

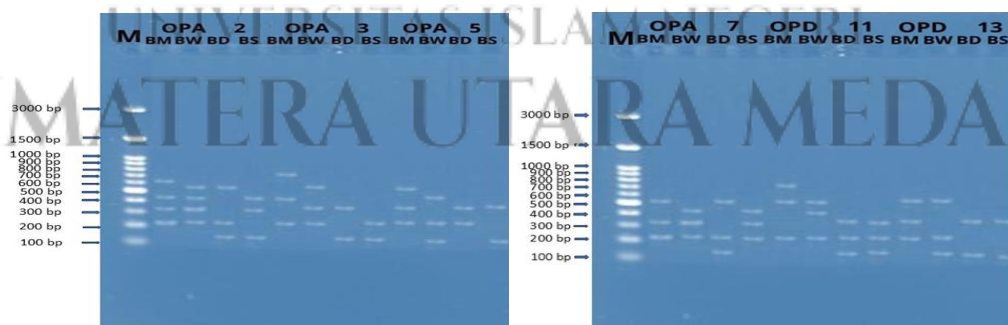
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil *Fingerprint* Tumbuhan Belimbing Genus *Averrhoa*

Pada dasarnya suatu tanaman memiliki genetik pada suatu individu tanaman untuk diidentifikasi secara morfologi tetapi juga secara genetik. Pada dasarnya tanaman yang secara fisik memiliki kesamaan tetapi secara genetik berbeda dan tidak dapat diklaim sebagai individu yang sama (Asmini,B. 2014). Pengamatan pola pita yang telah di lihat pada elektroforesis dengan menggunakan primer untuk mengetahui primer mana saja yang efektif dalam mengamplifikasi pita pita polimorfik dengan baik dan jelas. Pada keenam primer dapat terlihat hasil dari setiap sampel yang memiliki kesamaan (monomorfik) maupun perbedaan (polimorfik) yang terlihat ketika diletakkan didalam alat uvitec essensial (elektroforesis).

Dari 6 primer *Random Amplified Polymorphic DNA*, 4 primer yang menyatakan perbedaan (polimorfik) dari setiap sampel *Averrhoa* yang telah diujikan, diantaranya ialah OPA 2, OPA 3, OPA 5, dan OPD 13. Sedangkan 2 primer lainnya menyatakan kesamaan (Monomorfik) pada 4 sampel *Averrhoa* yang telah diuji, diantaranya yaitu OPA 7 dan OPD 11. *Random Amplified Polymorphic DNA* yang memanfaatkan primer-primer agar dapat melihat keanekaragaman genetik dan dapat mempelajari kekerabatan dari setiap individu ataupun spesies yang sama (Muli,B. 2016). Adapun hasil amplifikasi yang telah didapat dapat dilihat pada gambar berikut ini;



Gambar 4.1 hasil amplifikasi DNA OPA2,OPA3, OPA5, OPA7,OPD11, dan OPD 13

(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2024)

Hasil dari amplifikasi dengan menggunakan primer OPA2, OPA3, OPA5, OPA7, OPD11, dan OPD 13 yang telah diuji dengan menggunakan metode elektroforesis gel agarose 1% dan telah menghasilkan pita DNA dengan sampel yang telah diberikan kode yaitu BM (Belimbing Manis), BW (Belimbing Wuluh), BD (Belimbing Demak), BS (Belimbing Sembiring). Jumlah pola pita yang muncul pada primer OPA 2 memiliki 6 pola pita Polimorfik dengan ukuran panjang fragmen 100 bp – 600 bp, pola pita yang muncul pada primer OPA 3 memiliki 6 pola pita polimorfik dengan ukuran fragmen 200 bp – 700 bp, lalu pola pita yang muncul pada primer OPA 5 memiliki 5 pola pita polimorfik dengan ukuran fragmen 100 bp – 500 bp, dan pada pola pita yang muncul pada primer OPD 13 memiliki 4 pola pita polimorfik dengan ukuran fragmen 100 bp – 500 bp. Sedangkan pada pola pita yang muncul pada primer OPA 7 memiliki 4 pola pita polimorfik dan 1 pola pita monomorfik dan pada primer OPD 11 memiliki 5 pola pita polimorfik dan 1 pola pita monomorfik.

4.2 Nilai Polimorfisme Tumbuhan Belimbing Genus *Averrhoa*

Nilai polimorfisme merujuk pada setiap keberadaan dua ataupun lebih dari masing-masing bentuk variasi dari setiap urutan DNA tertentu. Polimorfisme dapat terlihat ketika adanya pita DNA yang tidak memiliki kesamaan antara satu dengan yang lainnya seperti pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Nilai Polimorfisme

Primer	Urutan Basah	Nilai Polimorfik	Nilai Monomorfik
OPA 2	TGC CGA GCT G	6	0
OPA 3	AGT CAG CCA C	6	0
OPA 5	AGG GGT CTT G	5	0
OPA 7	GAA ACG GGT G	4	1
OPD 11	AGC GCC ATT G	5	1
OPD 13	GGG GTG ACG A	4	0

Pada tabel 4.1 bahwa OPA 2, OPA 3, OPA 5 dan OPD 13 memiliki pola pita yang berbeda- beda disetiap primer dengan ukuran fragmen 100bp – 700 bp. Nilai polimorfik pada setiap primer berbeda yang menandakan bahwa setiap sampel DNA yang telah diuji memiliki perbedaan dari setiap primer. Sedangkan pada OPA

7 dan OPD 11 dapat terlihat kesamaan atau nilai monomorfik yang memiliki kesamaan dengan ukuran fragmen 200 bp. . Jumlah pola pita yang muncul pada primer OPA 2 memiliki 6 pola pita Polimorfik dengan ukuran panjang fragmen 100 bp – 600 bp, pola pita yang muncul pada primer OPA 3 memiliki 6 pola pita polimorfik dengan ukuran fragmen 200 bp – 700 bp, lalu pola pita yang muncul pada primer OPA 5 memiliki 5 pola pita polimorfik dengan ukuran fragmen 100 bp – 500 bp, dan pada pola pita yang muncul pada primer OPD 13 memiliki 4 pola pita polimorfik dengan ukuran fragmen 100 bp – 500 bp. Sedangkan pada pola pita yang muncul pada primer OPA 7 memiliki 4 pola pita polimorfik dan 1 pola pita monomorfik dan pada primer OPD 11 memiliki 5 pola pita polimorfik dan 1 pola pita monomorfik

Pada dasarnya untuk dapat melihat pola pita pada setiap sampel tumbuhan belimbing genus *Averrhoa* harus melalui beberapa tahapan agar mendapat hasil yang memuaskan. Adapun tahapan – tahapan dalam melihat pola pita tumbuhan belimbing genus *Averrhoa* :

a. Pengambilan sampel



(a) Daun belimbing sembiring



(c) Daun belimbing manis



(b) Daun belimbing wuluh



(d) Daun belimbing demak

Hasil dari koleksi sampel yang telah diambil didaerah Medan Timur, sebanyak 4 pohon dari tanaman yang berbeda mulai dari belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.), belimbing sembiring (*Averrhoa carambola*), dan belimbing demak (*Averrhoa carambola* CV Demak) yang diambil dari masing-masing tegakan sebanyak 5-6 helai daun yang memiliki ciri tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua yang terletak pada ruas ke 5 sebelum pucuk tanaman, kemudian ditimbang sesuai berat yang ditentukan yaitu 100 mg. Sampel yang segar ini pun disterilkan dengan alkohol 70%, agar sampel yang diambil tetap segar saat melakukan penggerusan. Setelah sampel telah disterilkan dengan alkohol kemudian dibungkus dengan kertas aluminium foil dan dimasukkan kedalam kantong plastik putih yang kedap udara biasa disebut dengan plastik clip untuk tetap wqamenjaga agar sampel tetap steril dan segar saat perjalanan menuju laboratorium Universitas Islam Negeri Sumatera Utara. Untuk membuat sampel daun tetap segar dapat disimpan didalam ice box yang telah berisi ice pack kotak. Seperti pada lampiran 1.

b. Isolasi DNA Daun Belimbing (Averrhoa)

Hasil dari isolasi DNA daun belimbing ini mendapatkan DNA murni dari setiap tanaman Averrhoa. Untuk mendapatkan DNA murni dari tanaman Averrhoa ini melalui beberapa tahapan untuk mendapatkan kemurnian dari DNA, mulai dari tahapan penimbangan tanaman Averrhoa, penggerusan tanaman Averrhoa sampai halus agar dapat memperoleh DNA murni dari tanaman Averrhoa, memindahkan sampel kedalam tube, ditambahkan Rnase, ditambahkan FAPG1, dihomogenkan dengan vortex, diinkubasi, ditambahkan FAPG2, divortex, diinkubasi kelemari es, dipindahkan kedalam filter column, disentrifuge, ditambahkan FAPG3, divortex, dipindahkan ke filter column, disentrifuge, ditambahkan larutan buffer W1, disentrifuge, dipindahkan kedalam microcentrifuge tube, dan didalam microcentrifuge merupakan DNA murni yang telah didapatkan kemudian disimpan kedalam freezer agar sampel DNA murni dapat bertahan selama beberapa bulan dalam penelitian.

Tabel 4.1.1 Hasil Kemurnian DNA Sampel

Sampel	Kemurnian	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Belimbing Sembiring	1.0	16.538 $\mu\text{g}/\text{Ml}$
Belimbing Wuluh	1.7	244.286 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Belimbing Demak	1.6	-79.942 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Belimbing Manis	1.5	-157.085 $\mu\text{g}/\text{mL}$

c. Amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR)

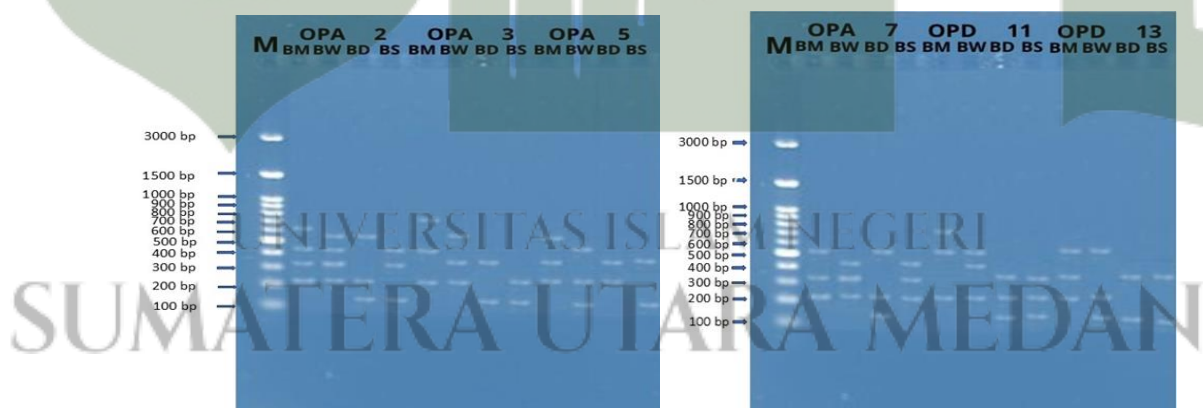
Pada tahapan amplifikasi PCR ini penelitian menggunakan bantuan 6 peimer diantaranya yaitu OPA 2, OPA 3, OPA 5, OPA 7, OPD 11, dan OPD 13. Dalam proses ini dilakukan agar menghasilkan dan memastikan kemurnian dari konsentrasi hasil ekstraksi DNA. Selain itu, kuantifikasi hasil ekstraksi DNA dalam sampel sangat penting dalam pemeriksaan PCR.

Tabel 4.2 Hasil Amplifikasi Primer

Primer	Urutan Basa (5'3')	Jumlah DNA Teramplifikasi	Ukuran Pita
OPA 2	(5'TGCCGAGCTG 3')	6	100bp-600bp
OPA 3	(5'AGTCAGCCAC 3')	6	100bp-700bp
OPA 5	(5'AGGGGTTCTTG 3')	5	100bp-500bp
OPA 7	(5'GAAACGGGTG 3')	5	100bp-500bp
OPD 11	(5'AGCGCCATTG 3')	6	100bp-700bp
OPD 13	(5'GGGGTGACG 3')	4	100bp-500bp

Dapat terlihat dari tabel 4.2.2 bahwa data hasil amplifikasi primer dengan empat sampel, pada primer OPA 2 memiliki 6 pita DNA teramplifikasi dengan ukuran 100bp-600bp, primer OPA 3 memiliki 6 pita DNA yang teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-700bp, primer OPA 5 memiliki 5 pita DNA yang telah teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-500bp, primer OPA 7 memiliki 5 pita DNA yang teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-500bp, primer OPD 11 memiliki 6 pita DNA yang telah teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-700bp, dan pada primer OPD 13 memiliki 4 pita DNA yang telah teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-500bp.

d. *Elektroforesis Tumbuhan Belimbing Genus Averrhoa*



Gambar 4.2 elektroforesis amplifikasi DNA OPA2, OPA3, OPA5, OPA7, OPD11, OPD 13

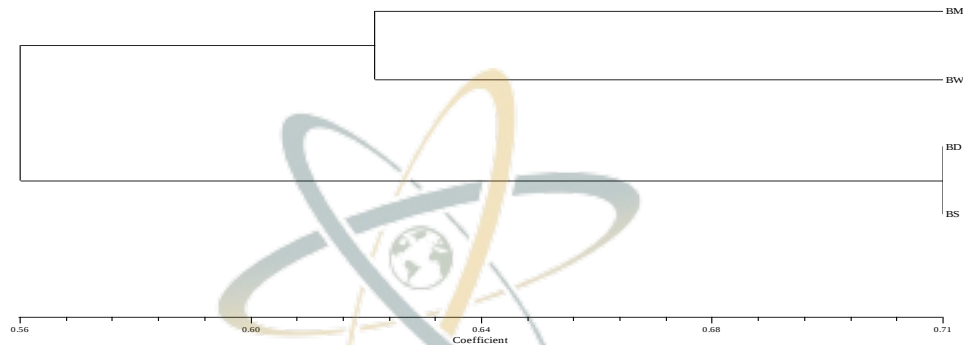
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2024)

Dari gambar 4.3 dapat terlihat hasil elektroforesis yang memiliki letak pola pita dari setiap primer. Dari sampel tersebut memiliki potongan-potongan DNA yang telah melewati tahapan elektroforesis, setiap primer menunjukkan jumlah pita yang berbeda sesuai dengan 4 sampel yang berbeda. Urutan yang diamplifikasi tergantung pada urutan DNA cetakan (dalam genom) yang cocok (matching) dengan urutan DNA pada primer. Hal ini mungkin juga menjelaskan keberadaan primer yang tidak dapat mengamplifikasi DNA genom suatu organisme. Lebih lanjut dijelaskan bahwa fragmen DNA genom berbeda diamplifikasi oleh primer berbeda (Muli, B. 2016). Kemunculan pola pita pada setiap primer diantaranya yaitu OPA 2 muncul sebanyak 6 pola pita DNA yang teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-600bp, OPA 3 muncul sebanyak 6 pola pita yang teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-700bp, OPA 5 muncul sebanyak 5 pola pita yang teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-500bp, OPA 7 muncul sebanyak 4 pola pita yang teramplifikasi dengan ukuran fragmen 100bp-500bp, OPD 11 memunculkan sebanyak 5 pola pita dengan ukuran fragmen 100bp-700bp, dan OPD 13 memunculkan sebanyak 4 pola pita dengan ukuran fragmen 100bp-500bp. Dapat terlihat adanya perbedaan dari setiap sampel *averrhoa* yang digunakan pada ke 6 primer yang menandakan perbedaan pada setiap masing-masing sampel *averrhoa*. Hubungan-hubungan tersebut dapat dijadikan acuan dalam melakukan pemuliaan tanaman khususnya tanaman persilangan dan memperoleh keanekaragaman yang tinggi dari hasil persilangan (Arisetianingsih, 2010).

e. Analisis Data dengan Aplikasi NTSYS

Pada gambar 4.4 dapat terlihat bahwa perbedaan belimbing sembiring (*Averrhoa carambola*) dan belimbing demak (*Averrhoa carambola* Cultivar Demak) memiliki kekerabatan yang sangat dekat yang menandakan bahwa mereka memiliki genotipe yang sama, tetapi dengan belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.), dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki kekerabatan yang sangat jauh itu menandakan bahwa

belimbing wuluh dan belimbing manis masih memiliki kekerabatan walaupun lumayan jauh dengan belimbing- belimbing lainnya.



Gambar 4.2.1 hasil NTSYS (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Ket : BM (Belimbing Manis)

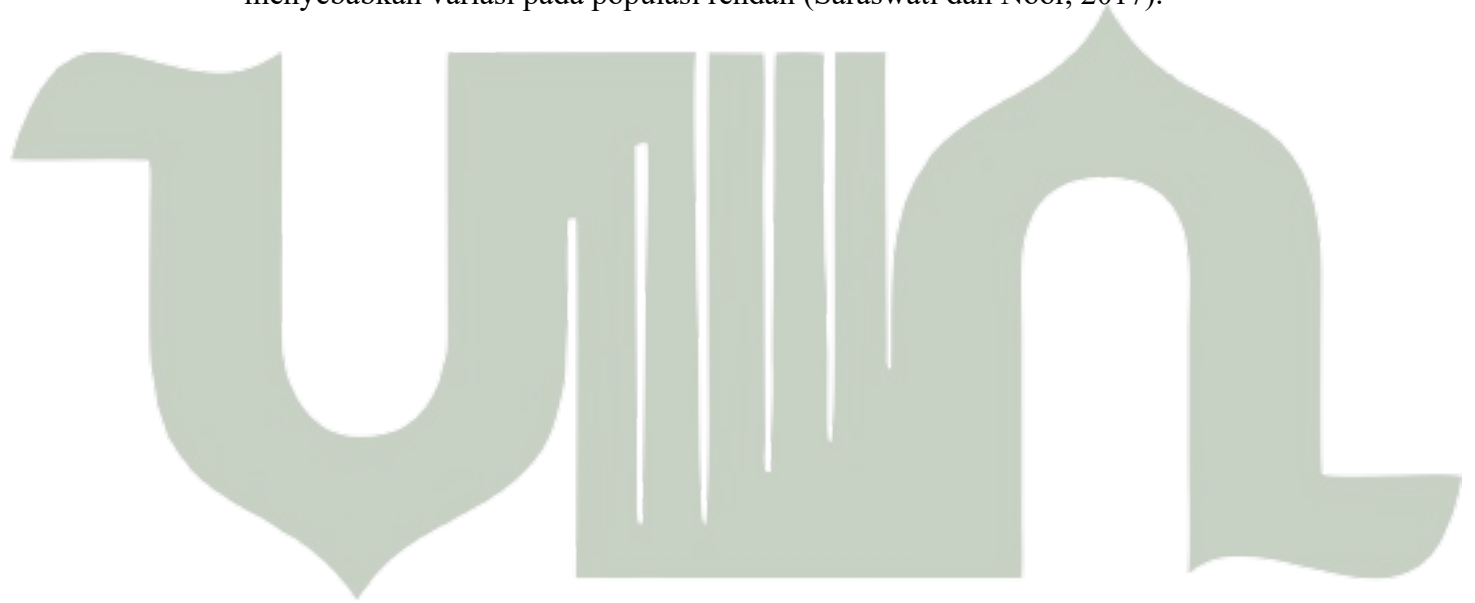
BW (Belimbing Wuluh)

BD (Belimbing Demak)

BS (Belimbing Sembiring)

Dapat terlihat pada gambar 4.4 bahwa hasil yang didapat pada saat menggunakan aplikasi NTSYS-i dapat diketahui bahwa belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) memiliki kekerabatan sekitar 0,62 % kekerabatannya dengan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Pada belimbing demak (*Averrhoa carambola* Cultivar Demak) memiliki kekerabatan sekitar 0,71 % kekerabatan dengan belimbing sembiring (*Averrhoa carambola*). Muliasari *et al.* (2019) menyatakan adanya perbedaan genetik pada setiap varietas mengakibatkan perbedaan ciri dan sifat khusus sehingga menghasilkan keragaman penampilan. Karakter kualitatif pada tanaman merupakan karakter yang hanya dipengaruhi oleh gen sederhana dan sedikit dipengaruhi lingkungan yang akan mengakibatkan karakter mudah untu dapat diwariskan pada keturunannya (Widyawati *et al.*, 2014). Budi *et al.*, (2020) menyatakan bahwa nilai keragaman genetik tinggi menggambarkan bahwa pengaruh genetik lebih besar dibandingkan pengaruh lingkungan dalam mempengaruhi penampilan karakternya, koefisien karakter sedang menunjukkan bahwa pengaruh lingkungan dan pengaruh genetik sama-sama mempengaruhi penampilan pada karakter ini, sedangkan nilai koefisien

variasi genetik rendah menunjukkan bahwa pengaruh lingkungan lebih besar bila dibandingkan dengan pengaruh genetiknya, yang memiliki kekerabatan jauh akan menghasilkan heterozigositas yang tinggi memiliki kemungkinan terbentuknya genotipe yang unggul, semakin jauh kekerabatan antara tumbuhan akan mengakibatkan keberhasilan persilangan semakin kecil, akan tetapi bila persilangan yang dilakukan berhasil kemungkinan untuk memperoleh genotipe unggul lebih besar dan semakin dekat kekerabatan antara tumbuhan akan menghasilkan genotipe yang baru dan unggul. Karakter yang tergolong rendah meliputi jumlah daun, tinggi tanaman. Rendahnya nilai dari keragaman genetik ini menunjukkan bahwa individu yang ada didalam populasi relatif seragam. Penyebarluasan yang dilakukan setiap individu serta rendahnya peningkatan keragaman dengan seksual tumbuhan yang menyebabkan variasi pada populasi rendah (Saraswati dan Noor, 2017).



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SUMATERA UTARA MEDAN



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SUMATERA UTARA MEDAN