

Analysis of Genetic Diversity of Sago Population in Meranti Islands Based on Morphological Characteristics and Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) and matK Marker

Pradnya Paramita^{1*}, Deviona², Herman²

¹Mahasiswa Pascasarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

²Dosen, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Article History

Received : October 21th, 2025

Revised : November 06th, 2025

Accepted : November 07th, 2025

*Corresponding Author:

Pradnya Paramita, Mahasiswa Pascasarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Email:

pradnya.paramita6824@grad.unr.i.ac.id

Abstract: Sago is an iconic agricultural commodity from the Meranti Islands region. Sago plantations cover 40,386 hectares. Diverse production yields and morphological differences in sago populations indicate high genetic diversity. This study aims to identify sago plants in the Meranti Islands and classify them based on similarities in morphological traits and DNA analysis. DNA analysis was carried out using SCoT and MatK markers. The research stages included sample collection, total DNA isolation, total DNA electrophoresis, total DNA amplification with SCoT and MatK primers, and data analysis. The results showed that based on morphological traits, sago populations in the Meranti Islands consist of three groups: BB, TB, and BJ. The dendrogram generated from the analysis of binary data SCoT using the UPGMA method and MatK analysis using BLAST in Genbank showed that these three groups are distinct and have different similarity coefficients. The BB group has a higher similarity coefficient with the BJ group compared to the TB group. There is no high genetic variation within these groups due to vegetative propagation of sago.

Keywords: Sago, SCoT, MatK, DNA Marker.

Pendahuluan

Tanaman sago di Kabupaten Kepulauan Meranti telah dikembangkan dan dimanfaatkan oleh masyarakat sejak lama, dan memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Produk utama tanaman sago hingga saat ini adalah pati, yang diolah melalui pabrik-pabrik, di mana pada tahun 2012 terdapat 63 pabrik, dengan kapasitas terpasang berkisar antara 80 hingga 1.500 batang per hari. Keanekaragaman genetik dalam populasi sago di Kepulauan Meranti diperkirakan menghasilkan tingkat produksi pati sago yang berbeda-beda. Seleksi merupakan salah satu cara untuk memperoleh benih unggul dari tanaman induk yang menghasilkan pati tinggi.

Tanaman sago di Kabupaten Kepulauan Meranti telah berkembang dan dimanfaatkan masyarakat sejak lama serta mempunyai nilai ekonomi yang cukup tinggi (Husna, 2017). Hasil utama tanaman sago sampai saat ini

adalah pati yang diolah melalui kilang-kilang (Kusumawaty *et al.*, 2024), dan tahun 2012 berjumlah 63 buah, dengan kapasitas terpasang di atas 80-1.500 tual per hari. Pati sago ini dikemas dalam karung berukuran 50 kg, dan umumnya dikirim ke kota Cirebon sebagai bahan baku industri sohon, di samping dimanfaatkan untuk berbagai produk makanan, seperti mie dan kue kering (Abbas *et al.*, 2020). Selain itu, sebagian pati diekspor ke Malaysia untuk bahan baku industri makanan dan bukan makanan, termasuk produk *degradable plastic* (Hasan *et al.*, 2022). Oleh karena itu, tingginya produksi pati sago merupakan penentu kualitas tanaman sago.

Keanekaragaman genetik pada populasi sago di Kepulauan Meranti diperkirakan mengakibatkan tingkat produksi pati sago yang tidak sama. Peningkatan produksi sago dapat ditunjang dengan pemilihan bibit unggul yang berpotensi menghasilkan pati yang tinggi (Pembayun *et al.*, 2024). Seleksi merupakan

salah satu cara mendapatkan bibit unggul dari tanaman induk penghasil pati yang tinggi (Afzal *et al.*, 2019). Analisa keragaman genetik merupakan faktor penting untuk mendapatkan tanaman induk penghasil pati yang tinggi (Lestari & Julianto, 2020). Analisa keragaman genetik dapat dilakukan melalui pengamatan morfologi seperti bentuk daun, secara biokimia seperti uji kandungan isoenzyme maupun dengan penanda DNA (Bidyananda *et al.*, 2024).

Analisis melalui penanda DNA memiliki tingkat akurasi yang tinggi dan lebih tepat dibandingkan penanda morfologi atau biokimia karena tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan tahap kehidupan tanaman (Cheshokov *et al.*, 2020). SCoT adalah instrumen molekuler yang berfokus pada gen tanaman menggunakan penanda DNA yang dirancang berdasarkan distrik pendek yang mengapit kodon start ATG (Collard dan Mackill, 2009). Karena nilai rekombinasi minimum antara penanda dan gen/sifatnya, SCoT lebih mudah digunakan dalam perencanaan program pemuliaan berbasis penanda dibandingkan RAPD, ISSR, dan SSR (Mulpuri *et al.*, 2013).

DNA Barcoding adalah teknik untuk mengidentifikasi organisme menggunakan urutan pendek nukleotida yang dikenal sebagai barcode DNA (Martiansyah, 2021). Barcode DNA adalah urutan nukleotida pendek yang berkisar antara 400 hingga 800 bp (Kress & Erickson, 2012). Gen penanda yang dapat digunakan sebagai barcode harus memiliki variabilitas tinggi antar spesies, bersifat konservatif pada bagian tertentu sehingga primer universal dapat dirancang, dan memiliki stabilitas tinggi dalam spesies yang sama (Su'udi *et al.*, 2023). Barcode DNA dapat diperoleh dari genom kloroplas (cpDNA), genom inti (nDNA), dan mitokondria

(mtDNA) (Sogandi & Sagala, 2022). Beberapa contoh nDNA adalah 18SrRNA, 26SrRNA, dan ITS, sedangkan contoh cpDNA meliputi *rbcL*, *rp116*, *ndhF*, *atpB*, dan *matK* (Aulia, 2022). Mengacu pada permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik pada populasi sagu di Kepulauan Meranti berdasarkan penanda genetik SCoT dan Mat-K. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang keragaman genetik pada populasi sagu di Kepulauan Meranti berdasarkan penanda genetik SCoT dan Mat-K.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Riau. Sekuensing dilakukan di First Base Laboratories, Malaysia melalui PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 hingga Januari 2024.

Alat dan bahan

Alat penelitian ini terdiri dari meteran, penggaris, kain hitam, alat elektroforesis (Mupid eXu), freezer, gunting, *dry bath*, kamera digital, mesin PCR (Hercuvan), mesin sentrifus (Benchmark), *mortar dan pestle*, pipet mikro ukuran 10 ul, 200 ul dan 1000 ul, tabung 1,5 ml dan 0,2 ml (Axygen), timbangan analitik digital (Accuris Instruments), tip mikro (Axygen), UV transilluminator (Vilber Lourmart), vorteks dan *waterbath*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun muda dari tumbuhan sagu yang terdiri dari 3 aksesori yaitu : Sagu Berduri, Sagu Tidak Berduri dan Sagu Berduri Jarang untuk didapatkan DNAny.

Tabel 1. Daftar Primer SCoT yang digunakan dalam penelitian

Nama Primer	Urutan Basa	Panjang Basa
SCoT 13	ACGACATGGCGACCACGC	18
SCoT 18	ACCATGGCTACCACCGCC	18
SCoT 22	AACCATGGCTACCACCAC	18
SCoT 29	CCATGGCTACCACCGGCC	18
SCoT 30	CCATGGCTACCACCGGCG	18
SCoT 33	CCATGGCTACCACCGCAG	18
SCoT 34	ACCATGGCTACCACCGCA	18

Bahan-bahan lainnya terdiri dari kit isolasi DNA yaitu *Genomic DNA mini kit plant* (Geneaid) yang berisi buffer GP1, GP2, GP3, W1, *wash dan elution*), RNase, akuabidestilata (ddH₂O), akuades, nitrogen cair, etanol absolut, TE pH 8, 1X TBE (Tris; boric acid; EDTA), bubuk *agarose*, *ethidium bromide* 3 µg/ml, *loading dye*, dan 1 kb DNA *ladder* (*Thermo Scientific*).

DNA polimerase *DreamTaq* 5 U/µL (*Thermo Scientific*), dNTP 0,2 mM, primer forward 10 µM, primer reverse 10 µM, DNA tanaman sagu, dan ddH₂O digunakan untuk amplifikasi MatK dan SCoT. Dalam penelitian ini, dua jenis primer yang berbeda—MatK dan SCoT—digunakan. Tabel 1 mencantumkan primer yang digunakan.

Pengambilan sampel

Sampel adalah bagian daun muda dari sampel tanaman sagu yang diambil dari Kabupaten Kepulauan Meranti, Provinsi Riau. Lokasi pengambilan sampel adalah sebagai berikut:

1. Sagu Berduri di Desa Banglas, Kecamatan Tebing Tinggi
2. Sagu Tidak Berduri di Desa Banglas, Kecamatan Tebing Tinggi
3. Sagu Berduri Jarang (Sagu Sangka) di Desa Insit, Kecamatan Tebing Tinggi Barat

Jumlah sampel yang diambil adalah 10 tanaman dari masing-masing populasi tanaman sehingga total sampel adalah 30 tanaman.

Parameter penelitian

Parameter Morfologi yang diamati dalam penelitian ini adalah: tinggi tanaman, lingkaran batang, panjang pelepah, warna daun.

Ekstraksi dan Isolasi DNA Tanaman

Sebanyak 30 tanaman sagu, yang terdiri dari 3 aksesori, digunakan untuk penelitian ini. Daun segar dikumpulkan dari 10 tanaman per aksesori. DNA diekstraksi dari total 30 sampel. Kuantitas dan kualitas DNA yang diekstraksi diverifikasi menggunakan spektrofotometer dan elektroforesis gel agarosa. DNA yang diekstraksi disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan lebih lanjut.

Komponen utama PCR adalah DNA sagu, DNA polimerase *DreamTaq*, primer maju dan mundur, dNTP, ddH₂O, dan buffer PCR, yang

telah disiapkan sebelumnya. Proses PCR dimulai dengan pra-PCR pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 60°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 68°C selama 1 menit, dengan ketiga langkah ini diulang sebanyak 35 siklus. Pasca-PCR pada suhu 4°C merupakan fase terakhir (Roslim, 2023). SCoT dan MatK merupakan primer yang digunakan dalam tahap ini. Hasil PCR kemudian diperiksa dengan elektroforesis.

Analisis Data

Pita amplifikasi PCR SCoT diinterpretasikan dan dinilai menurut kriteria berikut: a. Jika sebuah pita terbentuk, diberikan skor 1 b. Jika sebuah pita tidak terbentuk, diberikan skor 0. Selanjutnya, data dianalisis menggunakan perangkat lunak NTSys untuk menentukan matriks dendrogram jarak genetik. Hasil PCR diurutkan untuk menyusun basa DNA. Proses pengurutan dilakukan oleh First Base Laboratories, Malaysia. Data hasil pengurutan dianalisis menggunakan perangkat lunak BioEdit versi 7. Analisis urutan basa nukleotida dilakukan menggunakan program BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tools Nucleotide*) yang diakses dari NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Analisis untuk menentukan matriks jarak genetik dilakukan menggunakan MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) versi 6.0.

Hasil dan Pembahasan

Profil pita DNA total

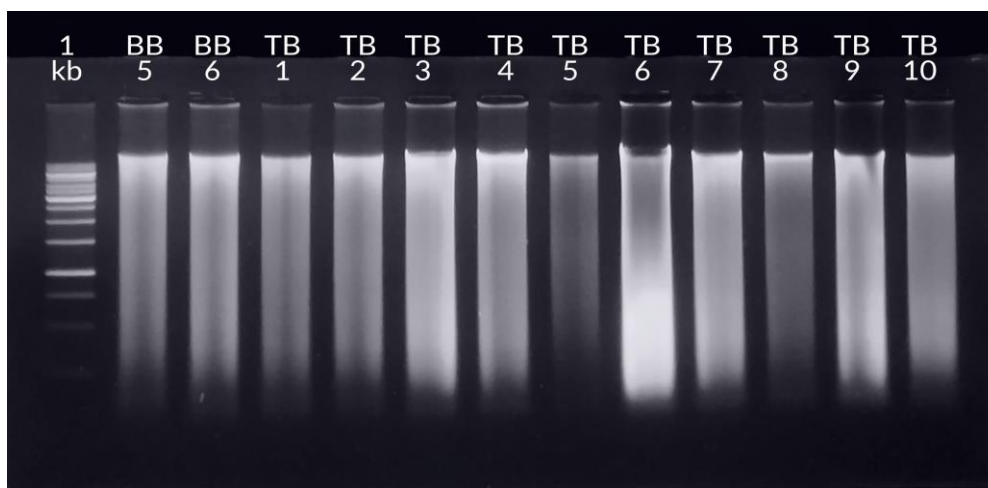
Daun sagu muda segar digunakan sebagai sampel. Daun yang lebih muda memiliki kemampuan untuk menghasilkan lebih banyak DNA daripada daun yang lebih tua, klaim Anggini (2019). Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa daun muda memiliki lebih sedikit polifenol dan metabolit sekunder lainnya serta terdiri dari sel-sel yang sedang tumbuh aktif. Selanjutnya, kode diberikan pada sampel daun sagu, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Sampel daun sagu diekstraksi menggunakan metode bufer ekstraksi *cetyl trimethyl ammonium bromide* (CTAB) dengan tujuan untuk mendapatkan total DNA dari setiap sampel daun yang akan diuji. Isolasi DNA total dilakukan pada 30 sampel sagu yang diteliti.

Isolasi DNA menggunakan metode *Genomic DNA Mini Kit* (Plant) mengikuti prosedur instruksi pabrik (Geneaid) (Roslim *et al.*, 2020). Sari *et al.* (2014) menyatakan bahwa salah satu kelebihan penggunaan metode kit isolasi ini yaitu lebih efektif dan efisien. Teknik isolasi pada tanaman sagu mempengaruhi kualitas DNA. Adapun untuk melihat kualitas dari DNA total dengan menggunakan metode elektroforesis *gel agarose*. Hasil isolasi DNA total sagu diperiksa secara kualitatif dengan teknik elektroforesis yang dapat dilihat pada gambar 1.

Tabel 2. Kode sampel tanaman sagu yang digunakan dalam penelitian

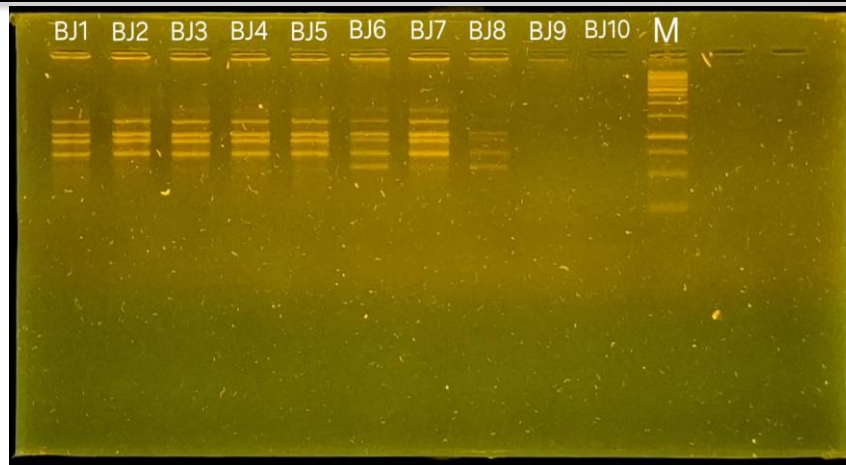
No	Kode	Keterangan
1	BB	Sampel daun tanaman sagu berduri, terdiri dari 10 tanaman sampel (BB1, BB2, BB3, BB4, BB5, BB6, BB7, BB8, BB9, BB10)
2	BJ	Sampel daun tanaman sagu berduri jarang, terdiri dari 10 tanaman sampel (BJ1, BJ2, BJ3, BJ4, BJ5, BJ6, BJ7, BJ8, BJ9, BJ10)
3	TB	Sampel daun tanaman sagu tidak berduri, terdiri dari 10 tanaman sampel (TB1, TB2, TB3, TB4, TB5, TB6, TB7, TB8, TB9, TB10)



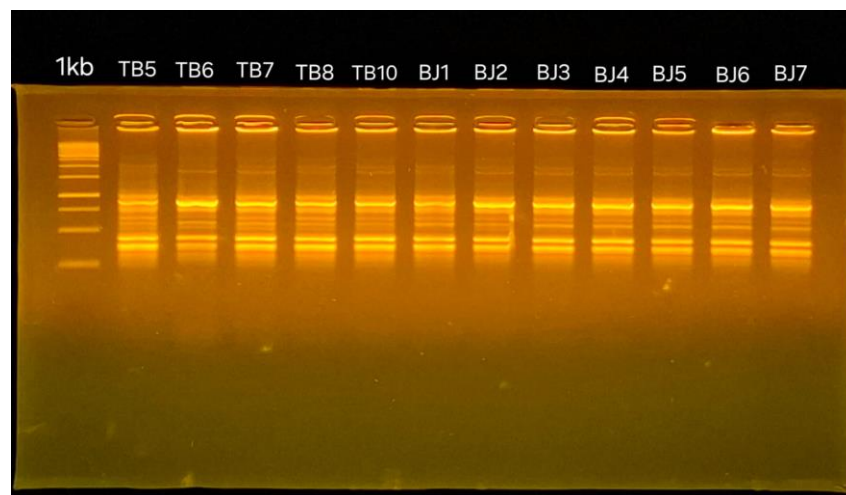
Gambar 1. Hasil elektroforesis pita DNA Total



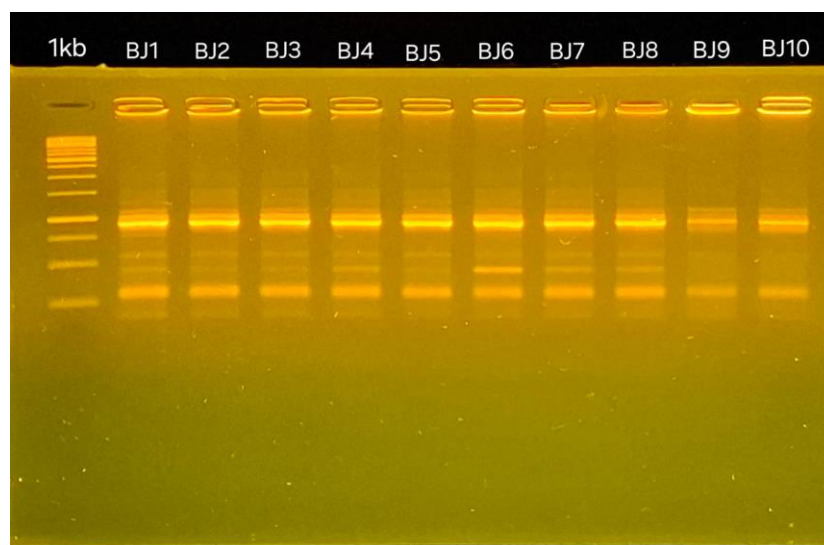
Gambar 2. Hasil elektroforesis pita DNA masing-masing sampel dengan primer SCOT33



Gambar 3. Hasil elektroforesis pita DNA masing-masing sampel dengan primer SCoT22



Gambar 4. Hasil elektroforesis pita DNA masing-masing sampel dengan primer SCoT24



Gambar 5. Hasil elektroforesis pita DNA masing-masing sampel dengan primer SCoT34

Elektroforesis digunakan untuk memvisualisasikan produk PCR. Tujuan utama analisis keragaman genetik adalah untuk menyelidiki bagaimana komposisi genetik individu di dalam dan/atau antarpopulasi memengaruhi dinamika keragaman genetik dalam populasi tersebut. Amplifikasi pita DNA dalam penelitian ini relatif tinggi, menurut data elektroforesis. Gambar 4 menunjukkan bahwa total 15 pita DNA, dengan ukuran mulai dari 400 bp hingga 3 kb, dihasilkan pada setiap lokus oleh primer SCoT34. Pita yang tidak terdapat pada beberapa sampel di setiap lokus dikenal sebagai lokus polimorfik.

Variasi yang tinggi pada setiap aksesi yang diteliti ditunjukkan oleh persentase lokus polimorfik yang tinggi. Terdapat variasi dalam jumlah lokus polimorfik yang teramplifikasi. Lokus yang lebih polimorfik yang dihasilkan lebih mudah diamati. Kemampuan primer untuk berhasil mengamplifikasi DNA cetakan bergantung pada homolog atau tidaknya urutan nukleotida primer dan urutan nukleotida primer pada DNA cetakan (Pratama *et al.*, 2021). Berdasarkan data amplifikasi DNA, setiap sampel memiliki tingkat ketebalan pita yang

berbeda (Gusmiaty *et al.*, 2016).

Polimorfisme berdasarkan deteksi marka SCoT

Amplifikasi 30 sampel DNA sagu menggunakan 7 primer SCoT menghasilkan total 140 lokus, dimana 4,29% merupakan lokus monomorfik, sedangkan sisanya 95,71% merupakan lokus polimorfik. Persentase lokus polimorfik yang tinggi menunjukkan bahwa keragaman dalam populasi sagu yang diamati cukup tinggi. Polimorfisme dapat muncul akibat perbedaan pola fragmen sebagai hasil penggunaan primer spesifik (Purnomo & Ferniah, 2018). Tingkat polimorfisme yang dihasilkan dipengaruhi oleh genotipe yang diuji, jenis, dan jumlah primer yang digunakan (Nabilla, 2024). Perangkat lunak NTSys digunakan untuk memeriksa data analisis skor PCR menggunakan primer SCoT dan mengkategorikan sampel berdasarkan kedekatannya. Metode Unweighted Pair-Group with Arithmetic Average (UPGMA) digunakan menggunakan NTSys versi 2.1. Tiga kelompok BB, BJ, dan TB digambarkan dalam dendrogram UPGMA pada Gambar 1.

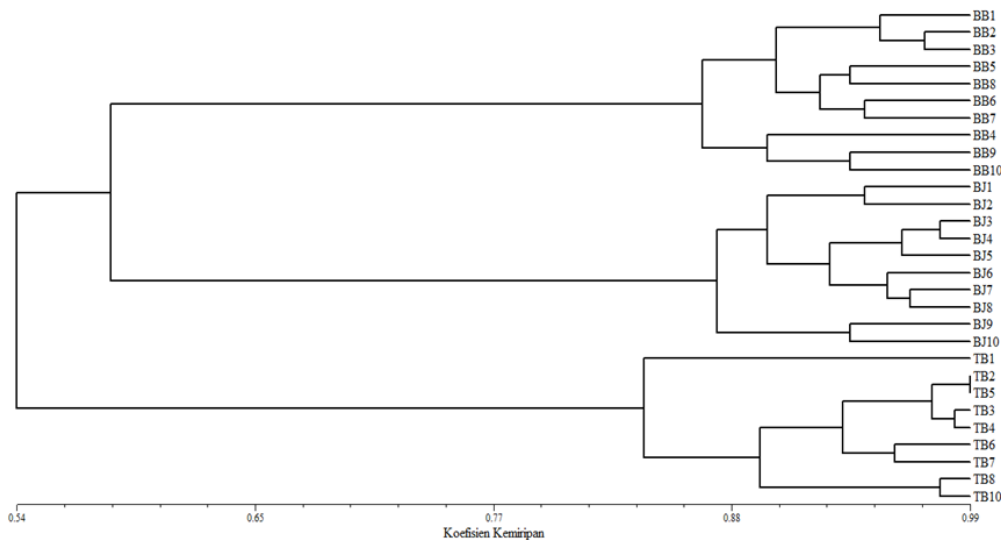
Tabel 1. Persentase lokus polimorfik

Primer	Jumlah Pita teramplifikasi	Jumlah Pita polimorfik	Persentase Polimorfisme (%)
SCoT 13	21	21	100
SCoT 18	20	20	100
SCoT 22	19	18	94,73
SCoT 29	21	20	95,23
SCoT 30	22	21	95,45
SCoT 33	18	17	94,44
SCoT 34	19	17	89,47
	20	19,14	95,71
	140	134	

Hasil analisis skor PCR menggunakan primer SCoT kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak NTSys untuk menentukan pengelompokan sampel berdasarkan tingkat keterkaitannya. Metode yang digunakan adalah Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averaging (UPGMA) menggunakan NTSys versi 2.1. Dendrogram UPGMA yang disajikan pada Gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat tiga kelompok: BB, BJ, dan TB. Selain itu, kelompok BB dan BJ memiliki kedekatan hubungan yang lebih tinggi satu sama lain

dibandingkan dengan kelompok TB.

Rentang nilai koefisien menunjukkan bahwa latar belakang genetik sampel yang diteliti sangat mirip. Kedua kelompok berkerabat dekat, terbukti dari nilai koefisien yang relatif tinggi (0,56) yang dihasilkan oleh kelompok BB dan BJ. Sampel-sampel individual dari aksesi yang sama bahkan lebih berkerabat dekat satu sama lain. Kelompok TB memiliki hubungan kekerabatan yang lebih jauh terhadap kedua kelompok lain yang ditunjukkan dengan koefisien kemiripan yang lebih kecil (0,54).



Gambar 1. Dendrogram Kekerabatan Tanaman Sagu dengan Metode UPGMA

Tingkat kekerabatan yang tinggi antar sampel tanaman yang diteliti ditunjukkan oleh nilai kesamaan rata-rata lebih dari 0,5. Asal usul paternal diyakini berpengaruh terhadap keragaman genetik selanjutnya. Genotipe sagu dengan kesamaan genetik diduga berasal dari tetua yang berkerabat dekat. Di sisi lain, genotipe sagu dengan kesenjangan genetik yang relatif besar diyakini berasal dari tetua yang tidak berkerabat dekat. Secara morfologi, kedua kelompok juga memiliki kesamaan, yaitu keduanya memiliki duri pada batangnya.

MatK Analysis

Gen yang mengkode protein Maturase K ditemukan menggunakan reaksi PCR dengan primer MatK. Sekitar 1000 bp pita diamplifikasi menggunakan primer Maturase K. Hal ini menunjukkan bahwa gen Maturase K, yang merupakan target primer MatK-1RKIM-f dan MatK3FKIM-r, menghasilkan temuan PCR (amplikon) yang benar (Kuzmina *et al.*, 2012). Dua tahap analisis dilakukan terhadap hasil sekuens DNA Sago: analisis dasar menggunakan BioEdit 7.0.

Tabel 4. Urutan sekuens basa menggunakan primer MatK masing-masing sampel

Sampel	Urutan Sekuens Basa
BB	TCGCATTTAATTATGTGTCAGATATACTAATACCTTATCCCATCCATCTGGAA ATCTTGGTTCAAATCCTTCAATGCTGGATCCAAGATGTTCCCTCTTTACATTTA TTGCGATTCTTTCTTCACGAATATCATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCGAAT AATTCTATTTTTTTTTTTTTTTTTGAAAAAGAAAATAAAAGACTATTTTCGGTTCC TATATAATTCTTATGTATCTGAATGCGAATTTGTATTAGT TTTTCTTCGTAAACAATCTTCTTATTTACGATTAAACATCTTCTGGAGCTTTTCT TGAGCGAACACATTTCTATGGAATAAGAACATCTTATAGTAGTGCGCCAT AATTATTTTCAGAGGACCCTATGGTCCTTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGT TCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGGTTTCAAAGGGGGCTCATCTTCTGATG AAGAAATGGAAATGTCACCTTGTCATTTCTGGCAATATCA TTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATCCATATAGACCAATTATCAAACCT GTTCTTTCTATTTTCTAGGTTATCTTTCAAGTGTATTAATAAATCTTTTCGACGG TAAGGAATCAAATGCTAGAGAATTCATTTCTAATGGATACTGTTACTAAAAA ATTCGATACCAGAGTCCCAGTTATTCCTCTTATTGAATCATTGTCTAAAGCAA AATTTTGTACCGTATCGGGGCACCCTATTAGTAAGCCGATCTGGACCG BJ TCGCATTTAATTATGTGTCAGATATACTAATACCTTATCCCATCCATCTGGAA ATCTTGGTTCAAATCCTTCAATGCTGGATCCAAGATGTTCCCTCTTTACATTTA TTGCGATTCTTTCTTCACGAATATCATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCGAAT AATTCTATTTTTTTTTTTTTTTTTGAAAAAGAAAATAAAAGACTATTTTCGGTTCC TATATAATTCTTATGTATCTGAATGCGAATTTGTATTAGT

TB

```
TTTTCTTCGTAAACAATCTTCTTATTTACGATTAACATCTTCTGGAGCTTTTCT
TGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAACATCTTATAGTAGTGCGCCAT
AATTATTTTCAGAGGACCCTATGGTCCTTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGT
TCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGGTTTCAAAGGGGGCTCATCTTCTGATG
AAGAAATGGAAATGTCACCTTGTCATTTCTGGCAATATCA
TTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATCCATATAGACCAATTATCAAACCT
GTTCTTTCTATTTTCTAGGTTATCTTTCAAGTGTATTAATAAATCTTTGACGG
TAAGGAATCAAATGCTAGAGAATTCATTTCTAATGGATACTGTTACTAAAAA
ATTCGATACCAGAGTCCCAGTTATTCCTCTTATTGAATCATTGTCTAAAGCAA
AATTTTGTACCGTATCGGGGCACCCTATTAGTAAGCCGATCTGGACCG
TCGCATTTAATTATGTGTCAGATATACTAATACCTTATCCCATCCATCTGGAA
ATCTTGGTTCAAATCCTTCAATGCTGGATCCAAGATGTTCCCTCTTTACATTTA
TTGCGATTCTTTCTTCACGAATATCATAATTGGAATAGTCTTATTACTCCGAAT
AATTCTATTTTTTTTTTTTTTTTTTGA AAAAAGAAAATAAAAGACTATTTGCGTTC
TATATAATTCTTATGTATCTGAATGCGAATTTGTATTAGT
TTTTCTTCGTAAACAATCTTCTTATTTACGATTAACATCTTCTGGAGCTTTTCT
TGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAACATCTTATAGTAGTGCGCCAT
AATTATTTTCAGAGGACCCTATGGTCCTTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGT
TCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGGTTTCAAAGGGGGCTCATCTTCTGATG
AAGAAATGGAAATGTCACCTTGTCATTTCTGGCAATATCA
TTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATCCATATAGACCAATTATCAAACCT
GTTCTTTCTATTTTCTAGGTTATCTTTCAAGTGTATTAATAAATCTTTGACGG
TAAGGAATCAAATGCTAGAGAATTCATTTCTAATGGATACTGTTACTAAAAA
ATTCGATACCAGAGTCCCAGTTATTCCTCTTATTGAATCATTGTCTAAAGCAA
AATTTTGTACCGTATCGGGGCACCCTATTAGTAAGCCGATCTGGACCG
```

Urutan yang tepat diperoleh dengan mengedit dan membandingkan urutan fragmen gen mat-K yang diambil dalam format berkas Ab1 dengan elektroferogramnya. Untuk mengidentifikasi urutan konsensus campuran urutan primer maju dan mundur semua urutan yang diperoleh memiliki kualitas elektroferogram yang dapat diterima. Hasil analisis menggunakan BioEdit 7.0 kemudian dilanjutkan menggunakan BLAST yang tersedia secara daring, untuk membandingkan sekuen konsensus dengan sekuens yang telah tersedia di database GenBank NCBI. Sekuens konsensus yang dihasilkan sebagai berikut dengan ukuran 767 pb

Analisis komposisi nukleotida dari semua sampel penelitian menunjukkan bahwa sampel sagu memiliki persentase kandungan AT (66,10%) dan kandungan GC (33,89%). Basa nukleotida adenin (A) dan timin (T) membentuk mayoritas komposisi nukleotida kloroplas, yang menghasilkan persentase kandungan AT yang tinggi. Karena pasangan basa A dan T lebih stabil dan membutuhkan lebih banyak energi panas untuk terurai daripada pasangan basa G dan C, semakin banyak jumlah pasangan basa ini, semakin tinggi titik leleh DNA. Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata, yang menunjukkan

bahwa spesies tersebut lebih primitif, persentase kandungan CG (68,70%) dan kandungan GC (31,29%) rendah (Hapsari *et al.*, 2015).

Analisis hubungan kekerabatan

Analisis filogenetik, yang menyusun klasifikasi dengan mempertimbangkan jalur evolusi setiap organisme yang diteliti, digunakan untuk memeriksa hubungan kekerabatan tanaman sagu (Hapsari *et al.*, 2015). Analisis lanjutan dari hasil sekuens yang sudah dilakukan analisis dasar (Bioedit 7.0) dan analisis lanjut (BLAST) selanjutnya dilakukan analisis menggunakan *software* MEGA. *Software* MEGA digunakan untuk melakukan pensejajaran dan membuat pohon kekerabatan atau dendrogram (Roslim *et al.*, 2017).

Analisis lanjut pada sekuen matK menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang tersedia secara daring pada situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Menurut Roslim *et al.* (2017) menyatakan bahwa ada beberapa parameter yang perlu diperhatikan dalam analisis lanjut yaitu skor maksimal, skor total, *query cover*, *expectation value* dan *percentage of identification*. Skor maksimal

adalah skor paling tinggi hasil perbandingan sekuens konsensus yang sama dengan sekuens referensi. Kemiripan nilai antara skor maksimal dan skor total merupakan petunjuk bahwa semakin homolog sekuens yang dibandingkan.

Analisis lanjut terhadap hasil sekuens MatK sampel tanaman sagu menggunakan perbandingan sekuens konsensus terhadap database GenBank menunjukkan hasil 10 referensi data spesies yang memiliki kemiripan dengan tanaman sagu. Hasil analisis menunjukkan *percentage of identification* yang berkisar antara 98,96% sampai dengan 99,74% dari 10 spesies tersebut, sementara *e-value* masing-masing spesies adalah 0. Spesies *Metroxylon warburgii* memiliki *Percentage of identification* paling tinggi yaitu 99,74%

sementara *Calamus jenkinsianus* memiliki *Percentage of identification* paling rendah yaitu 98,96%

Percentage of identification (Per. Identify) adalah nilai persentase kemiripan sekuens konsensus dengan sekuens referensi. *Query cover* adalah nilai persentase kemiripan Panjang sekuens konsensus dengan sekuens referensi. Semakin tinggi nilai *query cover* maka semakin homolog sekuens yang dibandingkan (Mukhopadhyay *et al.*, 2018). *Expectation value (e-value)* adalah nilai hipotesis signifikansi tingkat kemiripan sekuens konsensus dengan sekuens referensi. Semakin rendah nilai *e-value* maka semakin homolog sekuens yang dibandingkan.

Tabel 5. Hasil Analisis BLAST

Species	Percentage of Identification (%)	Query Cover (%)	e-value
<i>Metroxylon warburgii</i>	99.74	100	0
<i>Metroxylon salomonense</i>	99.61	100	0
<i>Salacca ramosiana</i>	99.48	100	0
<i>Pigafetta elata</i>	99.48	100	0
<i>Salacca zalacca</i>	99.35	100	0
<i>Salacca wallichiana</i>	99.22	100	0
<i>Calamus exilis</i>	98.96	100	0
<i>Calamus jenkinsianus</i>	98.96	100	0
<i>Calamus walkeri</i>	98.96	100	0
<i>Calamus henryanus</i>	98.96	100	0

Matriks jarak genetic menunjukkan bahwa jarak genetic masing-masing sampel yang diteliti adalah 0, yang berarti ketiga sampel memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat atau merupakan spesies yang sama. Nilai jarak

genetic yang cukup rendah ditunjukkan oleh spesies *Metroxylon warburgii* (0,011) dan *Metroxylon salomonense* (0,055) yang masih berada dalam genus yang sama.

Tabel 6. Matriks Jarak genetic sampel tanaman sagu dan beberapa tanaman lain berdasarkan analisis menggunakan software MEGA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BB1												
BJ1	0,000											
TB1	0,000	0,000										
<i>Metroxylon warburgii</i>	0,011	0,011	0,011									
<i>Metroxylon salomonense</i>	0,055	0,055	0,055	1,067								
<i>Salacca ramosiana</i>	1,061	1,061	1,061	0,006	0,001							
<i>Pigafetta elata</i>	1,067	1,067	1,067	0,007	0,003	0,003						
<i>Salacca zalacca</i>	1,055	1,055	1,055	0,004	0,000	0,001	0,003					

<i>Salacca</i>												
<i>wallichiana</i>	1,061	1,061	1,061	0,011	0,007	0,006	0,008	0,007				
<i>Calamus exilis</i>	1,060	1,060	1,060	0,007	0,003	0,004	0,005	0,003	0,007			
<i>Calamus jenkinsianus</i>	1,061	1,061	1,061	0,006	0,001	0,000	0,003	0,001	0,006	0,004		
<i>Calamus walkeri</i>	1,061	1,061	1,061	0,007	0,003	0,004	0,005	0,003	0,004	0,003	0,004	
<i>Calamus henryanus</i>	1,063	1,063	1,063	0,008	0,004	0,005	0,007	0,004	0,005	0,004	0,005	0,001

Analisis menggunakan software MEGA selanjutnya adalah melalui dendrogram dengan metode *Neighbor Joining Tree* dan model evolusi Kimura 2-parameter model dengan *bootstrap* sebanyak 1000. Kecocokan dataset yang dimodelkan diuji menggunakan nilai *bootstrap*. Analisis sekuens untuk pohon filogenetik mungkin tidak andal jika nilai *bootstrap* rendah (Subari *et al.*, 2021). Nilai *bootstrap* yang lebih besar dari 70 menunjukkan pohon filogenetik berkualitas tinggi (Muzzazinah, 2017). Model dua parameter Kimura (K2P) adalah model yang paling banyak digunakan dari semua model nukleotida pengganti untuk memperkirakan perbedaan genetik (umumnya disebut jarak genetik) dan hubungan filogenetik, model ini dikatakan model yang akurat untuk evolusi urutan molekul sangat penting (Nishimaki & Sato, 2019).

Analisis perbedaan nukleotida pada beberapa tumbuhan yang didapat melalui GenBank NBTI dengan sampel tanaman sagu yang diteliti berdasarkan sekuens MatK telah diidentifikasi sebagaimana disajikan pada tabel 4.5. Hasil yang didapat tidak ada perbedaan antara tiga kelompok sampel yang diteliti, yang menunjukkan bahwa ketiga kelompok tersebut memiliki kekerabatan yang dekat atau masih berada dalam spesies yang sama.

Sementara itu hasil analisis sekuens MatK menunjukkan terdapat 87 variasi nukleotida yang berbeda dengan sembilan spesies lain yang diambil dari database genbank. Varian ini dihasilkan oleh mutasi penggantian. Rekonstruksi filogenetik menunjukkan bahwa semua sekuens dipisahkan berdasarkan jenis dan kesamaan sekuensnya. Pohon filogenetik yang dihasilkan terbagi menjadi tiga cabang: BJ, TB, dan BB. Nilai jarak genetik keseluruhan sagu, yang bervariasi antara 0,000 dan 0,0002, juga mendukung pencampuran ini. Nilai jarak genetik 0,000 untuk semua sekuens DNA sagu dengan haplotype yang sama mendukung pencampuran

yang sama yang terjadi pada sekuens sagu yang diperiksa.

Tabel 7. Nomor Nukleotida yang mengalami perbedaan nukleotida pada sampel tanaman sagu dan beberapa spesies lain

Aksesi	Nomor Nukleotida		
	1	4	6
	0	1	0
	2	4	4
BB1	C	A	T
BJ1	.	.	.
TB1	.	.	.
<i>Metroxylon warburgii</i>	T	T	A
<i>Metroxylon salomonense</i>	T	T	A
<i>Salacca ramosiana</i>	T	T	A
<i>Pigafetta elata</i>	T	T	A
<i>Salacca zalacca</i>	T	T	A
<i>Salacca wallichiana</i>	T	C	G
<i>Calamus exilis</i>	T	C	A
<i>Calamus jenkinsianus</i>	T	T	A
<i>Calamus walkeri</i>	T	C	A
<i>Calamus henryanus</i>	T	C	A

Mutasi substitusi berperan besar dalam menghasilkan variasi nukleotida yang terdapat di dalam masing-masing organisme. Mutasi substitusi secara sederhana adalah penggantian satu nukleotida dan pasangannya pada rantai DNA. Secara umum terdapat dua macam kategori mutasi substitusi, yaitu mutasi transisi dan mutase transversi. Mutasi transisi melibatkan penggantian basa purin dengan basa purin lain atau basa pirimidin dengan basa pirimidin lain. Dalam mutasi konversi, basa pirimidin digantikan oleh basa purin pada lokasi yang sama. Dampak mutasi substitusi bervariasi tergantung lokasi mutasi dan jenis protein yang terpengaruh (Azizah *et al.*, 2024).

Kesimpulan

Koefisien kemiripan antar kelompok tanaman sagu dapat dianalisis menggunakan

Analisis primer SCoT dengan hasil sagu berduri dengan sagu berduri jarang 0,6, sagu tidak berduri dengan sagu berduri dan sagu berduri jarang 0.54. Analisis menggunakan BLAST dan *software* MEGA menunjukkan bahwa sampel sagu memiliki hubungan kekerabatan dengan *Metroxylon warburgii* dan *Metroxylon salomonense* dengan *percentage of identification* masing-masing 99,74% dan 99,61%.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Dosen, Staf dan Rekan-rekan Mahasiswa Pascasarjana Program Studi Ilmu Pertanian Universitas Riau.

Referensi

- Abbas, B., Kabes, R. J., Tjolli, I., Wibowo, K., & Richana, N. (2020). Feasibility Study Penerapan Hasil Riset Berbasis Sagu.
- Afzal, I., Shabir, R., & Rauf, S. (2019). Seed production technologies of some major field crops. In *Agronomic Crops: Volume 1: Production Technologies* (pp. 655-678). Singapore: Springer Singapore. 10.1007/978-981-32-9151-5_28
- Anggini, R. (2019). *Kekerabatan Genetik Pulasan (Nephelium Ramboutan-Ake (Labill.) Leenh) Di Kabupaten Siak Dan Bengkalis Berdasarkan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Riau).
- Aulia, A. (2022). Studi In Silico Potensi DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas (CpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntia* sp. *Jurnal Syntax Admiration*, 3(11), 1383-1394. <https://doi.org/10.46799/jsa.v3i11.512>
- Azizah, M. I., Mulyani, R., Hartati, Y. W., & Maksum, I. P. (2024). Mutasi pada DNA Mitokondria dan Pengaruhnya terhadap Diabetes Melitus Tipe 2 dan Kompleks Forforilasi Oksidatif. *Chimica et Natura Acta*, 12(2), 128-137. <https://doi.org/10.24198/cna.v12.n2.49970>
- Bidyananda, N., Jamir, I., Nowakowska, K., Varte, V., Vendrame, W. A., Devi, R. S., & Nongdam, P. (2024). Plant genetic diversity studies: insights from DNA marker analyses. *International Journal of Plant Biology*, 15(3), 607-640. <https://doi.org/10.24198/cna.v12.n2.49970>
- Chesnokov, Y. V., Kosolapov, V. M., & Savchenko, I. V. (2020). Morphological genetic markers in plants. *Russian Journal of Genetics*, 56(12), 1406-1415. 10.1134/S1022795420120042
- Collard, B.C. and Mackill, D.J. (2009) Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 27: 86-93. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11105-008-0060-5>
- Gusmiaty, G., Sari, N. A., Safira, T. N., Budiman, A., & Larekeng, S. H. (2021). Polimorfisme Penanda Rapd Untuk Analisis Keragaman Genetik Kemiri (Aleurites Mollucana) Di Kabupaten Maros. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 6(1), 22-30. 10.20956/bioma.v6i1.11814
- Hapsari, R., Trustinah, I. R., & Iswanto, R. (2015). Keragaman plasma nutfah kacang hijau dan potensinya untuk program pemuliaan kacang hijau. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* (Vol. 1, No. 4, pp. 918-922). 10.13057/psnmbi/m010447
- Hasan, M., Nazar, M., Utami, A., Khairani, C. P., Nafilah, F., Parma, R., ... & Tuddin, H. (2022). *Bioplastik untuk pengemas makanan berbasis pati dan kitosan*. Bandar Publishing.
- Husna, N. (2017). Pemberdayaan Masyarakat Pedesaan di Daerah Tertinggal Melalui Pengembangan Tanaman Sagu. *Lembaran Masyarakat: Jurnal Pengembangan Masyarakat Islam*, 3(2), 154-168. 10.32678/lbrmasy.v3i2.1875
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2012). DNA barcodes: methods and protocols. In *DNA barcodes: Methods and protocols* (pp. 3-8). Totowa, NJ: Humana Press.
- Kusumawaty, Y., Harahap, H., Rasyid, T. H., Syahputra, H. W., Hadi, S., Seygita, V., ... & Noviana, I. M. P. (2024). Potensi Tanaman Sagu di Sentra Produksi Kabupaten Kepulauan Meranti dan

- Indragiri Hilir Provinsi Riau sebagai Sumber Karbohidrat Lokal. *IPTEKIN Jurnal Kebijakan Pembangunan dan Inovasi*, 6(2), 53-64. <https://jurnal.riau.go.id/iptekin/article/view/88>
- Kuzmina, M. L., Johnson, K. L., Barron, H. R., & Hebert, P. D. (2012). Identification of the vascular plants of Churchill, Manitoba, using a DNA barcode library. *BMC ecology*, 12(1), 25. <https://bmcecol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6785-12-25>
- Lestari, S. U., & Julianto, R. P. D. (2020). Analisis keragaman genetik dan kekerabatan genotipe ubi jalar berdasarkan karakter morfologi. *Buletin Palawija*, 18(2), 113-122. 10.21082/bulpa.v18n2.2020.p113-122
- Martiansyah, I. (2021). Mini Review: Pendekatan molekuler DNA barcoding: Studi kasus identifikasi dan analisis filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae). In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 7, No. 1, pp. 187-195).
- Mukhopadhyay, N., Noble, J. A., Govil, M., Marazita, M. L., & Greenberg, D. A. (2018). Identifying genetic risk loci for diabetic complications and showing evidence for heterogeneity of type 1 diabetes based on complications risk. *PLoS one*, 13(2), e0192696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192696>
- Muzzazinah. (2017). Metode filogenetik pada indigofera. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi*, 25-40.
- Nishimaki, T., & Sato, K. (2019). An extension of the Kimura two-parameter model to the natural evolutionary process. *Journal of molecular evolution*, 87(1), 60-67. 10.1007/s00239-018-9885-1
- Pembayun, P., Karmanah, K., & Djoeffie, M. H. B. (2024). Karakter Morfologi dan Produksi Pati Sagu (*Metroxylon* spp.) di Kecamatan Tinombo Selatan, Sulawesi Tengah. *Agrisintech (Journal of Agribusiness and Agrotechnology)*, 5(2), 57-64. <https://ejournalunb.ac.id/AGRI/article/view/723>
- Pratama, R., Windusari, Y., Hanum, L., Palupi, R., Imsya, A., Nofyan, E., & Oktapia, M. (2021). Characteristic of local swamp buffalo (*Bubalis bubalis* Linn.) genetic variations in Rambutan sub-district, South Sumatra based on polymerase chain reaction-random amplified polymorphic DNA (PCR RAPD).
- Roslim, D.I., Herman, Adiwirman, Wahyu Lestari. (2023). Barkoding DNA. KBM Indonesia. Yogyakarta
- Rosmaina, R., & Zulfahmi, Z. (2013). Genetic diversity of *Eurycoma longifolia* Jack based on random amplified polymorphic DNA marker. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*, 19(2), 138-144. <https://doi.org/10.7226/jtfm.19.2.138>
- Sari, S. K., Listyorini, D., Mazieda, M. N., & Sulasmi, E. S. (2014). Optimasi teknik isolasi dan purifikasi DNA pada daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* cv. Cakra Hijau) menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Plant) GENE AID. In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*, 11(1): 65-70. <https://jurnal.uns.ac.id/prosbi/article/view/7660>
- Sogandi, S., & Sagala, Z. (2022). DNA Barcoding Tanaman Mangga Kasturi (*Mangifera casturi*) Asal Kalimantan Selatan Berbasis DNA Kloroplas Gen *rbcl* dan *matK*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 20(1), 38-43. 10.35814/jifi.v20i1.1045
- Su'udi, M., Ramadany, Z., Rohimah, S., Arum, A. Y., Setyati, D., & Ulum, F. B. (2023). Peran Mini-Barcode Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) untuk Identifikasi Molekuler Spesies Anggrek. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 7(1), 34-45. <https://doi.org/10.47007/ijobb.v7i1.166>
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic analysis of *Rasbora* spp. based on the mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89-94. 10.29303/jbt.v21i1.2351