



PRINTED ISSN : 0215-4706
ONLINE ISSN : 2469-6944

FLORIBUNDA

JURNAL SISTEMATIKA TUMBUHAN

Floribunda 6(4): 117–166. 30 April 2020

DAFTAR ISI

Keanekaragaman Genetik Kapulasan [*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh.]
di Jawa Berdasarkan Marka SSR dan ISSR

Nina Ratna Djuita, Alex Hartana, Tatik Chikmawati, Dorly 117–126

A New Record of *Chloothamnus* Buse (*Poaceae*: Bambusoideae) from Sumbawa Island
and Notes on the Genus in Malesia

I Putu Gede P. Damayanto, Ida Bagus K. Arinasa, I Gede Tirta,

Elizabeth A. Widjaja 127–132

Keanekaragaman Spesies Lumut Hati Epifit dan Rekaman Baru untuk Jawa

Afiatry Putrika, Shela Kartika Wijaya, Astari Dwiranti, Mega Atria 133–140

Leaf Anatomical Comparison Between Natural Hybrid *Nepenthes ampullaria* Jack

× *Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce with the Parental Species in Kerinci, Jambi

Dee Dee Al Farishy, Nisyawati, Destario Metusala 141–153

Studi Perbandingan Karakter Makroskopis dan Mikroskopis Tiga Jenis

Phyllanthus L.

Anshary Maruzy, Dewi Athikah Fatkhul Jannah, Ari Pitoyo, Dyah Subositi 154–166



PRINTED ISSN : 0215-4706
ONLINE ISSN : 2469-6944

Floribunda merupakan organ resmi Penggalang Taksonomi Tumbuhan Indonesia, diterbitkan dua kali setahun dan menerbitkan makalah dalam bahasa Indonesia dan Inggris mengenai pelbagai gatra sistematika keanekaragaman flora Malesia pada umumnya dan Indonesia pada khususnya yang berasal dari hasil penelitian, pengamatan lapangan, pengalaman pribadi, telaahan bergagasan, dan tinjauan kritis.

Sidang Penyunting

Ketua Penyunting

Tutie Djarwaningsih (BO)

Penyunting

Bayu Adjie (KREKB)

Ida Haerida (BO)

Abdulrokhman Kartonegoro (BO)

Deden Girmansyah (BO)

Priyanti (UIN)

Dewi Susan (BO)

Penyunting Pelaksana

Wita Wardani (BO)

Tata Letak

Andi Hapid (BO)

Petunjuk kepada pengarang

Jenis tulisan

Makalah lengkap memuat hasil penelitian floristik, revisi, atau monografi unsur-unsur flora Malesia. Komunikasi pendek mencakup laporan kemajuan kegiatan penelitian, pengembangan dan rekayasa keanekaragaman flora Malesia yang perlu segera dikomunikasikan.

Tulisan lain meliputi obituari tokoh keanekaragaman flora, tinjauan kritis bergagasan, telaahan serta pembahasan persoalan aktual seputar kegiatan penelitian, pengembangan dan rekayasa tetumbuhan Indonesia, serta timbangan buku akan dimuat berdasarkan undangan.

Rujukan pembakuan

Pemakaian Bahasa Indonesia sepenuhnya mengikuti *Pedoman Umum Ejaan yang Disempurnakan*, *Pedoman Umum Pembentukan Istilah*, *Kamus Besar Bahasa Indonesia*, serta kamus-kamus istilah yang dikeluarkan Pusat Bahasa. Bahasa Inggris yang dipakai adalah the Queen English dengan berpedoman pada *Oxford Dictionary of*

the English Language. Ketentuan-ketentuan yang dimuat dalam *Pegangan Gaya Penulisan, Penyuntingan, dan Penerbitan Karya Ilmiah Indonesia*, serta *Scientific Style and Format: CBE Manuals for Author, Editor, and Publishers*, dan buku-buku pegangan pembakuan lain akan sangat diperhatikan. Kepatuhan penuh pada *International Code of Botanical Nomenclature* bersifat mutlak.

Gaya penulisan

Penulisan naskah yang akan diajukan supaya disesuaikan dengan gaya penulisan yang terdapat dalam nomor terakhir terbitan *Floribunda*.

Abstrak informatif supaya diberikan dalam bahasa Indonesia dan Inggris yang masing-masing tidak melebihi 200 kata. Sediakan sekitar 7 kata kunci untuk keperluan pengindeksan dan pemindaian.

Bilamana diperlukan ucapan terima kasih dan bentuk persantunan lain dapat dicantumkan sesudah tubuh teks tetapi sebelum daftar pustaka.

Pengacuan pada pustaka hendaklah dilakukan dengan sistem nama-tahun. Daftar pustaka supaya disusun berdasarkan alfabet nama pengarang dengan memakai sistem Harvard.

Gambar dan tabel merupakan pendukung teks sehingga perlu disusun secara logis dalam bentuk teks atau tabel atau sebagai gambar, tetapi tidak dalam bentuk ketiganya sekaligus. Siapkan gambar yang lebarnya dua kolom cetak.

Penyumbangan naskah

Naskah dikirimkan secara *online* atau melalui *e-mail*. Naskah yang ingin diterbitkan dalam *Floribunda* akan dipertimbangkan pemuatannya *hanya* jika pengirimannya disertai pernyataan tertulis dari 2 (dua) orang mitra bestari yang dipilih sendiri oleh penulisnya (akan lebih diutamakan bila mitra bestari dipilihkan dari luar lingkungan kerja penulis), yang menyatakan bahwa secara ilmiah keorisinalan dan makna sumbangan naskah tersebut memang layak diterbitkan. Makalah yang dimuat dikenai biaya Rp. 450.000,00 untuk anggota PTTI dan Rp. 500.000,00 untuk non anggota.

Pengolahan naskah

Sidang penyunting bersama sekelompok mitra bestari akan mengaji ulang kesesuaian isi dan keselarasan format setiap naskah dengan *Floribunda*. Perubahan yang dilakukan akan dikomunikasikan kepada penulis dalam bentuk contoh cetak akhir sebelum diterbitkan.

Kantor penyunting

Sidang penyunting *Floribunda*

Herbarium Bogoriense, Cibinong Science Center

Jalan Raya Bogor KM 46 Cibinong 16911

Telepon : (021) 8765066-67

Fax : (021) 8765059

E-mail : floribundaptti@gmail.com;

floribunda@ptti.or.id



FLORIBUNDA

Jurnal Sistematika Tumbuhan

DOI : 10.32556/floribunda.v6i4.2020.300

P-ISSN : 0215 - 4706

E-ISSN : 2460 - 6944

**KEANEKARAGAMAN GENETIK KAPULASAN
[*NEPHELIUM RAMBOUTAN-AKE* (LABILL.) LEENH.] DI JAWA BERDASARKAN
MARKA SSR DAN ISSR**

Nina Ratna Djuita* Alex Hartana, Tatik Chikmawati, Dorly
Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
IPB University, Bogor, Indonesia
Jalan Agatis, Kampus Dramaga, Bogor 16680
*Corresponding author: nina.djuita@yahoo.com

Nina Ratna Djuita, Alex Hartana, Tatik Chikmawati, Dorly. 2020. Genetic Diversity of Pulasan [*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh.] of Java Based on SSR and ISSR Markers. *Floribunda* 6(4): 117–126. — Pulasan is one of the potential local fruits to be developed. This study aimed to analyze the genetic diversity of pulasan of Java using Simple Sequence Repeat (SSR) and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers and to obtain information whether primers of the markers could be used to distinguish male and hermaphrodite plants. The results showed that two primers in the SSR markers and seven primers in the ISSR markers produced polymorphic bands. The genomic DNA of the pulasan amplified with SSR markers produced bands 140–500 bp, while those from the ISSR markers were 150–1500 bp. The population of pulasan in Babakan Madang has the highest genetic diversity, while that of Patean is the lowest. Genetic variation of pulasan based on SSR and ISSR markers in the population and among populations have different compositions. Variation in the population is 72% while among the population is 28%. Primers of LML Y6 and LML Y12 from SSR markers and primers of ISSR 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 cannot be used to distinguish male and hermaphrodite pulasan plants.

Keywords: Java, molecular marker, polymorphic bands, pulasan.

Nina Ratna Djuita, Alex Hartana, Tatik Chikmawati, Dorly. 2020. Keanekaragaman Genetik Kapulasan [*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh.] di Jawa Berdasarkan Marka SSR dan ISSR. *Floribunda* 6(4): 117–126. — Kapulasan merupakan salah satu buah lokal yang potensial untuk dikembangkan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keanekaragaman genetik kapulasan di Jawa dengan menggunakan marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) dan *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) serta untuk mendapatkan informasi apakah primer dari marka tersebut dapat dipakai untuk membedakan tumbuhan jantan dan hermafrodit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dua primer pada marka SSR dan tujuh primer pada marka ISSR menghasilkan pita polimorfik. DNA genom kapulasan yang diamplifikasi dengan marka SSR menghasilkan pita-pita dengan ukuran 110–500 bp, sedangkan dari marka ISSR berukuran 150–1500 bp. Populasi kapulasan di Babakan Madang mempunyai keanekaragaman genetik paling tinggi, sedangkan populasi di Patean paling rendah. Variasi genetik kapulasan berdasarkan marka SSR dan ISSR di dalam populasi dan di antara populasi mempunyai komposisi yang berbeda. Variasi di dalam populasi sebesar 72 % sedangkan di antara populasi sebesar 28%. Primer LML Y6 dan LML Y12 dari marka SSR dan primer ISSR 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 tidak dapat digunakan untuk membedakan tumbuhan kapulasan jantan dan hermafrodit. Kata kunci: Jawa, kapulasan, marka molekuler, pita polimorfik.

Salah satu buah lokal yang potensial untuk dikembangkan di Indonesia adalah kapulasan (*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh.), yang termasuk anggota suku lera-lerakan (*Sapindaceae*). Potensi kapulasan dapat dilihat dari berbagai sisi.

Tanaman ini mempunyai tajuk yang indah sehingga dapat dijadikan tanaman hias atau sebagai tanaman peneduh karena daunnya lebat. Buah kapulasan manis yang dikenal sebagai rambutan babat atau sibabat (Bogor) mempunyai harga yang

lebih tinggi dibandingkan dengan buah rambutan. Buah kapulasan dapat dimakan segar, dibuat jus, atau selai, bahkan bijinya dapat dimakan secara langsung tanpa dimasak terlebih dahulu. Kandungan nutrisi yang terdapat dalam 100 g buah kapulasan terdiri atas air 85 g, karbohidrat 13 g, protein 0.8 g, lemak 0.6 g, dan serat 0,1 g (Seibert 1992). Vitamin C yang terdapat pada buah kapulasan berkisar 14,0–24,0 mg/100g, sedangkan kandungan Brix antara 16,8–29,6 (Djuita *et al.* 2017).

Salah satu permasalahan yang dijumpai pada budidaya kapulasan adalah produktivitas buah yang rendah. Kapulasan diketahui cenderung menyerbuk silang (Djuita *et al.* 2016) dan petani lebih suka menanam kapulasan hermafrodit daripada kapulasan jantan sehingga proses fertilisasinya kurang optimal. Meskipun tidak dapat menghasilkan buah, tanaman kapulasan jantan berperan penting sebagai sumber polen yang dapat meningkatkan keberhasilan fertilisasi kapulasan hermafrodit. Permasalahannya adalah tanaman kapulasan hermafrodit dan kapulasan jantan sulit dibedakan pada fase vegetatif. Oleh karena itu, dalam rangka pengembangan kapulasan sebagai komoditas buah yang memiliki nilai ekonomi dibutuhkan kepastian jenis kelamin tanaman kapulasan tersebut. Salah satu cara atau pendekatan yang dapat digunakan adalah pemanfaatan marka molekuler.

Dalam pengembangan budidaya kapulasan, diperlukan data dari berbagai sumber, salah satunya adalah data keanekaragaman genetik. Data tersebut dapat dimanfaatkan oleh para pemulia tanaman untuk mengembangkan kultivar baru sesuai dengan sifat-sifat yang diinginkan (Govindaraj *et al.* 2015). Penelitian keanekaragaman genetik sudah dilakukan pada beberapa anggota *Sapindaceae* dengan menggunakan marka molekuler, seperti RAPD, SSR, dan ISSR. Marka RAPD yang digunakan untuk meneliti keanekaragaman genetik *N. ramboutan-ake* menghasilkan persentase polimorfisme yang tinggi pada semua aksesori yang diuji (Clyde *et al.* 2005). Marka RAPD pada aksesori Indian leci dapat mengklasifikasikan semua aksesori ke dalam kelompok yang berbeda meskipun daerah asal geografinya sama atau berbeda (Kumar *et al.* 2006). Keanekaragaman genetik *Cardiospermum halicacabum* L. dengan menggunakan RAPD mempunyai polimorfisme yang rendah (Sheeba *et al.* 2014). Marka RAPD lebih simpel dan lebih murah, namun marka ini memiliki kelemahan karena dianggap kurang efisien dibandingkan dengan penanda lain yang ko-dominan (Lewis & Snow 1992) dan reprodu-

sibilitasnya kurang baik (Penner *et al.* 1993) karena dalam beberapa kasus, pita yang muncul tidak dapat diulang sehingga menyulitkan dalam menganalisis data.

Marka molekuler yang banyak digunakan untuk meneliti keanekaragaman genetik tanaman adalah mikrosatelit atau *simple sequence repeats* (SSR) dan inter *simple sequence repeats* (ISSR). Penggunaan SSR mempunyai kelebihan antara lain karena keberadaannya melimpah (Ng & Tan 2015) mempunyai polimorfisme yang tinggi, dapat mendeteksi alel pada populasi (Mason 2015), dan dapat digunakan untuk menguji keanekaragaman antar spesies atau di dalam spesies. Marka SSR yang berasal dari suatu takson dapat digunakan untuk menganalisis keanekaragaman genetik takson yang berkerabat dekat, seperti penggunaan marka SSR leci untuk menganalisis keanekaragaman genetik kapulasan (Sim *et al.* 2005). Beberapa primer SSR leci tersebut dapat mengamplifikasi DNA kapulasan. Marka SSR leci juga terbukti dapat digunakan untuk menganalisis keanekaragaman genetik kerabat dekat yang lain, seperti *Blighia sapida* Koenig (Ekue *et al.* 2009). Di samping itu, beberapa primer yang digunakan pada leci dan kapulasan, ternyata dapat pula dipakai untuk mengamplifikasi kerabat liar dari rambutan seperti bakuel (*Nephelium cuspidatum* Blume), ranyink (*N. rubescens* Hiern), dan sibau babi (*N. uncinatum* Radlk. ex Leenh.) (Napitu *et al.* 2016).

Selain SSR, analisis ISSR juga telah digunakan untuk menganalisis keanekaragaman genetik beberapa tanaman, seperti *Litchi*, *Sapindus*, dan *Aesculus*. Penggunaan marka ISSR mampu membedakan kultivar leci yang memiliki sifat dan ciri morfologi sama (Degani *et al.* 2003). Profil ISSR berguna untuk mengungkap seluk beluk variasi genetik pada tanaman *Sapindus mukorossi* Gaertn. di bagian barat Himalaya (Mahar *et al.* 2012). Marka ISSR juga telah digunakan dalam menganalisis aksesori kapulasan di Malaysia, yang menghasilkan polimorfisme yang tinggi, dengan rata-rata 87% (Clyde *et al.* 2005). Analisis keanekaragaman genetik pada *Aesculus* dengan marka ISSR menunjukkan bahwa populasi induk dan populasi hibrid mempunyai keanekaragaman genetik yang sama yang mengindikasikan bahwa tidak ada peningkatan keanekaragaman genetik pada zona hibrid (Thomas *et al.* 2008). Informasi keanekaragaman genetik digunakan dalam pemuliaan tanaman untuk mendapatkan plasma nutfah yang lebih baik (Mahar *et al.* 2012).

Informasi keanekaragaman genetik kapulasan paling minim dibandingkan informasi serupa

pada kerabat dekatnya, seperti leci dan rambutan. Keanekaragaman genetik kapulasan di Sumatera Barat menggunakan marker RAPD telah dilaporkan Ediwirman & Mansya (2011). Berdasarkan penelitian tersebut, genom kapulasan asal Bonjol dan Kinali diketahui memiliki tingkat kemiripan yang sama. Penelitian lainnya dilakukan oleh Puhili *et al.* (2016) menggunakan marka SSR di daerah Bogor, Jawa Barat, kapulasan di Kecamatan Bogor Utara diketahui mempunyai keanekaragaman genetik paling tinggi. Informasi keanekaragaman genetik di daerah lain di Indonesia belum tersedia. Keanekaragaman genetik kapulasan di Pulau Jawa penting diketahui mengingat jumlah penduduknya paling padat sehingga kebutuhan buah segar paling besar dibandingkan dengan pulau yang lain. Selain itu, sebagian lokasi budidaya kapulasan di Pulau Jawa sudah diketahui dan jumlah populasinya memadai untuk keperluan analisis keanekaragaman genetik secara molekuler. Penelitian ini bertujuan 1) menganalisis keanekaragaman genetik kapulasan di Pulau Jawa berdasarkan marka SSR dan ISSR, dan 2) membedakan tanaman jantan dan hermafrodit kapulasan pada fase vegetatif.

BAHAN DAN METODE

Lokasi Pengambilan Sampel

Penelitian keanekaragaman genetik kapulasan dilakukan menggunakan DNA yang diekstraksi dari daun dewasa sebagai bahan yang diuji. Daun kapulasan diambil dari provinsi Jawa Barat dan Jawa Tengah. Lokasi pengambilan sampel di Jawa Barat meliputi 4 kecamatan di Kabupaten Bogor (Kec. Babakan Madang, Cileungsi, Ciomas, Sukaraja), 4 kecamatan di Kota Bogor (Bogor Barat, Bogor Selatan, Bogor Tengah, Bogor Utara), 1 kecamatan di Sukabumi (Kec. Cibadak), dan 2 kecamatan di Ciamis (Kec. Boregbeg, Cijeungjing). Lokasi pengambilan sampel daun kapulasan dari Jawa Tengah meliputi Kabupaten Batang (Kec. Tersono), Kendal (Kec. Patean), Semarang (Kec. Bawen) dan Karanganyar (Kec. Mojogedang). Sebelumnya sudah dilakukan eksplorasi di Jawa Timur dan Daerah Istimewa Yogyakarta, namun di daerah tersebut tidak dijumpai kapulasan karena sudah ditebang. Total jumlah tanaman sampel yang digunakan adalah 115 pohon, namun yang dipakai untuk analisis dengan program GenAlex sebanyak 114 pohon. Sampel kapulasan dari Kecamatan Mojogedang tidak dihitung dalam program ini karena hanya ada satu pohon. Setiap pohon diambil daun dewasa sebanyak 4–5 helai, lalu dimasukkan ke dalam plastik yang telah diisi dengan silica gel kemudian disimpan dalam freezer suhu -20°C .

Isolasi DNA dan *Polymerase Chain Reaction*

DNA genom kapulasan diisolasi sesuai dengan metode Doyle & Doyle (1990). DNA kapulasan diamplifikasi dengan 2 primer SSR dan 7 primer ISSR. Primer SSR yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA kapulasan berupa LML Y6 dan LML Y12 (Sim *et al.* 2005) dan mengikuti suhu *annealing* sesuai dengan Puhili *et al.* (2016). Primer ISSR yang dipakai terdiri atas ISSR 2, ISSR 3, ISSR 4, ISSR 5, ISSR 6, ISSR 8, dan ISSR 9 (Clyde *et al.* 2005) dengan suhu *annealing* masing-masing 51.3°C , 47.1°C , 56.0°C , 51.0°C , 48.0°C , 56.0°C , dan 56.0°C .

Amplifikasi DNA yang menggunakan marka SSR mengikuti Puhili *et al.* (2016). Pada amplifikasi DNA dengan primer ISSR, larutannya terdiri atas 2 μL DNA template, 12.5 μL Go Taq Green Master Mix dan 8 μL air bebas nuclease (Promega, USA), 1 μL primer 10 μM , 0.25 μL Bovine serum albumin 0.2 mg/ml, dan 9.25 μL ddH₂O. PCR dijalankan dengan mengikuti langkah sebagai berikut: predenaturasi dilakukan selama 5 menit pada suhu 94°C , diikuti dengan 35 siklus amplifikasi DNA yang terdiri atas denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* selama 35 detik dengan suhu yang sesuai untuk primer tersebut, dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 35 detik. Setelah 35 siklus selesai, diikuti oleh pemanjangan akhir 72°C selama 5 menit dan pendinginan pada suhu 4°C selama 10 menit.

Elektroforesis

Hasil PCR dari marka SSR dielektroforesis dalam gel agarose 2.5% dengan menggunakan buffer 0.5 M Tris asetat EDTA (TAE), dan diwarnai dengan 8 μL *ethidium bromide* (EtBr) 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Elektroforesis dijalankan pada tegangan 80 Volt selama 60 menit. Hasil PCR untuk marka ISSR dielektroforesis dalam gel *super fine agarose* 1 % selama 90 menit. Selanjutnya gel divisualisasi di bawah cahaya ultra violet dan difoto dengan menggunakan *uv transilluminator* (WiseDoc, Korea).

Analisis Data

Keberadaan pita-pita DNA hasil elektroforesis diasumsikan sebagai lokus SSR atau ISSR. Ukuran pita ditentukan dengan membandingkan pita tersebut dengan Gene rulerTM (100 bp dan 1 kb ladder, Biogen Scientific, USA). Pita yang muncul dan terlihat jelas diberi nilai dan dibuat data biner, bila terdapat pita diberi nilai 1 sedangkan bila tidak ada pita diberi nilai 0. Hasilnya dianalisis menggunakan software GenAlex. Analisis keanekaragaman

gaman kapulasan berdasarkan data molekuler dibuat dengan menggunakan NTSYS pc ver 2.1. (Rohlf 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi DNA genom kapulasan yang berasal dari 115 pohon menghasilkan 3 pita pada primer LMLY 6 dengan ukuran pita paling rendah 140 bp dan paling tinggi 300 bp, sedangkan pada primer LMLY 12 dihasilkan 9 pita dengan ukuran terendah 110 bp dan paling tinggi 500 bp

Tabel 1. Jumlah dan ukuran pita kapulasan dengan menggunakan marka SSR

Primer	Jumlah pita	Jumlah pita polimorfik	Ukuran pita (bp)
LMLY 6	3	3	140, 160, 300
LMLY 12	9	9	110, 133, 200, 225, 250, 400, 450, 467, 500

Pada primer LML Y6, pita yang sering dijumpai pada kapulasan berukuran 160 bp, sedangkan pita yang jarang dijumpai berukuran 140 bp. Pita 160 bp dijumpai pada kapulasan baik yang ada di Jawa Barat (Bogor, Sukabumi, Ciamis) maupun di Jawa Tengah (Batang, Kendal, Semarang). Pita 300 bp dijumpai pada sebagian sampel kapulasan yang berasal dari Kec. Cibadak, Sukabumi. Pada primer LMLY 12, pita 225 bp sering dijumpai, sedangkan pita 400 bp jarang ditemukan. Pita dengan ukuran 110–225 bp sering dijumpai pada kapulasan yang ada di Kab. Karanganyar, Batang, dan Semarang. Kapulasan yang ada di Jawa Barat umumnya mempunyai pita berukuran 225 bp dan 450 bp, walaupun ada juga pita-pita lainnya dengan ukuran yang berbeda. Perbedaan jumlah dan ukuran pita yang dimiliki oleh kapulasan menunjukkan keanekaragaman genetik yang ada.

Primer LMLY 6 dan LMLY 12 pada awalnya digunakan untuk leci. Dalam perkembangan selanjutnya, primer ini digunakan dalam kapulasan (Sim *et al.* 2005). Penggunaan primer LMLY 6 dan LMLY 12 pada jenis tanaman yang sama, namun individunya berbeda, dapat menghasilkan pita dengan ukuran yang berbeda. Amplifikasi kapulasan dengan primer LMLY 6 dalam penelitian ini mempunyai ukuran pita dengan kisaran yang lebih luas (140–300 bp) dibandingkan dengan ukuran pita yang ditemukan oleh Sim *et al.* (2005) sebesar 132–154 bp. Kisaran pita yang berbeda juga dijumpai pada primer LMLY 12. Dalam penelitian ini, kisaran pitanya 110–500 bp, sedangkan hasil dari Sim *et al.* (2005) sebesar 195–217 bp. Kisaran ukuran pita kapulasan juga lebih luas (140–300 bp) dibandingkan dengan kerabat

(Tabel 1). Hasil amplifikasi sampel kapulasan dengan marka SSR terdapat pada Gambar 1.

Penggunaan 2 macam primer SSR menghasilkan pita polimorfik. Keberadaan pita polimorfik pada kedua primer ini sejalan dengan hasil penelitian kapulasan di Malaysia (Sim *et al.* 2005), dan leci di Spanyol (Madhou *et al.* 2013). Namun, pada kerabat kapulasan lainnya seperti *B. sapida* (Ekue *et al.* 2009), primer LMLY 12 hanya menghasilkan pita monomorfik.

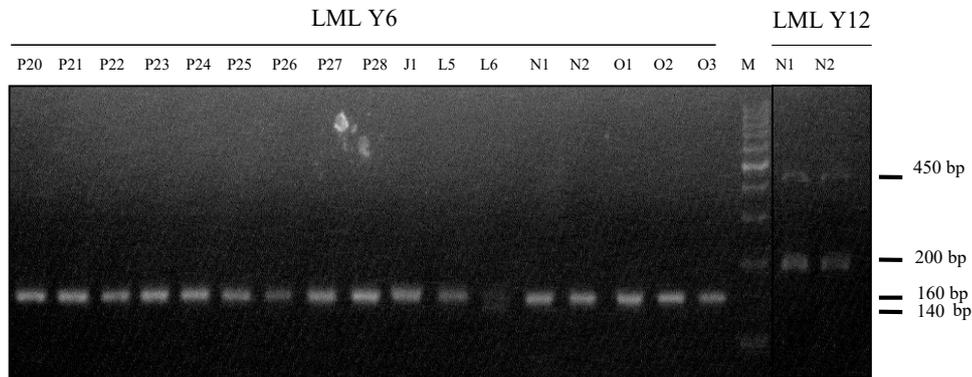
dekatnya seperti leci. Pada leci, primer LMLY 6 mempunyai pita ukuran 136–159 bp (Madhou *et al.* 2013) dan 146–154 bp (Viruel & Hormaza 2004). Demikian pula halnya untuk primer LMLY 12, pada kapulasan 110–500 bp, sedangkan pada leci 202–209 bp (Madhou *et al.* 2013) dan 204–209 bp (Viruel & Hormaza 2004).

Adanya perbedaan ukuran pita kemungkinan berhubungan dengan ciri genetik tanaman dan jumlah sampel yang digunakan. Penggunaan jumlah sampel yang lebih besar memungkinkan ditemukannya pita-pita yang lebih beragam. Rata-rata jumlah pita per primer yang dihasilkan oleh marka SSR umumnya tidak banyak. Jumlah total pita kapulasan yang dihasilkan dari 2 primer marka SSR dalam penelitian ini adalah 12 dengan rata-rata 6 pita per primer. Penggunaan 12 primer marka SSR pada leci menghasilkan rata-rata 4.9 pita per primer (Viruel & Hormaza 2004), sedangkan pada Madhou *et al.* (2013), rata-rata 6.1. Pita-pita yang dihasilkan pada primer LML Y6 dan LML Y12 dapat dijumpai pada tanaman kapulasan jantan dan hermafrodit, sehingga primer ini tidak dapat dipakai untuk membedakan kedua macam tumbuhan tersebut.

Anggota populasi kapulasan di Kec. Patean memiliki ukuran pita yang sama, sehingga dari segi ciri molekuler berdasarkan marka SSR anggotanya identik. Di sini terdapat dua tanaman, keduanya memiliki ukuran pita 160 bp pada LMLY6, dan ukuran pita pada LMLY12 adalah 200 bp dan 450 bp. Anggota populasi kapulasan di Kec. Tersono memiliki ukuran pita yang sama. Di sini dijumpai 4 pohon kapulasan, semuanya memiliki ukuran pita 160 bp pada primer LMLY6, dan pada primer

LMLY12 berukuran 110 bp, 133 bp, 200 bp, 225 bp, dan 450 bp. Tanaman kapulasan di Kec. Patean diduga berasal dari satu induk yang sama. Tanaman di Kec Tersono juga diduga berasal dari

induk yang sama. Namun, induk tanaman di Kec. Patean berbeda dengan induk tanaman kapulasan di Kec. Tersono, karena ukuran pitanya berbeda.



Gambar 1. Sebagian hasil amplifikasi DNA genom pada beberapa aksesori kapulasan dengan menggunakan marka SSR primer LMLY 6 dan LMLY 12. P20–28= Bawen, J1=Cibadak, L5–6=Cijeungjing, N1–N2=Patean, O1–O3= Tersono, M=marka 100 kb.

DNA genom kapulasan yang diamplifikasi dengan 7 primer ISSR menghasilkan total 119 pita dengan rata-rata 17 pita per primer. Pita-pita yang dihasilkan pada kapulasan berukuran 150–1500 bp. Primer yang paling banyak menghasilkan pita adalah ISSR 3 sebanyak 28 pita, sedangkan primer yang menghasilkan pita paling sedikit adalah ISSR 6 sebanyak 9 pita. Pita dengan ukuran paling besar yaitu 1500 bp terdapat pada primer ISSR 3 dan ISSR 8, sedangkan pita dengan ukuran terkecil yaitu 150 bp terdapat pada primer ISSR 3 dan ISSR 8. Semua pita yang dihasilkan merupakan pita polimorfik (Tabel 2). Hal ini menunjukkan adanya keberagaman genetik di antara individu-individu

yang diuji. Hasil amplifikasi genom DNA kapulasan disajikan dalam Gambar 2.

Kerabat kapulasan, seperti leci, menghasilkan pita polimorfik yang bervariasi yaitu sebesar 64% pada koleksi Volcani Center di Israel yang dihasilkan dari 32 primer (Degani *et al.* 2003) dan 85.9% pada leci di bagian selatan China (Long *et al.* 2015) dengan menggunakan 12 primer. Pada kerabat kapulasan lainnya yaitu *S. mukorossi* dihasilkan pita polimorfik sebesar 58.9% dengan 20 primer (Mahar *et al.* 2012). Berdasarkan hal ini, tampaknya jumlah primer tidak berhubungan dengan besar kecilnya persentase pita polimorfik.

Tabel 2. Jumlah dan ukuran pita kapulasan dengan menggunakan marka ISSR

Primer	Jumlah pita	Jumlah pita polimorfik	Ukuran pita (bp)
ISSR 2	15	15	300, 350, 400, 450, 500, 550, 650, 700, 750, 800, 875, 900, 1000, 1083, 1125
ISSR 3	28	28	150, 170, 200, 233, 280, 320, 350, 375, 400, 420, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1083, 1167, 1250, 1275, 1375, 1500
ISSR 4	22	22	250, 275, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 875, 900, 1000, 1063, 1083, 1125, 1188, 1250
ISSR 5	12	12	200, 300, 350, 375, 400, 450, 500, 567, 600, 800, 950, 1125
ISSR 6	9	9	450, 550, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1125
ISSR 8	22	22	150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 700, 750, 800, 900, 950, 1000, 1050, 1125, 1250, 1375, 1500
ISSR 9	10	10	500, 600, 750, 800, 900, 950, 1000, 1063, 1125, 1188
Total	118	118	

Pada primer ISSR 2 sering dijumpai pita dengan ukuran 650 bp, dalam primer ISSR 3 sering terdapat pita berukuran 600 bp, sedangkan pada primer ISSR 5 pita yang sering muncul berukuran 350 bp dan 950 bp. Pita dengan ukuran tertentu yang sering muncul pada suatu primer menunjukkan bahwa pita-pita tersebut kemungkinan merupakan pita yang umum dijumpai pada kapulasan.

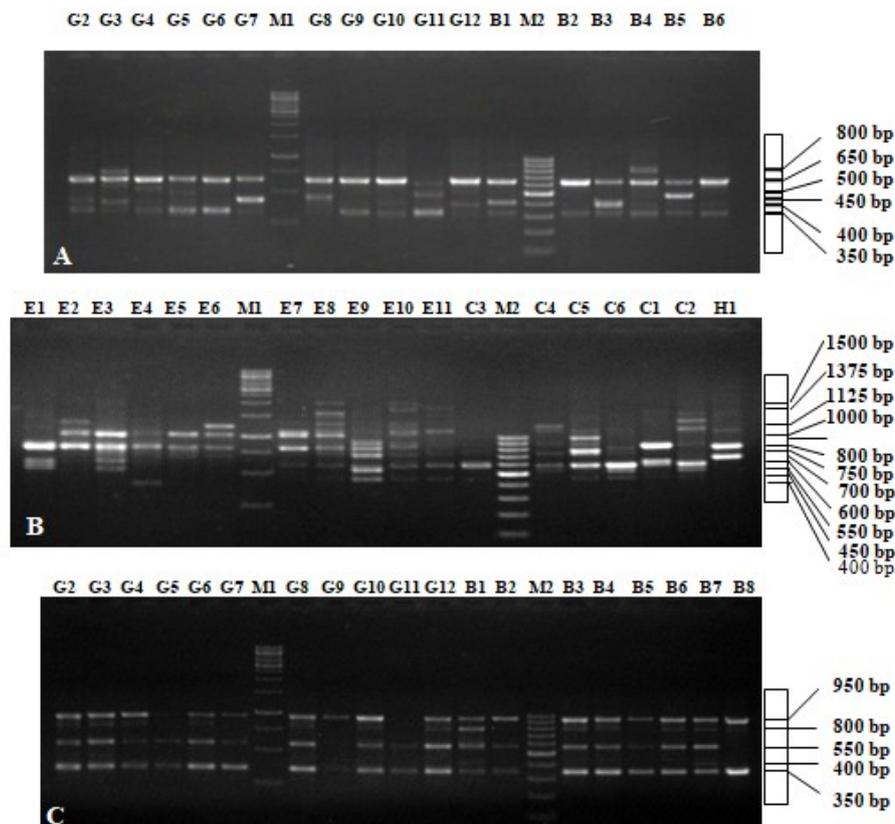
Penggunaan marka ISSR dengan primer ISSR 2, 3, 4, 5, 6, 8, dan 9 tidak dapat membedakan tumbuhan kapulasan jantan dan hermafrodit, karena pada masing-masing primer tersebut, pita yang dimiliki oleh tumbuhan jantan juga dimiliki oleh tumbuhan hermafrodit.

Keanekaragaman genetik kapulasan berdasarkan gabungan marka SSR dan ISSR diuraikan pada Tabel 3. Rata-rata jumlah alel efektif mempunyai kisaran 1.07–1.31. Indeks informasi Shannon dan heterozigositas paling tinggi terdapat di Babakan Madang, sedangkan yang paling rendah ada di Patean. Dibandingkan dengan populasi lainnya, populasi kapulasan di Babakan Madang mem-

punyai keanekaragaman genetik yang lebih tinggi. Namun demikian, secara umum data dari gabungan marka SSR dan ISSR dari semua anggota populasi menunjukkan keanekaragaman genetik yang rendah dengan nilai 0.1 (Tabel 3).

Variasi genetik kapulasan berdasarkan marka SSR dan ISSR di dalam populasi dan di antara populasi mempunyai komposisi yang berbeda. Variasi di dalam populasi sebesar 72 % sedangkan di antara populasi sebesar 28% (Gambar 3). Tingginya variasi di dalam populasi kemungkinan terjadi karena banyaknya kombinasi pita-pita yang terdapat dalam suatu populasi. Kombinasi yang berbeda-beda dapat menyebabkan perbedaan dalam variasi.

Faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya variasi genetik antara lain mutasi, aliran gen, rekombinasi genetik, dan seleksi alam. Pada kapulasan, penyebab variasi genetik kemungkinan berupa rekombinasi genetik dan aliran gen akibat adanya penyerbukan silang. Variasi genetik merupakan dasar bagi organisme untuk beradaptasi terhadap lingkungan (Falk *et al.* 2001).



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA genom kapulasan dengan menggunakan marka ISSR. A.Primer ISSR 2, B.Primer ISSR 3, C.Primer ISSR 5, B1–B8=Bogor Selatan, C1–6=Bogor Utara, E1–E11=Babakan Madang, G2–G12=Cileungsi, H1=Ciomas, M1=marka ukuran 1 kb, M2= marka ukuran 100bp.

Faktor yang menyebabkan rendahnya nilai keanekaragaman genetik suatu tanaman antara lain karena tanaman diperbanyak secara vegetatif. Kapulasan umumnya diperbanyak melalui cangkokan atau okulasi dari pohon yang mempunyai produksi yang baik, sehingga secara genetik akan sama dengan induknya.

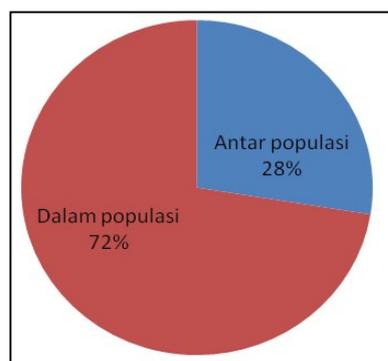
Keanekaragaman genetik di antara sampel kapulasan yang ada di Jawa berdasarkan marka SSR dan ISSR berkisar 0.76–0.97. Berdasarkan dendrogram diketahui bahwa pengelompokan kapulasan terjadi dendrogram diketahui bahwa

pengelompokan kapulasan terjadi secara tidak berstruktur (Gambar 4). Populasi kapulasan yang berasal dari lokasi yang sama dapat berada pada kelompok yang berbeda. Contohnya populasi dari Bogor Selatan, Cileungsi, dan Babakan Madang berada pada kelompok yang berlainan. Demikian pula halnya populasi dari tempat yang berbeda-beda dapat berada dalam kelompok yang sama, contohnya Bogor Barat, Sukaraja, Bogor Selatan, Bogor Tengah, semuanya mengumpul di dendrogram bagian atas.

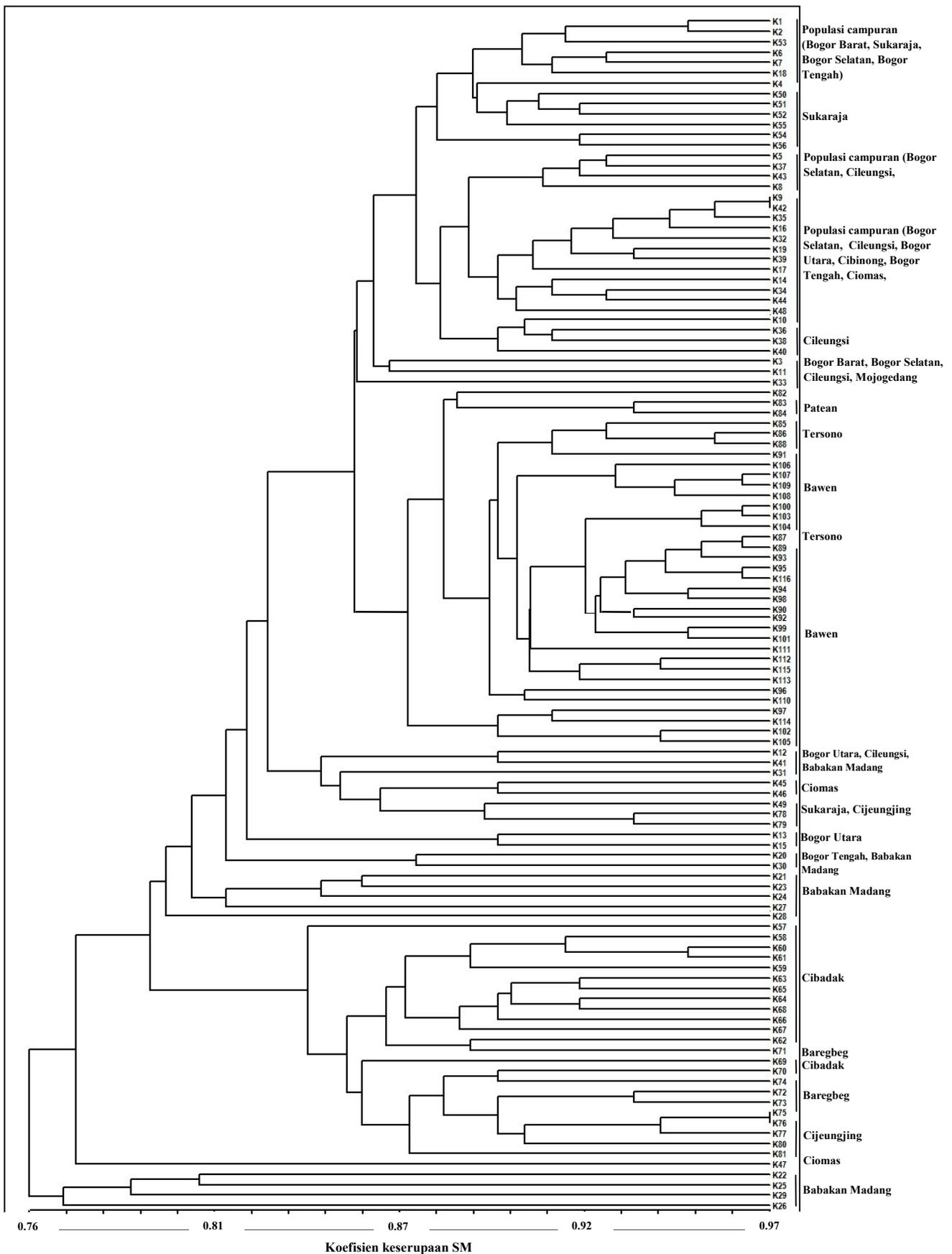
Tabel 3. Keragaman genetik kapulasan berdasarkan marka SSR dan ISSR

Populasi	N	Ne	I	h	%P
Bogor Barat	3	1.10	0.08	0.05	12
Bogor Selatan	8	1.19	0.17	0.11	34
Bogor Utara	6	1.21	0.17	0.12	29
Bogor Tengah	3	1.18	0.15	0.10	23
Babakan Madang	11	1.31	0.29	0.19	62
Cileungsi	12	1.17	0.17	0.11	37
Ciomas	4	1.23	0.20	0.14	34
Sukaraja	8	1.19	0.20	0.13	42
Cibadak	14	1.20	0.20	0.13	44
Baregbeg	5	1.13	0.11	0.08	19
Cijeungjing	6	1.19	0.17	0.11	32
Patean	2	1.07	0.05	0.03	7
Tersono	4	1.10	0.08	0.06	14
Bawen	28	1.15	0.16	0.10	39
Total		1.17	0.16	0.10	30

Keterangan: N=jumlah sampel, Ne=jumlah alel efektif, I=indeks informasi Shanon's, h=heterozigositas, % P=persentase lokus polimorfik, Sampel dari Kec. Mojogedang tidak dianalisis karena hanya terdiri atas 1 pohon, sehingga jumlah sampel pada Tabel 3 menjadi 114 pohon.



Gambar 3. Persentase variasi pita DNA dari 14 populasi kapulasan di Jawa dengan menggunakan marka SSR dan ISSR.



Gambar 4. Dendrogram kapulasan berdasarkan marka SSR dan ISSR yang dibangun berdasarkan koefisien keserupaan SM dan metode UPGMA.

Dari semua pohon kapulasan yang ada di Pulau Jawa, yang memiliki kemiripan yang sangat dekat adalah sampel K9 dan K42, serta sampel K75 dan K76, masing-masing memiliki kemiripan 97%. K9 berasal dari Bogor Selatan, K42 dari Cileungsi, K75 dari Baregbeg, dan K76 dari Ci-jeungjing. Meskipun keempat sampel tersebut mempunyai keserupaan yang besar, namun antara sampel K9 dan K75 memiliki keserupaan yang lebih kecil, yaitu 79%. Hal ini terjadi karena mereka berada dalam kelompok yang berbeda, yang baru menyatu pada indeks keserupaan 0.79.

Populasi di Kec. Bawen pada awalnya belum diketahui apakah berasal dari induk yang sama atau berbeda. Akan tetapi, berdasarkan pita-pita dan dendrogram yang dihasilkan, dapat diketahui bahwa anggota populasi di Bawen berasal dari induk yang berbeda. Hal ini juga dapat dilihat berdasarkan koefisien kemiripan yang tidak sama yang berkisar dari 0.87–0.97.

Penggunaan marka SSR dan ISSR tidak dapat membedakan kapulasan berdasarkan kesamaan wilayahnya. Berbeda halnya dengan kapulasan, pada tanaman lain seperti *S. mukorrossi* yang dianalisis dengan ISSR terjadi pengelompokan berdasarkan wilayah (Mahar *et al.* 2012). Pada leci, analisis ISSR berguna untuk membedakan kultivar-kultivar yang secara morfologi sangat mirip (Degani *et al.* 2003).

KESIMPULAN

Primer dari marka SSR dan ISSR yang dipakai untuk menganalisis kapulasan semuanya menghasilkan pita polimorfik. Pada marka SSR, jumlah pita yang dihasilkan dari primer LML Y6 lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah pita pada LML Y12. Pada ISSR, primer yang paling banyak menghasilkan pita adalah ISSR 3, sedangkan primer yang paling sedikit menghasilkan pita ialah ISSR 6. Pita yang sering muncul pada marka SSR berukuran 160 bp, sedangkan pada ISSR berukuran 350 bp, 600 bp, 650 bp, dan 950 bp. Pita tersebut diduga merupakan pita yang umum dijumpai pada kapulasan. Populasi kapulasan dari Kecamatan Babakan Madang mempunyai keanekaragaman genetik yang paling tinggi. Kapulasan dari wilayah yang berbeda dapat berada pada satu kelompok yang sama, demikian pula halnya kapulasan dari wilayah yang sama, dapat berada pada kelompok yang berbeda. Primer dari marka SSR dan ISSR yang digunakan dalam penelitian ini tidak dapat membedakan seksualitas tumbuhan kapulasan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui skim Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi tahun 2015 dengan Prof Dr Tatik Chikmawati sebagai ketua peneliti. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Prof Dr Mien A. Rifai yang telah banyak memberikan saran untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Clyde MM, Chew PC, Normah MN, Rao VR, Salma I. 2005. Genetic diversity of *Nephelium ramboutan-ake* Leenh. assessed using RAPD and ISSR markers. *Acta Hort* (ISHS) 665:171–182. [Internet]. [diunduh 2012 Des 12]. Tersedia pada: http://www.actahort.org/books/665/665_19htm.
- Degani C, Deng J, Beiles A, El-Batsri R, Goren M, Gazit S. 2003. Identifying lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars and their genetic relationships using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128(6): 838–845.
- Djuita NR, Hartana A, Chikmawati T, Dorly. 2016. Pulasan [*(Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh.) fruit trees: variations in flower morphology, and associated differences in pollination type. *Int. J. Plant Biol.* 7(1):1–6. <https://doi.org/10.4081/pb.2016.6149>.
- Djuita NR, Hartana A, Chikmawati T, Dorly. 2017. Characteristics and Ideotype Formulation of Pulasan (*Nephelium ramboutan-ake*) Fruit Landrace from West Java, Indonesia. *Makara Journal of Science*, 21/2 (2017),69–76 doi: 10.7454/mss.v21i2.7304.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12(1):13–15.
- Ediwirman, Mansya E. 2011. Karakterisasi kapulasan (*Nephelium mutabile*) berbasis PCR-RAPD di Sumatera Barat. *J. Embrio.* 4(1): 66–73.
- Ekué MRM, Gailing O, Finkeldey R. 2009. Transferability of simple sequence repeat (SSR) markers developed in *Litchi chinensis* to *Blighia sapida* (Sapindaceae). *Plant Mol. Biol. Rep.* 27: 570–574. doi 10.1007/s11105-009-0115-2.
- Falk DA, Knap EE, Guerrant EO. 2001. An Introduction to Restoration Genetics. Arizona (US): Society for Ecological Restoration.
- Govindaraj M, Vetriventhan M, Srinivasan M. 2015. Importance of Genetic Diversity Assessment in Crop Plants and Its Recent Ad-

- vances: An Overview of Its Analytical Perspectives. *Genetics Research International*. 2015: 1–14.
- Kumar M, Gupta M, Shrivastava D, Prasad M, Prasad US, Sarin NB. 2006. Genetic relatedness among Indian litchi accessions (*Litchi chinensis* Sonn.) by RAPD markers. *Int. J. Agric. Res.* 1(4): 390–400.
- Lewis PO, Snow AA. 1992. Deterministic paternity exclusion using RAPD markers. *Mol. Ecol.* 1: 155–160.
- Long Y, Cheng J, Mei Z, Zhao L, Wei C, Fu S, Khan MA, 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). *Mol. Biol. Rep.* 42: 159–166.
- 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. Genomes*. doi 10.1007/s11295-012-0560-1.
- Mahar KS, Meena B, Rana TS, Ranade SA. 2012. ISSR analysis of soap nut (*Sapindus mukorossi* Gaertn.) genotypes in Western Himalaya (India). *Plant Biosyst.* 146(3): 614–621.
- Mason AS. 2015. SSR genotyping. *Methods Mol. Biol.* 1245:77–89. doi: 10.1007/978-1-4939-1966-6_6.
- Napitu CSPLS, Chikmawati T, Djuita NR. 2016. Keberagaman Genetik Kerabat rambutan liar (*Nephelium* spp.) di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat, Berdasarkan Marka SSR dan ISSR. *Floribunda* 5(4): 115–125.
- Ng WL, Tan SG. 2015. Inter simple sequence repeat markers: Are we doing it right? *ASM. Sci. J.* 9(1): 30–39.
- Penner GA, Bush A, Wise R. 1993. Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. *Genome Res.* 2: 341–345.
- Puhili AL, Chikmawati T, Djuita NR. 2016. Evaluation of Pulasan (*Nephelium ramboutan-ake*) Genetic Diversity in Bogor, West Java, Using Microsatellite Marker. *J.Trop. Life Science.* 6 (3): 184–189.
- Rohlf FJ. 2004. *NTSystpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System 2.1*. User Guide. Department of Ecology and Evolution. State University of New York. New York (US): Exeter Software.
- Seibert B. 1992. *Nephelium* L. In: Verheij EWM, Coronel RE (eds). *Plant Resources of South Asia. No 2. Edible Fruits and Nuts*. Bogor (ID): Prosea Foundation.
- Sheeba MS, Hama M, Radhika NK, Asha VV. 2014. Molecular diversities among *Cardiospermum halicacabum* Linn. populations in Kerala assessed using RAPD markers. *AP.* 3 (2): 87–92.
- Sim CC, Mahani MC, Choong YC, Salma I. 2005. Transferability of SSR markers from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) to pulasan (*Nephelium ramboutan-ake* L.) *Fruits.* 60(6): 379–384.
- Thomas DT, Ahedor AR, Williams CF, de Phampilis C, Crawford DJ, Xiang QYJ. 2008. Genetic analysis of a broad hybrid zone in *Aesculus* (*Sapindaceae*): is there evidence of long-distance pollen dispersal?
- Viruel MA, Hormaza JI. 2004. Development, characterization and variability analysis of microsatellites in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.), *Sapindaceae*. *Theor. Appl. Genet.* 108(5): 896–902.



Dewan Penyunting *Floribunda* amat berterima kasih kepada:
Prof. Dr. Mien A. Rifai (AIPI Jakarta)
Dr. Atik Retnowati (BO Bogor)
Dr. Fitmawati (Universitas Riau, Pekanbaru)
Dr. Etti Sartina Siregar (Universitas Sumatera Utara)
Hernawati S.Si., M.Si.(Universitas Muhammadiyah, Sumatera Barat)
Dr. Joko Witono (PKT-KRB, Bogor)
Dr. Himmah Rustiami (BO Bogor)
Prof. Dr. Amin Retnoningsih (Universitas Negeri Semarang)
Dr. Deby Arifiani (BO Bogor)
Dr. Gunawan M.Si (Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan)
atas kesudiannya bertindak selaku mitra bestari untuk terbitan
Floribunda 6(4) April 2020

FLORIBUNDA

ISSN: 0215 – 4706; e – ISSN: 2469 – 6944

Diterbitkan oleh:

PENGALANG TAKSONOMI TUMBUHAN INDONESIA

d.a. “Herbarium Bogoriense” Bidang Botani, Puslit Biologi, CSC-LIPI
Jl. Raya Jakarta Bogor, Km. 46. Cibinong, Bogor. 16911. Indonesia