

**KERAGAMAN GENETIK TUMBUHAN KOSAMBI (*Schleichera oleosa*)
BERDASAR PENANDA MOLEKULER ISSR (*INTER SIMPLE
SEQUENCE REPEAT*) DI WILAYAH MALANG RAYA**

SKRIPSI

**Oleh:
NADYA URMILA
NIM. 16620056**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**KERAGAMAN GENETIK TUMBUHAN KOSAMBI (*Schleichera oleosa*)
BERDASAR PENANDA MOLEKULER ISSR (*INTER SIMPLE
SEQUENCE REPEAT*) DI WILAYAH MALANG RAYA**

SKRIPSI

**Oleh:
NADYA URMILA
NIM. 16620056**

**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)**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**KERAGAMAN GENETIK TUMBUHAN KOSAMBI (*Schleichera oleosa*)
BERDASAR PENANDA MOLEKULER ISSR (INTER SIMPLE
SEQUENCE REPEAT) DI WILAYAH MALANG RAYA**

SKRIPSI

Oleh:
NADYA URMILA
NIM. 16620056
Telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing I


Suvono, M.P.
NIP.197106222003121002

Pembimbing II


Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.
NIP.197312121998031008

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Esika Sandi Savitri,
NIP.09741018 200312 2 002

**KERAGAMAN GENETIK TUMBUHAN KOSAMBI (*Schleichera oleosa*)
BERDASAR PENANDA MOLEKULER ISSR (INTER SIMPLE
SEQUENCE REPEAT) DI WILAYAH MALANG RAYA**

SKRIPSI

Oleh :

**NADYA URMILA
NIM. 16620056**

**telah dipertahankan
di Depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 22 Juni 2021**

Ketua Penguji : Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. (.....) NIP. 19741018 200312 2 002
Anggota Penguji 1 : Didik Wahyudi, M.Si. (.....) NIP. 19860102 201801 1 001
Anggota Penguji 2 : Suyono, M.P. (.....) NIP. 19710622 200312 1 002
Anggota Penguji 3 : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. (.....) NIP. 19731212 199803 1 008

Mengetahui
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP.19741018200312 2 002



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nadya Urmila
NIM : 16620056
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : keragaman genetik tumbuhan kosambi (*Schleichera Oleosa*) berdasar penanda molekuler issr (Inter Simple Sequence Repeat) Di Wilayah Malang Raya anatar lain sebagai berikut

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis benar merupakan hasil karya sendiri. Bukan merupakan karya orang lain atau bantuan orang lain. Saya mengambil beberapa referensi untuk menunjang hipotesa dan pembahasan saya. Setiap karya yang saya sitasi lampirkan pada daftar pustaka. Apa bila dikemudian hari terbukti saya melakukan kecurangan pada penulisan skripsi ini saya siap menerima sanksi yang berlaku.

Malang, 27 Juni 2021
Yang membuat pernyataan,



Nadya Urmila

NIM. 16620056

LEMBAR PERSEMBAHAN

Karya tulis sederhana yang saya tulis sepenuh hati ini saya dedikasikan untuk orang-orang yang berarti dalam diri saya yaitu.

1. Kedua orang tua saya yang dengan ikhlas menerima setiap kondisi saya. Tidak henti-hentinya mencurahkan kasih sayang. Senantiasa menjadi penguat ketika saya lemah, menyediakan bahu untuk saya bersandar, menjadi guru kehidupan, menjadi teman berbagi kesah, dan menjadi rumah untuk saya pulang. Terimakasih atas segala ikhtiyar dan setiap doa-doanya untuk saya yang tidak bisa apa-apa ini.
2. Kepada Ibu Azizatur Rahmah dan Bapak Suyono yang telah membimbing saya.
3. Orang-orang baik yang merawat saya selayaknya keluarga disini. Terimakasih sudah menerima saya membuat saya merasa begitu layak dicintai.
4. Untuk diri saya sendiri yang sering saya remehkan dan saya sakiti. Semoga kamu terus berkembang dan menjadi dewasa.
5. Sahabat-sahabat saya Safrina, Salma, Firda, Novi, Hanna, Fatimah, Lail, Ara dan Ihda, serta teman-teman pejuang Yudisium. Terimakasih telah bersama dan berbagi sedih, bahagia, marah, dan saling menguatkan.

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**KERAGAMAN GENETIK TUMBUHAN KOSAMBI (*Schleichera oleosa*)
BERDASAR PENANDA MOLEKULER ISSR (*INTER SIMPLE
SEQUENCE REPEAT*) DI WILAYAH MALANG RAYA**

Nadya Urmila, Suyono , Ahmad Barizi

Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman gen pada tumbuhan *S. oleosa* pada wilayah Malang Raya dengan menggunakan penanda ISSR, pengaruh keadaan lingkungan terhadap keanekaragaman gen pada tumbuhan *S. oleosa* pada wilayah Kota Malang dan Malang Kabupaten, Serta mengetahui primer ISSR yang mampu menganalisis tumbuhan ini dengan baik. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif kuantitatif. Rangkaian penelitian ini antara lain adalah eksplorasi dan isolasi DNA *S. oleosa*. Analisis menggunakan metode PCR dengan primer 6 ISSR. Serta pengamatan abiotik tiap lingkungan aksesori berupa pH, kelembapan udara dan tanah, intensitas cahaya, intensitas cahaya tanah, dan suhu. Eksplorasi dilakukan di wilayah Malang Raya guna mencari tanaman *S. oleosa*. Hasil data molekuler kemudian diolah hingga didapatkan dendrogram dengan program PAST.362 untuk mengetahui pengelompokan tiap aksesori. Diketahui tiap primer mampu mengamplifikasi band-band polimorfik. Hasil analisis performa kekuatan primer menunjukkan primer berkode A adalah yang paling baik. Setelah didapatkan similaritas dan dendrogram tiap aksesori terbentuk 4 kluster. Faktor abiotik yang cukup representatif dalam menunjukkan pengelompokan tersebut adalah pH tanah. Hasil tersebut menunjukkan terdapat keragaman gen *S. oleosa* di wilayah Malang Raya dan terkait dengan faktor abiotik lingkungannya.

Kata Kunci: Keanekaragaman genetik, ISSR, *Schleichera oleosa* Malang Raya.

التنوع الجيني لنباتات كوسامبي (*Schleichera oleosa*) المعتمدة على ISSR (تكرار التسلسل البسيط) العلامات الجزيئية في منطقة مالانج الكبرى

نادية أورميلا ، سويونو ، أحمد باريزي

برنامج دراسة الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية ، مالانج

مستخلص البحث

يهدف هذا البحث إلى معرفة أنواع جينات في نبات *S. oleosa* في نطاق مالانج الكبرى باستخدام علامة ISSR. تأثير أحوال البيئة نحى أنواع جينات في نبات *S. oleosa* في نطاق مدينة مالانج ومحافظة مالانج. وكذلك معرفة ISSR التمهيدي القادر على تحليل هذا النبات جيدا. يستخدم هذا البحث المنهج الوصفي الاستكشافي الكمي. تضمنت سلسلة هذا البحث ألا وهي الاستطلاع و عزل الحمض النووي *S. oleosa*. استخدم التحليل طريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل مع ست بادئات ISSR. بالإضافة إلى الملاحظات الأحيائية لكل بيئة مدخل على شكل درجة الحموضة، ورطوبة الهواء والترية، وشدة الضوء، وشدة ضوء التربة، ودرجة الحرارة. تم إجراء التنقيب في منطقة مالانج الكبرى بحثا عن نباتات *S. oleosa*. تمت معالجة نتائج البيانات الجزيئية بعد ذلك للحصول على مخطط الأسنان باستخدام برنامج PAST.362 لمعرفة تقسيم الفرق. من المعروف أن كل جهاز تمهيدي قادر على تضخيم النطاقات متعددة الأشكال. أظهرت نتائج تحليل أداء القوة الأولية أن التمهيدي المشفر A كان الأفضل. بعد الحصول على التشابه و dendogram لكل سلالة، تم تشكيل 4 مجموعات. العامل الأحيائية الذي يمثل تماما في إظهار المجموعة هو الرقم الهيدروجيني للتربة، تشير هذه النتائج إلى وجود تنوع في جينات *S. oleosa*. في منطقة مالانج الكبرى وهي متربطة بالعوامل الأحيائية للبيئة

التنوع الجيني *Schleichera oleosa*, ISSR : الكلمة المفتاحية

Genetic Diversity of Kosambi (*Schleichera oleosa*) Plants Based on the Molecular Marker ISSR (inter simple sequence repeat) in the Malang region

Nadya Urmila, Suyono, Ahmad Barizi

Biology Study Program. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang

ABSTRACT

This study aims to determine the diversity of genes in *S. oleosa* plants. in the Greater Malang area using ISSR markers, the effect of environmental conditions on the diversity of genes in *S. oleosa* plants. in the areas of Malang City and Malang Regency, as well as knowing the ISSR primer which can analyze this plant well. This research uses a descriptive quantitative exploratory method. The series of research included exploration and isolation of *S. oleosa* DNA. The analysis used the PCR method with 6 ISSR primers. As well as abiotic observations of each accession environment in the form of pH, air and soil humidity, light intensity, soil light intensity, and temperature. Exploration was carried out in the Greater Malang area in search of *S. oleosa* plants. The results of the molecular data were then processed to obtain a dendrogram with the PAST.362 program to determine the grouping of each accession. It is known that each primer can amplify polymorphic bands. The results of the primary strength performance analysis showed that the primer coded A was the best. After obtaining similarity and dendrogram for each accession, 4 clusters were formed. The abiotic factor which is quite representative in showing the grouping is soil pH. These results indicate that there is a diversity of *S. oleosa* genes in the Greater Malang region and it is related to the abiotic factors of the environment.

Keywords: Genetic diversity, ISSR, *Schleichera oleosa* Malang Raya.

KATA PENGANTAR

Assalam'ualaikum Wr.Wb.

Segala sukur dan pujian yang baik hanya pada Allah SWT yang telah memberi rahmah dan Hidayah-Nya. Sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan studi S1 di Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang. Selanjutnya penulis mengucapkan terimakasih dan senantiasa mengirim do'a kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih penulis berikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris M. Ag selaku rektor aktif UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P Selaku Ketua Jurusan Biologi.
4. Suyono M.P selaku pembimbing utama. Terimakasih atas bimbingan dan masukan yang senantiasa membangun saya.
5. Dr. Ahmad Barizi selaku pembimbing agama. Terimakasih atas masukan saran yang membangun bagi skripsi ini.
6. Dosen dan Laboran Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim.
7. Kedua orang tua saya yang memberi dukungan moral, kasih sayang, keuangan selama saya menempuh pendidikan.
8. Teman-teman yang menemani saya dalam keadaan terpuruk dan terbaik saya.

Wa'alaikumsalam Wr.Wb.

Malang, 27 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	vi
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	viii
ABSTRAK	ix
مستخلص البحث.....	x
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.1 Rumusan Masalah.....	8
1.2 Tujuan.....	8
1.3 Hipotesis.....	8
1.4 Manfaat.....	9
1.4 Batasan Masalah.....	9
BAB II	10
TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Tumbuhan dalam Al-Quran.....	10
2.2 Klasifikasi S oleosa.....	13
2.3 Deskripsi Botani S. oleosa.....	14
2.4 Persebaran S. oleosa.....	16
2.4 Analisis Molekuler.....	16
2.4.1 Marka Molekuler.....	17
2.4.2 ISSR.....	19
2.5 Keragaman Genetik.....	21
BAB III	24
METODOE PENELITIAN	24
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
3.2 Jenis Penelitian.....	24
3.3 Alat dan Bahan.....	24
3.4 Prosedur Penelitian.....	26
3.4.1 Metode pengambilan sampel.....	26
3.4.2 Metode ekstraksi DNA.....	27
3.4.3 Amplifikasi dan Visualisasi DNA.....	28
3.5 Analisis Data.....	28
3.5.1 Pemberian Skor pada Data.....	28
3.5.2 Pembuatan Dendogram.....	29
3.5.3 Analisis Abiotik.....	29
3.5.4 Analisis Kekuatan Primer.....	29
BAB IV	31
HASIL DAN PEMBAHASAN	31

4.1 Keanekaragaman Kosambi di wilayah Malang <i>S. oleosa</i> di wilayah Malang Raya berdasarkan markah molekuler ISSR.....	31
4.2 Analisis Primer ISSR yang Menjabarkan Polimorfisme Secara Maksimal	36
4.3 Analisis Hubungan Keragaman Genetik <i>S. oleosa</i> dengan Lingkungannya	38
BAB V	46
PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3. 1 Sampel Schleicheria oleosa	28
3. 2 Identitas Primer ISSR	29
4.1.1 Data Fragmen ISSR	35
4.1.2 Kosentrasi dan kemurnian DNA	38
4.2 Tabel Analisis Kekuatan Primer	39
4.3.1 Data Abiotik Lingkungan	42
4.4.2 Similaritas Sampel S. oleosa	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.4.2 Permodelan Marka. ISSR-PCR	20
4.1 Visualisasi hasil PCR.....	36
4.3. Dendogram Hasil Analisis Gel.....	20

DAFTAR LAMPIRAN

1. Tabel 1 Data Urutan Primer	56
3. Uji kualitatif.....	58

DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkat	Keterangan
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
ddH ₂ O	Aquabidestilata
M	Molar
μl	Mikroliter
°C	derajat Celcius
rpm	Rotation per minute
CTAB	Cetyltri methyl ammonium Bromide
NaCl	Natrium clorida
CI	Cloroform isopropanol
TE	Tris-EDTA
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
A	Absorbansi
EtBr	Ethidium bromide
PCR	Polymerase Chain Reaction
bp	base pare
DGGE	Denaturing Gradien Gel Elektroforesis
pH	Power of Hydrogen
UPGMA	unweighted pair group method with arithmetic mean

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Schleichera oleosa merupakan tumbuhan golongan Sapindaceae yang hidup diwilayah tropis dan subtropis. Tumbuhan *S. oleosa* tersebar diwilayah Asia khususnya pada negara-negara beriklim tropis (Khan, Saraf, & Saraf, 2017). *Schleichera oleosa* adalah tumbuhan yang dapat ditemui terutama di Asia Selatan dan Tenggara. *S. oleosa* ditemukan tersebar luas di wilayah sub-Himalaya, di seluruh bagian tengah dan selatan India. Dapat ditemukan pula di hutan Bangladesh, Myanmar, Cina, Thailand, Sri Lanka, Indonesia dan Malaysia. Di Indonesia sendiri *S. oleosa* di Indonesia tersebar di seluruh pulau Jawa dan Madura hingga wilayah Timur Indonesia (Luo et al., 2021).

Schleichera oleosa ini telah digunakan sebagai tanaman obat tradisional diwilayah Bali dan Madura sebagai obat kulit (Situmeang, Nuraeni, Ibrahim, & Silaban, 2016). *Schleichera oleosa* diketahui sebagai anti-inflamasi dan memiliki kemampuan analgesik sebab memiliki HPLC yakni Non-steroidal anti-inflammatory drugs, bahan baku furniture hingga pemanfaatannya biodiesel (Silitonga et al., 2015). Namun penelitian mengenai keragaman genetik *Schleichera oleosa* masih sangat terbatas. Sedangkan studi keragaman genetik sendiri akan memudahkan pemanfaatan tumbuhan *Schleichera oleosa* secara maksimal kedepannya. Maka, dilakukanlah penelitian ini sebagai salah satu langkah untuk memberikan sumbangan informasi untuk melengkapi data *S. oleosa*.

Keragaman genetik adalah salah satu bukti kekuasaan penciptaan Allah SWT. Sebagai seorang hamba manusia berupaya untuk mencari tahu dan mempelajari ilmu yang dianugerahkan oleh Allah SWT. Keragaman tumbuhan merupakan anugrah agar manusia senantiasa berfikir dan terus menganalisis kekuasaan dan keluasan ciptaan Allah SWT. Allah menjelaskan kemampuan berfikir dalam surah Ali Imran/ 3 ayat 191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩١﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطِيلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩٢﴾¹

Artinya “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal (190),(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan 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(191)”

Ayat diatas telah memaparkan bagaimana Allah telah menciptakan dunia ini penuh tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Kemudian manusia diberikan kemampuan untuk menganalisis tanda-tanda yang terdapat dimuka bumi ini. Mempelajarinya dan mengelompokkannya berdasarkan ciri khusus karakteristik tiap makhluk hidup. Menurut Jalaludin (2010) dalam tafsir Jalalain jilid 1 halaman 308-309 menjelaskan makna ayat ini “sesungguhnya dalam menciptakan langit dan bumi” berikut keajaiban-keajaibannya yang ada di dalamnya” dan silih

bergantinya malam dan siang” dengan datang dan pergi bertambah dan berkurang “benar-benar terdapat tanda-tanda” bukti yang menunjukkan kekuasaan Allah SWT “bagi orang yang berakal” yaitu orang yang memiliki akal sehat. “yaitu orang-orang yang” ini adalah sifat yang disebutkan sebelumnya menjadi keterangan pengganti “mengingat Allah sambil berdiri, duduk dan beraring” merebah, maksudnya dalam segala keadaan. Hal inilah mendasari penelitian ini guna mengungkap tanda-tanda kekuasaan tuhan bahkan melalui hal tak kasat mata sekalipun. Hal inilah yang kemudian akan menuntun peneliti semakin dekat dengan Allah SWT dan terhindar dari perbuatan yang sia-sia. Maka peneliti memilih meneliti Tumbuhan sebagai mana kegunaan tumbuhan yang sangat banyak dan merupakan tanda kekuasaan Allah dalam melindungi makhluknya.

Tumbuhan merupakan makhluk ciptaan Allah SWT yang memiliki banyak manfaat. Selain sebagai penyuplai oksigen tumbuhan juga memiliki banyak zat dan kegunaan bagi manusia. Tumbuhan dapat menjadi sumber daya bagi penunjang kehidupan manusia. Tumbuhan satu dengan yang lain memiliki keragaman dan kegunaan yang berbeda-beda. Keberagaman ini dapat meliputi banyak hal yang membuat tanaman tumbuh dimuka bumi ini dengan beragam. Allah SWT berfirman dalam surah al-Zumar (39) ayat 21:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ
يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهَيِّجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ
حُطَمًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿٢١﴾

Artinya “Apakah kamu tidak memperhatikan bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di

bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanaman-tanaman itu yang bermacam-macam warnanya lalu menjadi kering, lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal”.

Allah berfirman *Apakah kamu (siapa pun kamu) tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air hujan dari langit lalu dia mengalirkannya ke tanah menjadi mata air-mata air di bumi, kemudian satu hal yang lebih hebat lagi adalah Dia mengeluarkan tanaman-tanaman pertanian yang bermacam-macam jenis, bentuk, rasa dan warnanya walau air yang menumbuhkannya sama, lalu ia mengering atau menguat dan tinggi lalu engkau melihatnya kekuning-kuningan setelah sebelumnya segar kehijau-hijauan, kemudian Dia menjadikannya hancur layu berderai-derai sesungguhnya pada yang demikian itu proses silih berganti dari suatu kondisi ke kondisi yang lain pelajaran yang sangat berharga bagi Ulil Albab.* (Shihab, 2002).

Allah menciptakan berbagai macam tanaman dengan memerikan kondisi lingkungan yang baik. Kondisi abiotik yang sangat berpengaruh pada kelangsungan tumbuhan dalam ayat ini digambarkan berupa air kata *يُؤْتِي* yang berarti mata air mampu menumbuhkan tumbuhan hingga menjadi kuat dan tinggi. Dalam ayat tersebut juga disebutkan Allah menumbuhkan tumbuhan yang beragam dimuka bumi *يُخْرِجُ بِهَا زُرْعًا* Dia mengeluarkan tanaman yang beragam. Keragaman tanaman dapat dipengaruhi oleh keragaman genetik tumbuhan.

Menurut Bazin & Glémin, (2006) keragaman genetik adalah konsep sentral yang mendasari teori evolusi yang memberikan rantai hubungan kompleks antara keadaan ekosistem, kemampuan tumbuhan dan respon terhadap perubahan tumbuhan. Maka, kemampuan suatu populasi untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungannya didasari oleh keragaman genetik yang dimilikinya (Rimbawanto,

2006). Tekanan faktor abiotik dari lingkungan dapat menyebabkan perubahan pada bahkan juga perubahan struktur dari populasi suatu spesies. Hal ini dapat dibuktikan dari penelitian mengenai keragaman gen dan struktur populasi tumbuhan *Salvia miltorrhiza* dimana sampel yang diamati adalah populasi di kota Tai'an, Lushi, Shangluo, dan Zhongjiang dimana tiap kota tersebut memiliki ketinggian yang berbeda. Hasilnya menunjukkan bentuk struktur populasi yang berbeda antar kota dan dalam satu populasi terdapat polimorfisme yang cukup tinggi. Hal tersebut diketahui dari analisis menggunakan marka gen ISSR (Song, Li, Wang, & Wang, 2010).

Marka ISSR juga mampu mendeteksi keragaman genetik pada tanaman beras dengan kemampuan adaptifitas salinitas yang berbeda (Yadav, Rana, Saini, Jain, & Jain, 2008). Pada penelitian lain diketahui pula ISSR juga mampu mendeteksi keragaman gen pada tanaman Shorgum dengan perlakuan media yang berbeda singga memiliki perbedaan abiotik seperti suhu, salinitas dan irigasi air berbeda (Tawfik & El-Mouhamady, 2019). Sehingga perubahan gen merupakan salah satu cara paling efektif untuk mengetahui hubungan keragaman gen dengan faktor abiotic lingkungan yakni Suhu, pH, intensitas cahaya dan kondisi kelembapan tanah.

Perubahan gen dapat dipresentasikan dengan mudah melalui pengamatan perubahan urutan basa dalam suatu mikrosatelit (Estoup, Jarne, & Cornuet, 2002). Maka pengamatan perubahan gen melalui mikrosatelit merupakan salah satu cara paling signifikan untuk mengetahui sebuah perubahan gen yang terjadi pada suatu spesies. Cara paling tepat untuk mengamati perubahan suatu urutan DNA adalah menggunakan penanda atau Marker.

Daerah mikrosatelit memiliki susunan basa yang berulang. Urutan basanya dapat diulang 5 sampai 50 kali. Pengulangan dapat berupa dinukleotida, trinukleotida hingga pentanukleotida. Banyak ditemukan daerah non coding genom atau daerah yang tidak menghasilkan protein pada bagian mikrosatelit namun daerah ini mengatur daerah pengkodean. Mikrosatelit adalah daerah yang tidak memiliki fungsi spesifik dan bukan merupakan daerah yang mengkode gen-gen konstitutif sehingga akumulasi mutasi tanpa adanya hambatan selama beberapa generasi (Joshi, Gupta, Aggarwal, Ranjekar, & Brar, 2000). Diketahui bahwa pada daerah mikrosatelit banyak ditemukan *transposable element* hal inilah yang kemudian menjadi dasar mengapa pada daerah tersebut banyak terjadi mutasi titik (Kantartzi & Walker, 2013). Hal yang mempengaruhi pergerakan dari *transposable element* adalah variasi faktor iklim seperti suhu dan kelembapan, interaksi dengan sesama organisme lain, ketersediaan sumberdaya yang dibutuhkan dan keberadaan senyawa kimia baik yang beracun dan tidak beracun serta faktor-faktor abiotik lainnya (Casacuberta & González, 2013).

Mikrosatelit adalah daerah yang terletak disebelah sisi regulasi atau daerah intronik gen, berada dalam kodon gen. Mutasi pada mikrosatelit dapat menyebabkan perubahan fenotipik dan penyakit contohnya *cancer* dan sindrom akibat ekspansi triplet kodon (Pearson, Edamura, & Cleary, 2005). Keberagaman pengulangan basa bahkan dapat ditemukan dalam mikrosatelit satuan individu. Oleh karena itu pengamatan daerah ini sangat efektif untuk mengamati organisme dengan keragaman genetik rendah. Penanda yang telah dikenal luas mampu mengamati perubahan urutan basa pada mikrosatelit adalah penanda ISSR (*Inter simple sequence repeats*). ISSR merupakan salah satu penanda molekular yang

telah banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik. Pemilihan ISSR sebagai penanda yang akan digunakan dalam penelitian ini dikarenakan ISSR dapat mengamati polimorfisme yang lebih tinggi (Long et al., 2015) dibanding marka DNA lain. ISSR merupakan primer yang menganalisis daerah mikrosatlit dimana bagian ini seperti yang telah diketahui memiliki laju evolusioner yang lebih tinggi dibandingkan daerah lainnya (Reddy, Sarla, & Siddiq, 2002). Identifikasi dengan memanfaatkan marka pada daerah dengan laju evolusi yang cepat akan mempermudah untuk pemuliaan tanaman karena dapat mengelompokkan dan menggali manfaat berdasarkan keterkaitan gennya (Kantartzi & Walker, 2013). Kedepannya diharapkan penelitian ini sebagai penyumbang pengelolaan tumbuhan *S. oleosa*.

ISSR merupakan marker yang dimasukkan dalam golongan AAD (*arbitrarily amplified dominant markers*) (Gorji, Poczai, Polgár, & Taller, 2011). ISSR adalah penanda yang mampu menganalisis beberapa lokus dalam satu reaksi (Luís Goulão & Oliveira, 2001) sehingga mampu mengetahui polimorfisme lebih kuat. Sebagai primer dominant maka mampu dapat menganalisis multiple lokus, mampu menganalisis aliran gen dan hibridisasi (Poczai et al., 2013). Penanda ini merupakan Penanda paling akhir yang muncul setelah RAPD dan RFLP. ISSR diketahui memiliki *reproducibility* yang tinggi sebab primer yang digunakan sepanjang 16-25 mers. Metode analisis dengan penanda ISSR tidak membutuhkan DNA yang banyak sehingga lebih efisien dan mudah. Mampu mendeteksi susunan polimorfisme tanpa data sekuens genomik diantara susunan basa yang berulang, Sehingga dirasa tepat digunakan dalam menganalisis perubahan molekuler pada tanaman Kosambi (*Schleichera oleosa*).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana keragaman genetik *S. oleosa* di wilayah Malang Raya berdasarkan markah molekuler ISSR?.
2. Apakah ada primer ISSR yang paling maksimal dari ke enam primer tersebut menjabarkan polimorpisme pada tumbuhan *S. oleosa*. ?.
3. Bagaimana hubungan keragaman gen *S. oleosa* pada lingkungan hidupnya?.

1.3 Tujuan

Tujuan dari diadakannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui keragaman molekuler tumbuhan *S. oleosa* di wilayah Malang Raya berdasarkan markah molekuler ISSR.
2. Mengetahui ada primer ISSR yang paling maksimal dari ke enam primer tersebut menjabarkan polimorpisme pada tumbuhan *S. oleosa*.
3. Mengetahui hubungan keragaman molekuler tumbuhan *S. oleosa* dengan wilayah lingkungan hidupnya.

1.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diketahui bahwa tumbuhan *S. oleosa* disekitar Malang kota dan Kabupaten Malang memiliki keragaman genetik berdasarkan marka ISSR.
2. Diketahui ada primer ISSR yang paling maksimal dari ke enam primer tersebut menjabarkan polimorpisme pada tumbuhan *S. oleosa*.
3. Ada hubungan keragaman molekuler tumbuhan *S. oleosa* dengan wilayah lingkungan hidupnya.

1.4 Manfaat

Manfaat dari dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Dapat memberikan informasi mengenai ragam pita gen *S. oleosa* di wilayah Malang kota dan Kabupaten Malang dengan ISSR.
2. Dapat memberikan informasi ada primer ISSR yang paling maksimal dari ke enam primer tersebut menjabarkan polimorpisme pada tumbuhan *S. oleosa*.
3. Dapat memberikan informasi mengenai keragaman genetik dan hubungannya terhadap lingkungan hidup tumbuhan *S. oleosa* di wilayah Malang Raya.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Tanaman kosambi *S. oleosa* yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman yang berasal dari wilayah Malang kota dan Kabupaten Malang.
2. Sample diambil satu tiap ditemukan pada suatu wilayah untuk menghindari kesamaan genetiknya. Diambil setiap titik wilayah satu sampel tumbuhan
3. Pengamatan kekerabatannya hanya menggunakan penanda DNA.
4. Perbandingan lingkungan tiap sample akan diukur berdasarkan unsur abiotik yaitu sifat pH, Suhu, kelembapan dan intensitas cahaya.
5. Isolasi menggunakan daun yang berwarna hijau tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua.
6. Primer yang digunakan adalah 6 primer ISSR.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan dalam Al-Quran

Allah telah menciptakan tumbuhan dengan berbagai macam jenis, bentuk, warna dan ukuran yang kemudian dapat dimanfaatkan oleh manusia, dalam penelitian ini berusaha menelusuri keanekaragaman tumbuhan *Schleichera oleosa*. Sebagai mana dalam firman-Nya dalam surag Thah (ayat: 53) yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَاسْلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ
السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ 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”.

Ayat tersebut ditafsirkan oleh (Al-Maraghi, 1993) bahwa Allah menurunkan air hujan menumbuhkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti palawijaya, buah-buahan, dengan berbagai rasa, baik manis maupun asam. Allah SWT juga menyertakan berbagai manfaat dalam tumbuh-tumbuhan bagi manusia maupun hewan فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا mengandung arti bahwa Allah menciptakan segala sesuatu di dunia ini berpasang-pasang. Syanthiqi, (2007) menafsirkan sebagai jenis tumbuhan yang bermacam-macam manfaat, bentuk, warna, ukuran, bau dan rasa. Sehingga dapat diartikan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan yang mempunyai berbagai macam manfaat.

Pertumbuhan dan perkembangan *S. oleosa* tidak lepas dari kuasa Allah SWT sehingga tumbuhan tersebut terus mengalami perubahan baik morfologi, anatomi dan gennya. Allah juga menegaskan tugas hamba-Nya adalah memperhatikan dengan seksama terhadap tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT. Seperti dalam surah As-Syuara ayat 7 yang sebagai berikut:

 **أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَأْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ**

Artinya “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?.

Kata (إِلَى) pada firman-Nya di awal ayat ini (أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ), merupakan kata yang mengandung makna batas akhir. Ia berfungsi memperluas arah pandang hingga batas kemampuan memandang sampai mencangkup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhan, serat keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhann. Makna kata (زَوْجٍ) berarti pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampardi bumi, dengan demikian ayat tersebut mengisaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya (Shihab, 2002).

Kata (كَرِيمٍ) antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang paling baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (shihab). Mereka kaum yang kehilangan sarana berikir, berani menentang Rasul dan mendustakan kitabnya. Sedang Tuhanannyalah yang telah menciptakan dan menumbuhkan didalamnya tanaman dan buah-buahan dengan berbagai macam dan bentuknya (Ali, 1989). Allah

memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya. Jika orang melihat ciptaan Allah dengan hati dan mata mereka niscaya mereka niscaya mereka mengetahui bahwa Allah adalah Dzat yang berhak untuk disembah, karena Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu (Al-Qurtubi, 1993). Pada ayat lain, Allah juga menjelaskan tentang proses penciptaan tumbuh-tumbuhan yang di muka bumi ini sebagai firman Allah tertera dalam surat Al-an'am ayat 95 yang menunjukkan kekuasaan dan kemampuan Allah dalam menciptakan sesuatu :

﴿ إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۗ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ۗ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَاِنَّ تُوَفَّكُونَ ۝۹۵﴾

Artinya “Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?”.

Muhammad bin tsaur menceritakan dari Ma'mar, dari Qatadah tentang firman Allah “Menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan”, ia berkata Allah SWT mengeluarkan butir dan biji dari tumbuhan. Kemudian Ibnu zaid ia berkata Allah SWT mengeluarkannya, lantas menumbuhkan tumbuhan darinya. Mengeluarkan an-nawat (biji), lantas mengeluarkan pohon kurma. Juga habbah (butir) lantas mengeluarkan pepohonan yang diciptakan. Allah SWT mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan yang mati dari yang hidup. Bahwa Dialah yang mengeluarkan butir dari tumbuh-tumbuhan, dan biji dari pepohonan. Sebagaimana Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan yang mati dari yang

hidup (Ath-Thabari, 2008). Ayat surah Al-an'am ini Allah kembali menerangkan dan menguraikan sebagian ayat-ayat penciptaan dengan jelas yang menunjukkan keesaan, kekuasaan, ilmu dan kebijaksanaan Allah Ta'ala, kemudian menjelaskan makhluk hidup makhluk mati, dan penciptaan-Nya dalam urusan tumbuh-tumbuhan. Dia mengeluarkan yang mati dari yang hidup, seperti mengeluarkan biji yang kering dan mengeluarkan yang kering dari tumbuh-tumbuhan yang hidup dan tumbuh (Al-Maraghi, 1993).

Penafsiran yang hakiki terhadap ayat "*Mengeluarkan yang hidup dari yang mati*" adalah sebagaimana yang nampak sekarang. Bahwa yang hidup itu tumbuh dengan mekar dari yang mati. Allah dengan kekuasaan dan kebijaksanaan yang sempurna adalah Allah yang menciptakan segala sesuatu, dan hanya Dia yang berhak diibadahi dan tidak ada sekutu bagi-Nya . Lalu kalian mempersekutukan-Nya dengan yang tidak punya kekuasaan sedikitpun untuk melakukan sedikitpun untuk melakukan semua itu, seperti menumbuhkan biji dan benih (Al-Maraghi, 1993). Dari penjelasan ayat diatas didukung pula oleh dengan hadis yang pernah disebutkan oleh Rasulullah dalam doa berikut "*Nabi Muhammad berdoa: "Ya Allah tuhan langit dan bumi, dan ntuhan segala sesuatu yang menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan"* (HR Muslim)".

2.2 Klasifikasi *S. oleosa*.

Klasifikasi *S. oleosa* berdasarkan APG III sebagai berikut : Kingdom *Plantae*, Divisi *Angiospermae*, Class *euRosidae II*, Rosidae, Cor Eudicots, Eudicots subclass *malvids*, Ordo *Sapindales* (Chase & Reveal, 2009), Family *Sapindaceae*, Tribe *Schleichereae*, Genus *Schleichera*, Spesies *Scheichera Oleosa*. (Carroll & Loye, 2012).

2.3 Deskripsi Botani *S. oleosa*

S. oleosa dikenal dengan nama Kosam, Kosumb, Kusum, Kosam, Kussam, Rusam dan Puvam di tanah asalnya di India. Pohon berumah dua (dioesis), kekar, sering bengkok, tinggi mencapai 40 m dan gemang batang sampai 2 m, berbanir kecil berwarna abu-abu (Iwasa, 1997). Daun menyirip genap 4-8 anak daun berbentuk jorong, terkadang bulat telur atau telur sungsang, gundul, seperti kertas atau jangat dan daun muda berwarna jambon. Bunga majemuk malai tandan, 6-15 cm, muncul dari pangkal tunas muda, bunga tidak lengkap tanpa mahkota, kelopak 4-5 menyatu pada pangkalnya. Berambut tipis dikedua sisinya. Berwarna kuning kehijauan. Benang sari berjumlah 4-9 buah. Bentuk buah gelendong lebar ukuran 1,5-2,5 x 1-2 cm, dengan ujung meruncing licin, berduri sedikit berwarna kuning. Biji 1 hampir bulat dengan ukuran 12 x 10 x 8 mm, coklat diselubungi oleh salut berwarna kekuningan tipis dan memiliki rasa asam. (Iwasa, 1997) (Steenis, 1981).

Menurut Dr C.G.G.J Van Steenis, G den Hoed, Dr S. Blombergen dan Dr P.J Eyma (1978). Kelompok *Schleichera* memiliki ciri-ciri sebagai berikut. Tinggi pohon 15-40 m. Daun majemuk menyirip dengan anak daun 4-8. Berbentuk eliptis hingga memanjang. Sering dijumpai berbentuk bulat telur, bulat telur terbalik. Ujung miring, gundul memiliki panjang 4,5 sampai dengan 18 cm. Bagian paling atas daun membesar dan berwarna merah saat muda. Bunga malai berbentuk tandan. Tersusun pada pangkal batang yang muda. Bercabang pendek, Bunga banci, Sepal 4-6 berlekatan pada pangkal dan berwarna hijau. Bunga sempurna, beringgit. Benang sari 4-9. Ruang pada bakal buah 3-4. Pada ujungnya tidak melekok kedalam. Memiliki satu bakal biji. Buah berbentuk spul atau gada, dengan ujung meruncing, licin beberapa memiliki duri tempel, diameter daun 2,5 cm. Biji

terdesak kearah samping. Selubung biji berwarna kekuningan, Terutama di tanah yang berperiode cenderung kering.

Heyne (1987) menyatakan bahwa *S. oleosa* memiliki permukaan kulit batang yang halus dan berwarna abu-abu. Disaat muda batangnya terdapat trikoma berupa bulu halus berwarna kuning kemerahan. Daun *S. oleosa* berbentuk lanset dengan duduk daun berseling serta memiliki pertulangan menyirip. Bunga *S. oleosa* majemuk bertandan berada pada ujung ketiak atau diujung batang, memiliki duri, dan mahkota berwarna putih. Buah *S. oleosa* berbentuk bulat dengan warna kulit coklat kehitaman. *S. oleosa* merupakan tumbuhan dikotil dengan bentuk akar tunggang dan berwarna coklat muda.

Termasuk ordo *Sapindales* sebab memiliki ciri-ciri menurut Arthur Cronquist (1981). Termasuk tumbuhan autotropik, terrestrial, berkayu atau *Seldom herbaceous*, memproduksi resin, daun kelompoknya sering berbentuk *opposite* atau *alternate* atau *whorled*. Memiliki bunga sempurna atau sering kali *unisexual*, *hypogenous*, *perygynous*, dan *epigynous*. Seringkali letak bijinya berada diatas plasenta *obturator*, *epitropous*, *apitropous*, *anatropous*, kadangkala *hemiptopus*. Buahnya berbiji dan memiliki endospermae dan embrionya memiliki dua kotiledon. *S. oleosa* juga family *Sapindaceae* menurut Arthur Cronquist (1981). Memiliki ciri-ciri sebagai berikut. Seringkali ditemukan merupakan tipe pohoh, semak, tipe batangnya lebih sering berkayu, bahkan ada yang *herbaceous* merambat, dan sering dengan anomali pada struktur batangnya. Metabolitnya mengandung saponins dan mengandung sel sekretori. Memiliki vassel segmen. Daunnya *opposite*, *pinnately*, beberapa *pettiolus*. Tipe bunga terminal, atau *axillar*, *hypogenous*, regular dan

seringkali *sligly irregular, unisexual*, ataupun androsium dan gymnasium terpisah, memiliki 4 atau 5 sepal dan bertipe imbricata.

2.4 Persebaran *S. oleosa*

S. oleosa tumbuh alami dilembah Himalaya, Srilangka dan Indonesia. *S. oleosa* Memiliki biji yang dapat digunakan sebagai minyak pelumas, sabun lunak, lilin industri batik dan bahan salep. *S. oleosa* banyak ditemukan di Jawa, Bali, Nusa tenggara, Sulawesi, Maluku, Pulau Seram, dan Pulau Kai. Di Jawa Timur Kosambi banyak ditemukan di Panarukan, Probolinggo, Pasuruan dan Besuki (Hayne, 1987).

S. oleosa yang tersebar di Jawa dapat ditemukan di dataran rendah namun dapat hidup pada ketinggian 1.200 m dpl. Pada kisaran curah hujan antara 750-2.500 mm pertahun. Persebaran kosambi dimulai dari pegunungan Himalaya dan Dataran Tinggi Dekkan anak benua India, Srilangka hingga Indocina. Di Indonesia tanaman ini ditemukan di wilayah dengan musim kemarau yang kuat, mulai dari Jawa Timur, Nusa Tenggara, Sulawesi, Maluku, Seram (Steenis, 1981).

2.5 Analisis Molekuler

Molekuler berkembang setelah ditemukannya struktur heliks ganda dari molekul DNA pada tahun 1953, oleh James Watson dan Francis Crick, diikuti oleh penelitian yang menargetkan fragmen spesifik gen untuk selektif memperkuat DNA hingga diketahui reaksi berantai DNA. Kemudian reaksi tersebut ditiru dalam reaksi PCR (*polymerase chain reaction*) oleh Karry Mullis pada tahun 1986 (Cavagnah, 2007). Setelah diperkenalkannya data DNA *sequence* telah memberikan sebuah era baru dibidang taksonomi. Pendekatan molekuler menggunakan data statistik, algoritma dan pendekatan probablistik.

Hasil pencapaian ini kemudian menciptakan suatu sistem pengklasifikasian baru yakni APG (*Angiosperm Phylogeny Group*) untuk mengelompokan dan mendiskripsikan ordo dan famili tumbuhan berbunga dengan lebih baik (He, Lamont, & Downes, 2011). Setelah hal tersebut pengetahuan mengenai klasifikasi didasarkan pada hubungan evolusi semakin berkembang. Banyak pendapat lama dari hubungan perubahan secara drastis dari tingkat ordo dan ketinggian yang lebih rendah dari keluarga. Perubahan yang paling terlihat dari system pengklasifikasian ini adalah ditinggalkan mengenai pengelompokan monokotil dan dikotil yang telah lama dikenal. Sebab dari hasil penelitian yang terbaru hasil mengindikasikan bahwa monokotil kelas liliopsida ditemukan berasal dari tingkat keluarga dasar dikotil kelas magnoliopsida. Dengan begini klasifikasi kemudian sangat intuit pada abad ke 20 (Barker, Vanderpoorten, Morton, & Rourke, 2004).

Data molekuler tidak hanya untuk meningkatkan sistem klasifikasi atau penelusuran spesies tetapi juga untuk level identifikasi spesies dengan DNA barkode sejak tahun 2000-an. Kode batang DNA didasarkan pada premis bahwa urutan DNA standar pendek dapat memungkinkan membedakan individu dari spesies yang berbeda. Hal ini karena variasi genetik antar spesies yang berbeda karena ada variasi genetik antar spesies. Itu pertama kali dipromosikan oleh Paul Herbert untuk hewan (40) dan kini telah didukung oleh aliansi internasional organisasi penelitian seperti CBOL (*Consortium for the Barcode of Life*).

2.5.1 Marka Molekuler

Marka gen merupakan bentuk modernisasi pengamatan sifat suatu organisme yang digunakan untuk menandai gen-gen tertentu sehingga mudah mengklasifikasikannya. Terkadang satu individu dapat dimasukkan kedalam kelas

yang berbeda jika dalam pengamatan terdapat sifat khusus yang beragam. Bahkan terkadang tidak terdapat korelasi antara fenotip dan sifat genotip di lokus yang bersangkutan. Analisis berdasarkan sifat fenotip sering mengecewakan sehingga analisis genetika dapat merancang lebih selektif dan efektif ((Sax, 1923) dalam (Thoday, 1961).

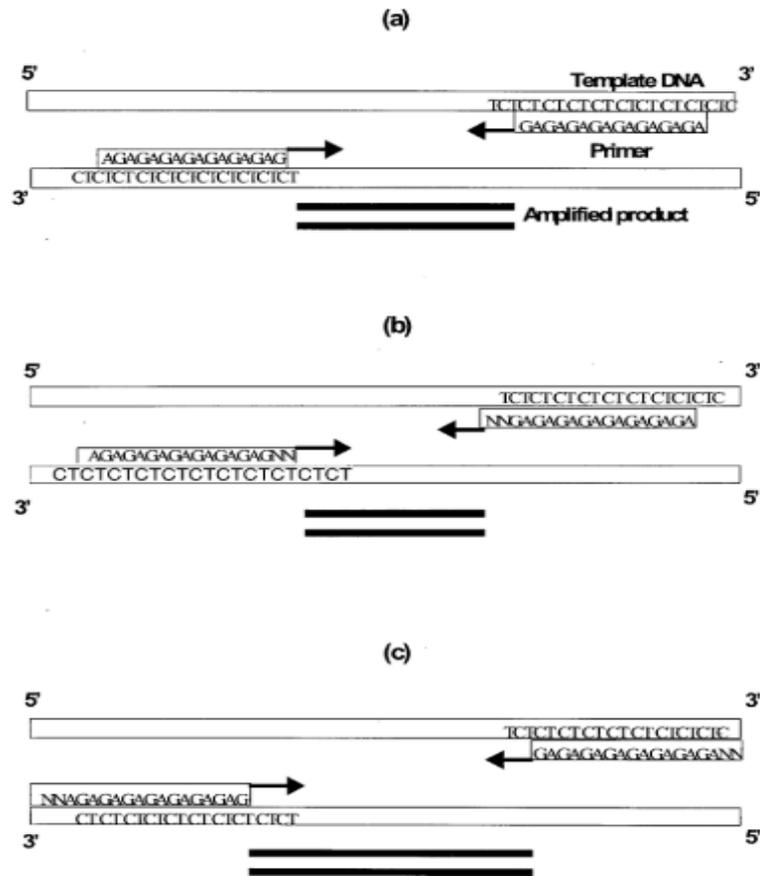
Marka gen kemudian dibuat dengan ketentuan dapat mendeteksi suatu sifat yang polimorfik, mudah, dan spesifik untuk identifikasi. Pada analisis genetik marker haruslah memiliki sifat ideal yaitu harus polimorfik dan *multiallelic* untuk memastikan klasifikasi dari individu lebih dari dua grup (Singh & Singh, 2015). Berdasarkan kemampuan mengamati heterozigot penanda dibagi menjadi dua macam yaitu dominan dan kodominan berikut adalah penjelasannya. Penanda juga haruslah berlimpah dan didistribusikan merata hampir diseluruh genom dan tidak boleh pleiotropik. Sehingga variasi lingkungan tidak mempengaruhi sifat marker sehingga fenotip secara akurat mencerminkan genotip pada lokus penanda terlepas dari lingkungan yang berlaku (de Vienne, D., & Causse, 2003).

Sistem Penanda DNA kodominan memiliki spesifikasi sebagai berikut. Penanda harus mampu mendeteksi sampel secara umum. Dapat memunculkan pita polimorfik. Mampu menganalisis merata diseluruh genom dan mampu menganalisis banyak alel untuk memberi informasi dengan informasi genetik dengan resolusi yang baik dalam menentukan perbedaan antar individu ataupun kekerabatan individu. Deteksi alel penanda (*genotyping*) sederhana, mudah cepat dan murah dan dapat digunakan ulang, otomatis pada sample berbeda dan memiliki hasil yang keakuratannya tinggi. Lebih jauh penanda jenis ini hanya memerlukan sejumlah kecil DNA. Namun tidak semua penanda mampu memenuhi secara sempurna syarat

tersebut (Xu, 2010:(G-L, 2013). Sedangkan penanda yang bersifat dominan digunakan pada morfologi yang cukup polimorfik. Beberapa primer jenis ini spesifik terhadap spesies tertentu. Penanda dominan dapat menunjukkan epistasis dan ekspresi yang tergantung oleh lingkungan (Singh & Singh, 2015).

2.5.2 ISSR

Teknik ISSR adalah metode analisis berbasis PCR, dengan melibatkan amplifikasi segmen DNA yang ada pada jarak yang dapat diamplifikasikan di antara dua daerah pengulangan mikrosatelit identik yang berorientasi pada daerah yang berlawanan. Teknik menggunakan mikrosatelit sepanjang 16-26 bp, sebagai penanda primer dalam reaksi PCR primer tunggal menargetkan beberapa lokus genetik untuk memperkuat terutama urutan- SSR dari urutan yang berbeda. Pengulangan mikrosatelit yang digunakan sebagai primer dapat berupa dinukleotida, tri-nukleotida, tetra-nukleotida atau penta nukleotida (Reddy et al., 2002).



Gambar 2.5.2 Permodelan Marka. ISSR-PCR: Representasi skematis dari satu primer ISSR (AG). (a) menunjukkan proses penempelan pada target basa TC hingga membentuk *band*. (b) Primer AG terus melakukan proses pengulangan amplifikasi menuju ukuran basa terbesar. (c) Pada keadaan ini *band* semakin menebal hingga berhenti pada batas tertentu. (Reddy et al., 2002).

Urutan mikrosatelit diyakini berasal dari substitusi acak yang unik dan menghasilkan motif berulang. Setelah diproduksi sekuens berulang diperluas kemungkinan karena diselipi oleh DNA polymerase sebelum replikasi dan tau berbindah dengan tidak sama. Akibatnya urutan mikrosatelit sering sangat polimorfik dan lokus SSR menunjukkan multiple alel. Misalnya didalam sebuah plasma nutfah elit kedelai, biasanya hanya ada hanya dua alel per RFLP lokus terdeteksi, sementara dalam sampel sekitar 100 genotip elit, beberapa lokus mikrosatelit memiliki 26 alel.

Keragaman Genetik Urutan mikrosatelit diyakini berasal dari substitusi acak yang unik dan menghasilkan motif berulang. Setelah diproduksi sekuens berulang diperluas kemungkinan karena diselipi oleh DNA polymerase sebelum replikasi DNA berpindah dengan tidak sama. Akibatnya urutan mikrosatelit sering sangat polimorfik dan lokus SSR menunjukkan multiple alel. Misalnya didalam sebuah plasma nutfah elit kedelai, biasanya hanya ada hanya dua alel per RFLP lokus terdeteksi, sementara dalam sampel sekitar 100 genotip elit, beberapa lokus mikrosatelit memiliki 26 alel. Sedangkan dengan metode SSR dapat dapat diulangi lagi polimorfismenya secara eksklusif disebabkan oleh variasi dalam unit basis yang berulang. Laju perubahan evolusioner dalam mikrosatelit jauh lebih tinggi dari pada kebanyakan tipe DNA lainnya, sehingga kemungkinan polimorfisme dalam sekuens ini lebih besar. Sumber variabilitas dalam ISSR dapat dikaitkan dengan hal tersebut (Reddy et al., 2002).

Teknologi penanda (marker) DNA telah merevolusi penelitian mengenai kekerabatan makhluk hidup. Usaha penelitian ini dimulai pada tahun 1970an dan dianggap sebagai dasar penelitian genomik. Marka gen kemudian digunakan lebih luas lagi guna mengetahui perubahan gen pada makhluk hidup. Prinsipnya adalah semua organisme dapat mengalami mutasi selama proses siklus sel dan interaksinya dengan lingkungan yang akhirnya menciptakan sebuah polimorphisme pada makhluk hidup yang dapat digunakan untuk mengamati keregaman gen dan kekerabatannya (Liu & Cordes, 2004).

2.6 Keragaman Genetik

Keanekaragaman hayati merupakan variasi dalam bentuk kehidupan yang dapat menjadi suatu tolak ukur kondisi ekosistem. Keanekaragaman hayati

kemudian dapat diukur melalui atribut suatu lingkungan hidup, keberagaman antar organisme, populasi, komunitas dan proses biotik. Dewasa ini keragaman hayati juga diamati hingga tingkat genetik (Leksono, 2010).

Keanekaragaman hayati jika diuraikan lebih lengkap meliputi keanekaragaman genetik yaitu seluruh informasi genetik yang terdapat pada suatu spesies ataupun populasi baik hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Keanekaragaman spesies yaitu bentuk keanekaragaman individu dalam suatu populasi. Keanekaragaman ekosistem yaitu perbedaan kondisi abiotik dan biotik pada suatu habitat.

Keberagaman adalah kenampakan yang beragam merupakan fenomena yang mudah diamati pada setiap jenis makhluk hidup. Ciri-ciri fisik yang dijumpai kemudian dapat diamati pula pada generasi selanjutnya. Sehingga kenampakan luar dari makhluk hidup inilah yang kemudian menjadi dasar dalam system klasifikasi. Kenampakan luar merupakan hasil ekspresi dari sejumlah besar gen-gen di dalam tubuh. Perubahan keragaman gen tidak semua dapat diamati melalui kenampakan ciri luar. Suatu sifat dapat ditentukan dapat ditentukan oleh sebuah gen saja, atau sejumlah kecil gen, bahkan banyak gen hingga gabungan antara faktor-faktor lingkungan (Sofro, 1994).

Keanekaragaman genetik merupakan variasi pada tingkatan gen dalam sebuah populasi di wilayah tertentu. Gen adalah unit kromosomal yang memuat kode-kode untuk menyusun protein spesifik. Keanekaragaman dari gen-gen ini adalah faktor utama untuk terjadinya evolusi. Sebab tanpa adanya keanekaragaman tidak akan ada perbedaan kemampuan dalam menghadapi tantangan pada suatu tempat tinggal. Adanya variasi kemampuan dapat diterangkan melalui adaptasi dan

genetik. Adaptasi adalah tingkah laku yang menyesuaikan diri dengan tidak merubah susunan basa nitrogen misalnya perubahan arah tumbuh mengikuti cahaya. Perubahan akibat adaptasi tidak mampu diteruskan pada keturunan berikutnya. Namun perubahan dari susunan basa nitrogen yang mendasari variasi genetik dapat diturunkan pada generasi selanjutnya (Leksono, 2010).

Keanekaragaman genetik dalam sebuah populasi dapat di lihat melalui keragaman gennya. Dapat melihat melalui frekuensi alel yang mengendalikan ekspresi dari pewarisan sifat yang bervariasi yang dapat terlihat melalui morfogeniknya. Frekuensi alel dapat dipengaruhi melalui kawin acak, migrasi, mutasi, seleksi alam, ataupun efek dari kombinasi faktor tersebut. Untuk mengukur keragaman gen dapat ditinjau dari nilai heterozigot dan heterozogositas (Nurchahya Mariandayani, 2012). Variasi sifat yang muncul ini juga dapat diamati melalui tingkat polimorfisme. Polimorfisme adalah perbedaan fenotip dalam sebuah populasi. Agar dapat disebut polimorfisme harus berada dalam habitat yang sama. Dewasa ini polimorfisme diamati secara molekuler sebab dapat menjadi sidik jari pada spesies-spesies yang sukar diamati melalui morfologi (Ford, 1965).

2.5 Wilayah Pengambilan Sampel *Schleichera oleosa*

Wilayah pengambilan sampel *S. oleosa* adalah wilayah Malang dan kabupaten Malang. Kota Malang sendiri memiliki luas wilayah 145.28 km² sedangkan kabupaten Malang seluas 3.543.86 km² (Jatim.bps.go.id, 2018). Malang Raya memiliki kondisi ekosistem yang ekstrim dimana memiliki dataran tinggi dan pegunungan kemudian memiliki ekosistem dataran rendah berupa daerah pesisir laut Selatan Jawa. Iklim wilayah Malang Raya diketahui sebagai berikut menurut (Climate-Data.org, 2019).

BAB III

METODOE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2019- Juli 2021. Dimulai dari pengambilan sample hingga analisis data yang didapat. Tanaman kosambi (*Schleichera oleosa*) di wilayah Kota Malang Raya dan Malang Kabupaten. Kemudian analisis DNA dilakukan di laboratorium Genetika dan Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental yang bersifat eksplorasi dan deskriptif kualitatif. Deskriptif eksploratif berupa eksplorasi wilayah Malang raya untuk mencari sampel *Schleichera oleosa*. Deskriptif kualitatif berupa isolasi DNA sampel hingga analisis keanekaragaman menggunakan primer ISSR.

3.3 Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam tahap pengambilan sample adalah, Penggaris plastik (Butterfly), dan kantong plastik klip ukuran 1 kg. Pada tahap ekstraksi sample alat yang digunakan adalah mortal alu, vortex (Thermolyne), Freezer (Thermo scientific), Waterbath (Memert), tube 2ml (Onmed), Mikropipet 0,5-1000 µl, Tip (Onmed) putih, biru dan kuning. Pada uji kualitatif alat yang dibutuhkan adalah, perangkat elektroforesis (BioRAD), Gel Doc/UV *transiluminator* (BioRAD), mikropipet (BioRAD) 0,5-10 µl, tip putih, erlenmayer 100 mL, gelas ukur 25 ml, neraca analitik (KERN), oven (U-Rolux), Mortar dan

alu,. Sedangkan pada uji kualitatif alat yang digunakan adalah AE-Nano 200 Nuclei Acid Analyze versi 2.0. Mikropipet dan tip putih. Pada Tahap analisis menggunakan marka ISSR tahap pertama yang digunakan pada amplifikasi PCR adalah. *Thermal cycler* (BioRAD), mikrotube 0,5 ml, rak mikrotube, tip putih, mikropipet 0,5 µl, dan *spindown* (WEALTEC). Selanjutnya tahap amplifikasi hasil PCR digunakan alat-alat berupa neraca analitik (KERN), perangkat elektroforesis (BioRAD), mikropipet 0,5-10 µl, tip putih, erlenmayer 100 mL, gelas ukur 25 mL, Gel/Doc UV transiluminator (BioRAD).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode CTAB. Bahan yang digunakan adalah; Sampel daun tua tanaman Kesambi (*Schleichera oleosa*) CTAB (*Aplichem*), EDTA, Tris-HCL, PVP (*Aplichem*), akuades steril, β-mercaptoethanol (*Aplichem*), NaCl, nitrogen cair, khloroform, isopropanol (*Aplichem*), isoamil alcohol, etanol absolut, alkohol 70%, Buffer TE (*Thermo Scientific*), TBE (*Promega*), Agarose (*Science Preneur*), PCR mix (PCR buffer reaction, dNTP mix, Taq DNA polymerase) (*GoTaq Promega*) dan primer rbcL(F/R) (*BIONEER*), DNA Ladder 100 bp (*Promega*), ethidium bromide (ETBr).

Tabel 3. 1 Sampel *S. oleosa*

Asal Tempat	Kode	Jalan	Ketinggian
Lowokwaru-Tidar (TD)	TD	Jl. Villa Bukit Tidar, Kec. Lowokwaru, Kota Malang	640 m dpl
Lowokwaru-Veteran (VT)	VT	Jl. Veteran, Kec. Lowokwaru, Kota Malang	500 m dpl
Blimbing (BL)	BL	Jl. Nikel, Blimbing, Kota Malang	460 m dpl
Sukun (SK)	SK	Jl. Mergan Lori, Tanjungrejo, Klojen, Kota Malang	450 m dpl

TSK	TSK	JLRaya Talangsuko, Padi, Talangsuko, Turen, Kab. Malang	420 m dpl
Gondanglegi (GL)	GL	Jl. Panglima Sudirman, Kec. Gondanglegi, Kab. Malang	366 m dpl
Candi	CD	Jl. Raya Candi IV, Karangbesuki, Kec. Sukun	560 m dpl
Turen (TR)	DR	Jl. Dharmawangsa, Kec. Turen, Kab. Malang	383 m dpl

Tabel 3. 2 Identitas Primer ISSR

Primer	Sequence	Suhu Aneling
808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	49° C
812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	43° C
818	CACACACACACACACAG	53° C
827	ACACACACACACACACG	56° C
842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	49° C
880	GGAGAGGAGAGGAGA	43° C

(Kamalesh S Mahar, Man Palni, Ranade, Pande, & Rana, 2017)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Metode pengambilan sampel

Metode pengambilan sampel yaitu secara *Tracking* sampling yaitu berdasarkan keterwakilan keseluruhan sampel dalam ekosistem. Daerah pengambilan sampel adalah Malang Raya. Dilakukan Traking dari kabupaten Malang hingga kota Malang. Apabila didapatkan sampel pohon diambil satu setiap lokasi samplingnya. Didapatkan sampel di wilayah Lowokwaru-Tidar, Lowokwaru-Veteran, Gondang legi, Turen, Belimbing, Sukun, Turen.

3.4.2 Metode ekstraksi DNA

Metode isolasi terakhir disandarkan pada penelitian Adeyemi & Ogundipe (2012) dengan beberapa perubahan. Diambil daun *S. oleosa* dicuci dan dikeringkan kemudian dibuang bagian tulang daunnya. Ditimbang dengan menggunakan neraca 300 mg. Daun kemudian dibekukan dengan menggunakan Nitrogen cair agar mempermudah penggerusan. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tube 1,5 ml. Ditambahkan buffer lisis (CTAB (2-Cetyltrimethylammonium bromide) 10% yang mengandung 100mM Tris-HCl, pH 8.0, 1,4 NaCl, 20mM EDTA, PVP, dan β -mercaptoetanol) yang sudah diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit sebanyak 1 ml pada tiap tube sampel. Diinkubasi sampel pada suhu 65°C selama 20 menit. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit. Diambil supernatan sampel sebanyak 500 ml kemudian dipindahkan kedalam tube baru. Ditambahkan Choloroform guna mengurangi kontaminan, dan Isoamyl alkohol 24:1 hingga volume mencapai 1,5 ml lalu dihomogenkan. Sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit. Sampel yang sudah di sentrifugasi terbagi menjadi 3 lapisan.

Diambil lapisan bening paling atas sampel kemudian di pindah ke dalam tube baru. Dilakukan tahapan purifikasi menggunakan etanol absolut. Etanol absolut diberikan ke dalam tube sampel sebanyak 2 kali volume sampel. Sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu -20°C. Disentrifugasi kembali sampel yang sudah diinkubasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Diambil pellet sampel dengan membuang supernatant kemudian diangin-anginkan. Pellet sampel diberikan TE buffer sebanyak 30 μ l.

3.4.3 Amplifikasi dan Visualisasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode (Kamalesh Singh Mahar, Rana, Ranade, & Meena, 2011) dengan menggunakan 6 primer ISSR. Komposisi PCR dilakukan pada volume 10 µl, yang terdiri dari 1 µl sampel DNA (5-25 ng/ µl), 1 µl primer (10 pmol), 3 µl ddH₂O, 5 µl PCR Master Thermo Scientific, California USA yang terdiri atas DreamTaq DNA Polymerase. 2X DreamTaq Green buffer; 0,4 mM dNTPs dan 4 mM MgCl₂.

Amplifikasi DNA primer ISSR dilakukan menggunakan Thermocycler (BioRAD). Pre denaturasi dilakukan pada suhu 94°C selama selama 4 menit, kemudian dilanjutkan 40 siklus yang terdiri dari denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing suhu (Tabel 4.2) selama 2 detik, ekstensi 72° C selama 7 menit. Selanjutnya dilakukan proses *post elongation* dengan suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi PCR diuji kualitatif dengan elektroforesis dengan gel agarose 1,5-2% (200 mg agarose ditambahkan 20 ml TBE 1X).

3.5 Analisis Data

3.5.1 Pemberian Skor pada Data

Hasil PCR yang telah memperlihatkan pita DNA kemudian masuk pada pemberian skor agar memudahkan analisis. Hal in dilakukan untuk mengamati polimorfisme. Pita DNA yang muncul kemudian diberi skor “1” dan “0” untuk pita DNA yang tidak muncul (Carsono, Lukman, Damayanti, Susanto, & Sari, 2014). Sedangkan untuk mengamati polimorfisme menggunakan pita polimorfik. Pitapolimorfik adalah pita yang muncul pada satu sampel dan tidak muncul pada sampel lainnya. Sedangkan monomorfik muncul pada semua sampel yang diuji

dengan satu primer (Purnomo & Ferniah, 2018). Rumus untuk mengetahui polimorfisme adalah :

$$\text{Persen Polimorfisme} = \frac{\text{Jumlah pita polimorfisme}}{\text{Total pita yang muncul}}$$

3.5.2 Pembuatan Dendogram

Data skor yang telah didapatkan kemudian dianalisis agar menjadi data dendogram. Data mentah diolah dalam program Microsoft Excel 2016. Data kemudian diteruskan deprogram PAST 20.2 untuk analisis kluster dan dendogram kekerabarabatan dengan metode Unweight Pair Grup Method Using Arithmetic Method (UPGMA), dan analisis similaritas masing-masing pita menggunakan rumus similaritas Jaccard.

3.5.3 Analisis Abiotik

Pengukuran sifat fisik tanah yang diamati adalah kelembapan, pH dan intensitas cahaya. Kemudian diukur kelembapan udara lingkungan, suhu dan intensitas cahaya lingkungan sekitar. Pengukuran dilakukan pukul 07.00 WIB, 12.00 WIB dan 15.00 WIB. (Indried Pantilu et al., 2012).

3.5.4 Analisis Kekuatan Primer

Agar didapatkan mendapatkan informasi mengenai primer ISSR yang digunakan maka dilakukan analisis kekuatan primer. Metode yang digunakan antara lain Polymorphism information content (PIC), effective multiplex ratio (EMR), Marker index (MI), resolution power (Rp). Berikut adalah penjelasan masing-masing primer. Masing-masing primer kemudian di analisis untuk mengetahui nilai PIC dihitung dengan rumus: $PIC_i = 2 f_i (1 - f_i)$. Dimana PIC adalah informasi Polymorfisme, f_i = frekuensi fragmen *band* yang muncul dan $(1 - f_i)$ adalah frekuensi marker *band* yang tidak muncul (Grandgirard, Poinot, Krespi,

Nénon, & Cortesero, 2002). EMR (*effective multiplex ratio*) analisis ini dipakai untuk mengetahui rasio efektif dari total *band* muncul dengan jumlah polimorfik. Nilainya dapat diketahui menggunakan rumus $EMR = \frac{n}{\beta}$ artinya n = jumlah total pita per primer dan β = jumlah *band* yang polimorfik, sedangkan *marker index* (MI) memiliki rumus $MI = PIC \cdot EMR$ (Powell et al., 1996) dalam (Belaj et al., 2003). Kemudian untuk mengetahui Resolution power (RP) dari tiap primer yang digunakan dapat diketahui dengan rumus $RP = \sum I_b$ dengan I_b mempresentasikan jumlah pita. Nilai I_b diwakili skala 0-1, yang diketahui menggunakan rumus $I_b = 1 - [2 \times (0,5 - P)]$, dimana P adalah proporsi dari genotip yang mengandung *band* (Prevost & Wilkinson, 1999).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keanekaragaman Kosambi di wilayah Malang *S. oleosa* di wilayah Malang Raya berdasarkan markah molekuler ISSR

Pita DNA dihasilkan dari PCR sampel *S. oleosa* menggunakan enam Primer ISSR menghasilkan pita-pita polimorfis. Didapatkan total fragmen sebanyak 89 yang disumbang oleh primer (808) 5 fragmen, primer (812) 25 fragmen, primer (818) 24 fragmen, primer (827) 8 fragmen, primer (842) 12 fragmen, dan terakhir primer (880) 15 fragment. Sebagaimana terlihat pada tabel 4.1 data Fragmen ISSR.

Tabel 4.1.1 Data Fragmen ISSR

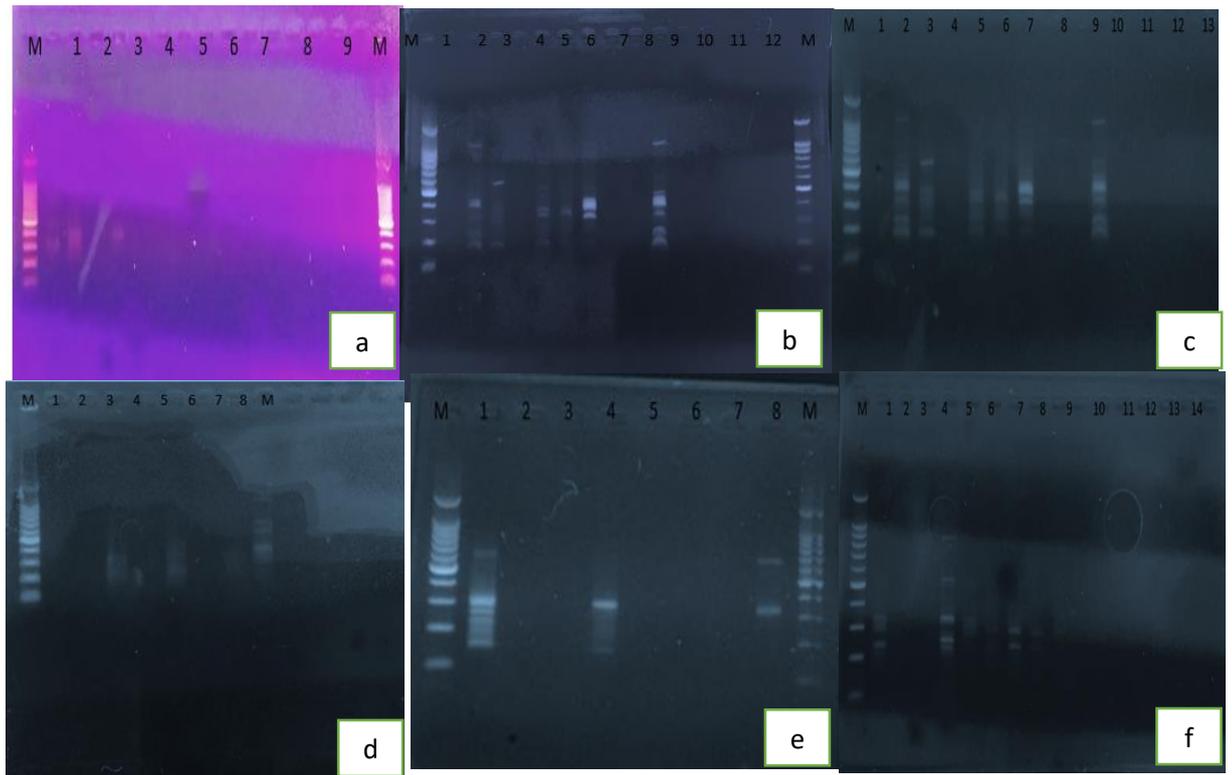
No	Primer	Jenis Pita		Total	Persentase polimorfik	Ukuran Fragmen
		Monomorfik	Polimorfik			
1	808	0	5	5	100	300-400bp
2	812	0	25	25	100	200-1000bp
3	818	0	24	24	100	190-1030bp
4	827	0	8	8	100	200-800bp
5	842	0	12	12	100	150-700bp
6	880	0	15	15	100	220-900bp
Total		0		89		

Pita polimorfik menunjukkan keragaman gen antar aksesi. Pita polimorfik muncul karena tidak ada amplifikasi pada suatu lokus yang dipicu oleh adanya perbedaan urutan basa nukleotida aksesi sampel pada titik penempelan primer (Sulistiyawati, P., & Widyatmoko, 2015). Polimorfisme gen dapat terjadi di setiap

wilayah genom. Kebanyakan polimorfisme tidak mengubah apapun baik dalam fungsi atau ekspresi gen (Thomson, E. J., Boyer, J. T., & Meslin, 1997) dalam (McEwen, J. E., Boyer dll, 2014).

Pengamatan keanekaragaman *S. oleosa* menggunakan primer ISSR diamati berdasarkan pita-pita yang teramplifikasi. Semakin banyak daerah genom yang teramplifikasi maka semakin tinggi pula tingkat keanekaragamannya (Munif, 2004). Tingkat polimorfik berbanding lurus dengan keanekaragaman gen. Untuk mengetahui tingkat polimorfisme diamatilah jumlah band polimorfik dan monomorfik yang teramplifikasi. Band Monomorfik adalah band yang dimiliki disemua aksesori sampel pada ukuran yang sama. Sedangkan Polimorfik band hanya dimiliki satu atau lebih tetapi tidak seluruh sampel (Poerba, Yuyu Sursari Martianti, 2008).

Pita DNA dihasilkan dari PCR menggunakan enam Primer ISSR menghasilkan pita-pita polimorfis. Sebagaimana terlihat pada gambar 4.2.1. Visualisasi Hasil PCR dari Primer ISSR.



Gambar 4.1 Visualisasi hasil PCR dari : A (808), B (812) C (818), D (827), E (842), F (880).

Dari hasil pengamatan ini diketahui keragaman gen *S. oleosa* sangat baik. Hal ini ditinjau oleh presentase polimorfisme. Ditunjukkan hasil dengan nilai presentase 100 %. Setiap primer mampu menampilkan *band* polimorfis. Primer 808 mampu mengamplifikasi lima pada ukuran 400 bp dua pita, 350 bp satu pita, 300 bp dua pita. Pada primer 812 primer mampu mengamplifikasi pita polimorfik pada ukuran 1000 bp 1 band, 800 bp 2 band, 500 bp 1 band, 400 bp 4 band, 430bp 3 band, 400 bp 4 band, 380 bp 2 band, 260 bp 2 band dan 200 bp 5 band. Primer 818 menghasilkan pita polimorfisme pada ukuran 1030 bp 2 band, 600 bp 1 band, 450 bp 2 band, 400bp 2 band, 350 bp 6 band, 250 bp 1 band, 240 bp 5 band, 200 bp 2 band, dan 190 bp 3 band. Primer 827 menghasilkan pita polimorfis pada panjang

800 bp 1 pita, 700 bp 1 pita, 400 bp 2 pita, 360 bp 1 pita, 250 bp 1 pita, dan 200 bp 2 pita. 700 bp 2 band, 350 bp 2 band, 300 bp 1 band, 280 bp 3 band, 250 bp 1 band, 200 bp 1 band dan 200 bp 2 band. Primer 880 mampu mengamplifikasi primer polimorfisme pada ukuran 900 bp 1 band. 550bp 1 band, 390 bp 1 band, 350 bp 4 band, 300 bp 3 band, 250 bp 4 band dan 220 bp 1 band. Hal tersebut dapat rujuk dalam tabel 4.1 data fragmen ISSR.

Pada penelitian ini tidak dapat memunculkan pita monomorfik. Pita monomorfik menunjukkan adanya kesamaan genetik antar aksesori. Mengingat aksesori sampel yang digunakan adalah aksesori dalam satu spesies tentu hal tersebut menandakan adanya pengaruh beberapa faktor. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil amplifikasi PCR adalah. Ekstraksi sampel yang kurang maksimal. Pengaruh pada saat ekstraksi dapat diakibatkan oleh kontaminan DNA yang diakibatkan oleh teknik penggerusan dan purifikasi yang tidak maksimal (Poerba, Yuyu Sursari Martianti, 2008). Selain Hal tersebut konsentrasi $MgCl_2$ dalam Taq polymerase juga sangat mempengaruhi hasil elektroforesis Ion Mg_{2+} kurang akan menurunkan kemampuan penempelan primer. Jika ion Mg_{2+} akan menghasilkan produk tidak spesifik seperti muncul pendaran tidak jelas (Poerba, Yuyu Sursari Martianti, 2008). Selain hal tersebut kandungan gugus polisakarida dan fenol yang tinggi akan menghambat proses penempelan primer dalam reaksi PCR (Ekstraksi, Dan, & Grevillea, 2014). Faktor-faktor tersebut dapat terjadi diluar kendali meskipun sudah dikontrol.

Faktor lain yang menyebabkan munculnya band tidak maksimal juga dapat terjadi sewaktu proses PCR. Proses denaturasi adalah tahapan awal pada proses PCR. Kesalahan saat waktu denaturasi yang kurang mengakibatkan DNA

mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi). Adapun waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim Taq polymerase. Proses annealing yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30 –45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C (Dorado, Besnard, Unver, & Hernández, 2019). Suhu pada saat analisis telah disesuaikan dengan ukuran dan basa primer ISSR. Pengulangan siklus juga sangat berpengaruh dalam reaksi PCR. Pengulangan reaksi disesuaikan dengan banyaknya DNA sampel. Namun pada penelitian ini kualitas DNA sampel kurang terlalu baik. Hal tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.2 Kosentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi.

Tabel 4.1.2 Kosentrasi dan kemurnian DNA

Kode sampel/Aksesi	Kemurnian (260 nm/280 nm)	Konsentrasi (mg/µl)
TD	1.00	27.00
VT	1.04	1001.5
BL	0.91	24.64
SK	1.05	254.51
TSK	1.00	386.68
GL	1.72	30.07
CD	1.12	870.81
DR	2.00	27.64

Dari hasil nanodrop tersebut diketahui hasil ekstraksi tidak terlalu baik terkait kemurnian yang menyebabkan hasil amplifikasi *smear* pada gambar 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4, 4.2.5 dan 4.2.6. Kualitas kemurnian tertinggi hanya pada satu aksesi yaitu VT 1.72 dengan konsentrasi DNA sebanyak 30.07. Meskipun hasil data

kurang maksimal dengan terdapat smear namun hasil ekstraksi tersebut masih masuk dalam konsentrasi ideal untuk proses PCR yakni 25-50 mg/μl.

4.2 Analisis Primer ISSR yang Menjabarkan Polimorfisme Secara Maksimal

Keenam primer ISSR mampu menghasilkan band polimorfis 100% dari 8 sampel *S. oleosa*. Namun performa tiap primer berbeda dalam mengamplifikasi band. Untuk menunjukkan hal tersebut digunakan analisis data menggunakan pendekatan kuantitatif berupa analisis (TNB) *total number band*, (EMR) *effective multiplex ratio*, (RP) *Resolution power*, (MI) *Marker Index* dan (PIC) *Polymorphism information*. Hasil dari analisis tersebut dijabarkan dalam table Tabel 4.3 Tabel Analisis Kekuatan Primer.

Tabel 4.2 Tabel Analisis Kekuatan Primer

primer	pita polimorfik	Total Pita	Persentase polimorfik	PIC	EMR	MI	RP
808	5	5	100	0.32	25	8.24	6
812	25	25	100	0.46	625	290.62	50
818	24	24	100	0.44	576	255.97	48
827	8	8	100	0.33	64	21.54	16
842	12	12	100	0.37	144	54	24
880	15	15	100	0.39	225	89.25	30

Diketahui total (TNB) *total number band* tertinggi ada pada primer 812. Total pita yang dihasilkan adalah 25 buah. TNB primer paling rendah adalah primer 808 dengan *band* hanya 5 buah. TNB mempresentasikan banyak *band* yang mampu diamplifikasi tiap primer pada sampel *S. oleosa*. Nilai yang didapat adalah total semua *band* tanpa membedakan *band* polimorfik ataupun monomorfik. Keberhasilan suatu primer dalam mengamplifikasi DNA ditentukan oleh ada tidaknya homologi dari sekuen nukleotida primer dengan sekuen nukleotida DNA

sample. Selain hal tersebut kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi sampel juga sangat mempengaruhi (Indriani Maya Sari Sembiring & Setiado, 2015).

Polymorphism information Content (PIC) adalah formula matematis untuk mendeteksi polimorfisme dalam suatu populasi bergantung pada jumlah alel yang didapat dapat dideteksi oleh distribusi frekuensinya sehingga dapat memberikan perkiraan kekuatan pada marker yang digunakan. PIC sendiri umum digunakan untuk primer-primer dominan (Nagy et al., 2012). Hasil menunjukkan PIC tertinggi dari keenam primer adalah primer 808 sebesar 0.46 kemudian disusul oleh primer 812 sebesar 0.44, Primer 880 0.39, primer 842 0.37 dan primer 827 0.33. Sedangkan nilai PIC terkecil adalah primer 808 sebesar 0.32. Semakin tinggi nilai PIC suatu primer semakin baik menunjukkan keanekaragaman genetik. Nilai PIC menunjukkan keberhasilan primer dalam mengamplifikasi DNA dan memberikan informasi lokus yang digunakan dalam analisis tingkat keragaman alel (Botstein et al. 1980) dalam (Pardal, Rahayu, Nugroho, & Suharsono, 2020). Nilai PIC dibagi menjadi tiga kategori yaitu kurang informatif ($PIC < 0,25$), moderat informatif atau cukup informatif ($0,25 < PIC < 0,5$) dan sangat informatif ($PIC > 0,5$) (Terryana et al., 2020). Dari keenam primer nilai PIC semuanya diatas 0,25 maka semua primer cukup informatif dalam memberikan informasi keanekaragaman gen *S.oleosa*.

EMR (*effective multiplex ratio*) adalah formula yang biasanya digunakan untuk melihat perbandingan antar primer dengan melihat dari band-band polimorfik dan total band yang dihasilkan (Nagaraju, Reddy, Nagaraja, & Sethuraman, 2001). Dari hasil analisis nilai EMR yang paling tinggi adalah primer 812 (625). kemudian nilai EMR terendah adalah primer 808 (25). Tidak ada batasan mengenai rentang

informasi EMR namun diketahui bahwa semakin tinggi nilai EMR sebuah primer maka semakin kuat dalam menganalisis genom (L. Goulão, Monte-Corvo, & Oliveira, 2001). Berdasarkan hal tersebut urutan nilai EMR dari yang terbaik adalah 812 (625), 818 (576), 880 (225), 842 (144), 827 (64) dan 808 (25).

Analisis MI *marker indeks* adalah metode untuk menguji kemampuan primer menganalisis variabel dari matrik (Gallucci & Perugini, 2007). Dari hasil analisis primer yang paling baik bekerja adalah primer 812. Kemudian analisis *Resolution power* (RP) juga menggambarkan resolusi terbaik dari tiap primer dalam menganalisis polimorfisme. Skor RP tertinggi dimiliki oleh primer 812. Primer yang memiliki skor RP dan MI terendah adalah primer 880.

Dari hasil tersebut dapat paparkan bahwa ke enam primer yang digunakan mampu mengamplifikasi band polimorfisme. Namun performa keenam primer berbeda. Hal tersebut setelah dianalisis menggunakan (TNB) *total number band*, (EMR) *effective multiplex ratio*, (RP) *Resolution power*, (MI) *Marker Index* dan (PIC) *Polymorphism information* diketahui primer terbaik adalah primer 812 dan primer yang palinh lemah performanya adalah primer 880.

4.3 Analisis Hubungan Keragaman Genetik *S. oleosa* dengan Lingkungannya

Setelah diketahui terdapat keragaman gen pada tanaman *S. oleosa*. Selanjutnya perlu ditinjau kaitan antara keragaman genetik tersebut berpengaruh dengan keadaan lingkungan hidupnya. Berikut adalah paparan data abiotik tiap lingkungan sample pada tabel 4.3 Data Abiotik Lingkungan:

Tabel 4.3.1 Data Abiotik Lingkungan

Asal	suhu			kelembapan tanah			pH	Intensitas cahaya tanah			kelembapan udara			intensitas Cahaya		
CD	29.5	30	30.5	4	5.8	6.3	7.5	200	250	225	68	75	79	600	655	679
BL	28	30	30.8	1.8	3.4	3.6	6.5	200	235	300	67	68	70	400	520	540
VT	27.6	28	28.8	5.6	6	6.7	7	600	738	800	77	80	80	662	759	1059
TD	28	27.5	29	1	3	3	7.6	200	150	155	70	78	79	660	630	678
TSK	28	28.3	29.6	3	4.5	4	7.8	230	390	400	72	78	80	500	680	755
SK	29.3	29.8	29.6	2	4.2	4.4	8	450	580	600	65	68	69	698	841	1278
GL	28.6	28.9	29.8	3.5	3.8	5	7	400	600	630	70	77	80	790	1056	1420
TR	29.6	30.7	30.9	5	5.5	6.8	7.5	400	992	1000	68	75	80	1278	1569	3700

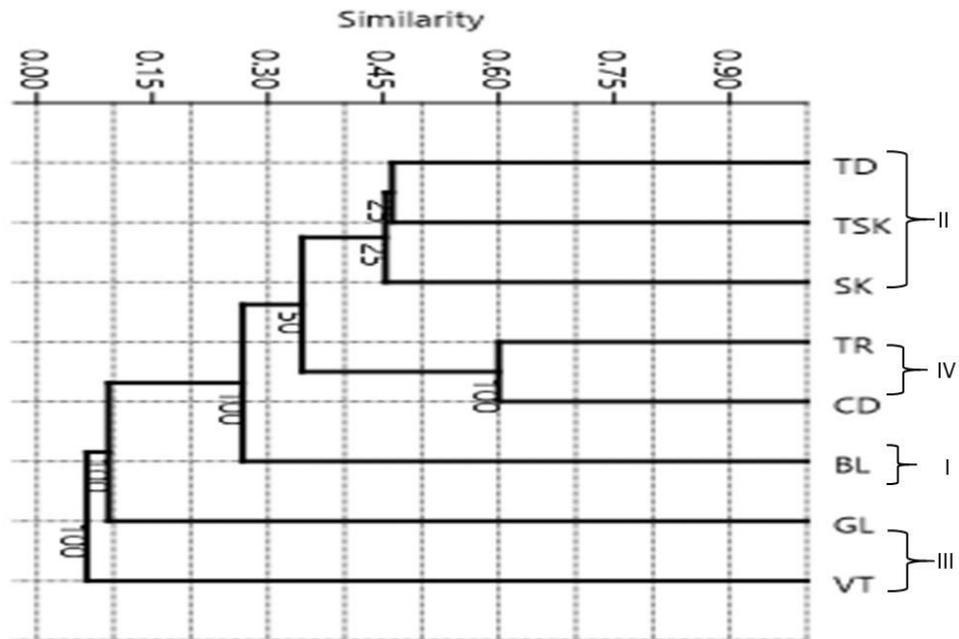
Keragaman genetik kemudian diamati berdasarkan kesamaan sifat antar aksesi. Melihat kesamaan antar aksesi *S. oleosa*. Digunakan koefisien dice *similarity* sebab similaritas ini umum dalam ilmu matematika dipakai untuk menguji kesamaan antara dua *vector* informasi dari dua tipe model data yang berbeda (Chahal, 2016). Karena kemampuannya dalam melihat kesamaan antara dua data yang memiliki rentang perbedaan yang besar. Maka dipilih untuk menganalisis similaritas hasil data biner yang telah didapatkan sebab telah diketahui memiliki perbedaan polimorfisme tinggi. Hasil analisis kemudian dapat dilihat dalam tabel Tabel 4.4 Similaririta sampel *S. oleosa*.

Tabel 4.4.2 Similaritas Sampel *S. oleosa*

	CD	BL	VT	TD	TSK	SK	GL	TR
CD	1.							
BL	0.21	1.						
VT	0	0	1.					
TD	0.38	0.32	0.20	1.				
TSK	0.21	0.35	0.17	0.46	1.			
SK	0.34	0.24	0	0.46	0.44	1.		
GL	0.09	0	0	0.11	0.18	0	1.	
TR	0.60	0.21	0.09	0.38	0.41	0.34	0.18	1.

Berdasarkan paparan tabel diatas diketahui koefisien similaritas tertinggi adalah 0.60 yaitu anatar TR dan CD. Koefisien tertinggi ke dua dimiliki oleh aksesii anantara TD dan TSK serta TD dan SK. Ketiga aksesii ini berada dalam satu cluster yang sama. amenghasilkan beberapa pita gen yang sama pada primer 812, 818, 842, dan 880. Nilai similaritas yang besar menunjukkan aksesii berkerabat sangat dekat atau memiliki kesamaan sifat genetik paling banyak diantara aksesii lainnya. Aksesii dengan nilai similaritas paling kecil adalah DR dengan indeks similaritas 0 sebanyak tiga buah. Skor similaritas menunjukkan kedekatan genetik antar aksesii. Semakin skor mendekati 1 maka hubungan kekerabatan genetik semakin besar namun semakin mendekati 0 maka hubungannya semakin jauh (Bag, Kumar, & Tiwari, 2019).

Data similaritas ini kemudian digunakan untuk membuat kladogram. Aksesii dengan similaritas yang besar akan diletakkan dalam satu grub. Semakin jauh nilai similaritas akan semakin jauh pula jarak posisi suatu aksesii. Hasil kladogram sebagai berikut dapat dilihat pada Gambar 4.3 Dendogram hasil analisis gen *S. oleosa* menggunakan primer ISSR.



Gambar 4.3. Dendrogram Hasil Analisis Gel Cluster I Nikel (NK), cluster II Tidar (TD), Talangsuko (TSK), Sukun (SK), Cluster III (GL,VT), Cluster IV Turen (TR), Candi (CD).

Setelah data biner dianalisis dengan menggunakan similaritas dice terbentuklah empat klaster. Digunakan nilai bootstrap untuk menentukan klaster. Nilai bootsrap digunakan untuk menguji dua model data dimana nilai haruslah > 50 % Dharmayanti (2011) dalam (Hernawati, 2013). Maka nilai bootsrap < 50% tidak dimasukkan dalam sebuah klaster. Penentuan klaster dibantu oleh program PAST dengan hasil sebagai berikut.

Klaster pertama hanya ditempati oleh satu aksesi dengan nilai boot paling kecil dari aksesi lainnya. Klaster ini berisi aksesi BL (460 m dpl). Tanah disekitar pengambilan sampel memiliki keasaman lemah yakni 6,5 namun dibanding daerah pengambilan sampel lainnya daerah ini memiliki keasaman paling tinggi. Pada aksesi ini juga terdapat pita yang hanya teramplifikasi pada aksesi BL saja. Pita tersebut ada pada primer 808 dengan ukuran 350 bp, primer 812 ukuran pita 500

bp, dan primer 818 ukuran pita 600 bp. Munculnya pita yang berbeda ini dikarenakan kemampuan ISSR dalam mendeteksi variasi genetik pada daerah yang sensitif akan perubahan yaitu daerah mikrosatelit. Dimana Laju perubahan evolusioner dalam mikrosatelit jauh lebih tinggi dari pada kebanyakan tipe DNA lainnya, (Reddy et al., 2002).

Klaster ke dua diisi oleh aksesori TD (640 m dpl), TSK (420 m dpl) dan SK(450 m dpl). Ketiga aksesori ini memiliki rentang pH yang relatif mirip yaitu TD (7,6), TSK (7,8) dan SK (8). Klaster ke tiga diisi oleh aksesori GL (383 m dpl) dan VT (500 m dpl). Kedua aksesori dari klaster ke tiga memiliki pH netral yakni 7 dan kelembapan tanah yang cukup mirip diantara kedua daerah aksesornya. Klaster terakhir ditempati oleh aksesori TR (366 m dpl) dan CD (560 m dpl). Kedua aksesori klaster empat memiliki pH yang sama yakni 7.5 dan kelembapan tanah yang tidak berbeda jauh serta lebih tinggi dibanding daerah aksesori lainnya.

Dari hasil analisis data band diketahui setiap klaster memiliki kemiripan lingkungan hidupnya. Meskipun faktor abiotik yang diamati tidak semuanya mampu merepresentasikan hubungan pada tiap klaster yang terbentuk. Namun pH tanah secara tidak langsung merepresentasikan pengelompokan kelompok klaster. Perbedaan pH pada lingkungan dapat disebabkan banyak hal. Hal tersebut akibat tingkat asam dan basa tanah juga mempengaruhi bentuk unsur kimia tanah dan konsentrasinya. Ketersediaan unsur kimia tanah akan mempengaruhi metabolisme organisme yang menjadikan tanah sebagai substratnya (Fierer & Jackson, 2006). Penelitian (Bargali, Shukla, Singh, Ghosh, & Lakhera, 2015) memaparkan bahwa germinasi biji *S.oleosa* pada tanah yang diberikan asam nitrat, asam pospat dan potassium memiliki kenaikan mikroorganisme pemfiksasi senyawa seiring

konsentrasi dari peningkatan ketiga senyawa yang diberikan. Mikroorganisme pemfiksasi yang berhasil diidentifikasi antara lain *azotobacter*, *vasicular arbuscular*, *mycorrhizae*, dan *phosphobacteria*. Dalam penelitian ini dibuktikan bahwa pH tanah mempengaruhi komunitas mikroba tanah yang membantu menyuplai nutrisi yang dibutuhkan pada saat germinasi biji *S. oleosa*.

Kondisi pH tanah sangat berpengaruh kepada komunitas mikroorganisme tanah yang berperan penting dalam fiksasi unsur-unsur biotik dan abiotik yang dibutuhkan tanaman *S.oleosa*.. Salah satu unsur penting bagi tumbuhan adalah Nitrogen. Merupakan unsur penting dalam metabolisme protein tumbuhan. Namun tanaman tidak dapat langsung mengfiksasi nitrogen bebas diudara maupun ditanah. Disinilah peran mikroorganism tanah bagi tumbuhan sebagai pemfiksasi Nitrogen. Populasi bakteri-bakteri tanah pemfiksasi Nitrogen sangat dipengaruhi oleh keadaan asam, basa substratnya. Menurut (Egamberdieva & Kucharova, 2008). Nitrogen adalah unsur penting dalam sintesis protein. Protein transport yang mengatur pendistribusian NO_3^- (Nitrat) dari tanah hingga masuk dalam organel sintesis protein dalam sel tumbuhan adalah protein AMT dan turunannya (Neuhäuser, Dynowski, & Ludewig, 2009). Namun bakteri pemfiksasi NO_3^- (Nitrat) menurun seiring dengan menurunnya pH tanah menjadi asam. Hal tersebut berkaitan dengan aktifitas enzim nitrogenase pada bakteri kinerja optimalnya ditentukan oleh pH (Egamberdieva & Kucharova, 2008). Sedangkan menurut (Kusumastuti, 2016) keasaman tanah akan menyebabkan NH_3 (amonia) menjadi NH_4^+ (amonium) apabila bakteri pemfiksasi nitrit pada amonium tidak sebanding dengan konsentrasi amonium. Sifat amonia akan menjadi sangat *toxic* bagi tumbuhan karena sifatnya tidak stabil dan reaktif. Apabila terjadi lonjakan NH_4^+

(amonium) akar tumbuhan akan mentranspor amonium kedalam tubuh. Agar terhindar dari toksisitas amonium tumbuhan mensintesis enzim Gln, Glu atau turunan reaksinya di sitosol. Enzim ini berfungsi berikatan dengan elektron bebas dari NH_4^+ (amonium) dan mentranspornya agar tidak mengganggu aktifitas sintesis protein dalam sel. Enzim *Gl dehydrogenases* juga merubah senyawa NH_4^+ (amonium) menjadi senyawa organik lain yang dapat disimpan oleh tumbuhan (Loqué, Ludewig, Yuan, & Von Wirén, 2005). Kemampuan dalam bertahan menghadapi cekaman pH dipengaruhi oleh ada tidaknya gen pengatur sifat tersebut pada tumbuhan. Hal tersebut merupakan salah satu bentuk keragaman sifat genetik sehingga terbentuklah kelompok-kelompok individu yang resisten terhadap cekaman pH rendah. Perubahan tersebut tidak bisa berjalan dalam waktu yang singkat. Pada penelitian (Abdel-Lateif & Hewedy, 2018) mengenai kemampuan ISSR dalam mendeteksi gen dan mengelompokkan gandum berdasarkan resistensinya terhadap cekaman salinitas. Pada penelitian lainnya juga menyatakan ISSR mampu melihat mutasi pada tumbuhan *Triticum aestivum* yang ditanam dalam stress salinitas (Mesrami A, 2016).

Namun ada banyak faktor yang memungkinkan terjadinya perubahan gen tanaman *S. oleosa*. Tiap sampel *S. oleosa* juga memiliki tipe ekosistem tumbuh yang berbeda yakni. *S.oleosa* yang diambil diwilayah jalan Tidar, Candi, Veteran dan Nikel memiliki ekosistem perkotaan yang padat penduduk. Sampel *S.oleosa* Talangsuko adalah pedesaan yang tidak padat penduduk. Dua sampel terakhir yakni Jalan Darmawangsa diambil di ekosistem persawahan dan Sampel di Jalan Panglima Sudirman desa Pidek di ekosistem Perkebunan jagung. Ekosistem yang beragam ini tentu akan memberikan faktor biotik dan abiotik yang berbeda-beda

bagi tumbuhan *S. oleosa*. Sehingga terdapat perubahan gen. Hal inilah yang kemudian memunculkan perbedaan antar tiap *band* aksesinya hingga menciptakan keragaman genetik. Keragaman genetik ini dapat terlihat dengan baik ditampilkan menggunakan primer ISSR yang digunakan. Dengan begitu dapat dikatakan bahwa ISSR mampu mengamati keragaman genetik tumbuhan *S. oleosa* akibat perbedaan lingkungan hidupnya.

Hasil tersebut sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah Al-A'raf ayat

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبُثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا
نَكِدًا ۚ كَذَلِكَ نَضْرِبُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

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.

Ayat ini menerangkan mengenai tanah yang baik adalah tanah yang subur dan mampu menunjang kehidupan di atasnya. Kata *الْبَلَدُ* terbentuk dari kata sifat yang memiliki makna “baik”. Menurut (Ath-Thabari, 2008) ayat ini menerangkan mengenai tanah yang baik yaitu tanah yang subur akan tumbuh berbagai jenis tanaman yang baik pula sifatnya. Ayat ini juga menyiratkan secara tersirat unsur tanah dan peranannya bagi tanaman yang hidup di atasnya (Shihab, 2002).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian keragaman genetik tumbuhan kosambi (*Schleichera Oleosa*) berdasar penanda molekuler issr (Inter Simple Sequence Repeat) Di Wilayah Malang Raya anatar lain sebagai berikut.

1. Dari hasil analisa tanaman *S. oleosa*. diwilayah Malang Raya memiliki keragaman genetik yang tinggi dengan persen 100 % polimorfik yang ditunjukkan oleh band-band polimorfik yang teramplifikasi.
2. Dari hasil tersebut dapat dipaparkan bahwa ke enam primer mampu mengamplifikasi band polimorfisme. Namun performa keenam primer berbeda dilihat dari (TNB), (EMR), (RP), (MI) dan (PIC) diketahui primer terbaik adalah primer B.
3. Dari hasil analisis similaritas dan kladogram terbentuklah empat klaster yaitu klaster 1 (BL), klaster 2 (SK, TSK dan TD), klaster 3 (GL dan CD), klaster 4 (TR dan VT) Dari semua faktor yang dianalisis yang cukup representatif adalah pH lingkungan tanah.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Perlu dilakukan analisis abiotik tanah yang lebih lengkap seperti masa air tanah, jenis tanah dan kandungan kimiawi tanah.
2. Perlu dilakukan analisis populasi sampel yang didapatkan tiap daerah agar lebih menjabarkan perubahan genetik tiap sampel.

3. Perlu ditambahkan analisis mikro biotik tanah sampel kosambi agar lebih memberikan informasi kaitan keragaman *S. oleosa* dengan lingkungannya.
4. Perlu dilakukan analisis keragaman *S. oleosa* di wilayah Malang Raya menggunakan primer ISSR yang lain.
5. Perlu dilakukan analisis ragam metode ekstraksi sampel agar didapatkan hasil ekstraksi yang paling baik.
6. Perlu ditambahkan marka yang lebih spesifik dalam mengamati Keanekaragaman kosambi di wilayah Malang Raya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Lateif, K. S., & Hewedy, O. A. (2018). Genetic diversity among Egyptian wheat cultivars using SCoT and ISSR markers. *Sabrao J. Breed, and Genet.*, 50(1), 36–45.
- Al-Maraghi. (1993). *Tafsir Al-Maragi*. Semarang: Toha Putra Semarang.
- Al-Qurtubi, S. I. (1993). *Tafsir Al Qurthubi*. Semarang: Toha Putra Semarang.
- Ali. (1989). *Terjemahan Tafsir Al Maraghi*. Semarang: Toha Putra Semarang.
- Ath-Thabari, A. J. M. bin J. (2008). *Jami' Al- Bayan an Ta'wil Ayi Al-Qur'an* (Y. dkk Somad, Abdul Hamdani, Ed.). Jakarta: Pustaka Azzam.
- Bag, S., Kumar, S. K., & Tiwari, M. K. (2019). An efficient recommendation generation using relevant Jaccard similarity. *J. Inf. sci.*, 483, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.ins.2019.01.023>
- Bargali, S. S., Shukla, K., Singh, L., Ghosh, L., & Lakhera, M. L. (2015). Leaf litter decomposition and nutrient dynamics in four tree species of dry deciduous forest. *Trop. Ecol.*, 56(2), 191–200.
- Barker, N. P., Vanderpoorten, A., Morton, C. M., & Rourke, J. P. (2004). Phylogeny, biogeography, and the evolution of life-history traits in *Leucadendron* (Proteaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 33(3), 845–860. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.07.007>
- Bazin, E., & Glémin, S. (2006). *Population Size Does Not Influence Mitochondrial Genetic Diversity in Animals Analysis of sequences by substitution mapping View project Adaptive potential of alpine tree species to climate change View project*. <https://doi.org/10.1126/science.1122033>
- Belaj, A., Satovic, Z., Cipriani, G., Baldoni, L., Testolin, R., Rallo, L., & Trujillo, I. (2003). Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. *Theor. Appl. Genet.*, 107(4), 736–744. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1301-5>
- Carroll, S. P., & Loye, J. E. (2012). Soapberry Bug (Hemiptera: Rhopalidae: Serinethinae) Native and Introduced Host Plants: Biogeographic Background of Anthropogenic Evolution. *Arthropod Syst Phylogeny.*, 105(5), 671–684. <https://doi.org/10.1603/an11173>
- Carsono, N., Lukman, P. N., Damayanti, F., Susanto, U., & Sari, S. (2014). Identifikasi Polimorfis Marka-Marka Molekuler Yang Diduga Berkaitan Dengan Karakter Daya Hasil Tinggi Pada 30 Genotip Padi. *Chimica et Natura Acta*, 2(1), 91–95. <https://doi.org/10.24198/cna.v2.n1.9141>
- Casacuberta, E., & González, J. (2013). The impact of transposable elements in environmental adaptation. *Mol. Ecol.*, 22(6), 1503–1517. <https://doi.org/10.1111/mec.12170>
- Chahal, M. (2016). Information Retrieval using Dice Similarity Coefficient. *Int. J. Adv. Sci. Technol.*, 6 (6), 72–75.
- Chase, M. W., & Reveal, J. L. (2009). A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot. J. Linn Soc.*, 161(2), 122–127. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.01002.x>
- Climate-Data.org. (2019). Climate: Malang Regency and Malang. Retrieved March 8, 2020, from <https://en.climate-data.org/asia/indonesia/east-java>
- de Vienne, D., & Causse, M. (2003). *Mapping and characterization of quantitative*

- trait loci. Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology*. Plymouth, UK: D. de Vienne (ed) Science Publishers, Inc.
- Dorado, G., Besnard, G., Unver, T., & Hernández, P. (2019). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Biomed Mater Eng*, 1–3(6), 473–492. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.08997-2>
- Egamberdieva, D., & Kucharova, Z. (2008). Cropping effects on microbial population and nitrogenase activity in saline arid soil. *Turk J Botany*, 32(2), 85–90.
- Ekstraksi, O., Dan, D. N. A., & Grevillea, P. P. (2014). Optimalisasi Ekstraksi Dna Dan Pcr-Rapd Pada Grevillea Spp. (Proteaceae). *Jurnal Biologi*, 13(1).
- Estoup, A., Jarne, P., & Cornuet, J. M. (2002, September). Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Mol. Ecol.*, Vol. 11, pp. 1591–1604. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01576.x>
- Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103(3), 626–631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Ford, E. . (1965). *Genetic polymorphism*. London: Faber & Faber.
- Foundation Gujarat Forestry Research. (2016). *Schleichera oleosa*. *E-Flora of Gandinagar*, 8235, 22–37.
- G-L, J. (2013). Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. *InTech*. <https://doi.org/http://dx.doi.org.10.5772/52583>
- Gallucci, M., & Perugini, M. (2007). The marker index: A new method of selection of marker variables in factor analysis. *TPM - TPM Test Psychom Methodol Appl Psychol*, 14(1), 3–25.
- Gorji, A. M., Poczai, P., Polgár, Z., & Taller, J. (2011). Efficiency of Arbitrarily Amplified Dominant Markers (SCOT, ISSR and RAPD) for Diagnostic Fingerprinting in Tetraploid Potato. *Am. J. Potato Res.*. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9187-2>
- Goulão, L., Monte-Corvo, L., & Oliveira, C. M. (2001). Phenetic characterization of plum cultivars by high multiplex ratio markers: Amplified fragment length polymorphisms and inter-simple sequence repeats. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 126(1), 72–77. <https://doi.org/10.21273/jashs.126.1.72>
- Goulão, Luís, & Oliveira, C. M. (2001). Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. In *Euphytica* (Vol. 122).
- Grandgirard, J., Poinsot, D., Krespi, L., Nénon, J. P., & Cortesero, A. M. (2002). Costs of secondary parasitism in the facultative hyperparasitoid *Pachycrepoideus dubius*: Does host size matter? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103(3), 239–248. <https://doi.org/10.1023/A>
- He, T., Lamont, B. B., & Downes, K. S. (2011). *Banksia* born to burn. *New Phytologist*, 191(1), 184–196. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03663.x>
- Hernawati, R. T. (2013). (*Decapoda*) Di Sungai Cijalu Kecamatan Majenang Kabupaten Kekerabatan Crustacea (*Decapoda*) Di Sungai Cijalu. (June).
- Indriani Maya Sari Sembiring, L. A. P. P., & Setiado, H. (2015). Aplikasi Penanda Lima Primer RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) untuk Analisis Keragaman Genetik. 4(1), 1748–1755.

- Indried Pantilu, L., Mantiri, F. R., Song Ai, N., Pandiangan, D., Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, A., & Biologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, J. (2012). *Respons Morfologi dan Anatomi Kecambah Kacang Kedelai (Glycine max (L.) Merrill) terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda (Morphological and Anatomical Responses of The Soybean (Glycine max (L.) Merrill) Sprouts to The Different Light Intensity)*. 2, 1. <https://doi.org/https://doi.org/10.35799/jbl.2.2.2012.1044>
- Iwasa, S. (1997). *Schleichera oleosa (Lour.) Oken* (van der Maesen, Faridah Hanum & L.J.G, Ed.). Retrieved from http://www.proseanet.org/prosea/e-prosea_detail.php?frt=&id=3040
- Jatim.bps.go.id. (2018). Jumlah Penduduk dan Laju Pertumbuhan Penduduk Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Jawa Timur, 2010, 2016 dan 2017. Retrieved March 8, 2020, from jatim.bps.go.id.
- Joshi, S. P., Gupta, V. S., Aggarwal, R. K., Ranjekar, P. K., & Brar, D. S. (2000). Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theor. Appl. Genet.*, 100(8), 1311–1320. <https://doi.org/10.1007/s001220051440>
- Kantartzi, S. K., & Walker, J. M. (2013). *Microsatellites IN* (S. K. Kantarzi, Ed.). Southern Illinois: Springer.
- Khan, M. J., Saraf, S., & Saraf, S. (2017). Anti-inflammatory and associated analgesic activities of HPLC standardized alcoholic extract of known ayurvedic plant *Schleichera oleosa*. *J Ethnopharmacol*, 197, 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.08.021>
- Kusumastuti, B. diah dll. (2016). *Pengaruh Fluktuasi Salinitas Terhadap Nitrifikasi Oleh Bakteri Yang Diambil Pada Muara Sungai Banjir Kanal Timur*. 68–70.
- Leksono, A. S. (2010). *Keanekaragaman hayati*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Levine, M., & Davidson, E. H. (2005). Gene regulatory networks for development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102(14), 4936–4942. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408031102>
- Liu, Z. J., & Cordes, J. F. (2004). DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238(1–4), 1–37. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.027>
- Long, Y., Cheng, J., Mei, Z., Zhao, L., Wei, C., Fu, S., ... Fu, J. (2015). Genetic analysis of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) in southern China by improved random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeat (ISSR). *Molecular Biology Reports*, 42(1), 159–166. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3755-8>
- Loqué, D., Ludewig, U., Yuan, L., & Von Wirén, N. (2005). Tonoplast intrinsic proteins AtTIP2;1 and AtTIP2;3 facilitate NH₃ transport into the vacuole. *J. Plant Physiol.*, 137(2), 671–680. <https://doi.org/10.1104/pp.104.051268>
- Luo, M., Xu, Z., Hirsch, T., Aung, T. S., Xu, W., Ji, L., ... Ma, K. (2021). The use of Global Biodiversity Information Facility (GBIF)-mediated data in publications written in Chinese. *Glob. Ecol. Conserv.*, 25, e01406. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01406>
- Mahar, Kamalesh S, Man Palni, L. S., Ranade, S. A., Pande, V., & Rana, T. S. (2017). *Molecular analyses of genetic variation and phylogenetic relationship in Indian soap nut (Sapindus L.) and closely related taxa of the family*

- Sapindaceae*. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2017.04.009>
- Mahar, Kamalesh Singh, Rana, T. S., Ranade, S. A., & Meena, B. (2011). Genetic variability and population structure in *Sapindus emarginatus* Vahl from India. *Gene*, 485(1), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.05.036>
- McEwen, J. E., Boyer, J. T., Sun, K. Y., Rothenberg, K. H., Lockhart, N. C., & Guyer, M. S. (2014). The ethical, legal, and social implications program of the National Human Genome Research Institute: reflections on an ongoing experiment. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 15.
- Mesrami A, H. N. S. Y. A. dan H. S. (2016). رگناشن یلوکلوم ISSR یسررب عونت یکینتئر. نان اب هداقتسا زا. *Resources, Natural, Vol 11, Nu*.
- Munif, M. dkk. (2004). *Polimorfisme Genetik Dari Anopheles Barbirostris Kaitannya Dengan Prevalensi Malaria.Pdf*. 23 no 1.
- Nagaraju, J., Reddy, K. D., Nagaraja, G. M., & Sethuraman, B. N. (2001). Comparison of multilocus RFLPs and PCR-based marker systems for genetic analysis of the silkworm, *Bombyx mori*. *Heredity*, 86(5), 588–597. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00861.x>
- Nagy, S., Poczai, P., Cernák, I., Gorji, A. M., Hegedűs, G., & Taller, J. (2012). PICcalc: An online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochem. Gen.*, 50(9–10), 670–672. <https://doi.org/10.1007/s10528-012-9509-1>
- Neuhäuser, B., Dynowski, M., & Ludewig, U. (2009). Channel-like NH₃ flux by ammonium transporter AtAMT2. *FEBS Letters*, 583(17), 2833–2838. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.07.039>
- Nurcahya Mariandayani, H. (2012). Volume 1 Nomor 1 keragaman kucing domestik(felis domesticus) berdasarkan morfogenetik. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 1(1), 10.
- Pardal, S. J., Rahayu, V. R., Nugroho, K., & Suharsono, S. (2020). Analisis Keragaman Genetik Galur Kedelai Transgenik Toleran Cekaman Aluminium dan Varietas Non-Transgenik Berdasarkan Marka SSR. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 4(3), 171. <https://doi.org/10.21082/jpntp.v4n3.2020.p171-177>
- Pearson, C. E., Edamura, K. N., & Cleary, J. D. (2005). *FOCUS ON REPEAT INSTABILITY REVIEWS REPEAT INSTABILITY: MECHANISMS OF DYNAMIC MUTATIONS*. 6, 729–742. <https://doi.org/10.1038/nrg1689>
- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J. P. T., & Hyvönen, J. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers: A review. *Plant Methods*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-6>
- Poerba, Yuyu Sursari Martianti, D. (2008). Genetic variability of *Amorphophallus muelleri* Blume in Java based on Random Amplified Polymorphic DNA. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 9(4), 245–249. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090401>
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., & Rafalski, A. (1996). *Jobjoba(Issr-Rapd-1996).Pdf*. *Mol. Breed.*, 2, 225–238.
- Prevost, A., & Wilkinson, M. J. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 98(1), 107–112. <https://doi.org/10.1007/s001220051046>
- Purnomo, E., & Ferniah, R. S. (2018). Polimorfisme Cabai Rawit dan Cabai Gendot dengan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

- Menggunakan Primer OPA-8. *Berkala Bioteknologi*, 1(1), 1–5.
- Reddy, M. P., Sarla, N., & Siddiq, E. A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. In *Euphytica* (Vol. 128).
- Rimbawanto, A. (2006). *Genetic improvement of Melaleuca cajuputi subsp cajuputi View project Implementing a DNA Timber Tracking System in Indonesia View project*. <https://doi.org/10.20886/jpht.2006.3.3.149-154>
- Sax, K. (1923). Association of size differences with seedcoat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics*. [https://doi.org/8:552–560](https://doi.org/8:552-560)
- Shihab, Q. (2002). *Tafsir Al-Mishbah*. Jakarta: Lentera hati.
- Silitonga, A. S., Masjuki, H. H., Mahlia, T. M. I., Ong, H. C., Kusumo, F., Aditiya, H. B., & Ghazali, N. N. N. (2015). *Schleichera oleosa* L oil as feedstock for biodiesel production. *Fuel*, 156, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.04.046>
- Singh, B. D., & Singh, A. K. (2015). Marker-assisted plant breeding: Principles and practices. In *Marker-Assisted Plant. Breed.: Principles and Practices*. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2316-0>
- Situmeang, B., Nuraeni, W., Ibrahim, A. M., & Silaban, S. (2016). Analysis of secondary metabolite compounds from leaves extract kesambi (*Schleichera oleosa*) and antioxidant activity test. *Pendidikan Kimia*, 8(3), 164–168.
- Sofro, A. S. M. (1994). *Keanekaragaman genetik*. Jakarta: Andi.
- Song, Z., Li, X., Wang, H., & Wang, J. (2010). Genetic diversity and population structure of *Salvia miltiorrhiza* Bge in China revealed by ISSR and SRAP. *Genetica*, 138(2), 241–249. <https://doi.org/10.1007/s10709-009-9416-5>
- Steenis, C. van. (1981). *Flora, untuk sekolah di Indonesia*. Jakarta: PT Pradnya Paramita.
- Sulistiyawati, P., & Widyatmoko, A. Y. P. B. C. (2015). Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. *Keragaman Genetik Populasi Kayu Merah (Pterocarpus Indicus Willd) Menggunakan Penanda Random Amplified Polymorphism Dna*, 11(1), 67–76.
- Syanthiqi, S. (2007). *Tafsir Abqa'ul Bayan*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- T, C. (2007). No Title So Dryandra becomes Banksia —what's all the fuss about? Aust Plants. Retrieved from <http://anpsa.org.au/APOL2007/aug07-1.%0Ahtml>)
- Terryana, R. T., Ningrum, N. D. S. A., Nugroho, K., Saptadi, D., Kurniawan, H., & Lestari, P. (2020). Genetic Diversity Analysis and Development of DNA Fingerprints of 20 Indonesian Local Chili Pepper Varieties Based on SSR Markers. *Jurnal AgroBiogen*, 16 (2), 45. <https://doi.org/10.21082/jbio.v16n2.2020.p45-58>
- Thoday, J. (1961). Location of polygenes. *Nature*. [https://doi.org/191:368–370](https://doi.org/191:368-370)
- Thomson, E. J., Boyer, J. T., & Meslin, E. M. (1997). The ethical, legal, and social implications research program at the National Human Genome Research Institute. *Kennedy Inst Ethics J*, 7 (3), 291–298.
- Xi, M., Sun, L., Qiu, S., Liu, J., Xu, J., & Shi, J. (2012). In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (*Lilium longiflorum*). *Plant Cell Rep.*, 31(6), 1043–1051. <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1222-8>
- Xu, Y. (2010). *Mol. plant breed*. Wallingford: CAB International.

Lampiran 1

Tabel 1 Data Urutan Primer

	CD	NK	VT	TD	TSK	MG	DR	PS	Ukuran
	0	1	0	1	0	0	0	0	400
A	0	1	0	0	0	0	0	0	350
	1	1	0	0	0	0	0	0	300
B	0	0	0	0	0	0	0	1	1000
B	1	0	0	0	0	1	0	0	800
	0	1	0	0	0	0	0	0	500
	1	0	0	1	0	1	0	1	400
	1	0	0	0	0	1	0	1	430
	0	0	1	1	1	0	0	1	400
	0	0	0	1	0	1	0	0	380
	1	0	0	0	0	0	0	1	260
	1	1	0	1	1	0	0	1	200
C	1	0	0	0	0	0	0	1	1030
	0	1	0	0	0	0	0	0	600
	1	0	0	0	0	0	0	1	450
	0	0	0	0	0	1	0	1	400
	1	1	0	1	1	1	0	1	350
	1	0	0	0	0	0	0	0	250
	0	1	0	1	1	1	0	1	240
	1	0	0	0	0	0	0	1	200
	0	0	0	1	1	1	0	0	190
D	0	0	0	0	0	0	0	1	800
	0	0	0	0	0	0	0	1	700
	0	0	0	0	1	0	0	1	400
	0	0	1	0	0	0	0	0	360
	0	0	0	0	0	1	0	0	250
	0	0	1	1	0	0	0	0	200
E	1	0	0	0	0	0	0	1	700
	1	0	0	0	0	0	0	1	350
	0	0	0	1	0	0	0	0	300
	1	0	0	1	0	0	0	1	280
	1	0	0	0	0	0	0	0	250
	1	0	0	0	0	0	0	0	200
	1	0	0	1	0	0	0	0	150
F	0	0	0	1	0	0	0	0	900
	0	0	0	1	0	0	0	0	550
	1	0	0	0	0	0	0	0	390
	1	0	0	1	1	1	0	0	350
	0	0	0	0	1	0	1	1	300

	1	0	0	1	0	0	1	1	250
	0	0	0	1	0	0	0	0	220

Lampiran 2

Gambar 1. Visualisasi Uji Kualitatif Genomik Sampel

