

Karakterisasi Tanaman Keladi Hias (*Caladium* spp.) berdasarkan Penanda Molekuler RAPD

Characterization of *Caladium* (*Caladium* spp.) using Morphology and Molecular Markers

Asep Rinal Supratman, Aziz Purwantoro^{*)}

Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jalan Flora No. 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281, Indonesia.

^{*)} Penulis untuk korespondensi E-mail: azizp@ugm.ac.id

Diajukan: 18 Juli 2018 /**Diterima:** 1 Oktober 2021 /**Dipublikasi:** 26 November 2021

ABSTRACT

Characterization of Caladium (Caladium spp.) Using molecular markers RAPD conducted on October 2017 to March 2018 in Mendel Room, Laboratory of Plant Breeding and Genetics, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. There are 30 of Caladium from 4 separated countries being analyzed in this research, including 15 Caladium from Thailand, 4 Caladium from Florida, 2 Caladium from Malaysia, 9 Caladium from Indonesia, and Alocasia as a control. Molecular characterization by using 7 polymorphic RAPD molecular marker. Clustering of Caladium and Alocasia using molecular divided these species into 2 main groups. Group A consist of all Caladium species, where of Caladium clustered by the nation of origin, and group B consist of Alocasia. The percentage of variations amongst population was smaller than the variation within population (23% and 77%, respectively). This number indicated the variation of the species was higher in the population compared to the variation across population. From the value of variations across population (23%), it can be concluded that the species across population are similar.

Keywords: *Caladium; Characterization; Molecular; RAPD*

INTISARI

Penelitian dengan judul Karakterisasi Tanaman Keladi Hias (*Caladium* spp.) Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD dilaksanakan pada bulan Oktober 2017 hingga Maret 2018 di Ruang Mendel, Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sebanyak 30 tanaman dari empat negara dianalisis dalam penelitian ini yang meliputi 15 Keladi Hias Thailand, 4 Keladi Hias Florida, 2 Keladi Hias Malaysia, 9 Keladi Hias Indonesia, dan *Alocasia* sebagai pembanding. Pengelompokan keladi hias dan *Alocasia* berdasarkan penanda molekuler, dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu kelompok A seluruh anggotanya merupakan keladi hias yang mengelompok sesuai dengan daerah diambilnya sampel, dan grup B yang terdiri dari *Alocasia*. Persentase variasi antar populasi lebih kecil sebesar 23% dibanding dengan nilai variasi dalam populasi sebesar 77% yang menandakan bahwa di dalam populasi keragamannya jauh lebih besar

dibanding antar populasi. Keladi hias antar populasi tidak jauh berbeda dibuktikan dengan kecilnya persentase variasi antar populasinya sebesar 23%.

Kata kunci: Karakterisasi; Keladi Hias; Molekuler; RAPD

PENDAHULUAN

Caladium di Indonesia lebih dikenal dengan sebutan keladi hias. Variasi keindahan bentuk, corak, dan warna daunnya yang sangat beragam, serta perawatannya yang mudah menjadi daya tarik tersendiri bagi orang untuk membudidayakannya. Keladi hias (*Caladium* spp.) merupakan salah satu jenis tanaman hias yang dapat dinikmati dari bentuk dan warna daunnya. Bentuk dan keindahan warna daunnya membuat tanaman ini sangat cocok sebagai anasir tanaman lanskap dan tanaman pot (Deng and Harbaugh, 2006). Tanaman Keladi Hias dibudidayakan secara komersial di Florida. Sekitar 96% dari keladi yang dibudidayakan secara komersial di dunia ditanam di Florida (Holm *et al.*, 1965).

Sebagian besar Keladi hias tumbuh baik pada tanah yang subur, lembab, dan teduh. Beberapa jenis keladi hias juga menyukai tempat dengan cahaya matahari penuh. Daun tanaman ini sebagian besar berbentuk hati, tombak atau panah. Pengembangan tanaman ini berlangsung sekitar 150 tahun (Hayward, 1950). Akan tetapi, sekitar 51 kultivar keladi hias telah punah karena kurangnya konservasi, misalnya pada tahun 1970 hanya 141 kultivar yang terdaftar di *exotica* (Graf, 1970).

Bentuk dan warna yang beragam dari tanaman keladi hias menyulitkan ahli botani

dalam melakukan klasifikasi. Warna dan corak yang beragam membuat tanaman keladi hias terlihat berbeda meskipun memiliki bentuk yang mirip, akan tetapi pengelompokan warna bisa dibuat menjadi lebih sederhana, yaitu dengan mengelompokkannya kedalam tiga warna pokok yang dipengaruhi tiga pigmen utama pada tanaman yaitu warna hijau, warna merah, dan warna putih. Warna hijau dipilih karena pada daun terdapat klorofil yang memberikan warna hijau, selain klorofil tanaman ini juga mengandung antosianin dalam bentuk flavonoid yang memberikan warna merah dan karotenoid yang memberikan warna kuning. Salah satu metode yang digunakan untuk mengklasifikasikannya yaitu dengan cara karakterisasi molekuler. Karakterisasi dilakukan agar proses budidaya, khususnya pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan mudah. Semakin dekat kekerabatannya maka proses persilangan untuk mendapatkan tanaman unggul dapat dilakukan dengan baik (Bermawie, 2005).

Penanda molekuler sangat akurat karena dapat memberikan informasi polimorfisme, sebagai komposisi genetik yang unik pada masing-masing spesies, yang tidak tergantung pada umur, kondisi fisiologi, dan faktor lingkungan (Joshi *et al.*, 2004). Dalam penelitian biologi molekuler tanaman, beberapa jenis penanda molekuler seperti

RFLP, RAPD, SSR, ISSR dan AFLP telah dikembangkan dan digunakan secara ekstensif dalam mempelajari keragaman genetik, hubungan genetik dan pengelolaan plasma nutfah (McGregor *et al.*, 2000). Beberapa penanda molekuler telah diterapkan pada keladi hias. Loh *et al.* (2000) melaporkan bahwa penanda AFLP menghasilkan 110 pita DNA. Zhe Cao *et al.* (2016) menggunakan penanda SSR pada keladi hias *Red Flash* hasil kultur jaringan, menunjukkan bahwa anakan hasil kultur jaringan 24 dari 38 tanaman hasil kultur jaringan berbeda dengan *wildtype* (WT) nya dengan jumlah 37 pita.

Salah satu pendekatan untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan adalah menggunakan *Random Amplification Polymorphic DNA* (RAPD). Penanda molekuler DNA yang ideal memiliki kriteria, seperti sederhana secara teknis, cepat dalam pengerjaannya, murah, menggunakan sedikit jaringan dan sampel DNA (Mondini *et al.*, 2009). Penanda RAPD secara teknis lebih sederhana dan cepat dalam pengujiannya, tidak memerlukan informasi sekuen DNA sehingga penanda ini dapat digunakan secara luas, jumlah sampel DNA yang dibutuhkan sedikit, primer tersedia secara komersial, dan tidak menggunakan senyawa radioaktif (Cheng *et al.*, 1997; Karp *et al.*, 1997). Adapun tujuan dalam penelitian

ini adalah mengelompokkan koleksi keladi hias berdasarkan penanda molekuler, mendapatkan besaran keragaman genetik keladi hias di dalam populasi, dan membandingkan besaran varians antar populasi keladi hias dan *Alocasia*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan Oktober 2017 hingga Maret 2018 di Ruang Mendel, Laboratorium Pemuliaan Tanaman dan Genetika, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Isolasi DNA seluruh sampel, reaksi PCR dan analisis data yang diperoleh dilaksanakan mulai bulan Oktober hingga Maret 2018.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas label untuk pengambilan sampel, penggaris, kalkulator, timbangan analitik, mortar, mikrotube, mikropipet, sentrifuse, vortex, penangas air, spektrofotometer *Gene Quant* (Pharmacia), mesin PCR BIO-RAD, mesin elektroforesis, UV transiluminator, dan kamera digital. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 30 jenis Keladi Hias, diantaranya adalah 15 Keladi Hias Thailand, 4 Keladi Hias Florida, 2 Keladi Hias Malaysia, 9 Keladi Hias Indonesia, dan *Alokasia* dari Indonesia sebagai pembanding (Tabel 1).

Tabel 1. Tanaman sampel yang digunakan

No	Populasi Tanaman	Asal	Individu dalam Populasi	Jumlah Tanaman dalam Populasi
1	Keladi Hias	Thailand	T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15	15
		Florida	F1, F2, F3, F4	4
		Indonesia	I1, I2, I3, I4, I5, I6, I7, I8, I9	9
		Malaysia	M1, M2	2
2	Alocasia	Indonesia	A1	1
			Total	31

Keterangan: T (Thailand), F (Florida), I (Indonesia), M (Malaysia).

Sampel tanaman keladi hias diambil dari kolektor tanaman hias di Panggang, Imogiri, Gunung Kidul, Yogyakarta. Larutan ekstraksi DNA yang digunakan adalah Buffer CTAB ekstraksi (NaCl 1,4 M, EDTA 0,2 M pH 8., Tris-HCl 1 M pH 8, NaCl 5 M), merkaptotanol 2%, polyvinylpolypyrrolidone, kloroform:isomasil alkohol (24:1), isopropanol dingin, alkohol 70% dan absolut. Bahan untuk teknik PCR 7 primer hasil seleksi dari 80 primer RAPD (kit A- kit B), PCR mix (GoTaq Green Master), dan ddH₂O. Bahan elektroforesis meliputi gel agarosa, DNA ladder, buffer TBE, *florSAFE*, dan tisu.

Ekstraksi dan Purifikasi DNA

DNA diekstraksi dari daun yang segar dan sehat menggunakan larutan CTAB yang telah dimodifikasi (Doyle and Doyle, 1990). Daun yang digunakan sebagai sampel dibersihkan dengan tisu beralkohol. Daun tanaman Keladi Hias ditimbang dan dipotong seberat 0,1 gram, kemudian dihancurkan dengan bantuan alat grinder dan ditambahkan 1500 µl larutan penyangga CTAB yang sebelumnya telah diinkubasi dalam penangas air pada suhu 65°C selama 30 menit.

Campuran tersebut kemudian diinkubasi dalam pengangas air pada suhu 65°C selama 60 menit dan setiap 10 menit dibolak-balik agar tetap homogen. Setelah diinkubasi, setiap sampel ditambahkan 500 µl campuran 24 kloroform: 1 isoamil alkohol (CIAA) dan divorteks selama 5 menit kemudian disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 putaran per menit (rpm). Pencucian dengan 24 kloroform: 1 isoamil alkohol (CIAA) dilakukan 2-3 kali. Supernatan yang terbentuk diambil dengan hati-hati dan dipindahkan ke mikrotube yang baru dan dicatat volumenya. Sodium asetat 3M ditambahkan sebanyak sepersepuluh dari volume supernatan tersebut dan dicampur dengan baik. Isopropanol dingin ditambahkan sebanyak duapertiga volume total (supernatan+sodium asetat) dan dicampur dengan baik dengan membolak-balik tabung. Campuran didiamkan dalam lemari pendingin selama 1-24 jam. Campuran disentrifus pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan endapan DNA dicuci dengan 500 µl etanol 70% dan disentrifus selama lima menit dengan

kecepatan 12.000 putaran per menit (rpm). Supernatan dibuang dan endapan DNA dikering-anginkan, setelah endapan DNA kering lalu disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

Kuantifikasi dan Pengenceran DNA

DNA dikuantifikasi menggunakan alat *Gene Quant* 1300 untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperoleh. Larutan DNA ditambahkan ddH₂O 50 µl sebagai DNA pekat, kemudian untuk protocol PCR dilakukan pengenceran kembali dengan jumlah 2 µl DNA pekat: 98 µl ddH₂O.

Optimasi suhu dan primer

Kegiatan awal yang dilakukan adalah optimasi suhu yang efektif untuk tanaman Keladi Hias yang akan menghasilkan pita

polimorfik. Primer yang dipilih adalah primer yang menghasilkan pita polimorfik dan menghasilkan lokus dalam jumlah banyak. Optimasi suhu penempelan primer dilakukan pada suhu 35-45°C. Selanjutnya dipilih satu suhu sebagai suhu penempelan primer (*annealing*) yang menghasilkan pita paling terang.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan dengan PCR untuk menggandakan sekuens DNA berdasarkan primer yang digunakan. Amplifikasi DNA dilakukan dengan *thermal cycler* BIO RAD. Pada penelitian ini menggunakan metode *touchdown* dengan penurunan suhu *annealing* dari 41–37°C dengan siklus total yang diberikan yaitu sebanyak 42 kali (2⁴²) (Tabel 3).

Tabel 2. Tahapan reaksi amplifikasi DNA

No	Tahapan Reaksi	Suhu Reaksi (°C)	Lama Reaksi (menit)
1	<i>Pre-heating</i>	95	5:00
2	Denaturasi	95	0:30
3	<i>Annealing</i>	Suhu Terpilih	0:30
4	Elongasi	72	1:30
5	Elongasi akhir	72	7:00

Elektroforesis

Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis gel dalam tegangan 100 volt selama 55 menit menggunakan 1,5% gel agarosa di dalam tangki elektroforesis gel yang berisi penyangga TBE pH 8 yang dipanaskan dalam microwave sampai terlarut sempurna kemudian ditambahkan dengan pewarna DNA (*Florosafe DNA Staining*). Selanjutnya gel agarosa diangkat dari tangki elektro-

foresis dan divisualisasi menggunakan sinar UV dan difoto dengan kamera digital.

Kuantifikasi Hasil Elektroforesis Gel

Pita-pita diskoring membentuk data biner dimana ada pita bernilai 1 dan tidak ada pita bernilai 0. Hasil skoring tersebut menjadi dasar analisis keragaman genetik yang memanfaatkan perbedaan pola pita amplifikasi diantara individu-individu.

Analisis Data

Analisis data molekuler menggunakan *Sequential, Agglomerative, Hierarchical, and Nested* (SAHN) dengan metode *Unweight pair-group method, arithmetic average* (UPGMA) pada program NTSYS versi 2.02.

Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram. Selain itu dilakukan juga *Principal Coordinate Analysis* (PCoA), koefisien kemiripan, analisis persentase lokus polimorfik, dan AMOVA menggunakan program GenAlx 6.

Tabel 3. AMOVA1

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Estimasi varians	Varians (%)
Antar populasi (AP)	db_{AP}	JK_{AP}	KT_{AP}	σ^2_{AP}	$(\sigma^2_{AP} / \sigma^2_{total}) \times 100\%$
Dalam populasi (DP)	db_{DP}	JK_{DP}	KT_{DP}	σ^2_{DP}	$(\sigma^2_{DP} / \sigma^2_{total}) \times 100\%$
Total	$db_{AP} + db_{DP}$	$JK_{AP} + JK_{DP}$		$\sigma^2_{AP} + \sigma^2_{DP}$	

Sedangkan, rumus untuk menghitung F_{st} (Vicente *et al.*, 2003) yaitu:

$$F_{st} = \frac{\sigma^2_{AP}}{\sigma^2_{AP} + \sigma^2_{DP}}$$

Keterangan:

σ^2_{AP} = estimasi varians antar populasi

$\sigma^2_{AP} + \sigma^2_{DP}$ = estimasi varians total

dengan kriteria keragaman jika nilai F_{st} :

0 – 0,05 → rendah

0,05 – 0,15 → moderat

0,15 – 0,25 → tinggi

>0,25 → sangat tinggi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi dilakukan dengan menggunakan Molekuler. Dilakukan pengamatan dengan penanda RAPD dengan menggunakan 7 primer terpilih. Teknik RAPD menggunakan sekuen primer pendek untuk mengamplifikasi sekuen-sekuen DNA genom

secara acak dengan suhu *annealing* rendah antara 35-45°C (William *et al.* 1990 cit Xu, 2010). Pada optimasi primer yang dilakukan dari 80 primer yang diseleksi, didapatkan 7 primer yang menghasilkan pita polimorfik (Tabel 4).

Jumlah dan intensitas pita DNA yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat tergantung bagaimana primer mengenal urutan DNA komplementernya pada cetakan DNA (*DNA template*) yang digunakan (Tingey *et al.*, 1994). Primer-primer tersebut dipilih karena menghasilkan persentase pita polimorfik yang tinggi sesuai dengan salah satu kriteria penanda molekuler yang baik yaitu memiliki tingkat polimorfisme yang sedang-tinggi (Xu, 2010). Tingkat polimorfisme sedang sampai tinggi diperlukan sebagai kriteria pemilihan primer RAPD karena dengan demikian primer

tersebut dapat menunjukkan perbedaan atau kemiripan pita DNA dari individu yang dijadikan sampel. Peneliti lain memperkuat teori tersebut, Pabendon *et al.* (2008) Semua

variasi genotipik didalam suatu spesies atau individu dikontrol oleh polimorfisme sejumlah gen.

Tabel 4. Primer RAPD terpilih hasil seleksi dari 80 primer

No	Nama Primer	Sekuen	Lokus Polimorfik	Lokus Monomorfik	Persentase Lokus Polimorfik (%)
1	OPA 13	CAGCACCCAC	14	0	100
2	OPC 8	TGGACCGGTG	14	0	100
3	OPC 9	CTCACCGTCC	12	0	100
4	OPD 3	GTCGCCGTCA	17	0	100
5	OPD 8	GTGTGCCCCA	19	0	100
6	OPD 11	AGCGCCATTG	11	2	85
7	OPD 20	ACCCGGTCAC	8	3	73

Keragaman dalam populasi dan antar populasi menunjukkan adanya variasi individu dalam suatu populasi maupun variasi antar populasi tersebut. Terkait dengan tingginya keragaman genetik dalam populasi Keladi Hias, pola distribusi keragaman genetik dimana presentase keragaman

dalam populasi lebih tinggi (10,61) dibanding dengan presentase keragaman antar populasi (3,17). Hasil AMOVA menunjukkan bahwa 77% dari total keragaman genetik merupakan keragaman antar genotipe dalam populasi, sementara 23% sisanya terdistribusi antar populasi (Tabel 5)

Tabel 5. Hasil AMOVA populasi Keladi hias dan *Alocasia*

Sumber Variasi	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengan	Estimasi Varians	Varians (%)
Antar Populasi	1	27,89	27,89	3,17	23
Dalam Populasi	31	328,9	10,61	10,61	77
Total	32	356,79		13,78	100

Keragaman dalam populasi yang lebih tinggi dibanding keragaman antar populasi umumnya ditemukan pada tanaman menyerbuk silang seperti Sawo (Sari, 2015), Mangrove lime (Jena *et al.*, 2014). Semakin besar nilai variasi pada suatu populasi maka semakin besar tingkat keragaman individu dalam populasi tersebut. Keragaman dalam populasi Keladi Hias besar, kemungkinan

dapat meningkatkan keberhasilan apabila dilakukan persilangan dalam populasi tanaman. Untuk mengetahui nilai F_{st} dengan membandingkan estimasi varian antar populasi dan estimasi varian total. F_{st} merupakan derajat perbedaan gen antar populasi, sehingga dapat diketahui keragaman antar populasinya. Diketahui bahwa nilai $F_{st} = 0,02$ digolongkan termasuk rendah

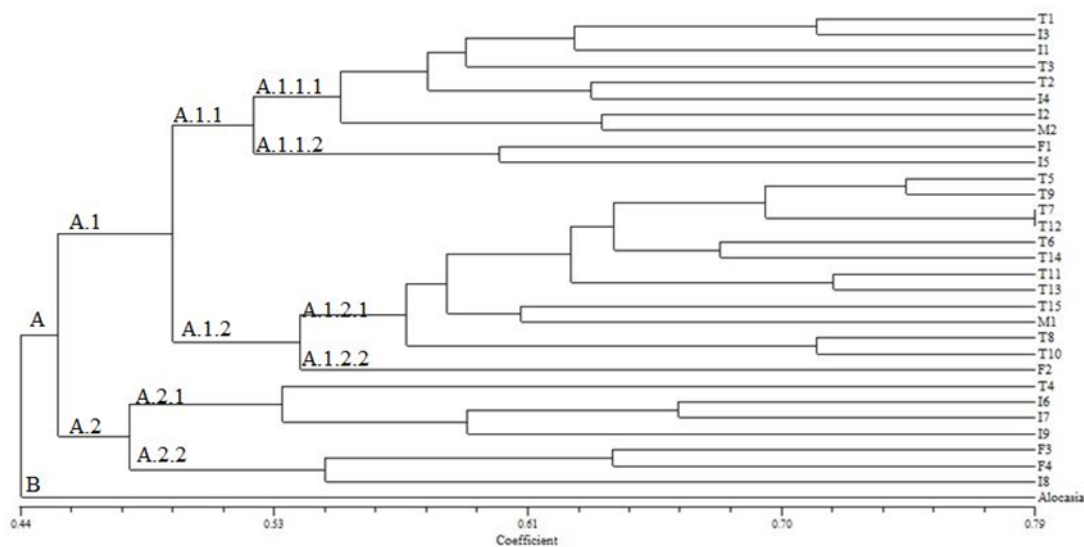
(Vicente *et al.*, 2003). Berikut adalah perhitungannya.

$$F_{st} = \frac{\sigma_{2AP}}{\sigma_{2AP} + \sigma_{2DP}} = \frac{3,17}{13,78} = 0,02 \text{ (rendah)}$$

Keragaman genetik dalam populasi merupakan konsekuensi dari reproduksi seksualnya (Hu *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2015). Keragaman di dalam populasi merupakan keragaman antara genotipe-genotipe penyusun populasi tersebut, sehingga pada spesies tanaman menyerbuk silang keragaman genetik di dalam populasi menjadi tinggi akibat adanya *random mating*. Sementara itu, keragaman populasi merupakan nilai rata-rata dari keragaman genetik seluruh genotipe di dalam populasi tersebut. Pada tanaman menyerbuk silang, meskipun genotipe-genotipe yang menyusun

setiap populasi berbeda-beda namun nilai keragaman populasi satu dengan yang lainnya cenderung kecil, sehingga keragaman antar populasi menjadi kecil.

Koefisien kemiripan genetik 30 genotipe Keladi hias dan *Alocasia* berdasarkan pola pita DNA hasil amplifikasi dengan 7 primer RAPD dari 100 lokus menghasilkan 702 pita berkisar antara 0,44-0,79. Thailand 7 dan Thailand 12 adalah dua tanaman yang mempunyai genotipe dengan keragaman genetik paling sempit. Dua genotipe tersebut dikatakan paling mirip dengan koefisien kemiripannya adalah 0,79 (Gambar 1). Kedua genotipe ini berasal dari negara yang sama yaitu berasal dari Thailand, sehingga kemungkinan kedua genotipe tersebut merupakan keturunan dari tetua yang sama.



Gambar 1. Dendrogram kekerabatan Keladi Hias berdasarkan penanda RAPD
Keterangan: A (*Alocasia*), T (Thailand), I (Indonesia), M (Malaysia), F (Florida)

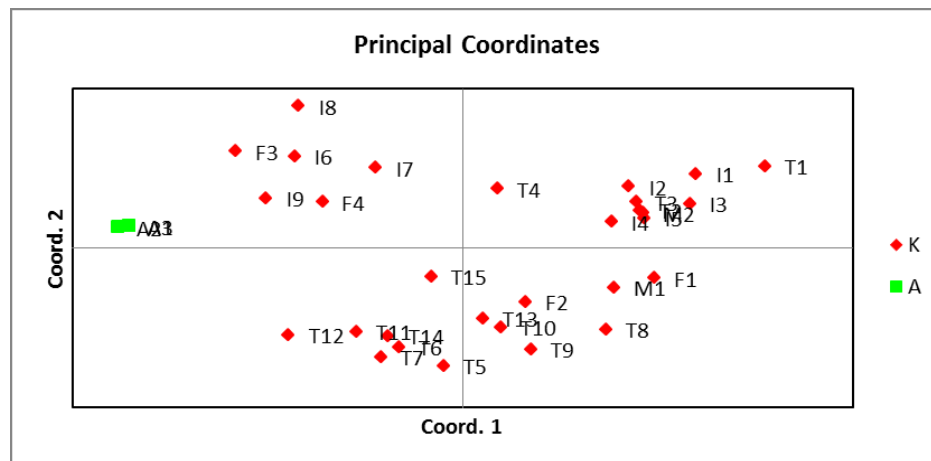
Dendrogram membagi 30 genotipe Keladi hias ke dalam dua kelompok utama yaitu A dan B. Kelompok B hanya satu genotipe yaitu *Alocasia* dengan koefisien

kemiripan 0,44 terhadap kelompok A. Genotipe tersebut merupakan *Alocasia* yang secara morfologi mirip dengan Keladi hias tetapi tidak membentuk umbi. *Alocasia*

dijadikan sebagai pembandingan dengan tanaman yang lainnya. Kelompok A membagi Keladi hias menjadi subkelompok A.1 dan A.2 (koefisien kemiripannya 0,46). A.1 dibagi menjadi subkelompok menjadi A.1.1 yang terdiri dari 10 genotipe dan A.1.2 yang terdiri dari 13 genotipe. Pada subkelompok A.1.2, terdapat 2 subkelompok yang dimana pada subkelompok A.1.2.1 terdapat 2 genotipe yang memiliki koefisien kemiripan 0,79 yaitu Thailand 7 dan Thailand 12. Artinya bahwa 2 genotipe tersebut paling mirip. Dikatakan

mirip karna koefisiennya hampir mendekati angka 1.

Berdasarkan dendrogram tersebut, pengelompokan ke 30 genotipe Keladi Hias cenderung mengelompok berdasarkan populasinya, meskipun dari setiap individu terdapat genotipe-genotipe yang cenderung memisah dari populasinya secara genetik. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil PCoA (Gambar 3).



Gambar 2. Hasil analisis PCoA pita DNA terhadap empat populasi Keladi Hias (T= Thailand, F= Florida, I= Indonesia, M= Malaysia).

Analisis Koordinat Utama (PCoA) merupakan analisis yang digunakan untuk mengetahui kedekatan individu aksesori berdasarkan kemiripan karakter melalui penyederhanaan dimensi. Persebaran titik-titik sebagai simbol aksesori atau individu, yang berdekatan menunjukkan kemiripan karakteristik antar individu. Analisis ini menggunakan perangkat GENAIEX 6.1. Populasi keladi hias bergerombol sesuai dengan populasinya dan *Alocasia* bergerombol sesuai dengan

populasinya. Pengelompokan tersebut terjadi karena individu genotipe secara molekuler memiliki hubungan kemiripan yang dekat.

Akumulasi data yang diperoleh dari dua populasi digunakan untuk mengestimasi nilai keragaman genetik setiap populasi, nilai keragaman genetik antar populasi, serta distribusi keragaman genetik total. Variabel yang digunakan untuk mengevaluasi keragaman genetik dalam populasi adalah jumlah alel yang diamati dan jumlah alel

efektif, persentase lokus polimorfik, heterozigositas, dan indeks Shannon yang dihitung berdasarkan akumulasi data dari dua

populasi. Nilai heterozigositas masing-masing populasi adalah 0,219 (Keladi hias) dan 0,004 (*Alocasia*) (Tabel 6).

Tabel 6. Jumlah individu (N), Rata-rata jumlah alel yang diamati (Na), jumlah alel efektif (Ne), heterozigositas (H).

Populasi	N	Na	Ne	I	H
Keladi Hias	30	1,93±0,033	1,337±0,030	0,335±0,020	0,219±0,015
<i>Alocasia</i>	3	0,17±0,040	1,008±0,006	0,006±0,004	0,004±0,007

Keragaman genetik adalah penyimpangan sifat atau karakter dari individu karena terjadinya persilangan alami yang tidak terkontrol. Keragaman genetik dapat dilihat dari karakter alel dari lokus tertentu yang merupakan ekspresi dari gen tertentu (Johari *et al.*, 2007). Keragaman genetik dapat dilihat berdasarkan heterozigositas. Nilai heterozigositas merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi. Perhitungan nilai heterozigositas berdasarkan kaidah Nei (1987) bahwa nilai heterozigositas berkisar anatar 0 (nol) sampai 1 (satu). Apabila nilai heterozigositas sama dengan 0 (nol), maka diantara populasi yang diukur memiliki hubungan genetik yang sangat dekat. Apabila nilai heterozigositas sama dengan 1 (satu), maka diantar populasi yang diukur tidak terdapat hubungan genetik. Berdasarkan hasil analisis menggunakan aplikasi GenAlx 6.1 didapat hasil heterozigositas paling tinggi adalah populasi keladi hias dengan nilai heterozigositas (0,219), dan *Alocasia* (0,004). Menurut Nei (1987), faktor-faktor yang memengaruhi heterozigositas adalah jumlah alel efektif (Ne), Indeks shannon, dan jumlah individu. Semakin tinggi

nilai indeks shannon dan jumlah alel efektif maka semakin tinggi nilai heterozigositas. Diketahui bahwa populasi keladi hias mempunyai nilai Ne (1,337) dan I (0,355) tertinggi.

KESIMPULAN

1. Pengelompokan keladi hias dan *Alocasia* berdasarkan penanda molekuler dibagi menjadi 2 kelompok besar, yaitu kelompok A seluruh anggotanya merupakan keladi hias yang mengelompok sesuai dengan daerah asalnya, dan grup B yang terdiri dari *Alocasia*.
2. Persentase variasi antar populasi lebih kecil sebesar 23% dibanding dengan nilai variasi dalam populasi sebesar 77% yang menandakan bahwa di dalam populasi keragamannya jauh lebih besar dibanding antar populasi.

Keladi hias antar populasi tidak jauh berbeda dibuktikan dengan kecilnya persentase variasi antar populasinya sebesar 23%.

DAFTAR PUSTAKA

- Bermawie, N. 2005. Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman. Buku Pedoman Pengelolaan Plasma Nutfah

- Perkebunan. Pusat penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Bogor. Hal: 38-52.
- Cao, Z., S. Sui., X. Cai., Q. Yang., Z. Deng. 2016. Somaclonal variation in *Red Flash* Caladium; morphological, cytological and molecular characterization. *Plant Cell Tiss Organt Cult.*, 126: 269–279.
- Deng, Z., B.K. Harbaugh, R.O. Kelly, T. Seijo, R.J. McGovern, 2005b. Screening for resistance to pythium root rot among twenty-three Caladium cultivars. *Hort Technology*, 15: 631-634.
- Doyle, J.J and J.L Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Graf, A.B. 1970. *Exotica* (Roehrs, East Rutherford, N.J), 3rd ed.
- Hu, Y., X. Xie., L. Wang., H. Zhang., J. Yang and Y. Li. 2014. Genetic variation in cultivated rheum tanguticum populations. *Genetic and mol. Bio.* 37(3): 540-548.
- Holms, L. L., J. Hendry, L. Tubbs. A. L. Hall, and D. Dittmar. 1965. Caladium Bulbs, Highlands County DARE Rep. 11 pp. 8.
- Jena, S.N., S. Verma, K.N. Nair., A.K. srivastava, S. misra, and T.S. Rana. 2014. Genetic diversity and population structure of the mangrove lime (*Merope angulate*) in india revealed by AFLP and ISSR markers. *Aquatic botany*, 120: 260-267.
- Johari, S., E. Kurnianto., Sutopo, and S. Aminah. 2007. Keragaman protein darah sebagai parameter biogenetic pada sapi jawa. *Journal Indonesian tropical agriculture*, Hal: 112-118.
- Joshi, T., C. Jeffrey., B. Nickolai., Alexandro., D. Xu. 2004. Genome scale gene function prediction using multiple sources of high-throughput data in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *OMICS*, 8(4): 322-33.
- Loh, J.P., R. Kiew., A. Hay., A. Kee., L.H. Gan., Y.Y. Gan. 2000. Intergeneric and interspecific relationships in Araceae tribe Caladiae and development of molecular markers using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Annals of Botany*, 85: 371-378.
- McGregor, C.E., C.A., Lambert, M.M., Greyling, J.H., Louw and L., Warnich. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. *Euphytica*, 113: 135-144.
- Mondini, L., A. Noorani, and M.A. Pagnotta. 2009. Assessing Plant Genetic

- Diversity by Molecular Tools. *Diversity*, 1: 19-35.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia university press. New york: 175-208.
- Pabendon, M.B., M. Azrai, F. Kasim, dan M. J. Wijaya. 2007. Prospek Penggunaan Markah Molekuler dalam Program Pemuliaan Jagung. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Balitsereal. Indonesia.
- Pereira D.A., R.X. Correa and A.C. Oliveira. 2015. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): implications for conservation and ppre-breeding. *Biochemical systematics and ecology*, 59: 12-21.
- Radford A.E., Dickison W.C., Massey J.R., Bell R. 1974. Vascular Plant Systematics. New York (US): Harper & Row.
- Sari, V.K. 2015. Keragaman sawo (*Manilkara zapota* (L) van royen) di daerah istimewa Yogyakarta berdasarkan sifat genetik dan fisikomia buah. Tesis-Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Tingey, S.V., J.A. Rafalski, and M.K. Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: Coruzzi, C. and P. Puidormenech (eds.). Plant Molecular Biology. Belin: Springer-Verlag.
- Tjitrosoepomo G. 2009. Morfologi Tumbuhan. Yogyakarta (ID): UGM Pr. Hal: 4119.
- Vicente, M.C., C. Lopez, La Molina and T. Fulton. 2003. Genetic diversity analysis with molecular marker data: learning module. IPGRI and Cornell University.
- Wilfret, G.J., 1983. Tuber production of Caladium cultivars grown in a sandy soil. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 96: 245-248.
- William, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA Polymorphism Amplified by arbitrary Primers are useful as genetic marker. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
- Xu, Yunbi. 2010. Molecular Plant Breeding. CABI, United Kingdom.
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA untuk analisis genetik tanaman. *Jurnal Agroteknologi*, 3(2): 41-52.