tidak ada yang sia-sia. Allah berfirman dalam Quran surah Ali-Imran ayat 190-191 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٥﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا تُسَبِّحُكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩٦﴾

Artinya : *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.*

Menurut tafsir Ibnu Katsir, firman Allah yang berbunyi “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi” yaitu ihwal ketinggian dan keluasan langit, ihwal keindahan dan ketebalan bumi, baik tanda-tanda yang bergerak maupun yang diam, seperti halnya hutan, lautan, pepohonan” Serta silih bergantinya malam dan siang”. Semua itu merupakan penentapan dari yang maha perkasa. Oleh karena itu, Allah SWT berfirman, “Benar-benar terdapat tanda-tanda kekuasaan bagi orang yang berakal”, artinya yaitu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang berakal, yaitu sempurna dan bersih yang dapat memahami hakikat berbagai perkara, bukan seperti orang-orang yang tuli dan bisu yang tidak dapat memahami (Ar-Rifa’i, 1999).

Berdasarkan penjelasan tafsir di atas dapat diketahui bahwasanya Allah SWT menciptakan langit dan bumi dengan berbagai tanda-tanda kekuasaan yang ada di dalamnya, melalui perantara air hujan Allah SWT menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan seperti yang dijelaskan ada surat Thaha ayat 53 :

*“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (At-Thaha:53).*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan dengan air hujan itu tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam. Salah satunya yaitu keragaman *C. reticulata* L., Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuhan di bumi ini dengan bentuk yang berbeda-beda. Begitu pula dengan keanekaragaman jenis *C. reticulata* L. yang ada di Indonesia. Keragaman jeruk keprok yang ada di Balitjestro Batu merupakan salah satu kearifan lokal (*Local wisdom*) yang harus di lestarikan. Keragaman morfologi dan genetik merupakan modal awal dalam proses pemuliaan tanaman (Surahman *et al.*, 2009). Variasi morfologi yang dihasilkan dapat digunakan sebagai informasi dasar dalam proses perakitan varietas unggul jeruk keprok yang ada sebagai upaya konservasi dan pelestarian sumber daya alam.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Hubungan kekerabatan 45 aksesori *C. reticulata* L. berdasarkan karakterisasi morfologi terbentuk menjadi sebelas kluster dan diperoleh nilai *goodness of fit* sebesar 0.84 % (baik).
2. Hubungan kekerabatan 45 aksesori *C. reticulata* L. berdasarkan karakterisasi molekuler terbentuk menjadi dua kluster dan diperoleh nilai *goodness of fit* sebesar 0.91 % (sangat baik).
3. Nilai korelasi antara karakter morfologi dan molekuler ISSR didapatkan nilai  $r$  sebesar -0.00840  $P = < 0.321$  (sangat lemah). Hasil korelasi karakterisasi morfologi tidak konsisten dengan hasil yang diperoleh dari analisis pola pita DNA, sehingga matriks kemiripan yang berasal dari data morfologi tidak dapat digunakan untuk menduga kemiripan genetik.

#### 5.2 Saran

Saran dari penelitian ini yaitu :

1. Sebaiknya dilakukan uji nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ), untuk mengetahui seberapa persen karakter morfologi yang dapat digunakan untuk menduga kemiripan molekuler.
2. Perlu menambah karakter morfologi yang lain
3. Primer ISSR tipe 59 baik digunakan untuk pengamatan *C. reticulata* L.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ar-Rifa'I, Muhammad Nasib. 1999. *Kemudahan dari Allah: Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir*. Penerjemah Syihabuddin. Jakarta : Gema Insani Press.
- Balitjestro. 2012. *Varietas Jeruk Unggulan Nasional*. Kementerian Pertanian Badan penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jawa Timur.
- Cahyono, B. 2005. *Budidaya Jeruk Mandarin*. Yogyakarta : Yayasan Pustaka Nusantara.
- Chaerani, N. Hidayatun, dan D.W. Utami. 2011. Keragaman Genetik 50 Aksesori Plasma Nutfah Kedelai Berdasarkan 10 Penanda Mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen*. 7(2).
- Departemen Pertanian [Deptan]. 2012. Budidaya dan Pengembangan Tanaman enau. [www.http://deptan](http://deptan). [Diakses] tanggal 17/01/2018.
- Giyanti, N. 2001. Inventarisasi dan Identifikasi Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* Blanco) Asli Tawangmangu di Kecamatan Tawangmangu. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Guo, H.B., *et al.*, 2009. DNA Isolation, Optimization of ISSR-PCR System and Primers Screening of *Scutellaria baicalensis*. *J. Med. Plant. Res.* 3: 898-901.
- Hardiyanto, Supriyanto, A. dan Setiono. 2005. *Makalah usulan pelepasan jeruk keprok (Citrus reticulata Blanco) varietas Batu 55*, Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura Subtropika.
- Hendre, P.S., and Aggarwal, R.K. 2007. *DNA Markers: Development and Application for Genetic Improvement of Coffee*. In R.K. Varshney & R.Tuberosa (Eds.), *Genomics Assisted CropImprovement, Genomics Applications inCrops* (pp. 399-434). Springer.
- Henry RJ. 1997. *Practical applications of plant molecular biology*. London (GB): Cambridge Univ Pr.
- Husain, I. dkk. 2016. Evaluasi Keragaman Genetik Mutan Harapan Generasi MV1 Jeruk Keprok SoE (*Citrus reticulata* Blanco) berdasarkan Penanda Morfologi dan ISSR. *J. Hortikultura Indonesia*. 7(2).
- IPGRI. 1995. *Description For Citrus*. Rome (Italy): International Plant Genetic Resources Institute.

- Jamsari. 2008. *Pengantar Pemuliaan Landasan Genetis, Biologis, dan Molekuler*. Riau: Penerbit UNRI Press.
- Kalia, R.K., *et al.*, 2011. Microsatellite Markers: An overview of the recent progress in plants. *Euphytica*. 177: 309–334.
- Karsinah, dkk. 2002. *Perbaikan Tekstur Buah Jeruk Siam Melalui Hibridisasi*. Balai Penelitian Tanaman Buah, Solok.
- Kartikaningrum. 2003. Kekerabatan 13 Genotip Anggrek Subtribe *Sarcanthinae* berdasarkan Karakter Morfologi dan Pola Pita DNA. *Jurnal Hortikultura*. 13(1).
- Kumar, P. 2009. Potential of Molecular Marker in Plant Biotechnology. *Plant Omics J*. 2: 141-162.
- Kumar, P. 2009. Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. Review Article. *Plant Omics J*. 2(4): 141-162.
- Lailati, M. 2017. Karakterisasi Morfologi dan Anatomi Daun Genus *Garcinia* Dataran Tinggi. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indo*. 3(3).
- Lathifah, S.S. dkk. 2015. Keanekaragaman Tumbuhan di Hutan Evergreen Taman Nasional Baluran Situbondo Jawa Timur. Prosiding Semirata bidang MIPA. Univ Tanjungpura Pontianak.
- Lin L, Hu ZY, Ni S, Li JY, and Qiu YX. 2013. Genetic Diversity of *Camellia japonica* (Theaceae), A Species Endangered to East Asia, Detected by *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). *Biochem System Ecol*. 50:199–206.
- Martasari, C., dan Arry S. 2005. *Jeruk Keprok Tropika Indonesia : Keragaman Kultivar dan Karakter, Sentra Produksi, dan Teknologi Inovasinya*. Prosiding Seminar Nasional Jeruk Tropika Indonesia.
- Nalia, Adis. 2009. Perbanyak Tanaman Jeruk Keprok (*Citrus nabilus Lour*) dengan Teknik Okulasi. Skripsi. Jurusan Agribisnis Hortikultura dan Arsitektur Pertamanan. F. Pertanian. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Ng WL, and Tan SG. 2015. *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) markers: Are we doing it right?. *ASM Sci J*. 9(1): 30-39.
- Nuryandani, E. 2010. Karakterisasi Keragaman Calon Indukan Jeruk Keprok Tawangmangu (*Citrus reticulata blanco ssp.*) berdasarkan Analisis *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR). *Skripsi*. Universitas terbuka.

- Nuryandani, E. 2013. Karakterisasi Keragaman Calon Indukan Jeruk Keprok Tawangmangu (*Citrus reticulata* blanco ssp. tawangmangu) berdasarkan Analisis *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR). *Skripsi*. Universitas Terbuka.
- Nuryani, D. 2003. Analisis Keseragaman Genetik Tanaman Teh (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze) Asal Kultur Jaringan, Setek, dan Biji dengan Teknik RAPD. *Skripsi*. Jurusan Kimia. F.MIPA. IPB. Bogor.
- Powell W, Machray GC, Provan J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeat. *Trends Plant Sci.* 1:215-222.
- Purwito, A. 2015. Somatic Embryogenesis of Mann Citrus (*Citrus reticulata* L. cv Batu 55) from Callus Derived from Colchicine Treatment. *Jurnal Hortikultura Indonesia.* 6 (3).
- Rahayu S.E. dan S. handayani. 2010. Keragaman Genetik Pandan Asal Jawa Barat berdasarkan Penanda ISSR. *Makara Sains.* 14(2).
- Rahayu, A. *et al.*, 2017. Morphological and Isoenzyme Characterization of Seeded and Seedless Pummelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) Accessions. *Jurnal Hortikultura.* 27(1).
- Redaksi Agromedia. 2009. *Buku Pintar Budidaya Tanaman Buah Unggul Indonesia.* Jakarta : PT Agromedia Pustaka.
- Rustiami H, Mogeja JP, and Tjitrosoedirdjo SS. 2011. Revision of the Rattan Genus *Daemonorops* (Palmae: *Calamoidae*) in Sulawesi using a Phonetic Analysis Approach. *Gard Bull Singapore.* 63(1): 17-30.
- Sanjay, L.S., *et al.*, 2011. Genetic Diversity Assessment in Nine Cultivars of *Catharanthus roseus* From Central Gujarat (India) through RAPD, ISSR, and SSR Markers. *J. Res. Biol.* 8: 667-675.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an.* Jakarta: Lentera Hati.
- Soelarso, B. 1996. *Budidaya Jeruk Bebas Penyakit.* Yogyakarta: Kanisius.
- Sulassih, Sobir, and Santosa E. 2013. Phylogenetic Analysis of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) and its Relatives Based on Morphological and *Inter Simple Sequences Repeat* (ISSR) Markers. *Sabrao J.* 45(3): 478-490.
- Sulistianingsih, R. dkk. 2004. Peningkatan Kualitas Anggrek Dendrobium Hibrida dengan Pemberian Colchisin. *Ilmu Pertanian.* 11(1).

- Suparman. 2012. Markah Molekuler dalam Identifikasi dan Analisis Kekerabatan Tumbuhan serta Implikasinya bagi Mata Kuliah Genetika. *Jurnal Bioedukasi*. 1(1).
- Surahman M, Santosa E, Misya FN. 2009. Karakterisasi dan analisis gerombol plasma nutfah jarak pagar Indonesia dan beberapa negara lain menggunakan marka morfologi dan molekuler. *Jurnal Agron Indonesia*. 37 (3).
- Sutopo.2011.*PanduanBudidayaTanamanJeruk*.Artikel.www.balitjestro.litbang.deptan.go.id/id/234.html. Diakses tanggal 15 Januari 2018.
- Syahrudin, K. 2012. Analisis Keragaman Genetik Durian (*Durio zibethinus* L) menggunakan Marka Morfologi dan Marka Molekuler *Inter Simple Sekuens Repeat* (ISSR). *Tesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta : UGM Press.
- Van Steenis, C.G., 1975. *Flora Voor de Scholen in Indonesie*, diterjemahkan oleh Sorjowinoto, M., edisi VI. Jakarta: PT. Pradnya Paramitha.
- Vanijajiva, O. 2012. The Application of ISSR Markers in Genetic Variance Detection Among Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Cultivars in the Nonthaburi province, Thailand. *Proc Eng*. 32:155–159.
- Varshney, R.K., *et al.*, 2007. *Genic Molecular Markers in Plants: Development and Applications*. In R.K. Varshney & R. Tuberosa (Ed.), *Genomics Assisted Crop Improvement: Genomics Approaches and Platforms* (pp. 13-29). Dordrecht: Springer.
- Widiastuti, A. Sobir, dan Suhartanto M.R. 2010. Diversity Analysis of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Irradiated by Gammaray Based on Morphological and Anatomical Characteristics. *Nus Biosci*. 2: 23-33.
- Widyawati, A. T. dan Nurbani. 2017. Innovation Technology Cultivation of Citrus Tangerines Borneo Prima in East Kalimantan. *Pros Sem Nas Masy Biodiversitas Indonesia*. 3(1).
- Wu, J.H.P and Mooney. 2002. *Autoploid Tangor Plant Regeneration From in Vitro Citrus Somatic Embryogenesis Callus Treated with Colchicines*. *Plant cell Tissue and Organ Culture* 70.pp 90-104.

Yulianti, F., C. dkk. 2010. Variasi Genetik Jeruk Keprok SoE (*Citrus reticulata* Blanco) Hasil Radiasi Sinar Gamma menggunakan Penanda ISSR. *Buletin Plasma Nutfah*. 16 (2).

Yulianti, F. dkk. 2016. Keragaman Jeruk Fungsional Indonesia berdasarkan Karakter Morfologis dan Marka RAPD. *Jurnal AgroBiogen*. 12(2).



## Lampiran 1

Tabel 1. Hasil Karakterisasi morfologi 45 aksesi *C. reticulata*

No	Nama Aksesi	Siklus Hidup Vegetatif	Tipe Daun	Inten-sitas Warna Hijau	Perlekatan Helai Daun	Bentuk Helai Daun	Bentuk Tepi Helai Daun	Ujung Daun	Ada/tidak Sayap Daun	Bentuk Sayap Daun	Panjang Helai Daun		Lebar Helai Daun		Panjang Sayap Daun		Lebar Sayap Daun	
											cm	kode	cm	kode	cm	Kode	cm	kode
1	K. Tejakula	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Dentate	Acute	Absent	Other	77.01	Short	42.45	Medium	-	-	-	-
2	K. Garut	Evergreen	Simple	Medium	Brevipetiolate	Elliptic	Entire	Acuminate	Present	Obdeltate	93.2	Medium	39.01	Medium	10.86	Long	2.73	Narrow
3	K. Clementin	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Sinuate	Acute	Present	Obdeltate	114.1	Medium	45.94	Medium	9.3	Long	3.36	Medium
4	K. Grabag	Evergreen	Simple	Medium	Brevipetiolate	Ovate	Sinuate	Acute	Present	Obovate	97.6	Medium	43.2	Medium	8.5	Medium	2.63	Narrow
5	K. Cina Mandarin	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acuminate	Absent	Other	80.65	Short	32.86	Narrow	-	-	-	-
6	K. Seraya	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Sinuate	Acute	Absent	Other	98.32	Medium	52.07	Broad	-	-	-	-
7	K. Konde Purworejo	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Sinuate	Acute	Absent	Other	73.18	Short	37.63	Narrow	-	-	-	-
8	K. Pulung	Evergreen	Simple	Medium	Brevipetiolate	Elliptic	Dentate	Acute	Present	Obdeltate	84	Short	31.9	Narrow	7.05	Medium	3.08	Medium
9	K. Selayar	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acute	Absent	Other	104.24	Medium	42.8	Medium	-	-	-	-
10	K. Jepun Madura	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Sinuate	Acute	Present	Obdeltate	87.7	Short	37.6	Narrow	6.92	Short	2.67	Narrow
11	K. Blinky	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acute	Absent	Other	73.28	Short	28.38	Narrow	-	-	-	-
12	K. Sungai Bamban	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Sinuate	Acute	Absent	Other	94.28	Medium	38.81	Medium	-	-	-	-
13	K. Berkerah	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Dentate	Acuminate	Present	Obdeltate	93.88	Medium	38.21	Medium	9.66	Long	3.23	Medium
14	K. Mandarin Cimahi	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acuminate	Absent	Other	131.6	Long	59.6	Broad	-	-	-	-
15	K. Siompu	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acute	Present	Obovate	99.5	Medium	51.9	Broad	10.5	Long	3.2	Medium
16	K. Cilaku	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Entire	Acute	Present	Obovate	102.8	Medium	40.58	Medium	7.52	Medium	2.65	Narrow
17	K. Tawang mangu	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acuminate	Present	Obovate	94.75	Medium	43.03	Medium	8.41	Medium	2.7	Narrow
18	K. Tankan Bimanu	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Dentate	Acute	Absent	Other	98.28	Medium	41.34	Medium	-	-	-	-
19	K. Kedu	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Dentate	Acute	Present	Obdeltate	88.23	Short	35.86	Narrow	8.25	Medium	3.42	Medium
20	K. Kacang Singkarak	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Entire	Acute	Present	Obovate	79.05	Short	29.26	Narrow	8.78	Medium	3.01	Medium
21	K. Jepun	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Sinuate	Acute	Present	Obdeltate	104.7	Medium	47.7	Medium	9.51	Long	5.33	Broad

No	Nama Aksesori	Siklus Hidup Vegetatif	Tipe Daun	Intensitas Warna Hijau	Perlekatan Helai Daun	Bentuk Helai Daun	Bentuk Tepi Helai Daun	Ujung Daun	Ada/tidak Sayap Daun	Bentuk Sayap Daun	Panjang Helai Daun		Lebar Helai Daun		Panjang Sayap Daun		Lebar Sayap Daun	
											cm	kode	cm	Kode	cm	kode	cm	kode
22	K. Maseh	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acuminate	Absent	Other	124.25	Long	52.52	Broad	-	-	-	-
23	K. Kisar	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Sinuate	Acute	Present	Obovate	98.06	Medium	50.83	Broad	9.76	Long	3.58	Medium
24	K. Banten	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Sinuate	Acute	Absent	Other	79.03	Short	32	Narrow	-	-	-	-
25	K. Akiyar	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Dentate	Acuminate	Present	Obdeltate	72.76	Short	29.62	Narrow	19.13	Long	7.33	Broad
26	K. Manis Singkarak	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Sinuate	Acute	Present	Obovate	123.8	Long	44.55	Medium	11.58	Long	3.48	Medium
27	K. Freemont	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Entire	Acute	Absent	Other	119.67	Long	51.5	Broad	-	-	-	-
28	K. Riau	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Dentate	Obtuse	Absent	Other	72.9	Short	30.7	Narrow	-	-	-	-
29	K. Maga	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acute	Present	Obovate	99.1	Medium	37.3	Narrow	8.25	Medium	2.85	Narrow
30	K. SOE	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Dentate	Acute	Absent	Other	89.91	Medium	47.8	Medium	-	-	-	-
31	K. Oseola	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Sinuate	Acute	Present	Obovate	68.75	Short	33.71	Narrow	5.59	Short	1.8	Narrow
32	K. Ponkan	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acute	Present	Obovate	85.81	Short	37.26	Narrow	11.83	Long	2.81	Narrow
33	K. Robinson	Evergreen	Simple	Medium	Sessile	Elliptic	Dentate	Acuminate	Absent	Other	77.23	Short	28.21	Narrow	-	-	-	-
34	K. Kelila	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Sinuate	Acute	Present	Obdeltate	65.6	Short	32.3	Narrow	7.08	Medium	3.06	Medium
35	K. Licin	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acuminate	Present	Obovate	93.06	Medium	42.11	Medium	11.9	Long	2.58	Narrow
36	K. Daisy	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acuminate	Present	Obovate	111.95	Medium	54.37	Broad	8.23	Medium	2.45	Narrow
37	K. Pulo Tengah	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Ovate	Dentate	Acuminate	Absent	Other	111.3	Medium	45.2	Medium	-	-	-	-
38	K. Brasitepu	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Dentate	Acuminate	Present	Obovate	86.78	Short	27.93	Narrow	9.84	Long	2.41	Narrow
39	K. Gayo	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Dentate	Acuminate	Present	Obovate	85.35	Short	35.6	Narrow	8.4	Medium	2.53	Narrow
40	K. Terigas	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acuminate	Absent	Other	87.6	Short	35.4	Narrow	-	-	-	-
41	K. Borneo Prima	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Dentate	Acute	Absent	Other	100.8	Medium	47.81	Medium	-	-	-	-
42	K. Batu 55	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Sinuate	Acute	Present	Obdeltate	82.12	Short	36.21	Narrow	9.33	Long	3.2	Medium
43	K. Konde	Evergreen	Simple	Dark	Sessile	Elliptic	Sinuate	Acute	Absent	Other	66.12	Short	34.3	Narrow	-	-	-	-
44	K. Kinabalu	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Elliptic	Entire	Acute	Present	Obovate	67.35	Short	26.46	Narrow	7.28	Medium	2	Narrow
45	K. Madu	Evergreen	Simple	Dark	Brevipetiolate	Ovate	Dentate	Acute	Present	Obovate	69.98	Short	26.22	Narrow	7.71	Medium	2.05	Narrow



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
**JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : FIFITH MAULIDATUL MAHFUDHOH  
NIM : 14620051  
Program Studi : Biologi  
Semester : VIII/  
Pembimbing : Suyono, M.P  
Judul Skripsi : Keragaman Genetik Aksesori Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L.) berdasarkan Penanda Morfologi Daun dan Molekuler *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR)

No	Tanggal Uraian	Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	2 Februari 2018	Konsultasi BAB I	
2.	4 Februari 2018	Revisi BAB I	
3.	7 Februari 2018	Konsultasi BAB II	
4.	2 Maret 2018	Revisi BAB II	
5.	10 Maret 2018	Konsultasi BAB III	
6.	20 Maret 2018	Revisi BAB I, II, dan III	
7.	11 April 2018	Konsultasi Hasil Penelitian	
8.	15 April 2018	Konsultasi BAB IV	
9.	5 Juli 2018	Konsultasi BAB I,II,III,IV dan V	

Pembimbing Skripsi,

Suyono, M.P  
NIP. 19710622 200312 1 002

Malang, 5 Juli 2018  
Ketua Jurusan,  
  
Romaidi, M. Si., D. Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019





**KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : FIFITH MAULIDATUL MAHFUDHOH

NIM : 14620051

Program Studi : Biologi

Semester : VIII/

Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.SI

Judul Skripsi : Keragaman Genetik Aksesori Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L.) berdasarkan Penanda Morfologi Daun dan Molekuler *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR)

No	Tanggal Uraian	Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	2 Februari 2018	Konsultasi BAB I	
2.	10 Februari 2018	Konsultasi BAB II dan BAB III	
3.	8 Juni 2018	Konsultasi BAB IV	
4.	10 Juni 2018	Revisi BAB IV	
5.	11 Juni 2018	Konsultasi BAB I, II, III dan IV	
6.	5 Juli 2018	ACC BAB I, II, III, IV dan V	

Pembimbing Skripsi,

M. Mukhlis Fahrudin, M.SI  
NIPT. 201402011409

Malang, 5 Juli 2018  
Kampus Jurusan,

Romadhoni, Si., D. Sc  
NIPT. 201402012009011019