

Ardiyani *et al* – Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Inter Simple Sequence Repeats Pada *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze

**KERAGAMAN GENETIK *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Taccaceae)
DARI BEBERAPA PROVENANSI DI INDONESIA BERDASARKAN
MARKA INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS (ISSR)***
[The Genetic Diversity of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Taccaceae) from Various
Provenances in Indonesia Using Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) Markers]

Marlina Ardiyani[✉], Lulut Dwi Sulistyansih, Yunita Nur Esthi
Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI
Jl. Raya Bogor km.46, Cibinong 16911.
email: marlina.ardiyani@gmail.com

ABSTRACT

Kecondang or Taka (*Tacca leontopetaloides*), a member of Taccaceae, is one the carbohydrate alternatives to rice which can be developed in coastal area. With the global warming, the sea level has increased and small islands are more isolated. The people who lives in these islands should depend on their bioresources. As Taka inhabits coastal area, the development of this plant becomes critical. A total of 65 accessions of Taka from 9 provenances in Indonesia (Sukabumi, Madura, Kp. Siung (Yogyakarta), Gn. Kidung (Yogyakarta), and the small islands in Karimun Jawa namely Nyamuk, Katang, Cendekia, Kumbang, Seruni islands) were characterized using six ISSR markers [GSGG(TG5)T; CCAG(TGG)3TG; GGAG(TGG)3TG; BDBT(TCC4); (AC)8C; (AG)8G]. The scoring of the fragments resulted in 55 (69.6%) polymorphic bands. The size of the bands varied from 150bp to 1.6kb. The 65 accessions of Taka made several clusters according to their provenances. The range of individual genetic dissimilarity was from 0.012 to 0.186. The results showed that amongst nine population studied, Gn. Kidul, Yogyakarta population has the highest level of genetic variation with mean values of $N_a = 1.3544 \pm 0.4814$, $N_e = 1.1784 \pm 0.3025$, $PLP = 35.44\%$ and $He = 0.1094 \pm 0.1681$. Whereas, P. Nyamuk, Kep. Karimun Jawa population has the lowest level of genetic variation with mean values of $N_a = 1.0759 \pm 0.2666$, $N_e = 1.0523 \pm 0.2163$, $PLP = 7.59\%$ and $He = 0.0275 \pm 0.1097$.

Keywords: Carbohydrate alternatives, coastal area, DNA fingerprints, germplasm, Taka.

ABSTRAK

Kecondang atau Taka (*Tacca leontopetaloides*) merupakan salah satu sumber karbohidrat alternatif pengganti beras yang dapat dikembangkan di daerah pesisir pantai. Dengan adanya isu perubahan iklim global, pengembangan Taka sangatlah penting mengingat sangat banyaknya pulau-pulau kecil di Indonesia. Sebanyak 65 aksesori Taka dari 9 provenansi di Indonesia (Sukabumi, Madura, Kp. Siung (Yogyakarta), Gn. Kidung (Yogyakarta), dan pulau-pulau di Kep. Karimun Jawa yaitu P. Nyamuk, P. Katang, P. Cendekia, P. Kumbang, dan P. Seruni) telah dikarakterisasi menggunakan enam marka ISSR [GSGG(TG5)T; CCAG(TGG)3TG; GGAG(TGG)3TG; BDBT(TCC4); (AC)8C; (AG)8G]. Skoring pita DNA menghasilkan 55 (69,6%) pita polimorfik. Ukuran pita bervariasi antara 150bp hingga 1,6kb. Ke-65 aksesori Taka membentuk klaster berdasarkan populasi atau provenansi. Kisaran *individual genetic dissimilarity* adalah 0,012 to 0,186. Hasil menunjukkan bahwa di antara kesembilan populasi yang diteliti, populasi Gn. Kidul-Yogyakarta mempunyai nilai tertinggi untuk keragaman genetik dengan nilai $N_a = 1,3544 \pm 0,4814$, $N_e = 1,1784 \pm 0,3025$, $PLP = 35,44\%$ dan $He = 0,1094 \pm 0,1681$. Sementara, populasi P. Nyamuk (Kep. Karimun Jawa) mempunyai nilai terendah untuk keragaman genetik dengan nilai rata-rata $N_a = 1,0759 \pm 0,2666$, $N_e = 1,0523 \pm 0,2163$, $PLP = 7,59\%$ dan $He = 0,0275 \pm 0,1097$.

Kata Kunci: Pangan alternatif, pesisir, plasma nutfah, sidik jari DNA, Taka.

PENDAHULUAN

Ketergantungan masyarakat Indonesia terhadap satu komoditas pangan tertentu yaitu beras, sangat membahayakan ketahanan pangan nasional. Oleh karena itu diperlukan pencarian sumber karbohidrat alternatif pengganti beras. Indonesia mempunyai keragaman yang tinggi akan tumbuhan sumber karbohidrat seperti ubi jalar, ubikayu, kentang hitam, garut, ganyong dan gadung. Namun demikian, dengan permasalahan perubahan global seperti perubahan iklim, maka diperlukan pencarian sumber-sumber karbohidrat dari tumbuhan yang dapat be-

radaptasi terhadap perubahan iklim tadi seperti tahan kekeringan dan tahan salinitas.

Taka atau *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Drenth, 1976) merupakan jenis tumbuhan liar dari suku Dioscoreaceae, banyak dijumpai di daerah pesisir, pada umumnya tumbuh pada ketinggian di bawah 200 m dpl. Jenis ini merupakan tumbuhan asli di daerah tropik mulai dari Afrika, Asia Selatan, Asia Tenggara, Australia Utara, New Guinea, hingga Samosa, Mikronesia dan Fiji. Nama lokal di daerah Polinesia adalah *Polynesian Arrowroot*. Di Indonesia, *T. leontopetaloides* dikenal dengan nama

*Diterima: 2 Februari 2014 - Disetujui: 5 April 2014

Taka, Kecondang atau Jalawure. Secara lokal, Taka telah dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan pangan dan obat-obatan. Namun, keberadaan tepung ubikayu ataupun tepung jagung telah banyak menggeser penggunaan tepung Taka oleh masyarakat lokal hampir di seluruh wilayah persebaran Taka seperti tersebut di atas.

Taka mempunyai karakter berupa herba dengan tangkai daun sekitar 17–150 cm. Daun berbentuk menjari berukuran panjang 30–70 cm dan lebar hingga 120 cm. Vena di bagian atas daun pipih, permukaan bagian bawah bersinar dengan vena kekuningan. Perbungaan dalam tangkai berwarna hijau keunguan dengan braktea panjang menggulung. Tumbuhan ini biasanya dorman dan mati di dalam tanah. Selanjutnya, daun baru akan muncul dari umbi yang membundar. Umbi keras seperti kentang dengan warna kulit kecokelatan dan bagian dalam berwarna putih.

Umbi Taka mengandung beberapa senyawa seperti pati, alkohol cerylic, steroid saponin dan taccalin (Caddick *et al.*, 2002). Adanya senyawa taccalin (3,5,7,4'-tetrahydroxy flavylum 3-xyloside) inilah yang mengakibatkan umbi taka yang masih segar tidak dapat langsung dikonsumsi (Ukpabi *et al.*, 2009). Tepung yang sudah diproses dapat digunakan sebagai bahan adonan kue, pasta dan puding. Bubur Taka yang dicampur dengan gula, santan, atau jus buah dapat membantu mengatasi penderita penyakit pencernaan seperti diare dan disentri. Tangkai daun Taka dapat digunakan untuk membuat keranjang dengan cara dianyam.

Keragaman genetik adalah suatu tingkatan biodiversitas yang mengacu pada jumlah total variasi genetik dalam keseluruhan spesies yang terdapat pada sebagian atau seluruh permukaan bumi yang dapat didiami. Informasi keragaman genetik diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk kegiatan konservasi. Sedangkan untuk pemuliaan, keragaman genetik yang luas diperlukan dalam kegiatan seleksi untuk merakit tanaman unggul. Da-

lam analisis genetik, penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman dan kegiatan yang berkaitan dengan konservasi sumber daya genetik. Adapun penanda molekuler yang paling umum digunakan antara lain RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplification Fragment Length Polymorphism*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), SSR (*Simple Sequence Repeats*), dan ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*).

Saat ini penanda ISSR mulai banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik. Penanda ISSR dikembangkan dari kebutuhan untuk mengeksplorasi *microsatellite repeats* tanpa menggunakan DNA hasil *sequencing*. Teknik ini didasarkan pada amplifikasi segmen DNA antara dua *microsatellite repeated region*. Penanda molekuler ISSR merupakan salah satu penanda dengan motif sekuen berulang. Ada kalanya terdapat penambahan sekuen nukleotida baik pada bagian ujung 3' maupun ujung 5' seperti (CA)₈ RG dan (CA)₈ RY. ISSR adalah fragmen DNA dengan ukuran 100-3000 bp berlokasi di antara wilayah mikrosatelit, wilayah amplifikasi sekuen DNA yaitu pada inter-SSR bagian *flanked* genom secara berlawanan pada area yang dekat dengan sekuen berulang (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

Penanda molekuler ISSR memiliki beberapa kelebihan antara lain sederhana, cepat, efisien, mampu menghasilkan panjang produk amplifikasi antara 200-2.000bp. Selain itu, penanda ISSR tidak dipengaruhi musim dan lingkungan (Azrai, 2005), tidak memerlukan data sekuen terlebih dahulu, hanya membutuhkan 5-50 ng cetakan (*template*) DNA per reaksi, ISSR tersebar di seluruh genom, dapat menghasilkan pola polimorfisme lebih tinggi dari pada RAPD (Guo *et al.*, 2009), menghasilkan polimorfisme pada tingkat kultivar (Lu *et al.*, 2011), pada umumnya bersifat dominan meskipun kadang-kadang bersifat kodominan (Kumar, 2009), dan dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik dan analisis kekerabatan (Trojanowska dan Bolibok,

2004). Teknik ini sangat produktif karena penggunaan primer panjang, yang memungkinkan untuk suhu penempelan primer yang tinggi. ISSR ini menggabungkan keunggulan dari penanda AFLP dan SSR dengan kemudahan RAPD.

Sejauh ini, *T. leontopetaloides* belum banyak dibudidayakan dan tumbuh terbatas di daerah sekitar pantai. Penelitian genetik untuk mendukung upaya konservasi jenis, domestikasi ataupun upaya pemuliaan juga belum pernah dilakukan. Sementara untuk melakukan hal tersebut, diperlukan data-data atau informasi genetik untuk tiap populasi maupun individu dalam populasi. Sampai saat ini, penggunaan penanda ISSR untuk evaluasi keragaman genetik Taka di Indonesia belum pernah dilakukan. Atas dasar kurangnya data penelitian genetik Taka dan pentingnya informasi ini untuk upaya do-

mestikasi maupun pemuliaan Taka, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik Taka dari beberapa provenansi di Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan untuk analisis keragaman genetik DNA *Tacca leontopetaloides* diperoleh dari beberapa provenansi di Indonesia. Bahan penelitian tersebut terdiri atas sembilan populasi, yaitu: (1) Sukabumi, (2) Madura, (3) Gn. Kidul (Yogyakarta) (4) Kp. Siung (Yogyakarta) (5) P. Kumbang (Kep. Karimun Jawa) (6) P. Nyamuk (Kep. Karimun Jawa) (7) P. Katang (Kep. Karimun Jawa) (8) P. Seruni (Kep. Karimun Jawa) dan (9) P. Cendekian (Kep. Karimun Jawa), dengan masing-masing populasi terdiri atas 5-9 individu (Tabel 1). Semua bahan penelitian dikoleksi dari habitat ala-

Tabel 1. Koleksi sampel *Tacca leontopetaloides* dari sembilan provenansi di Indonesia. (*Samples of Tacca leontopetaloides from nine provenances in Indonesia*).

No. populasi/No. sampel (<i>Population No./Sample No.</i>)	Populasi (<i>Population</i>)	No. aksesori (<i>Accession No.</i>)
1/1	Sukabumi	TC1
1/2	Sukabumi	TC3
1/3	Sukabumi	TC4
1/4	Sukabumi	TC5
1/5	Sukabumi	TC6
1/6	Sukabumi	TC7
1/7	Sukabumi	TC9
1/8	Sukabumi	TC10
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		8
2/9	Madura	R1649
2/10	Madura	R1654
2/11	Madura	R1655
2/12	Madura	R1656
2/13	Madura	R1660
2/14	Madura	R1665
2/15	Madura	R1666
2/16	Madura	R1667
2/17	Madura	R1668
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		9
3/18	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1757
3/19	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1758
3/20	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1759
3/21	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1760
3/22	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1761
3/23	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1762
3/24	Gn. Kidul, Yogyakarta	H1763
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		7

Tabel 1. Koleksi sampel *Tacca leontopetaloides* dari sembilan provenansi di Indonesia. (*Samples of Tacca leontopetaloides from nine provenances in Indonesia*). (lanjutan/continued)

No. populasi/No. sampel (<i>Population No./Sample No.</i>)	Populasi (<i>Population</i>)	No. aksesi (<i>Accession No.</i>)
4/25	Kp. Siung, Yogyakarta	H1770
4/26	Kp. Siung, Yogyakarta	H1771
4/27	Kp. Siung, Yogyakarta	H1772
4/28	Kp. Siung, Yogyakarta	H1773
4/29	Kp. Siung, Yogyakarta	H1789
4/30	Kp. Siung, Yogyakarta	H1792
4/31	Kp. Siung, Yogyakarta	H1793
4/32		H1794
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		8
5/33	P. Kumbang, Karimun Jawa	SL15
5/34	P. Kumbang, Karimun Jawa	SL19
5/35	P. Kumbang, Karimun Jawa	SL36
5/36	P. Kumbang, Karimun Jawa	SL54
5/37	P. Kumbang, Karimun Jawa	SL62
5/38	P. Kumbang, Karimun Jawa	SL63
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		6
6/39	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL66
6/40	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL68
6/41	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL70
6/42	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL74
6/43	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL91
6/44	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL94
6/45	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL96
6/46	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL103
6/47	P. Nyamuk, Karimun Jawa	SL105
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		9
7/48	P. Katang, Karimun Jawa	SL123
7/49	P. Katang, Karimun Jawa	SL125
7/50	P. Katang, Karimun Jawa	SL129
7/51	P. Katang, Karimun Jawa	SL132
7/52	P. Katang, Karimun Jawa	SL134
7/53	P. Katang, Karimun Jawa	SL136
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		6
8/54	P. Seruni, Karimun Jawa	SL137
8/55	P. Seruni, Karimun Jawa	SL139
8/56	P. Seruni, Karimun Jawa	SL162
8/57	P. Seruni, Karimun Jawa	SL166
8/58	P. Seruni, Karimun Jawa	SL168
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		5
9/59	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL169
9/60	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL174
9/61	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL177
9/62	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL201
9/63	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL204
9/64	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL207
9/65	P. Cendekian, Karimun Jawa	SL213
Jumlah sampel (<i>Total of samples</i>)		7
Jumlah sampel total (<i>Total of samples</i>)		65

minya dengan menggunakan metode pengambilan sampel DNA di lapangan berupa material daun yang segar dan sehat yang disimpan dalam kantung DNA lalu dikeringkan dengan gel silika (Widjaja dan Poerba, 2004).

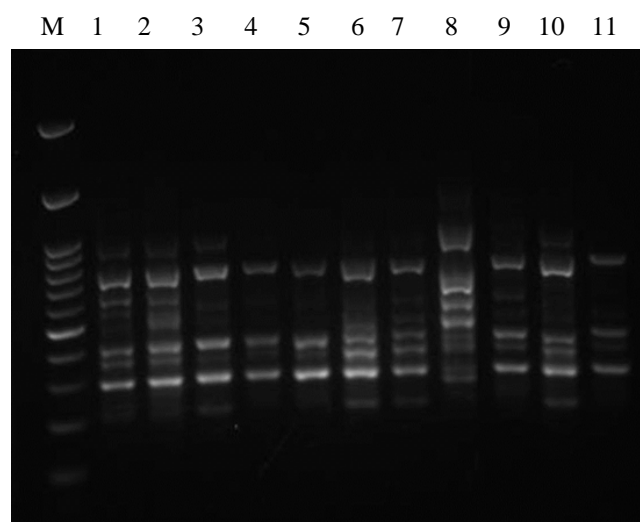
Ekstraksi dan isolasi DNA

DNA genom Taka diisolasi dengan menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi dari Doyle dan Doyle (1987). Modifikasi berupa proses penghomogenan dengan *shaker* sewaktu inkubasi pada suhu 65°C. Pemisahan DNA dengan materi lainnya yaitu dengan penambahan kloroform: isoamil alkohol (CI) dilakukan sebanyak dua kali dan dilakukan pada mesin *shaker* dengan kecepatan sedang. Dengan kondisi ini, tabrakan-tabrakan antar molekul dapat menjadi optimal. Presipitasi DNA dilakukan dengan penambahan isopropanol kemudian didiamkan selama satu malam. Total DNA genom diuji secara kualitatif menggunakan metode elektroforesis. Genom DNA dengan kualitas DNA yang baik dilanjutkan ke tahapan amplifikasi DNA dengan menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR).

Optimasi PCR dan Amplifikasi DNA

Optimasi PCR dilakukan untuk mendapatkan produk PCR yang optimal. Amplifikasi genom DNA Taka dilakukan dengan menggunakan enam primer

ISSR (1st Base). Keenam primer ISSR tersebut adalah ISSR1: GSGG(TG5)T; ISSR2: CCAG(TGG)3TG; ISSR3: GGAG(TGG)3TG; ISSR4: BDBT(TCC4); ISSR6: (AC)8C, dan ISSR7: (AG)8G. Amplifikasi menggunakan KAPA2G Robust PCR Kit (KAPA Biosystems Inc., Boston, US). Total campuran yang digunakan untuk amplifikasi adalah sebanyak 15 µl, terdiri atas Kapa Fast 7,5 µl, ISSR 1,5 µl, DNA 1,5 µl dan ddH₂O 4,5 µl. Amplifikasi dilakukan menggunakan PCR Thermal Cycler TaKaRa dengan tahapan program sebagai berikut: denaturasi awal pada kondisi 94°C selama 2 menit dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94°C selama 1 menit, penempelan pada 53°C selama 1 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit. Proses diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 7 menit. Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis pada 1% gel agarosa yang sudah ditambah dengan *Gel Red* (Biotium) menggunakan mesin Mupid Mini Cell. Sebagai acuan untuk mengukur panjang pita, digunakan 100 bp *ladder* (Promega). Kemudian pola pita yang dihasilkan diamati di bawah UV transiluminator. Gel ini difoto dengan menggunakan *Gel Documentation System* (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil PCR sampel *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze dengan primer ISSR-7. Keterangan: M = DNA marker (100 bp ladder Promega); Sampel: 1 hingga 11. (*PCR result of Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze sample using ISSR-7 primer. Notes: M = DNA marker (100 bp ladder Promega); Sample: 1 to 11).

Analisis data

Untuk setiap sampel, masing-masing fragmen atau pita yang diamplifikasi menggunakan primer ISSR diperlakukan sebagai sebuah unit karakter. Fragmen ISSR yang terbentuk diberi skor untuk pita terbentuk (1) atau pita tidak terbentuk (0) yang selanjutnya dibangun menjadi sebuah matriks biner. Analisis data kemudian dilakukan dengan menggunakan program paket komputer NTSYS PC versi 2.0 (Rohlf, 1997). Nilai kesamaan digunakan untuk menghasilkan dendrogram menggunakan metode *unweighted pair group* dengan rata-rata aritmetika (UPGMA) menggunakan koefisien kesamaan Jaccard. Sedangkan, pengukuran keragaman yang meliputi heterozigositas harapan (H_e), jumlah alel teramati (N_a) dan jumlah alel efektif (N_e) berdasarkan Nei (1978) dihitung dengan menggunakan POPGENE (Yeh *et al.*, 1997). *Simple Matching Coefficient* (Dunn dan Everitt, 1982) digunakan sebagai dasar untuk penghitungan nilai kesamaan genetik dan nilai ketidaksamaan genetik. Program TREEVIEW (Page, 2001) digunakan untuk melihat dendrogram yang dihasilkan. Dendrogram populasi yang dihasilkan dapat dilihat dengan menggunakan program TREEVIEW (Page, 2001).

HASIL

Profil ISSR

Amplifikasi total genom DNA dari 65 sampel *T. leontopetaloides* dengan menggunakan enam

primer ISSR menghasilkan produk PCR yang dapat dianalisis karena menghasilkan pola pita DNA yang dapat dibaca dan diskor. Sekuen dari enam primer ISSR yang digunakan dan jumlah pita DNA yang dihasilkan tercantum pada Tabel 2. Adapun hasil PCR dengan salah satu primer (ISSR 7) dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari hasil pengamatan produk PCR yang dihasilkan, diperoleh 79 fragmen DNA yang berukuran 150bp hingga 1.6kb, dengan 55 pita fragmen DNA (69,6%) polimorfik dan 24 pita fragmen DNA (30,4%) yang monomorfik. Hal ini menunjukkan penanda ISSR yang digunakan memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi (> 50% pita polimorfik). Keenam primer ISSR yang digunakan menghasilkan 79 pita DNA yang dapat dideteksi dan diskor. Jumlah maksimum pita polimorfik 14 terdapat pada primer ISSR3 (Tabel 2).

Analisis kluster antar individu dan antar populasi

Analisis kluster kesamaan genetik pada 65 aksesi *T. leontopetaloides* menunjukkan pemisahan aksesi ke dalam dua kluster utama, yaitu kluster A dengan nilai koefisien kesamaan 0,814 dan kluster B dengan nilai koefisien kesamaan 0,856. Kluster A terdiri atas dua subkluster yaitu subkluster J yang merupakan populasi dari P. Cendekian (Kep. Karimun Jawa), dan subkluster lainnya yang terdiri atas beberapa kelompok kecil yang sebagian besar mengelompok mayoritas berdasarkan populasinya (C, F, G, H, dan I), dan mengelompok secara acak (D

Tabel 2. Primer yang digunakan dan jumlah pita DNA hasil amplifikasi dan tingkat polimorfisme pada 65 aksesi *Tacca leontopetaloides*. (*Primers used and number of amplified bands and level of polymorphisms in 65 accessions of Tacca leontopetaloides*)

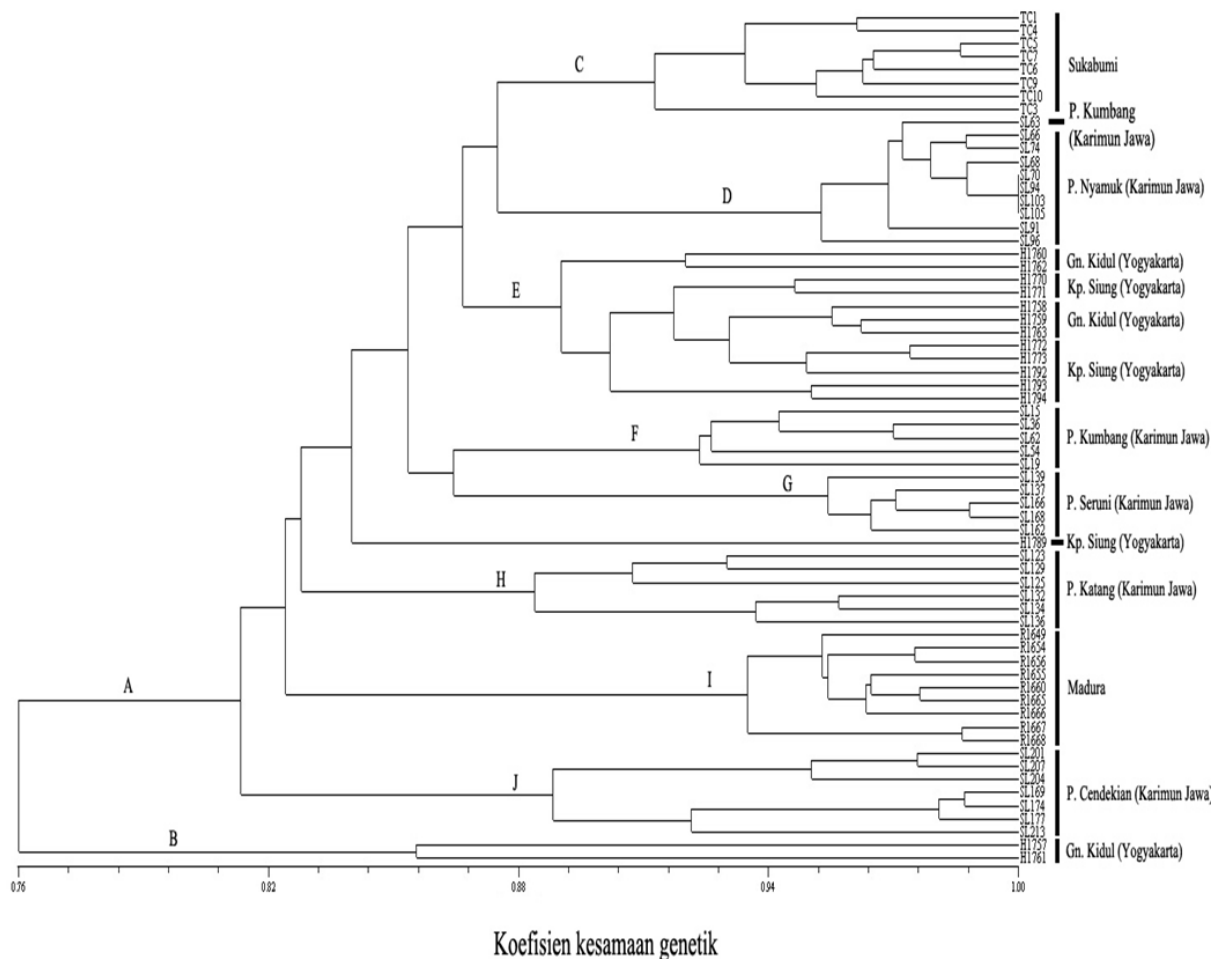
Primer (Primer)	Urutan Basa (<i>Base sequence</i>) (5'-3')	Jumlah Pita Monomorfik (<i>Number of Mono- morphic Bands</i>)	Jumlah Pita Polimorfik (<i>Number of Poly- morphic Bands</i>)	Jumlah Total (<i>Total number</i>)
ISSR1	GSGGTGTGTGTGTGT	6	14	20
ISSR2	CCAGTGGTGGTGGTG	4	9	13
ISSR3	GGAGTGGTGGTGGTG	4	10	14
ISSR4	BDBTCCTCCTCCTCCTCC	5	3	8
ISSR6	ACACACACACACACC	2	11	13
ISSR7	AGAGAGAGAGAGAGAGG	3	8	11
Total		24	55	79

dan E). Pada subkluster D, aksesori no SL63 yang merupakan populasi P. Kumbang (Kep. Karimun Jawa) mengelompok dengan populasi P. Nyamuk (Kep. Karimun Jawa). Sementara itu, pada subkluster E mengelompok secara acak antara populasi Gn. Kidul (Yogyakarta) dengan Kp. Siung (Yogyakarta). Kluster B terdiri atas aksesori no H1757 dan H1761 yang merupakan populasi Gn. Kidul (Yogyakarta).

Analisis Keragaman Genetik

Beberapa parameter yang digunakan untuk melihat keragaman genetik dalam suatu populasi

antara lain jumlah alel yang teramati (Na), jumlah alel efektif (Ne), persentase lokus polimorfik (PLP) dan heterozigositas harapan (He) (Mondini *et al.*, 2009). Adapun hasil analisis keragaman genetik antar aksesori pada tiap populasi menunjukkan keragaman genetik yang bervariasi (Tabel 3). Populasi Gn. Kidul (Yogyakarta) memiliki nilai Na, Ne dan He paling tinggi diantara populasi yang lainnya dengan nilai Na = 1,3544±0,4814, Ne = 1,1784±0,3025, PLP = 35,44% dan He = 0,1094±0,1681. Sedangkan keragaman genetik paling rendah terdapat pada po-



Gambar 2. Dendrogram kesamaan genetik antara 65 aksesori *Tacca leontopetaloides* berdasarkan koefisien kesamaan Jaccard dan algoritma UPGMA. (*Dendrogram of genetic similarity between 65 accessions of Tacca leontopetaloides based on Jaccard similarity and UPGMA algorithm*).

populasi P. Nyamuk (Kep. Karimun Jawa) dengan nilai $N_a = 1,0759 \pm 0,2666$, $N_e = 1,0523 \pm 0,2163$, PLP = 7,59% dan $He = 0,0275 \pm 0,1097$.

Pengelompokan keragaman genetik antar populasi dianalisis dengan jarak genetik Nei (1978) dengan metode UPGMA (Gambar 3). Secara umum, populasi *T. leontopetaloides* membentuk dua kelompok utama. Kelompok pertama terdiri atas popu-

lasi 2 (Madura) sedangkan kelompok kedua terdiri atas populasi 1 (Sukabumi), populasi 3 (Kp. Siung (Yogyakarta)), populasi 4 (Gn. Kidul (Yogyakarta)), populasi 5, 6, 7, 8 dan 9 yang berasal dari pulau-pulau di Kepulauan Karimun Jawa. Populasi 1 dan populasi 6 masing-masing berdiri sendiri. Sementara itu, populasi 3 dan populasi 4 mengelompok menjadi satu yang menunjukkan keduanya memiliki kesa-

Tabel 3. Keragaman genetik sembilan populasi *Tacca leontopetaloides*. (*Genetic diversity of nine population of Tacca leontopetaloides*)

No	Populasi (<i>Population</i>)	Ukuran sampel (<i>Sample size</i>)	N_a	N_e	Persentase lokus polimorfik (<i>Percentage of Polymorphic Loci</i>) (PLP)	He
1	Sukabumi	9	1,1772±0,3843	1,0452±0,1352	17,72	0,0326±0,0848
2	Madura	9	1,1266±0,3346	1,0615±0,1997	12,66	0,0375±0,1115
3	Kp. Siung (Yogyakarta)	8	1,2532±0,4376	1,1074±0,2452	25,32	0,0675±0,1372
4	Gn. Kidul (Yogyakarta)	7	1,3544±0,4814	1,1784±0,3025	35,44	0,1094±0,1681
5	P. Kumbang (Kep. Karimun Jawa)	6	1,1266±0,3346	1,0452±0,1409	12,66	0,0315±0,0900
6	P. Nyamuk (Kep. Karimun Jawa)	9	1,0759±0,2666	1,0523±0,2163	7,59	0,0275±0,1097
7	P. Katang (Kep. Karimun Jawa)	6	1,1899±0,3947	1,0966±0,2331	18,99	0,0599±0,1357
8	P. Seruni (Kep. Karimun Jawa)	5	1,0886±0,2860	1,0570±0,2127	8,86	0,0318±0,1119
9	P. Cendekian (Kep. Karimun Jawa)	7	1,1646±0,3731	1,0925±0,2277	16,46	0,0569±0,1356

Keterangan (*Notes*):

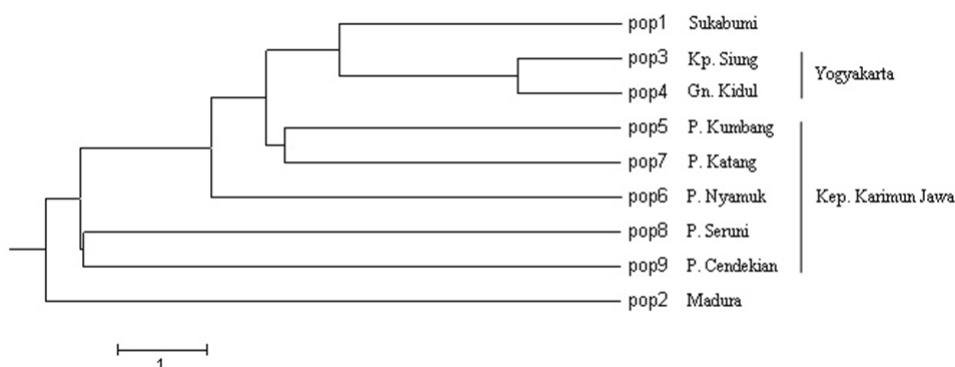
N_a : Rata-rata jumlah alel yang diamati per lokus (*Mean of observed allele per loci*)

N_e : Rata-rata jumlah alel efektif (*Mean of effective allele numbers*)

PLP : Presentasi lokus polimorfik (*Percentage of Polymorphic Loci*)

He : Rata-rata heterozigositas harapan (*Mean of expected heterozygosity*)

Huruf/angka ditebalkan menunjukkan nilai tertinggi dan terendah (*Bold fonts/numbers showed the highest and the lowest value*).



Gambar 3. Dendrogram sembilan populasi *Tacca leontopetaloides* berdasarkan jarak genetik Nei (1978). (*Dendrogram of nine population of Tacca leontopetaloides according to Nei's genetic distance (1978)*)

Tabel 4. Nilai jarak genetik (Nei 1978) pada sembilan populasi *Tacca leontopetaloides*. (*Nei's genetic distance (Nei 1978) for nine population of Tacca leontopetaloides*).

Populasi	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	****								
2	0,1135	****							
3	0,0548	0,1115	****						
4	0,0724	0,1089	0,0234	****					
5	0,0755	0,1410	0,0618	0,0944	****				
6	0,0807	0,1414	0,0724	0,0925	0,1051	****			
7	0,0882	0,1260	0,0739	0,0858	0,0759	0,1119	****		
8	0,1245	0,1456	0,1080	0,1365	0,1000	0,1369	0,1284	****	
9	0,1086	0,1496	0,1246	0,1678	0,0821	0,1312	0,1152	0,1211	****

Keterangan (*Notes*): Populasi (1) = Sukabumi, (2) = Madura, (3) = Kp. Siung, Yogyakarta, (4) = Gn. Kidul, Yogyakarta, (5) = P. Kumbang, Karimun Jawa, (6) = P. Nyamuk, Karimun Jawa, (7) = P. Katang, Karimun Jawa, (8) = P. Seruni, Karimun Jawa, (9) = P. Cendekian, Karimun Jawa.

maan properti genetik. Populasi 5 dan populasi 7 juga mengelompok, demikian juga dengan populasi 8 dan populasi 9.

Jarak Genetik Antar Populasi

Nilai pasangan jarak genetik (Nei 1978) di antara kesembilan populasi yang diuji dapat dilihat pada Tabel 4. Jarak genetik tertinggi yaitu 0,1678 terdapat antara populasi Gn. Kidul (Yogyakarta) dengan P. Cendekian (Kep. Karimun Jawa). Sedangkan jarak genetik terendah yaitu 0,0234 terdapat antara populasi Kp. Siung (Yogyakarta) dengan Gn. Kidul (Yogyakarta).

PEMBAHASAN

Analisis ISSR pada sembilan populasi Taka (*Tacca leontopetaloides*) menunjukkan level variasi genetik yang cukup tinggi dengan pita polimorfik sebesar 69,6%. Tingginya persentase pita polimorfik ini mempunyai kemiripan dengan hasil studi ISSR pada *Tacca chantrieri* (Zhang et al., 2006a) dimana hasil analisis ISSR pada 14 populasi *T. chantrieri* menghasilkan pita polimorfik sebesar 90,62%. Sedangkan penelitian Zhang et al. (2006b) pada *Tacca integrifolia* menghasilkan pita polimorfik sebesar 67,68% dari empat populasi menggunakan 11 primer ISSR. Namun demikian, hasil analisis populasi Taka

ini menunjukkan perbedaan variasi yang tinggi dalam PLP (Persentase Lokus Polimorfik) berkisar antara 7,59%-35,44%. Perbedaan variasi PLP yang tinggi juga terjadi pada *Tacca chantrieri*, yaitu 8,75%-55% (Zhang et al., 2006a) dan pada *Tacca integrifolia* yaitu 12,81%-67,68% (Zhang et al., 2006b). Hal ini mengindikasikan variasi genetik yang terpartisi di antara populasi. Partisi ini dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti sistem penyerbukan sendiri (*selfing*). Pada *Tacca chantrieri*, diferensiasi yang tinggi di antara populasi dan keragaman genetik yang rendah di dalam populasi disebabkan karena sistem penyerbukan sendiri (*self pollination*) yang mendominasi dibandingkan penyerbukan silang atau *outcrossing* (Zhang et al., 2006a). Menurut Hamrick dan Godt (1996), penyerbukan sendiri dapat mengakibatkan keragaman genetik yang rendah di dalam populasi dan adanya diferensiasi genetik yang tinggi di antara populasi. Tingkat diferensiasi populasi yang tinggi dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti sistem persilangan, *genetic drift*, fluktuasi demografi, atau isolasi genetik dari populasi (Hogbin dan Peakall, 1999).

Analisis kluster kesamaan genetik pada 65 aksesi *T. leontopetaloides* menunjukkan adanya pemisahan aksesi ke dalam dua kluster utama yang

sebagian mengelompok berdasarkan populasinya dan sebagian lainnya mengelompok secara acak (Gambar 2). Hasil analisis kluster ini menghadirkan fenomena yang menarik dengan mengelompoknya individu dari populasi yang berbeda ke dalam satu kluster. Pengelompokan individu dari populasi yang berbeda ini kemungkinan bisa disebabkan karena pola penyebaran *T. leontopetaloides* yang terdistribusi hampir merata di sepanjang pesisir pantai di wilayah tropis. Distribusi ini kemungkinan disebabkan oleh faktor pola penyebaran biji melalui laut. Biji Taka mempunyai selaput yang berstruktur menyerupai spons.

Analisis nilai keragaman genetik yang tinggi pada populasi Gn. Kidul, Yogyakarta (PLP=35,44% dan $He=0,1094\pm 0,1681$) mengindikasikan bahwa daerah Gn. Kidul, Yogyakarta kemungkinan merupakan salah satu pusat keragaman *T. leontopetaloides* di Indonesia. Vavilov (1951) menyatakan bahwa pusat asal jenis tanaman adalah pada wilayah di mana ditemukan keragaman genetik yang terbanyak termasuk kerabat liar tanaman yang bersangkutan. Keragaman genetik yang tinggi pada populasi Gn

Kidul, Yogyakarta kemungkinan juga dapat disebabkan oleh penyerbukan silang (*outcrossing*) yang lebih banyak terjadi dibandingkan penyerbukan sendiri. Analisis lebih lanjut diperlukan untuk mendukung dan membuktikan hasil ini.

Populasi 8 (P. Seruni) dan populasi 9 (P. Cendekian) menunjukkan keduanya memiliki kesamaan properti genetika dibandingkan dengan jarak antara kedua populasi ini dengan populasi-populasi lain yang berasal dari Kep. Karimun Jawa. Dilihat dari geografi Kep. Karimun Jawa (Gambar 4), P. Seruni dan P. Cendekian memiliki kedekatan geografi yaitu berada di bagian Timur Kep. Karimun Jawa, sementara pulau-pulau lain (P. Kumbang, P. Katang, dan P. Nyamuk) berada di bagian Barat Kep. Karimun Jawa.

Nilai jarak genetik di antara populasi berkisar antara 0.0234 hingga 0.1678. Jarak genetik tertinggi terdapat antara populasi Gn. Kidul (Yogyakarta) dengan P. Cendekian (Kep. Karimun Jawa) sebesar 0.1678 yang mengindikasikan bahwa kecil kemungkinan kedua populasi tersebut berasal dari sumber



Gambar 4. Kepulauan Karimunjawa dan lokasi pulau-pulau yang dilakukan pengambilan sampel. (*Karimunjawa Islands and the islands where the sampling was done*).

yang sama. Sedangkan populasi Gn. Kidul (Yogyakarta) dan Kp. Siung (Yogyakarta) kemungkinan bisa berasal dari sumber yang sama mengingat jarak genetik diantara kedua populasi cukup rendah (0.0234). Jarak genetik yang tinggi antara populasi Gn. Kidul (Yogyakarta) dan P. Cendekian (Kep. Karimun Jawa) dapat disebabkan karena adanya hambatan geografis yang menyebabkan kemungkinan persilangan antara kedua populasi tersebut sangat kecil terjadi. Isolasi geografis antara populasi Gn. Kidul dan populasi P. Cendekian kemungkinan menyebabkan terjadinya isolasi genetik. Populasi yang terisolasi secara genetik akan mempengaruhi struktur genetik (Barret dan Kohn, 1991).

Mengingat pentingnya peran *T. leontopetaloides* sebagai salah satu alternatif sumber pangan khususnya sumber karbohidrat, upaya konservasi dan pemuliaan tanaman ini harus terus dilakukan dan ditingkatkan. Dalam hal ini *T. leontopetaloides* berperan sebagai sumber plasma nutfah. Dengan demikian kondisi properti genetika setiap populasi dan individu-individu di dalam populasi tersebut hendaknya mendasari upaya konservasi dan pemuliaan tanaman tersebut. Informasi genetika dapat digunakan dalam rangka menyilangkan individu-individu untuk menghasilkan individu yang mempunyai properti genetik yang keragamannya jauh lebih tinggi.

KESIMPULAN

Hasil pengamatan genetik *T. leontopetaloides* dengan menggunakan enam penanda primer ISSR menunjukkan bahwa 65 aksesori yang digunakan memiliki 8-20 fragmen DNA yang berukuran dari 150 bp hingga 2.1 kb. Nilai ketidaksamaan genetik dari 65 aksesori berkisar antara 0,012 to 0,186. Analisis kluster kesamaan genetik pada 65 aksesori *T. leontopetaloides* menunjukkan pemisahan aksesori ke dalam banyak kluster. Populasi Gn. Kidul, Yogyakarta memiliki nilai keragaman genetik tertinggi dengan nilai $N_a = 1.3544 \pm 0.4814$, $N_e = 1.1784 \pm 0.3025$, $PLP = 35.44\%$ dan $H_e = 0.1094 \pm 0.1681$. Sedangkan keragaman genetik teren-

dah terdapat pada populasi P. Nyamuk (Kep. Karimun Jawa) dengan nilai $N_a = 1.0759 \pm 0.2666$, $N_e = 1.0523 \pm 0.2163$, $PLP = 7.59\%$ dan $H_e = 0.0275 \pm 0.1097$. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk dapat mengetahui keragaman genetik *T. leontopetaloides* secara lebih lengkap.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pendanaan dari kegiatan penelitian ini berasal dari dana DIPA thn 2011, Pusat Penelitian Biologi, LIPI, yang dilakukan di Laboratorium Sistematika Molekuler, Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Penulis mengucapkan terimakasih kepada tim PN Umbi-Puslit Biologi LIPI yang telah melakukan pengumpulan sampel daun Taka untuk analisis molekuler, khususnya kepada Sdr. Susila, Dyah Martanti, Rugayah dan Himmah Rustiami. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah banyak membantu di lab, Sdr Susila dan Sdr Cinthya L.H. Dewi SSI.

DAFTAR PUSTAKA

- Azrai M. 2005. Pemanfaatan marka molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 1, 26-37.
- Caddick RL, P Wilkin, PJ Rudall, AJ Hedderson and MW. 2002. Yams reclassified: A recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon* 51, 103-114.
- Doyle JJ and JL Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19, 11-15.
- Dunn G and BS Everitt. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*, 152. Cambridge University Press, Cambridge.
- Guo HB, KY Huang, TS Zhou, QH Wu, YJ Zhang and ZS Liang. 2009. DNA isolation, optimization of ISSR-PCR system and primers screening of *Scutellaria baicalensis*. *Journal of Medicinal Plants Research* 3, 898-901.
- Hamrick JL and MJW Godt. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 351, 1291-1298.
- Hogbin PM and R Peakall. 1999. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrata*. *Conservation Biology* 13: 514-522.
- Kumar P. 2009. Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics Journal* 2, 141-162.
- Lu J, X Hu, J Liu and H Wang. 2011. Genetic diversity and population structure of 151 *Cymbidium sinense* cultivars. *Journal of Horticulture and Forestry* 3, 104-114.
- Mondini L, A Noorani and MA Pagnotta. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity* 1, 19-35.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89 (3), 583-590.
- Page RDM. 2001. TreeView. <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/rod.html> (diunduh 2 Mei 2014).
- Rohlf FJ. 1997. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivari-

- ate analysis. Version 2.0. Exeter Software, New York.
- Trojanowska MR and H Bolibok. 2004.** Characteristics and comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. *Cellular and Molecular Biology Letters* **9**, 221-238.
- Ukpabi UJ, E Ukenye and AO Olojede. 2009.** Raw-Material Potentials of Nigerian Wild Polynesian Arrowroot (*Tacca leontopetaloides*) Tubers and Starch. *Journal of Food Technology* **7**, 135-138.
- Vavilov NI. 1951.** The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants (translated by K. Starr Chester). *Chronica Botanica* **13** (1/6), 364.
- Weeden, NF, GM Timmerman, M. Hemmat, BE Kneen, and MA Lodhi. 1992.** Inheritance and reliability of RAPD markers. *Proceeding of Joint Plant Breeding Symposium Series. Applications of RAPD Technology to Plant Breeding*, Minneapolis, MN 1 November 1992. 12-17. Crop Science Society of America, American Society for Horticultural Science, American Genetic Association.
- Widjaja EA dan YS Poerba. 2004.** Pengumpulan data plasma nutfah dan genetika. Dalam: *Pedoman Pengumpulan Data Keanekaragaman Flora*. Rugayah, EA Widjaya dan Praptiwi (Penyunting), 5-40. Bogor: Pusat Penelitian Biologi – LIPI.
- Yeh F, RC Yang, B Timothy, Z Ye and JX Mao. 1997.** PopGene. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/> (Diunduh 2 Mei 2014).
- Zietkiewicz E, A Rafalski and D Labuda. 1994.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* **20**, 176-183.
- Zhang L, Q-J Li, H-T Li, J Chen and D Li. 2006a.** Genetic Diversity and Geographic Differentiation in *Tacca chantrieri* (Taccaceae): an Autonomous Selfing Plant with Showy Floral Display. *Annals of Botany* **98**, 449-457.
- Zhang L, Q-J Li and D Li. 2006b.** Genetic diversity of *Tacca integrifolia* (Taccaceae) in the Brahmaputra valley, Tibet [J]. *Biodiversity Science* **14** (1), 65-72.