

KEBERAGAMAN GENETIK KERABAT RAMBUTAN LIAR (*NEPHELIUM* SPP.) DI KABUPATEN SANGGAU, KALIMANTAN BARAT BERDASARKAN MARKA SSR DAN ISSR

Christyne SPLS Napitu, Tatik Chikmawati* & Nina Ratna Djuita
Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga, Bogor
*E-mail: tchikmawati@yahoo.com

Christyne SPLS Napitu, Tatik Chikmawati & Nina Ratna Djuita. 2016. Genetic Diversity of Wild Rambutans (*Nephelium* spp.) in Sanggau Regency, West Kalimantan Based on SSR and ISSR Markers. *Floribunda* 5(4): 115–125. — This study aimed to determine the genetic diversity of wild rambutans from Sanggau Regency (West Kalimantan) based on SSR and ISSR markers. Plant materials were collected from five subdistricts: Bonti, Jangkang, Parindu, Mukok and Kapuas, in Sanggau Regency. There were four species of wild rambutans with five varieties, namely *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *eriopetalum*, *N. cuspidatum* var. *robustum*, *N. lappaceum* var. *lappaceum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides*, *N. rubescens* and *N. uncinatum* found in the research site. The highest genetic diversity from the samples based on SSR markers was found in Jangkang ($He=0.27$) and the highest genetic diversity based on ISSR was found in Bonti ($He=0.18$). Cluster analysis using *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) method and coefficient *Simple Matching* (SM) based on SSR and ISSR showed that there were high similarity among species of wild rambutans in Sanggau Regency, West Kalimantan with similarity index ranged 0.5–1.0.

Keywords: Genetic diversity, ISSR, *Nephelium*, SSR, wild rambutans.

Christyne SPLS Napitu, Tatik Chikmawati & Nina Ratna Djuita. 2016. Keberagaman Genetik Kerabat Rambutan Liar (*Nephelium* spp.) di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat Berdasarkan Marka SSR dan ISSR. *Floribunda* 5(4): 115–125. — Penelitian ini bertujuan mengetahui keberagaman genetik rambutan liar yang berasal dari Kabupaten Sanggau (Kalimantan Barat) berdasarkan marka SSR dan ISSR. Pengambilan sampel diperoleh dari 5 Kecamatan: Bonti, Jangkang, Parindu, Mukok dan Kapuas, di Kabupaten Sanggau. Empat jenis rambutan liar beserta lima varietasnya yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *eriopetalum*, *N. cuspidatum* var. *robustum*, *N. lappaceum* var. *lappaceum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides*, *N. rubescens* dan *N. uncinatum* ditemukan di lokasi penelitian. Keberagaman genetik dengan nilai heterozigositas tertinggi berdasarkan marka SSR terdapat di Jangkang ($He=0,27$) dan berdasarkan marka ISSR terdapat di Bonti ($He=0,18$). Hasil analisis kelompok menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) dan koefisien indeks similaritas *Simple Matching* (SM) berdasarkan data SSR dan ISSR menunjukkan adanya tingkat kemiripan yang tinggi antara jenis rambutan liar di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat dengan nilai koefisien kemiripan 0,5–1,0.

Kata kunci: Keberagaman genetik, ISSR, *Nephelium*, SSR, rambutan liar.

Kerabat rambutan liar (*Nephelium* spp.) termasuk dalam anggota suku lerak-lerakkan (*Sapindaceae*) yang buahnya dapat dimanfaatkan untuk buah segar, buah kalengan atau dalam bentuk selai. Bagian buah yang dapat dimakan adalah arilus. Selain buah, batang pohon juga dapat dimanfaatkan sebagai kayu untuk pemakaian lokal seperti untuk konstruksi ringan dan kayu bakar (Middleton 2000). Kerabat rambutan liar tumbuh liar di alam dan tidak secara khusus ditanam untuk dikonsumsi oleh masyarakat setempat.

Sebanyak 22 jenis *Nephelium* diketahui tersebar di seluruh dunia, 16 jenis di antaranya ter-

dapat di Kalimantan dan delapan jenis termasuk tumbuhan endemik (Siebert 1992). Akan tetapi berdasarkan studi pada tahun 2004, hanya ditemukan delapan jenis *Nephelium* di Kalimantan yaitu *N. cuspidatum* Blume var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* Blume var. *eriopetalum* (Miq.) Leenh., *N. lappaceum* L., *N. maingayi* Hiern., *N. meduseum* Leenh., *N. melanomiscum* Radlk., *N. ramboutan-ake* (Labill.) Leenh., *N. reticulatum* Radlk., *N. uncinatum* Radlk.ex Leenh. dan dua di antaranya endemik yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* dan *N. reticulatum* (Uji 2004). Berdasarkan data tersebut, Pulau Kalimantan dianggap sebagai pusat

keberagaman *Nephelium*.

Informasi keberagaman genetik kerabat rambutan liar sangat berpotensi untuk perbaikan genetik jenis yang telah dibudidayakan seperti *N. lappaceum* (Buerki *et al.* 2009). Informasi ini dapat diperoleh dengan analisis berbasis PCR dengan menggunakan marka molekuler. Marka molekuler dapat memberikan informasi yang relatif lebih akurat karena sifat genetik cenderung stabil pada perubahan lingkungan dan tidak dipengaruhi oleh umur (Julisaniah dkk. 2008). Marka SSR dan ISSR merupakan dua marka molekuler yang telah banyak digunakan untuk mendeteksi keberagaman genetik tumbuhan (Godwin *et al.* 1997)

Marka SSR atau mikrosatelit merupakan salah satu penanda DNA yang mempunyai sekuen sederhana, terdiri atas satu sampai enam basa yang berulang (Brondani *et al.* 1998). Keberadaan SSR yang cukup melimpah dalam genom tumbuhan, bersifat kodominan dan sangat polimorfik membuat marka ini banyak digunakan peneliti untuk pemetaan genetik dan analisis keberagaman genetik pada tingkat jenis (Bennett 2000). Marka ini cocok dipakai untuk mendeteksi keberagaman alel yang tinggi dan mudah diaplikasikan dengan menggunakan proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Marka SSR telah digunakan untuk karakterisasi dan pemetaan genetik anggota *Sapindaceae* yaitu tanaman leci (*Litchi chinensis* Sonn.), tanaman *Acer okamotoanum* dan *A. miyabei* (Madhou *et al.* 2013; Takayama *et al.* 2011; Saeki *et al.* 2015).

Marka ISSR merupakan salah satu penanda dengan motif sekuen berulang berupa fragmen DNA dengan ukuran 100–3000 bp berlokasi di antara wilayah mikrosatelit. Marka ISSR merupakan *semiarbitrary marker* yang komplemen de-

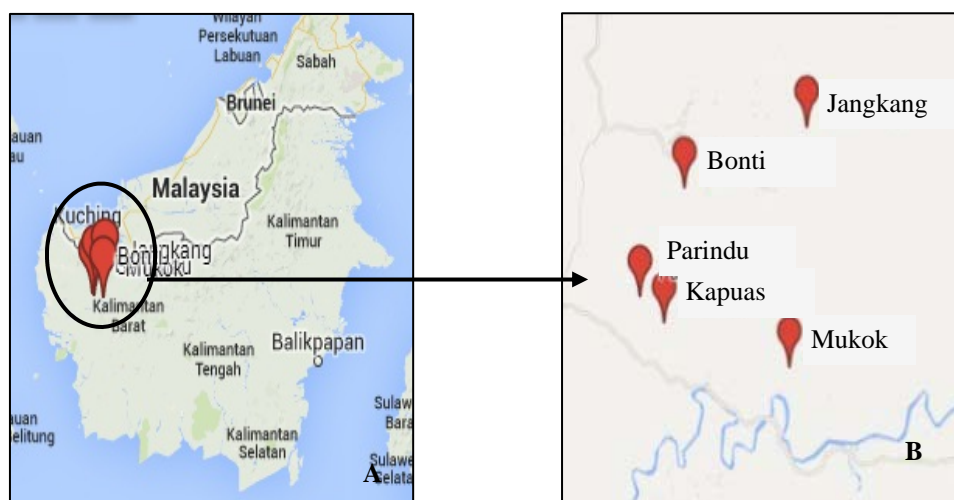
ngan SSR, dapat digunakan untuk menganalisis keberagaman genetik pada tingkat takson yang rendah (marga dan jenis), tingkat polimorfisme tinggi dan menghasilkan marka dominan (Zietkiewicz *et al.* 1994; Mishra *et al.* 2003). Marka ISSR juga telah digunakan untuk pemetaan genetik anggota *Sapindaceae*, di antaranya tanaman kapulasan (*Nephelium ramboutan-ake*), *Dipteronia dyerana* dan longan (*Dimorcapus longan*) (Clyde *et al.* 2005; Qiu *et al.* 2007; Kungkow *et al.* 2010). Informasi keberagaman genetik kerabat rambutan liar yang berasal dari Kalimantan Barat dengan menggunakan marka SSR dan ISSR belum pernah dilaporkan. Penelitian ini mengkaji keberagaman genetik kerabat rambutan liar berdasarkan marka tersebut.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel *Nephelium* spp. dilakukan di Kecamatan Bonti, Jangkang, Parindu, Mukok dan Kapuas di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat (Gambar 1). Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Bogoriense, bidang Botani, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Ekstraksi DNA, proses PCR dan analisis data dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Laboratorium Terpadu, Departemen Biologi, FMI-PA IPB.

Dua macam sampel dikoleksi dari lapangan, satu sampel berupa 2–5 anak daun kerabat rambutan liar yang dimasukkan ke dalam plastik yang berisi *silica gel* untuk ekstraksi DNA dan satu sampel berikutnya berupa ranting daun majemuk untuk pembuatan herbarium.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel (A) Peta Pulau Kalimantan, (B) Peta lima lokasi pengambilan sampel. Diolah dari sumber : www.maps.google.com

Isolasi dan Amplifikasi DNA Kerabat Rambut-liar

Isolasi DNA kerabat rambut-liar mengikuti metode Doyle & Doyle (1990) dengan modifikasi memperbanyak waktu pengulangan untuk pu-

rifikasi atau pemurnian DNA. DNA genom total kerabat rambut-liar diamplifikasi dengan menggunakan dua pasang primer SSR dan dua primer ISSR (Tabel 1).

Tabel 1. Primer yang digunakan untuk analisis molekuler kerabat rambut-liar di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat

Marka molekuler	Nama Primer	Sekuen 5' - 3'	Suhu annealing (°C)
SSR	LMLY 6	<i>Forward</i> : AAG GAA TAA AGC TAT CAA TAA <i>Reverse</i> : GAT CTC TAT CTC ATC AAA CCT	46
	LMLY 12	<i>Forward</i> : GAA GCT GTC TTA CAC TCC AC <i>Reverse</i> : ACA AAC CTA GAA ACC AAA AG	46
ISSR	ISSR 3	CTC CTC CTC CTC AC	47,1
	ISSR 8	ACA CAC ACA CAC ACA CTA	51,1

Masing-masing primer diencerkan terlebih dahulu dengan ddH₂O dengan perbandingan 1:9. Kemudian larutan PCR untuk primer SSR disiapkan dengan menambahkan larutan 12,5 µL *GoTag Green Master Mix*, 1µL Primer *Forward* dan *Reverse*, 0,25µL BSA, 2µL DNA dan 8,25µL ddH₂O untuk 1 kali reaksi PCR dengan volume 25µL, sedangkan untuk menyiapkan amplifikasi DNA dengan primer ISSR hanya menggunakan 1µL primer ISSR dan 9,25µL ddH₂O, selain bahan tersebut bahan yang digunakan sama.

Amplifikasi DNA kerabat rambut-liar menggunakan mesin PCR *Thermocycle ESCO Swift Maxi* dan dilakukan sebanyak 35 siklus. Program suhu yang digunakan yaitu pra-denaturasi suhu 94 °C selama 5 menit, denaturasi suhu 94 °C selama 35 detik, *annealing* suhu 46 °C untuk primer SSR, suhu 47,1 °C untuk primer ISSR 3 dan suhu 51,1 °C untuk primer ISSR 8 masing-masing selama 35 detik, *extension* suhu 72 °C selama 10 menit dan *post-extension* suhu 72 °C selama 5 menit.

Visualisasi DNA Hasil PCR

Hasil amplifikasi DNA dengan PCR diamati dengan elektroforesis menggunakan gel *agarose* 2,5% untuk marka SSR atau gel *agarose* 1% untuk marka ISSR dalam 1x larutan penyangga TBE (Tris 0,89M, asam borat 0,89M dan EDTA 2mM). Visualisasi pita DNA menggunakan 8µL *Ethidium Bromide* (EtBr) kemudian dielektroforesis pada 75 volt, 200 mA selama 2 jam. Hasil elektroforesis diamati dengan menggunakan transiluminator dan didokumentasikan menggunakan *software Wise Capture*.

Analisis Data

Pita yang terdapat pada gel diasumsikan sebagai alel SSR atau ISSR. Berdasarkan ada tidaknya pita pada sampel, kemudian dibuat data biner. Keberagaman genetik dianalisis menggunakan *software* GenAIEx dan parameter yang digunakan untuk menandakan keberagaman genetik dalam populasi yaitu jumlah alel yang diamati (Na), jumlah alel efektif (Ne), nilai heterozigositas (He) dan persen lokus polimorfik (PLP) (Peakal & Smouse 2006; Finkeldey 2005). Kemiripan genetik di antara tanaman yang berbeda dianalisis kelompok menggunakan metode UPGMA dengan nilai koefisien kemiripan *Simple Matching* (SM) yang kemudian digunakan untuk membuat dendrogram menggunakan program NTSYSpc versi 2.02 (Rohlf 1998).

HASIL

Keberagaman Morfologi Kerabat Rambut-liar

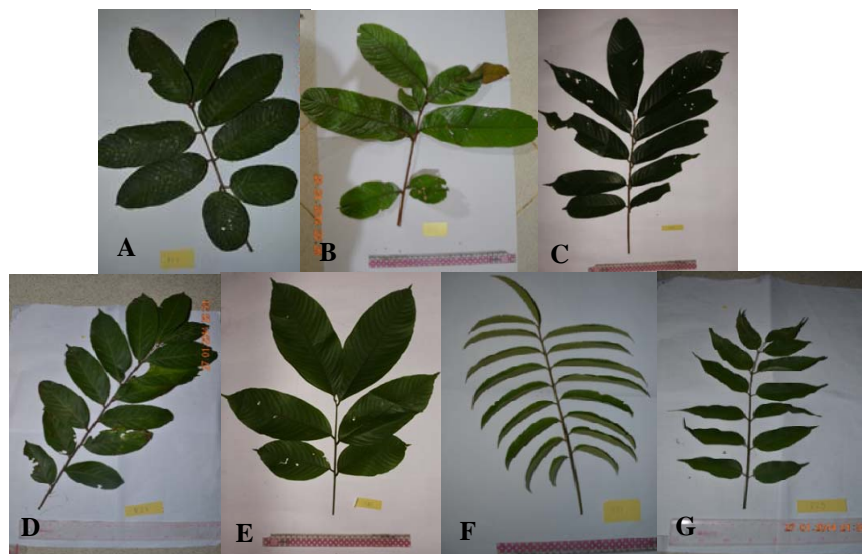
Hasil eksplorasi meliputi 34 individu rambut-liar yang terdiri atas empat jenis dan lima varietas yang ditemukan di lima kecamatan di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat. Lokasi habitat kerabat rambut-liar dapat ditemukan di hutan, tembawang (hutan yang dikelola oleh warga setempat), kebun dan halaman rumah warga (Tabel 2). Antara jenis dan varian rambut-liar bervariasi pada beberapa karakter daun, antara lain: tipe daun majemuk, bagian terlebar daun, bentuk, pangkal, ujung, permukaan atas dan permukaan bawah anak daun kerabat rambut-liar (Tabel 3 dan Gambar 2).

Tabel 2. Hasil eksplorasi kerabat rambutan liar di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat

No.	Nama ilmiah	Nomor koleksi	Nama lokal	Daerah persebaran (Kecamatan)	Habitat
1	<i>N. cuspidatum</i> var. <i>cuspidatum</i>	P14	Bakuel	Bonti	Halaman rumah warga
		P13	Takuel	Bonti	Halaman rumah warga
		P15	Bakuel	Bonti	Halaman rumah warga
		P24	Kedupai	Jangkang Mukok	Kebun
		P33	Tititdan	Mukok	Halaman rumah warga
		P36	Bekabuk	Parindu	Halaman rumah warga
		P49	Kedupai	Kapuas	Tembawang
		P82	Sibau Babi		Tembawang
2	<i>N. cuspidatum</i> var. <i>eripetalum</i>	P16	Bakuel	Bonti	Halaman rumah warga
3	<i>N. cuspidatum</i> var. <i>robustum</i>	P61,P62	Sibau Asli	Kapuas	Tembawang
		P63,P64	Sibau Asli	Kapuas	Tembawang
		P73,P74	Sibau Asli	Kapuas	Tembawang
		P81	Sibau Asli	Kapuas	Tembawang
4	<i>N. lappaceum</i> var. <i>lappaceum</i>	P27	Kedupai	Jangkang, Kapuas	Kebun
		P51	Sibau	Bonti,	Tembawang
5	<i>N. lappaceum</i> var. <i>xanthioides</i>	P12	Sibau	Parindu	Halaman rumah warga
		P42	Sibau	Kapuas	Tembawang
		P52,P54	Sibau	Kapuas	Tembawang
		P55,P56	Sibau	Bonti	Tembawang
6	<i>N. rubescens</i>	P17	Ranyink	Mukok	Halaman rumah warga
		P32	Ranyink	Jangkang	Halaman rumah warga
7	<i>N. uncinatum</i>	P21,P22	Sibau babi	Jangkang	Kebun
		P23,P25	Sibau babi	Jangkang	Kebun
		P26,P28	Sibau babi	Jangkang	Kebun
		P29,P11	Sibau babi		Kebun

Tabel 3. Keberagaman karakter morfologi daun kerabat rambutan liar

No.	Nama ilmiah	Tipe daun majemuk	Bagian terlebar daun	Bentuk, pangkal dan ujung anak daun	Tekstur permukaan atas, permukaan bawah anak daun
1	<i>N. cuspidatum</i> var. <i>cuspidatum</i>	Menyirip genap	Di tengah	Elips-jorong, tumpul-asimetri, runcing-meruncing	Halus, berbulu
2	<i>N. cuspidatum</i> var. <i>eripetalum</i>	Menyirip genap	Di tengah	Jorong, membulat, tumpul	Halus, halus
3	<i>N. cuspidatum</i> var. <i>robustum</i>	Menyirip genap	Di atas tengah	Jorong, tumpul, meruncing	Halus, berbulu
4	<i>N. lappaceum</i> var. <i>lappaceum</i>	Menyirip genap	Helai daun dari pangkal ke ujung sama lebarnya.	Elips, asimetri, meruncing	Halus, halus
5	<i>N. lappaceum</i> var. <i>xanthioides</i>	Menyirip genap	Di atas tengah	Elips, asimetri, runcing	Halus, halus
6	<i>N. rubescens</i>	Menyirip genap	Di atas tengah	Jorong, asimetri, meruncing	Halus, halus
7	<i>N. uncinatum</i>	Menyirip ganjil	Di bawah tengah	Bundar telur, asimetri, runcing	Halus, halus

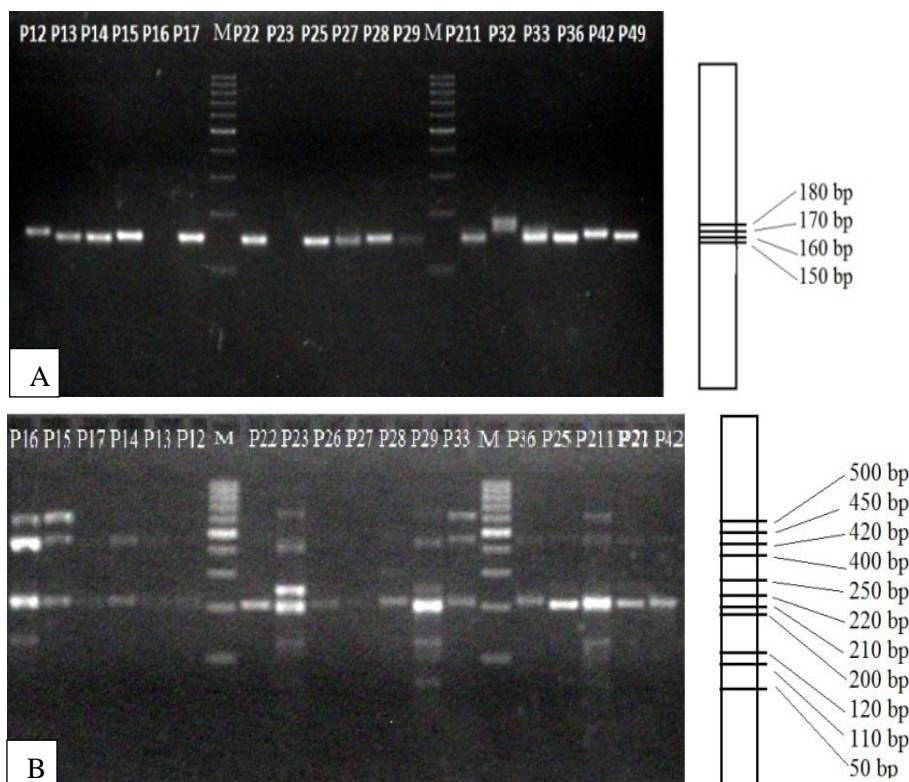


Gambar 2. Keberagaman morfologi anak daun pada kerabat rambutan liar (A) *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* (B) *N. cuspidatum* var. *eriopetalum* (C) *N. cuspidatum* var. *robustum* (D) *N. lappaceum* var. *lappaceum* (E) *N. lappaceum* var. *xanthioides* (F) *N. rubescens* (G) *N. uncinatum*.

Keberagaman Genetik Kerabat Rambutan Liar

Ukuran pita yang dihasilkan oleh primer SSR berkisar antara 50–600 bp. Primer SSR LMLY 6 menghasilkan lima pita polimorfik, sedangkan primer LMLY 12 menghasilkan 11 pita

polimorfik (Gambar 3). Ukuran pita yang dihasilkan oleh primer ISSR berkisar antara 120–550 bp. Primer ISSR 3 menghasilkan 13 pita polimorfik, sedangkan primer ISSR 8 menghasilkan 21 pita polimorfik (Gambar 4).



Gambar 3. Foto hasil Visualisasi DNA berdasarkan Marka SSR (A) Primer LMLY6 (B) Primer LMLY 12. P12= *N. lappaceum* var. *xanthioides*, P42= *N. cuspidatum* var. *robustum*. P13-P15, P33, P36, P49= *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, P16= *N. cuspidatum* var. *eriopetalum*, P17, P32= *N. rubescens*, P21, P22, P23, P25, P26, P28, P29, P211= *N. uncinatum*, P24, P27= *N. lappaceum* var. *lappaceum*.

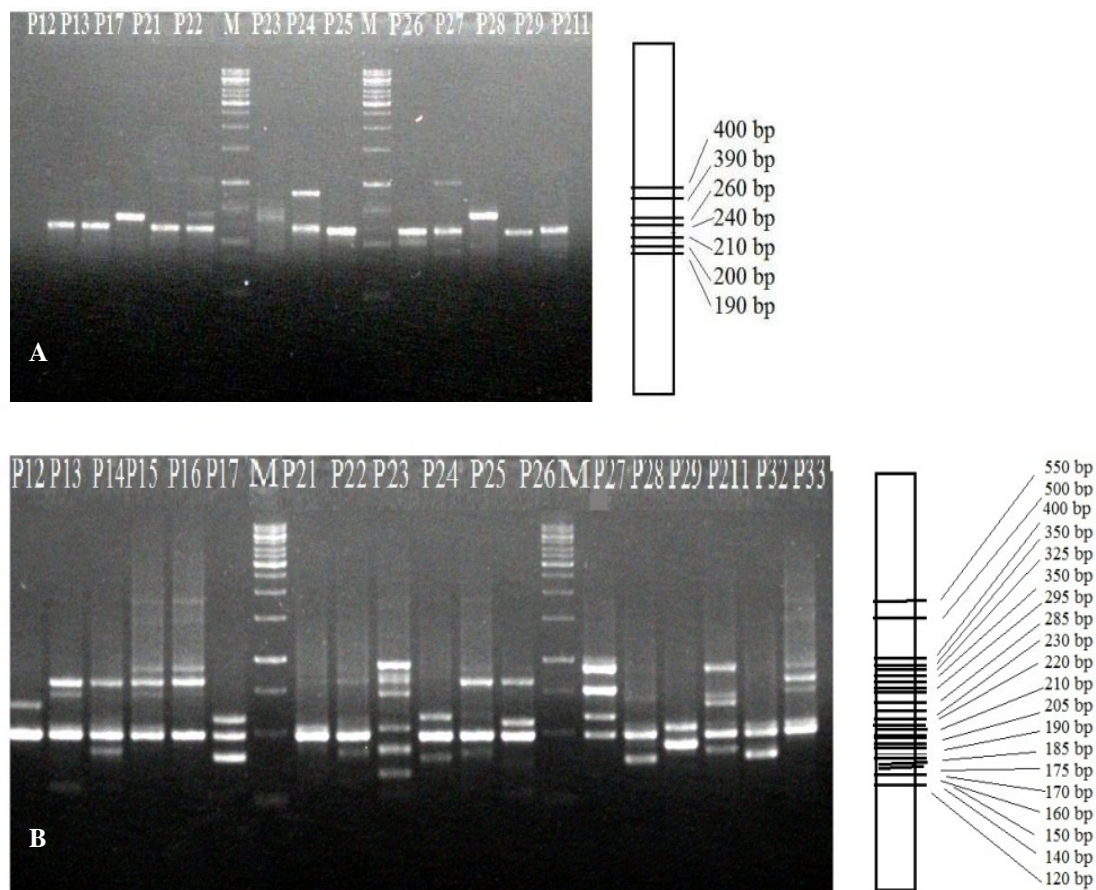
Jumlah alel yang diamati (N_a) berkisar antara 0,56–1,75 dan jumlah alel yang efektif (N_e) antara 1,25–1,43 (Tabel 4). Nilai heterozigositas dan persen lokus polimorfisme yang paling tinggi ter-

dapat di Kecamatan Jangkang ($H_e=0,27$, $PLP=87,5\%$) dan yang paling rendah terdapat di Kecamatan Parindu ($H_e=0,13$, $PLP=25\%$).

Tabel 4. Keberagaman genetik kerabat rambutan liar di Kabupaten Sanggau berdasarkan marka SSR

Populasi	N	N_a	N_e	I	H_e	PLP (%)
Bonti	6	1,13	1,32	0,30	0,20	56
Jangkang	10	1,75	1,43	0,42	0,27	87,5
Mukok	3	0,94	1,35	0,28	0,19	44
Parindu	2	0,56	1,25	0,17	0,13	25
Kapuas	13	0,88	1,25	0,23	0,15	44

Keterangan : N = Jumlah individu, N_a = Jumlah alel yang diamati, N_e = Jumlah alel yang efektif I= Indeks Shannon, H_e = Heterozigositas, PLP = Persen lokus polimorfisme.



Gambar 4. Foto hasil visualisasi DNA berdasarkan marka ISSR (A) primer ISSR 3 (B) primer ISSR 8. P12= *N. lappaceum* var. *xanthioides*, P42= *N. cuspidatum* var. *robustum*. P13-P15, P33, P36, P49= *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, P16= *N. cuspidatum* var. *eriopetalum*, P17, P32= *N. rubescens*, P21, P22, P23, P25, P26, P28, P29, P211= *N. uncinatum*, P24, P27= *N. lappaceum* var. *lappaceum*.

Jumlah alel yang diamati berkisar antara 0,38–1,24 dan jumlah alel yang efektif antara 1,18–1,31 (Tabel 5). Nilai heterozigositas tertinggi terdapat di Kecamatan Bonti ($H_e=0,18$) dan yang te-

rendah terdapat di Kecamatan Parindu ($H_e=0,09$). Persen lokus polimorfisme (PLP) tertinggi terdapat di Kecamatan Kapuas ($PLP=62\%$) dan yang terendah terdapat di Kecamatan Parindu ($PLP=18\%$).

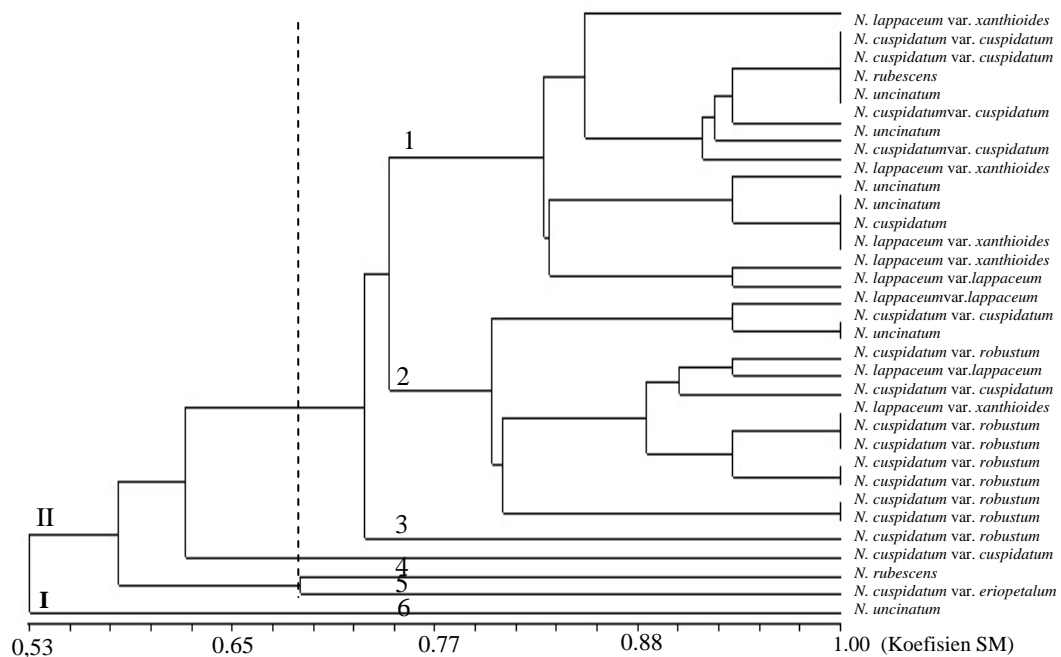
Tabel 5. Keberagaman genetik kerabat rambutan liar di Kabupaten Sanggau berdasarkan marka ISSR

Populasi	N	Na	Ne	I	He	PLP (%)
Bonti	6	0,97	1,31	0,27	0,18	47
Jangkang	10	1,12	1,24	0,25	0,16	56
Mukok	3	0,62	1,24	0,19	0,13	29
Parindu	2	0,38	1,18	0,12	0,09	18
Kapuas	13	1,24	1,26	0,27	0,17	62

Keterangan : N = Jumlah individu, Na = Jumlah alel yang diamati, Ne = Jumlah alel yang efektif I = Indeks Shannon, He = Heterozigositas, PLP = Persen lokus polimorfisme.

Hasil analisis pengelompokan berdasarkan marka SSR menunjukkan kerabat rambutan liar yang diamati tersebar dengan nilai koefisien kemiripan antara 0,53–0,97 (Gambar 5). Seluruh individu terbagi menjadi dua kelompok besar yaitu kelompok I dan II. Kelompok I hanya terdiri atas *N. uncinatum*. Pada koefisien 0,77 kelompok II terbagi menjadi enam subkelompok. Subkelompok yang pertama terdiri atas *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. lappaceum* var. *lappaceum*, *N. lappace-*

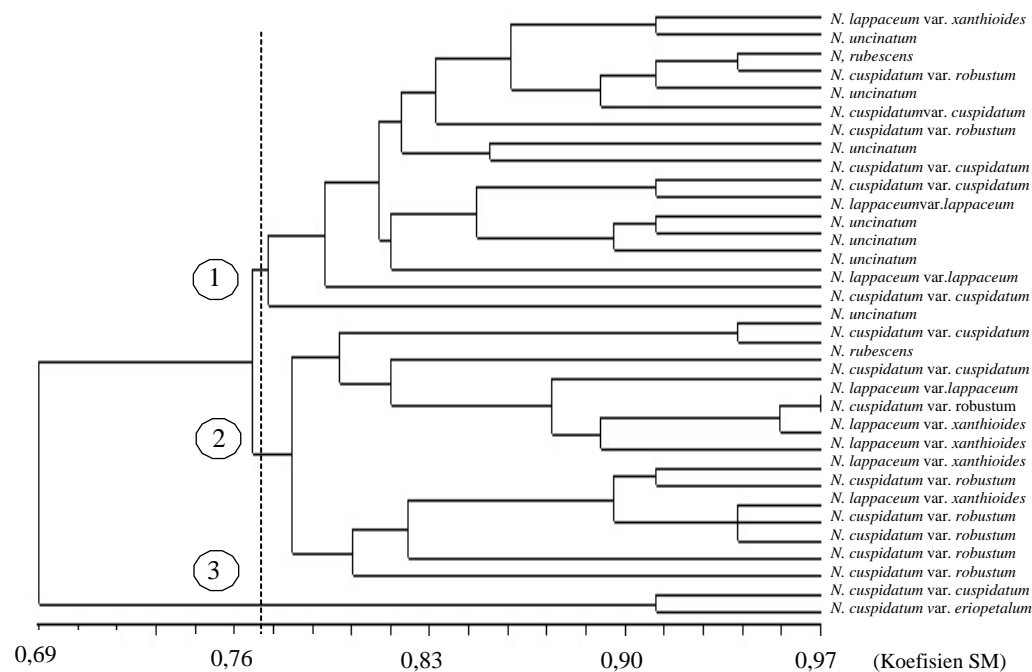
um var. *xanthioides*, *N. rubescens* dan *N. uncinatum*. Subkelompok kedua terdiri atas *N. lappaceum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides*, *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *robustum* dan *N. uncinatum*. Subkelompok ketiga terdiri atas satu jenis yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*. Subkelompok keempat terdiri atas *N. rubescens*, Subkelompok kelima terdiri atas *N. cuspidatum* var. *eriopetalum* dan subkelompok keenam terdiri atas *N. uncinatum* (Gambar 5).



Gambar 5. Dendrogram kerabat rambutan liar di Sanggau berdasarkan kesamaan genetik dikonstruksikan berdasarkan metode UPGMA dengan menggunakan marka SSR.

Kerabat rambutan liar menyebar pada nilai koefisien kemiripan 0,69–0,97 berdasarkan marka ISSR (Gambar 6). Pada koefisien 0,77 dendrogram terbagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama terdiri atas *N. lappaceum* var. *lappaceum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides*, *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *robustum*, *N. rubescens*

dan *N. uncinatum*. Kelompok kedua terdiri atas *N. lappaceum* var. *lappaceum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides*, *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *robustum* dan *N. rubescens*. Kelompok ketiga terdiri atas *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* dan *N. cuspidatum* var. *eriopetalum*.



Gambar 6. Dendrogram kerabat rambutan liar di Sanggau berdasarkan kesamaan genetik yang dikonstruksikan berdasarkan metode UPGMA dengan menggunakan marka ISSR.

PEMBAHASAN

Morfologi Kerabat Rambutan Liar

N. cuspidatum var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *eriopetalum* dan *N. cuspidatum* var. *robustum* ditemukan di Kabupaten Sanggau. Di antara ketiga varietas tersebut, *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* merupakan tumbuhan endemik yang ada di Kalimantan (Uji 2004). Permukaan bawah anak daun *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* dan *N. cuspidatum* var. *robustum* memiliki ciri khusus yaitu berbulu. Daun dari *N. cuspidatum* juga sangat bervariasi baik pada ukuran maupun bentuknya. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa *N. cuspidatum* sangat bervariasi pada penampakan morfologinya (Okafor & Lamb 1992).

N. lappaceum var. *lappaceum* dan *N. lappaceum* var. *xanthioides* memiliki tipe anak daun elips, pangkal anak daun asimetri dan ujung anak daunnya meruncing (Tabel 3). Perbedaan antara kedua kultivar tersebut berada pada bagian terlebar daun, bagian terlebar daun *N. lappaceum* var. *xanthioides* terdapat pada bagian atas dari tengah daun, sedangkan *N. lappaceum* var. *lappaceum* memiliki lebar yang rata (tidak ada bagian terlebar).

N. rubescens memiliki bangun anak daun yang lebarnya lebih sempit dibandingkan dengan

jenis yang lain (Gambar 2). Jenis *N. uncinatum* hanya ditemukan di Kecamatan Jangkang. Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *N. cuspidatum* dan *N. uncinatum* merupakan jenis tumbuhan yang berasal dari hutan alami dan sudah ada yang ditanam di kebun-kebun milik penduduk setempat (Siregar 2006).

Keberagaman Genetik Rambutan Liar

Analisis keberagaman genetik antar populasi berdasarkan penggunaan marka SSR menunjukkan tingkat heterozigositas dan indeks Shannon yang paling tinggi terdapat di Kecamatan Jangkang ($He=0,27$, $I=0,42$), sedangkan yang paling rendah terdapat di Kecamatan Parindu ($He=0,13$, $I=0,17$) (Tabel 4). Populasi dengan nilai heterozigositas (He) tinggi akan memiliki variasi genetik yang tinggi, sedangkan nilai heterozigositas yang paling rendah akan memiliki variasi genetik yang semakin rendah (Hartl 1980). Dengan demikian, di antara lima lokasi yang diamati, variasi genetik yang paling tinggi terdapat di Kecamatan Jangkang. Hal ini terjadi karena rambutan liar di lokasi tersebut berjumlah 10 pohon dan terdiri atas tiga jenis yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. lappaceum* var. *lappaceum* dan *N. uncinatum*. Menurut Nei (1987) salah satu faktor yang mempengaruhi tingkat heterozigositas adalah ukuran populasi. Berbeda dengan Kecamatan Jangkang, di Kecamatan Parin-

du hanya ditemukan 2 pohon rambutan liar yang terdiri atas dua jenis yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* dan *N. lappaceum* var. *xanthioides*, sehingga tidak mengherankan kalau lokasi ini memiliki tingkat keberagaman genetik paling rendah. Selain ukuran populasi, faktor lain yang mempengaruhi nilai heterozigositas adalah mutasi, sifat reproduksi dan rekombinan, perkawinan acak, dan seleksi alam (Pai 1992).

Analisis keberagaman genetik antar populasi berdasarkan penggunaan marka ISSR menunjukkan tingkat heterozigositas dan indeks Shannon yang paling tinggi berada di Kecamatan Bonti ($He=0,18$, $I=0,27$) (Tabel 5), hal ini disebabkan rambutan liar yang terdapat di Kecamatan Bonti terdiri atas tiga jenis yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides* dan *N. rubescens*, sedangkan tingkat heterozigositas dan nilai indeks Shannon yang paling rendah berada di Kecamatan Parindu ($He=0,09$; $I=0,12$). Tingkat heterozigositas yang dihasilkan oleh marka ISSR cukup berbeda dengan marka SSR, hal ini disebabkan oleh marka ISSR merupakan marka dominan yang hanya dapat mendeteksi dua alel homozigot pada masing-masing lokus dan tidak sensitif terhadap alel heterozigot sehingga nilai heterozigositas maksimum yang diperoleh yaitu 0,5 (Weising *et al.* 2005).

Hasil analisis pengelompokan berdasarkan penggunaan marka SSR memiliki nilai koefisien kemiripan berkisar antara 0,53–0,97. Di antara seluruh sampel, nilai koefisien yang cukup rendah dimiliki oleh *N. lappaceum* var. *lappaceum* dan *N. uncinatum* yaitu 0,53 (Gambar 5). Menurut Qosim (2006) nilai koefisien kemiripan menunjukkan kesamaan individu dalam suatu populasi, semakin tinggi nilai koefisien kemiripan antar individu, maka semakin dekat jarak genetik antara individu tersebut. Berdasarkan marka ISSR, nilai koefisien kemiripan berkisar antara 0,69–0,97. Nilai koefisien yang cukup tinggi dimiliki oleh *N. lappaceum* var. *xanthioides* dan *N. cuspidatum* var. *eripetalum* yaitu 0,69 (Gambar 6). Secara morfologi keduanya memiliki perbedaan, *N. lappaceum* var. *xanthioides* mempunyai tipe anak daun elips dan ujung meruncing, sedangkan *N. cuspidatum* var. *eripetalum* mempunyai tipe anak daun jorong dan ujungnya membulat.

Di antara seluruh individu yang diteliti, nilai koefisien kemiripan paling tinggi berdasarkan marka SSR dan ISSR memiliki hasil yang sama yaitu antara *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* dan *N. cuspidatum* var. *robustum* dengan koefisien kemiripan genetik sebesar 0,97. Nilai koefisien kemiripan

genetik yang tinggi tersebut dapat terjadi karena keduanya merupakan satu jenis yang sama. Secara morfologi, *N. cuspidatum* var. *cuspidatum* dan *N. cuspidatum* var. *robustum* memiliki persamaan pada bagian bawah permukaan anak daunnya yaitu berbulu. Selain itu, *N. cuspidatum* var. *robustum* juga memiliki nilai koefisien kemiripan yang tinggi dengan *N. lappaceum* var. *xanthioides* yaitu 0,97. Hal ini dimungkinkan terjadi karena kedua jenis tersebut ditemukan pada lokasi yang berdekatan secara geografis yaitu di Kecamatan Bonti, Parindu dan Kapuas (Tabel 2). Adaptasi terhadap lingkungan yang sama atau berada dalam lokasi berdekatan menyebabkan persamaan dalam struktur gen walaupun berbeda jenis dalam satu genus (Hu *et al.* 2010).

Hasil analisis keberagaman genetik dan pengelompokan kerabat rambutan liar berdasarkan marka SSR dan ISSR menunjukkan adanya variasi genetik yang rendah di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat. Menurut Shikamaru *et al.* (2012) kerabat rambutan liar diketahui melakukan penyerbukan silang dan menurut Bawa & Hadley (1990) tipe penyerbukan silang menyebabkan dan menentukan terjadinya pola variasi genetik yang tinggi di alam, namun dalam penelitian kali ini didapatkan hasil bahwa kerabat rambutan liar memiliki variasi genetik yang cukup rendah. Hal ini dapat dilihat dari tingkat heterozigositas yang cukup rendah dan nilai koefisien kemiripan yang cukup tinggi. Tingkat imigrasi yang rendah, tetua yang sama, pulau endemik yang memiliki ukuran populasi kecil dalam populasi pulau mungkin bertanggung jawab atas rendahnya tingkat keberagaman genetik yang diamati (Takayama *et al.* 2011). Penelitian ini memerlukan pengujian tingkat lanjut untuk mengetahui keberagaman genetik dan hubungannya dengan penampakan morfologi serta kaitannya dengan pengaruh habitat.

SIMPULAN

Kerabat rambutan liar yang terdapat di lima kecamatan yaitu Bonti, Jangkang, Mukok, Parindu dan Kapuas, di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat terdiri atas empat jenis dan lima varietas yaitu *N. cuspidatum* var. *cuspidatum*, *N. cuspidatum* var. *eripetalum*, *N. cuspidatum* var. *robustum*, *N. lappaceum* var. *lappaceum*, *N. lappaceum* var. *xanthioides*, *N. rubescens* dan *N. uncinatum*. Ketujuh taksa secara morfologi dapat dibedakan dari karakter daunnya.

Berdasarkan marka SSR, rambutan liar di Kalimantan Barat memiliki keberagaman genetik

yang cukup rendah dengan nilai keberagaman genetik tertinggi di antara sampel terdapat di Kecamatan Jangkang ($He=0,27$ dan $PLP=87,5\%$) sedangkan keberagaman genetik yang paling rendah terdapat di Kecamatan Parindu ($He=0,17$ dan $PLP=25\%$). Berdasarkan analisis kelompok dengan menggunakan marka SSR, kerabat rambutan liar yang berasal dari Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat, cenderung menyebar dan jenis yang berbeda cenderung mengelompok dalam satu kelompok berdasarkan lokasi yang sama ataupun lokasi yang berdekatan. Indeks similaritas yang dihasilkan berkisar antara 0,53 hingga 0,97.

Berdasarkan marka ISSR, nilai keberagaman genetik yang paling tinggi dari seluruh sampel terdapat di Kecamatan Bonti ($He=0,18$ dan $PLP=47\%$) dan nilai keberagaman genetik yang paling rendah terdapat di Kecamatan Parindu ($He=0,09$ dan $PLP=17,65\%$). Hasil analisis kelompok menggunakan marka ISSR menunjukkan nilai koefisien kemiripan berkisar antara 0,69 hingga 0,97. Nilai koefisien kemiripan yang paling dekat (0,97) dimiliki oleh *N. cuspidatum* dan *N. cuspidatum* var. *robustum* dan antara *N. cuspidatum* var. *robustum* dengan *N. lappaceum* var. *xanthioides*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bawa KS & Hadley M. 1990. *Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants*. Volume ke-7. Paris: The Parthenon Publishing Group.
- Bennet P. 2000. Microsatellites. *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.* 53: 177–183.
- Brondani RPV, Brondani C, Tarchini R & Gratapaglia D. 1998. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. *Theor. Appl. Genet.* 97: 816–827.
- Buerki S, Félix F, Pedro AR, Martin WC, Johan AAN, Mark H, Isabel S, Philippe K & Nadir A. 2009. Plastid and nuclear DNA markers reveal intricate relationships at subfamilial and tribal levels in the soapberry family (*Sapindaceae*). *Mol. Phyl. and Evol.* 51: 238–258.
- Clyde MM, Chew PC, Salma I, Normah MN & Rao VR. 2005. Genetic diversity of *Nephelium ramboutan-ake* Leenh. assessed using RAPD and ISSR markers. *Acta Hort.* 665: 171–182.
- Doyle JJ & Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15.
- Finkeldey R. 2005. *Pengantar Genetika Hutan Tropis*. Djamhuri E, Siregar IZ, Siregar UJ & Kertadikara AW, penerjemah. Bogor: IPB Press. Terjemahan dari: *An Introduction to Tropical Forest Genetics*.
- Godwin ID, Aidken EAB & Smith LW. 1997. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis.* 18(9): 1524–1528.
- Hartl D. 1980. *Principle of Population Genetics*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Hu LJ, Uchiyama K, Saito Y & Ide Y. 2010. Contrasting patterns of nuclear microsatellite genetic structure of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* between northern and southern populations in Japan. *J. Biogeogr.* 37: 1131–1143.
- Julisaniah NI, Sulistyowati L & Sugiharto AN. 2008. Analisis kekerabatan mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan metode RAPD-PCR dan isozim. *Biodiversitas* 9(2): 99–102.
- Kungkow C, Ien CW, Weiyu L & Ching YC. 2010. Genetic diversity analysis using ISSR marker on longan (*Dimocarpus longan*) germplasm. *JTAR.* 59(3): 185–196.
- Madhou M, Normand F, Bahorun T & Hormaza JI. 2013. Fingerprinting and analysis of genetic diversity of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) accessions from different germplasm collections using microsatellite markers. *Tree Genet and Gen.* 9: 387–396.
- Middleton DJ. 2000. *Alstonia pneumatophora, Calophyllum soulattri, Nephelium lappaceum, Nephelium glabrum* in manual of the larger and more important non dipterocarp trees of Central Kalimantan Indonesia. *For. Res. Inst. Samarinda.* 1: 78–81.
- Mishra PK, Fox RTV & Culham A. 2003. *Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and long-range dispersal in Fusarium culmorum*. Whiteknight: University of Reading.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York (US): Columbia Press.
- Okafor JC & Lamb A. 1992. Fruit trees: diversity and conservation strategies. *Tropical trees: the potencial for domestication and the rebuilding of tropical forest resource*; 1992 Ags 23–28; Edinburgh, Scotland.
- Pai AC. 1992. *Dasar-Dasar Genetika*. Jakarta (ID): Penerbit Erlangga.
- Peakall ROD & Smouse PE. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population gene-

- tic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*. 6(1): 288–295.
- Qiu YX, Luo YP, Comes HP, Ouyang ZQ & Fu CX. 2007. Population genetic diversity and structure of *Dipteronia dyerana* (*Sapindaceae*), a rare endemic from Yunnan Province, China, with implications for conservation. *Taxon*. 56(2): 427–437.
- Qosim WA. 2006. Studi iradiasi sinar gamma pada kultur kalus nodular manggis untuk meningkatkan keberagaman genetik dan morfologi regenerasi [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rohlf. 1998. NTSYS-pc: *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Version 2.02. User Guide. New York: Exeter Software.
- Saeki I, Hirao AS & Kenta T. 2015. Development and evaluation of microsatellite markers for *Acer Miyabei* (*Sapindaceae*), a threatened maple species in East Asia. *APPS*. 3(6): 15–20.
- Seibert B. 1992. *Nephelium* L. In: Verheij EWM & Coronel RE (eds.). *Plant Resources of South East Asia. No 2. Edible Fruits and Nuts*. Bogor: Prosea Foundation.
- Shikamaru K, Sakthivel T & Reddy PVR. 2012. Diversity and foraging dynamics of insect pollinators on rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). *Pest Man in Hort. Eco*. 18(2): 158–160.
- Siregar M. 2006. Species diversity of local fruit trees in Kalimantan: problems of conservation and its development. *Biodiversitas* 7(1): 94–95.
- Takayama K, Sun BY & Stuessy TF. 2011. Genetic consequences of anagenetic speciation in *Acer okamotoanum* (*Sapindaceae*) on Ulung Island, Korea. *Ann. Bot.* doi:10.1093/aob/mcr280.
- Uji T. 2004. Keanekaragaman jenis, plasma nutfah dan potensi buah-buahan asli Kalimantan. *Biosmart* 6(2): 117–125.
- Weising K, Nybom H, Wolff K & Kahl G. 2005. *DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods and Applications*. Boca Raton: CRC Pr.
- Zietkiewicz E, Rafalski A & Labuda D. 1994. Genome finger printing by Simple Sequence Repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 20: 176–183.