

Syahrudin, K. · M. Azrai · M. B. Pabendon · M. Abid · A. Nur

Keragaman genetik koleksi plasma nutfah jewawut *sister line* dan lokal menggunakan marka SSR

Sari. Keragaman genetik sangat penting dalam pemuliaan tanaman, oleh karena itu informasi genetik sangat dibutuhkan dalam proses seleksi. Teknologi molekuler dengan menggunakan marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) saat ini banyak digunakan karena keakuratan informasi dan polimorfik untuk spesies atau galur yang berkerabat dekat. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi keragaman genetik dari 14 koleksi plasmanutfah jewawut berkerabat dekat dengan menggunakan 27 marka SSR yang menyebar pada semua kromosom jewawut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa koleksi plasmanutfah jewawut berkerabat dekat mengelompok pada klaster yang sama, kecuali pada koleksi aksesori Wete dari Nusa Tenggara Timur (NTT) yang menyebar pada kelompok yang berbeda pada kisaran nilai koefisien kemiripan genetik 0,28 – 0,85 dengan nilai matriks korelasi (r) sebesar 0,954. Koleksi Jewawut yang memiliki koefisien kemiripan genetik yang tinggi (0,85) ditunjukkan pada koleksi ICE-276-11A dengan ICE-276-12A dan yang memiliki koefisien kemiripan terkecil (0,61) ditunjukkan pada koleksi 2007-ICE-1335 dan 2007-ICE-1335B. Koleksi jewawut yang berasal dari NTT (Wete Gha Gero Phere dan Wete Wolowea) dan introduksi (2007-ICE-1335B dan 2007-ICE-1335) memiliki tingkat variasi genetik tinggi yang ditunjukkan oleh penyebaran aksesori pada klaster yang berbeda dengan nilai jarak genetik rata-rata yang cukup tinggi terhadap aksesori koleksi. Adanya keragaman yang tinggi memberikan peluang keberhasilan program pemuliaan tanaman jewawut.

Kata kunci: Aksesori introduksi · Jewawut · Nusa Tenggara Timur · Variasi

Genetic diversity of Sister line and Local Foxtail millet germplasm using SSR markers

Abstract. Genetic diversity is very important in plant breeding, thus genetic information is needed in plant breeding activities, especially for selection process. Molecular technology using *Simple Sequence Repeat* (SSR) marker is widely used for genetic diversity research due to the high accuracy of information and highly polymorphic for closely related species. This study was conducted to identify the genetic diversity of 14 millet germplasm using 27 SSR markers. The results showed that the collection of closely related millet germplasm was grouped in the same cluster, except for the Wete accessions from Nusa Tenggara Timur (NTT) that spread to different groups in the range of the genetic similarity coefficient of 0.28 – 0.85 with a correlation matrix value (r) of 0.954. The millet collections which had a high genetic similarity coefficient (0.85) was shown in ICE-276-11A and ICE-276-12A, while the smallest similarity coefficient (0.61) was shown in 2007-ICE-1335 and 2007-ICE-1335B. The accessions from NTT (Wete Gha Gero Phere and Wete Wolowea) and introduction accessions (2007-ICE-1335B and 2007-ICE-1335) showed a high level of genetic variation as indicated by the spread of accessions in different clusters with sufficient high average genetic distance values against the accession of the collections. A wide diversity of germplasm provided greater opportunity of success for millet breeding.

Keywords: Introduction accession · Foxtail millet · Nusa Tenggara Timur · Variation

Diterima : 28 Juli 2021, Disetujui : 10 Desember 2021, Dipublikasikan : 15 Desember 2021

DOI: [10.24198/kultivasi.v20i3.34843](https://doi.org/10.24198/kultivasi.v20i3.34843)

Syahrudin, K.¹ · M. Azrai¹ · M. B. Pabendon¹ · M. Abid² · A. Nur³

¹ Balai Penelitian Tanaman Serealia, Jl. DR. Ratulangi No.274, Allepolea, Kec. Lau, Kabupaten Maros, 90512

² Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Tengah, Jl. Poros Palu- Kulawi Km 17, Maku, Dolo, Kab. Sigi, Sulteng 94362

³ Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Gorontalo, Jl. Mohamad Van Gobel No.270, Iloheluma, Tilongkabila, Kab. Bone Bolango 96119

Korespondensi: karlinasyahrudin@gmail.com

Pendahuluan

Keragaman genetik adalah tingkat variasi makhluk hidup dalam suatu ekosistem (Ramanatha and Toby, 2002). Keragaman genetik menjadi sangat penting di dalam suatu populasi karena semakin banyak gen dalam suatu populasi, semakin besar kemungkinan adaptasi suatu individu dalam menghadapi perubahan lingkungan, seperti terhadap cekaman abiotik dan biotik (Govindaraj *et al.*, 2014). Keragaman genetik merupakan kunci dalam pengembangan tanaman budidaya melalui kegiatan pemuliaan.

Jewawut atau millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) adalah tanaman sereal pada subfamili Panicoideae dan suku Paniceae dengan jumlah kromosom $2n = 2x = 18$ (AA). Peran jewawut sebagai pangan alternatif potensial sudah lama dikenal oleh masyarakat dunia, dengan kandungan seperti asam amino yang lengkap dan kandungan mineral kalsium dan besi yang tinggi (Lin *et al.*, 2012; Sharma and Nirajan, 2018). Keanekaragaman dan penyebaran jewawut sangat bervariasi dan luas di Indonesia (Nirmalakumari *et al.*, 2010; Randall *et al.*, 2016). Jenis *foxtail* millet merupakan yang paling banyak tersebar di Indonesia dan bernilai komersial (Ghimire *et al.*, 2019). Kegiatan koleksi jewawut di Balitsereal sudah lama dilakukan, yang berasal dari introduksi dan eksplorasi di wilayah Indonesia yang memiliki keragaman genetik jewawut yang tinggi seperti Nusa Tenggara Timur (NTT). Koleksi aksesori jewawut mengalami banyak variasi yang terjadi selama masa dikoleksi. Beberapa koleksi bisa menghasilkan 2-5 variasi baru yang mungkin disebabkan karena adanya persilangan alami di lapangan, atau karena belum stabilnya genetik dari materi introduksi tersebut. Tingginya variasi dalam aksesori koleksi menyebabkan sulitnya seleksi bagi pemulia untuk menggunakan materi genetik tersebut sebagai tetua dalam kegiatan pemuliaan dan pengembangan jewawut. Oleh karena itu, diperlukan identifikasi dan karakterisasi yang berguna sebagai informasi dalam kegiatan koleksi sumberdaya plasma nutfah dan kegiatan pemuliaan (Ellegren and Galtier, 2016). Pada aksesori koleksi yang berasal dari lokal NTT yang sangat beragam (Rini, 2018) memiliki karakteristik yang mencolok antara satu dan lainnya, namun dikumpulkan dengan nama yang sama. Alternatif dalam membedakan

aksesori dengan nama yang sama dapat dilakukan dengan mengidentifikasi lokasi eksplorasi, namun hal itu pun belum tepat, mengingat dalam satu lokasi eksplorasi dapat ditemukan lebih dari 1 aksesori. Oleh karena itu, diperlukan suatu alat identifikasi yang tepat untuk membedakan aksesori koleksi tersebut.

Koleksi plasmanutfah jewawut yang terbentuk dari variasi aksesori dan eksplorasi membutuhkan pembenaran dalam identifikasi genetiknya. Penggunaan marka morfologi biasanya membutuhkan waktu yang agak lama untuk menemukan karakter pembeda dan penanganan yang agak rumit. Marka molekuler merupakan alat yang sangat baik bagi pemulia dan ahli genetik untuk menganalisis genom tanaman. Mikrosatelit merupakan sekuen berulang DNA dari genom eukariot dan dapat menyajikan penanda genetik yang dapat mendeteksi perbedaan antar genotipe (Al-Badeiry *et al.*, 2014). Sekuens ini lazim disebut sebagai *Simple Sequence Repeat* (SSR). Marka SSR saat ini banyak digunakan untuk penelitian diversitas genetik karena keakuratan informasi yang tinggi dan sangat polimorfik, bahkan untuk spesies atau galur yang berkerabat dekat (Cholostova *et al.*, 2011). Sebagian penelitian menggunakan marka SSR untuk identifikasi varietas tanaman dan mengidentifikasi keragaman genetik beberapa macam plasma nutfah tanaman (Hoxha *et al.*, 2004). Analisis dengan marka SSR relatif cepat, sederhana, bersifat polimorfik, kodominan, stabil, dan dapat digunakan untuk uji kemurnian benih (Mulsanti *et al.*, 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi keragaman genetik koleksi plasma nutfah jewawut *sister line* hasil introduksi dan lokal Balitsereal dengan menggunakan marka molekuler SSR. Informasi dari keragaman genetik akan membantu dalam memperbaiki database koleksi plasma nutfah jewawut di Balitsereal.

Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biomolekuler Balai Penelitian Tanaman Sereal Maros, Sulawesi Selatan, yang berlangsung dari Bulan April – Juli 2020. Bahan tanaman yang digunakan adalah 14 aksesori jewawut yang berasal dari koleksi jewawut Balitsereal yang merupakan hasil introduksi dari India (ICRISAT) dan dari

hasil eksplorasi di provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) (Tabel 1). Benih disemai di tray plastik berukuran 50 x 30 x 20 cm yang ditanam secara alur menggunakan media pertumbuhan dengan perbandingan tanah dan pupuk kandang adalah 1:2. Pada 14 hari setelah tanam (HST), daun di panen per baris aksesi dengan bobot sekitar 15 - 20 g. Sebanyak 4 g daun ditimbang dan ditempatkan dalam tube 2 mL yang berisi Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) (Doyle, 1991; George *et al.*, 2004) dengan membuat duplikasi sebanyak 3 tube sebagai cadangan. Daun yang direndam CTAB kemudian disimpan pada suhu -80 °C sebelum dilakukan ekstraksi DNA. Isolasi DNA menggunakan metode CTAB. Hasil DNA yang diendapkan kemudian dibersihkan menggunakan etanol 70% dan dikering-anginkan. Hasil DNA yang sudah kering kemudian dilarutkan ke dalam 50 mL aquabides. Kualitas dan kuantitas DNA dicek dengan elektroforesis pada gel agarosa 1% bersama lamda DNA berukuran 50, 100, 200 dan 300 ng/ μ L, dan konsentrasi DNA dikuantifikasi menggunakan spektrofotometer ultra-low volume (Nanodrop). DNA kerja dibuat dengan mengencerkan DNA stok sampai konsentrasi 50 ng/ μ L kemudian disimpan pada suhu -20 °C untuk digunakan lebih lanjut. Sebanyak 27 primer penanda SSR (Tabel 2) (Gupta *et al.*, 2012) digunakan untuk mengecek keragaman tanaman jiwawut. Campuran PCR terdiri dari buffer reaksi 1 x Taq (MyTaqTM Red Mix), nukleotida dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP (masing-masing 125 μ M), primer 0,1 μ M, 1U DNA polimerase Taq, dan 10 ng DNA template (CIMMYT, 2004).

Ukuran produk pita ditentukan dengan perbandingan menggunakan Marker Φ x-174 DNA/Hint I (Promega). Skoring pita dilakukan dengan menetapkan nilai 1 untuk keberadaan pita dan 0 untuk tidak adanya pita untuk setiap lokus (data biner), dan jika penampilan pita sangat meragukan dituliskan 9 (*missing data*). Beberapa parameter untuk menentukan primer yang paling informatif antara lain jumlah pita total, jumlah dan persentase pita polimorfik, heterosigositas, dan kandungan informasi polimorfik (PIC). Nilai PIC yang menunjukkan efisiensi masing-masing primer dihitung dengan mengikuti rumus yang dijelaskan oleh Anderson *et al.* (1993): skoring menggunakan $PIC_i = 1 - \sum P_i^2$, di mana P_i adalah frekuensi alel ke-i pada lokus tertentu. Analisis statistik dari hasil program NTSYS-pc, 2.1 (Rohlf, 2000), Winboot dan POWER MARKER.

Tabel 1. Nama aksesi koleksi jiwawut dan asalnya.

No	Nama Aksesi	Asal
1	ICE-276-8A-1	ICRISAT, India
2	ICE-276-11A	ICRISAT, India
3	ICE-276-12A	ICRISAT, India
4	ICE-276-12AC	ICRISAT, India
5	ICE-276-13A	ICRISAT, India
6	ICE376-3	ICRISAT, India
7	ICE376-13	ICRISAT, India
8	2007-ICE-1335	ICRISAT, India
9	2007-ICE-1335-B	ICRISAT, India
10	Wete coklat	NTT, Ratong Moto
11	Wete pulut	NTT, Saneloe
12	Wete krem	NTT, Seusisoy
13	Wete coklat	NTT, Gha Gero Phere
14	Wete coklat	NTT, Wolowea

Hasil dan Pembahasan

Marker SSR yang digunakan dalam penelitian ini tersebar merata pada seluruh kromosom jiwawut sebanyak 1 - 3 marka per kromosom. Jumlah marka yang digunakan sebenarnya belum mengakomodasi untuk melihat keragaman jiwawut secara menyeluruh. Seperti yang kita ketahui bahwa jumlah kromosom Jiwawut adalah sebanyak 9 kromosom, sehingga membutuhkan banyak marka untuk menganalisis keragamannya, namun dari hasil analisis ditemukan pengelompokan yang signifikan yang mengumpulkan aksesi jiwawut berkerabat dekat dengan sangat baik dengan nilai pengelompokan yang cukup tinggi. Sebanyak 27 primer SSR yang digunakan memiliki reproduksi, stabilitas, dan polimorfisme yang tinggi (Tabel 3). Total pita yang dihasilkan dari seluruh primer SSR yang diujikan adalah 103 pita, dimana 101 pita atau 98,05% dari pita tersebut adalah pita polimorfis dengan ukuran basa berkisar antara 84 sampai 553 bp. Jumlah total pita yang dihasilkan oleh setiap primer SSR berkisar dari 2 hingga 8, dengan rata-rata jumlah pita adalah 4,26 pita. Frekuensi alel yang dihasilkan dari 27 primer SSR tersebut adalah berkisar antara 0,21 (p17x) hingga 0,93 (b226 dan b107) dengan rata-rata frekuensi alel 0,57. Pita polimorfik dari setiap primer SSR yang digunakan bervariasi dari 0,13 % (b107) sampai 0,83 % (p59) dengan jumlah rata-rata pita polimorfik 0,55%. Nilai informasi polimorfik (PIC) dari primer SSR berkisar dari 0,12 (b226 dan b107) sampai 0,83 (p17x), dengan rata-rata

Tabel 2. Nama Primer SSR, BIN, dan sekuens basa forward dan reverse.

No	Primer	Bin	Forward	Reverse
1	p16	1	F : TT TC TC CC TC TC TC GA TT CC	R : AA AT TG GC GT GC TA AC AA CC
2	p92	1	F : TG GA AT TG GA AC CC TT TC G	R : GC CA TG CA AA CA GT AC CA TC
3	b260	1	F : GA AG AG AG AA GC AG CG TT C	R : AA AC CA CA CT TG CC CT GA
4	p80	2	F : GC CG TT GG AT TT GA TT AT GG	R : TG TG GT TA GT TT AT GT GG CT TG
5	b115	2	F : GG TA GC GA CG GA TC TA CA GC	R : GC TA GC AA AT GC TG TC AT GG
6	p98	3	F : AT TC AT CA GT AG CA CA GC	R : TG GA AC TA AG AA CA GG AA AC
7	b186	3	F : CC CG TA TA AA TG TC AT CA TC CC	R : GC AC CT GG CT TC CC TT
8	b226	3	F : TA CC TC CC GT TC CG TT TT GT	R : CG CA TT GA TG GC TT AC AG TT
9	b236	4	F : TC TG GA CC AG CA TT CT GT CT T	R : GG TA AC TC TG CT TG GA CG AG
10	b247	4	F : GA TT GC TC TC TC AC AC AC AC G	R : GC CC GA TG GC TG CT AG T
11	b255	4	F : GA GG AC AG CG GC CA TT	R : CC TC CC TC CA TT TA CT TT GG
12	p17x	5	F : CG GA CA CC TG AA AG AC GA A	R : GT CA CT TG TT GT TG TT GC G
13	p75	5	F : AT GC CA TG GG AA TT TG AA CC	R : GT TT GA TG CA GG AC GA GA GG
14	b223	5	F : GG CA TT AA CT AC AT TG AC AG TG G	R : AA AA CC AA CA GT TC CC TC GT
15	b190	6	F : GA AA TT TC AC AA GT GT TG GT G	R : TG AT CG GA GC AG AG TG TT GA
16	p59	7	F : TA AT TT TG TG GC GT GG GA TG	R : GC AC TG GT TT TG TT GA AT GG
17	b107	7	F : AG AA CG AG GT GG TG TG TG G	R : GG GT CT CA CG CT CT CA TC A
18	b142	7	F : TG GT AA AA CT CC CA TA TT GA GC	R : GC CC CA TC CT TG AT AA CA GA
19	p6	8	F : AA GG AT GG AA TT TG CC AC TG	R : TT TC GA CG AT TT GC TT CA AC
20	b185	8	F : GC AC GT GT GA CT TT CC AC AT	R : GT GA AT GG CA CA CG AA AC TG
21	b258	8	F : GG GC CA AT AA TG GT TG CA TA	R : TT GC AC AT CC AA AT CT TT CC
22	p38	9	F : GT CG TC CC AC GT AT GA AA CC	R : TG AT TT CA CC TA CC GA TT TG C
23	b241	9	F : CA CG CA CG TA GT AT TG CT AT	R : GT TC TG GG CT TC TG GC TG
24	b265	9	F : AA TA AT GG AG AG GC AG CA TC C	R : CG AA TC AA GG TG TG CG TG
25	b269	9	F : GT GC GT GC CT CC CT TT A	R : CC AG AT GC TT CC AC GG T
26	SICAAS6101	6	F : CA TG GT GC CT TG CA TT TA GA	R : TG CA GT TC AG TG AG AC AT AC AA AA C
27	SICAAS6035	6	F : AA TA CC AC AC AA GC AT CA GG AG	R : GG CG AT GG AG TG CA TT TT AT TA

PIC 0,5, sedangkan heterosigositas (H_e) bervariasi dari 0,00 (b226, b190, b107, p6 dan b265) sampai 0,93 (b186, b255, p75 dan p38) dengan rata-rata 0,49 (Tabel 3).

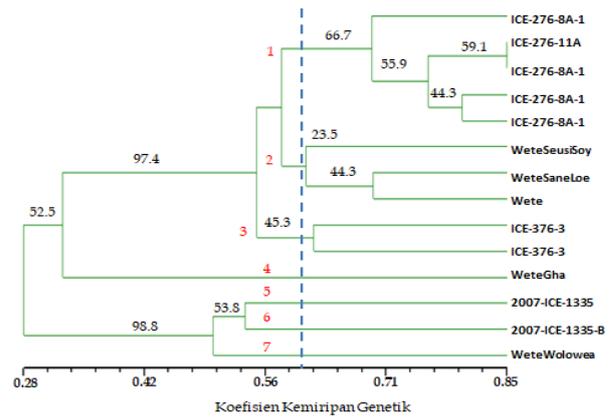
Informasi pita polimorfis, H_e , dan PIC dari setiap primer menunjukkan besarnya keragaman yang terbentuk pada lokus-lokus yang diuji pada 14 koleksi jiwawut. Primer yang nilai H_e -nya tinggi bisa dijadikan primer untuk mengidentifikasi keragaman pada tanaman jiwawut yang dikoleksi selanjutnya. Semakin tinggi nilai H_e dan PIC yang dihasilkan, maka primer tersebut akan semakin informatif dalam membedakan individu antara genotipe di dalam suatu populasi dan akan membuat kegiatan pemuliaan semakin efektif, terutama dalam membedakan populasi tanaman yang berkerabat dekat.

Nilai PIC dijadikan standar untuk mengevaluasi marka genetik berdasarkan pita DNA hasil amplifikasi PCR, oleh karena itu nilai PIC dibagi menjadi tiga kelas, yaitu $PIC > 0,5$ = sangat informatif, kemudian $0,25 > PIC > 0,5$ = sedang, dan $PIC < 0,25$ = rendah (Mulsanti *et al.*, 2013), sehingga primer-primer yang informatif

untuk membedakan jiwawut berkerabat dekat adalah primer-primer dengan nilai H_e tinggi dan PIC diatas 0,5. Primer tersebut adalah p16, p80, b186, b255, b247, p17x, p75, SICAAS6035, p59, b142, b258, dan p38.

Dendrogram dihasilkan dari analisis jarak genetik Nei's dan Principal Component Analysis (PCA). Jarak genetik yang dihasilkan bervariasi dari 0,28 sampai 0,85. Tingkat keakuratan dari pengelompokan adalah sangat tinggi, yaitu sebesar $r = 0,954$. Kisaran keragaman yang dibentuk pada 15 aksesi koleksi jiwawut Korea Selatan juga menunjukkan nilai kisaran jarak genetik dari 0 - 0,693 dengan H_e 0,335 yang sangat tinggi menggunakan marker morfologi dan ISSR (Ghimire *et al.*, 2019). Analisis kluster mengelompokkan 14 koleksi plasmanutfah jiwawut dalam 7 kluster pada nilai kemiripan 0,59. Kluster 1 terdiri atas koleksi berkerabat ICE-276, kluster 2 terdiri atas koleksi Wete Seusisoy, Wete Saneloe dan Wete, kluster 3 terdiri atas koleksi berkerabat ICE-376, kluster 4 terdiri atas Wete Gha Gero Phere, kluster 5 terdiri atas 2007- ICE-1335, kluster 6 terdiri atas 2007-ICE-1335-B dan cluster 7 terdiri atas Wete

Wolowea (Gambar 1). Dari pengelompokan tersebut terlihat jelas bahwa beberapa koleksi berkerabat mengelompok pada kluster yang sama, yang artinya bahwa aksesori dalam satu kluster memang berasal dari genetik yang sama, namun sudah mengalami perubahan genetik yang mungkin disebabkan karena mutasi ataupun persilangan alami di lapangan dengan aksesori yang lain sehingga terbentuk variasi baru ataupun karena materi ini sendiri adalah materi yang belum tergalur dengan baik saat diintroduksi.



Gambar 1. Dendrogram Koeffisien Kemiripan Genetik antara plasmanutfah Jewawut koleksi Balitsereal

Tabel 3. Profil data 27 lokus SSR hasil karakterisasi 14 koleksi plasmanutfah jewawut Balitsereal.

No	Primer	Size range	Frekuensi Alel	Jumlah Genotipe	Jumlah alel	% Pita Polimorfik	He	PIC
1	p16	189,50 - 228,58	0,57	5,00	3,00	0,58	0,43	0,51
2	p92	181,63 - 196,49	0,82	2,00	2,00	0,29	0,36	0,25
3	b260	142,75 - 244,10	0,79	4,00	6,00	0,37	0,21	0,36
4	p80	193,88 - 272,25	0,39	8,00	6,00	0,76	0,79	0,73
5	b115	249,00 - 311,00	0,61	5,00	3,00	0,55	0,36	0,49
6	b186	140,00 - 172,77	0,36	3,00	4,00	0,73	0,93	0,68
7	b226	216,33 - 239,20	0,93	2,00	2,00	0,13	0,00	0,12
8	p98	142,75 - 239,20	0,57	2,00	2,00	0,49	0,86	0,37
9	b255	151,00 - 195,10	0,46	3,00	3,00	0,64	0,93	0,56
10	b247	84,00 - 151,00	0,61	4,00	4,00	0,56	0,21	0,50
11	b236	105,99 - 180,40	0,57	8,00	8,00	0,64	0,36	0,62
12	p17x	157,12 - 340,00	0,21	7,00	8,00	0,85	1,00	0,83
13	p75	190,20 - 249,00	0,46	4,00	4,00	0,64	0,93	0,57
14	b223	106,75 - 140,00	0,54	5,00	5,00	0,65	0,36	0,61
15	SICAAS6035	142,75 - 192,99	0,39	3,00	4,00	0,71	1,00	0,65
16	b190	362,56 - 427,00	0,92	2,00	2,00	0,14	0,00	0,13
17	SICAAS6101	129,00 - 171,42	0,50	4,00	4,00	0,63	0,07	0,56
18	b107	311,00 - 427,00	0,93	2,00	2,00	0,13	0,00	0,12
19	p59	190,81 - 255,88	0,25	9,00	8,00	0,83	1,00	0,81
20	b142	123,50 - 259,33	0,46	7,00	7,00	0,69	0,71	0,64
21	p6	249,00 - 290,33	0,50	2,00	2,00	0,50	0,00	0,38
22	b258	170,60 - 553,00	0,32	4,00	6,00	0,78	1,00	0,75
23	b185	109,00 - 148,25	0,64	5,00	4,00	0,53	0,36	0,49
24	b269	105,99 - 151,00	0,82	3,00	4,00	0,31	0,21	0,30
25	b241	118,00 - 183,66	0,57	6,00	5,00	0,61	0,21	0,57
26	b265	208,16 - 224,50	0,71	2,00	2,00	0,41	0,00	0,32
27	p38	151,00 - 200,00	0,43	4,00	5,00	0,63	0,93	0,55
Rerata		84,00 - 553,00	0,57	4,26	4,26	0,55	0,49	0,50

Aksesi dengan nama Wete lebih bervariasi karena terdistribusi dalam beberapa klaster berbeda, yang berarti bahwa aksesi Wete beragam karakternya. Aksesi Wete sendiri berasal dari wilayah NTT yang berasal dari wilayah yang berbeda-beda. Beragamnya genetik dari Wete yang berasal dari 1 wilayah NTT ini menunjukkan bahwa jiwawut di wilayah Indonesia sendiri sebenarnya sudah memiliki tingkat keragaman yang tinggi, namun belum tereksplorasi dan terkarakterisasi dengan baik. Oleh karena itu, aksesi Wete memerlukan pengkarakterisasian secara morfologi dan agronomi untuk kemampuan adaptasi dan hasil serta kandungan nutrisi biji agar jelas karakteristik tanaman dan manfaatnya untuk digunakan dalam kegiatan pemuliaan.

Alel dari koleksi jiwawut yang berasal dari NTT sangat tinggi variasinya dan hal ini dapat menjelaskan bahwa semua aksesi dari NTT memiliki variasi alel yang tinggi seperti hasil penelitian yang dilaporkan oleh Kumari *et al.* (2011) dimana variasi dan aliran gen/alel antara aksesi dari wilayah berbeda cukup tinggi yang dideteksi menggunakan marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dan *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). Namun, pada hasil penelitian Vetriventhan *et al.* (2012), keragaman genetik dari jiwawut berkorelasi cukup baik berdasarkan klasifikasi wilayah, begitu pula pada hasil penelitian Kellogg *et al.* (2009) yang menunjukkan bahwa spesies *Setaria* lebih terkelompok oleh wilayah dari pada klasifikasi sub-generiknya, serta pada hasil penelitian Benabdelmouna *et al.* (2001) yang menggunakan sekuens gen tertentu yang menunjukkan bahwa jiwawut yang berkerabat dekat dapat berkelompok berdasarkan geografis lokasi pertumbuhan tanaman. Hal ini berbeda dari hasil penelitian ini dimana aksesi Wete tidak mengelompok berdasarkan wilayah, begitu pula hasil penelitian yang didapatkan oleh Randall *et al.* (2016) yang menunjukkan jiwawut yang tidak mengelompok berdasarkan wilayah. Keragaman genetik jiwawut di wilayah NTT kemungkinan sangat tinggi, seperti yang ditemukan oleh Rini (2018) bahwa keragaman genetik jiwawut di daerah Sumba, NTT, sangat tinggi berdasarkan karakter bentuk malai dan warna biji.

Aksesi ICE-276-11A dan ICE-276-12A berada dalam klaster yang sama dengan kemiripan genetik yang tinggi (0,85), aksesi ICE-376-3 dan ICE-376-13 juga mengelompok pada klaster yang sama pada nilai koefisien kemiripan 0,61, sedangkan aksesi 2007-ICE-1335 dan 2007-ICE-1335-B mengelompok dengan koefisien kemiripan

0,53 (Tabel 4). Nilai bootstrap pada dendrogram menunjukkan frekuensi dari berapa kali aksesi tersebut mengelompok dan berpasangan pada garpu dendrogram. Pada klaster I menunjukkan bahwa nilai bootstrap cukup tinggi (66,7) untuk memetakan aksesi ICE-276 dalam 1 klaster, diikuti klaster 3 dan 2.

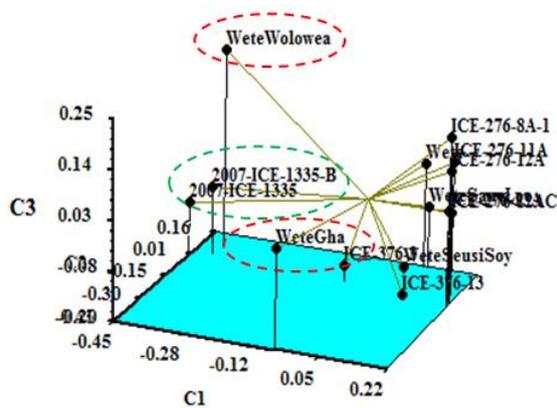
Hasil analisis jarak genetik diantara aksesi plasmanutfah jiwawut menunjukkan bahwa ada beberapa aksesi yang memiliki jarak genetik yang sangat dekat, yaitu aksesi ICE-276-11A dengan ICE-276-12A (0,15), ICE-276-12A dengan ICE-276-12AC (0,18), dan ICE-276-12AC dengan ICE-276-13A (0,20). Ketiganya memiliki jarak genetik yang sangat dekat karena masih merupakan *sister line*. Banyak variasi yang terbentuk didalam satu aksesi dapat terjadi karena genotipe hasil hibridisasi memiliki tetua persilangan yang perbedaan genetiknya cukup tinggi, sehingga menghasilkan keturunan yang beragam seperti yang terjadi pada aksesi ICE-276. Hal ini membuktikan bahwa aksesi ICE-276 yang diintroduksi merupakan segregan generasi awal yang belum menggalur sempurna, sehingga masih menghasilkan variasi genetik saat ditanam di Indonesia. Begitupula yang terjadi pada aksesi ICE-376 dan aksesi 2007-ICE-1335. Seperti yang kita ketahui bahwa jiwawut sendiri memiliki sifat persilangan *self-pollination*, sehingga outcrossing sangat kecil terjadi, namun diketahui bahwa jiwawut memiliki heterosigositas yang tinggi pada lokus-lokusnya (Gupta *et al.*, 2012). Oleh karena itu, variasi ini mungkin disebabkan karena genotipe ICE-276 dan ICE-376 merupakan segregan generasi awal yang heterosigositasnya masih tinggi saat diintroduksi ke Indonesia.

Rata-rata jarak genetik (rJG) adalah nilai rata-rata jarak genetik suatu aksesi terhadap aksesi yang lain. Nilai ini dapat menunjukkan bagaimana posisi suatu aksesi dalam suatu populasi uji. Nilai rata-rata jarak genetik bergantung pada populasi ujinya. Dalam penelitian ini nilai rJG aksesi Wete Gha Gero Phere yang paling tinggi (0,70), diikuti 2007-ICE-1335-B (0,69), kemudian 2007-ICE-1335 (0,68) dan Wete Wolowea (0,67). Jauhnya jarak genetik dari aksesi tersebut juga dapat terlihat dari gambar 3 dimensi dimana pada Gambar 2 terlihat bahwa Wete Gha Gero Phere, Wete Wolowea, dan 2007-ICE-1335 terpisah dengan aksesi yang lain dengan jarak yang jauh. Jarak genetik yang jauh memberikan peluang kepada kegiatan pemuliaan untuk menghasilkan variasi baru dalam menghasilkan aksesi-aksesi jiwawut yang lebih baik.

Tabel 4. Jarak genetik antara aksesi koleksi plasmanutfah jyawut Balitsereal dengan 27 marka SSR.

Aksesi	ICE-276-8A-1	ICE-276-11A	ICE-276-12A	ICE-276-12AC	ICE-276-13A	ICE-376-3	ICE-376-13	2007-ICE-1335	2007-ICE-1335-B	WeteSaneLoe	WeteSeusiSoy	WeteGha	Wete	WeteWolowea
ICE-276-8A-1	0,49													
ICE-276-11A	0,24	0,45												
ICE-276-12A	0,3	0,15	0,46											
ICE-276-12AC	0,37	0,23	0,18	0,47										
ICE-276-13A	0,33	0,26	0,31	0,2	0,49									
ICE-376-3	0,53	0,46	0,45	0,46	0,53	0,5								
ICE-376-13	0,47	0,44	0,4	0,38	0,4	0,38	0,5							
2007-ICE-1335	0,76	0,75	0,79	0,8	0,8	0,59	0,69	0,68						
2007-ICE-1335-B	0,77	0,75	0,77	0,78	0,79	0,58	0,71	0,46	0,69					
WeteSaneLoe	0,39	0,39	0,4	0,44	0,48	0,46	0,36	0,68	0,69	0,49				
WeteSeusiSoy	0,49	0,47	0,48	0,44	0,45	0,43	0,47	0,65	0,71	0,44	0,52			
WeteGha	0,7	0,66	0,63	0,66	0,65	0,64	0,65	0,75	0,8	0,73	0,71	0,7		
Wete	0,36	0,29	0,35	0,42	0,4	0,44	0,47	0,68	0,7	0,31	0,33	0,7	0,47	
WeteWolowea	0,7	0,72	0,72	0,76	0,79	0,58	0,71	0,47	0,52	0,66	0,7	0,78	0,61	0,67

Keterangan : Angka didalam kotak adalah rata-rata jarak genetik dari aksesi tersebut terhadap seluruh aksesi yang lain



Gambar 2. Bentuk 3 dimensi pengelompokan aksesi jyawut

yang mengalami variasi dalam proses koleksi dan aksesi yang dikoleksi dengan nama yang sama. Marka SSR mampu membedakan aksesi jyawut berkerabat dekat dengan pengelompokan yang baik. Tingkat keragaman yang tinggi diperoleh pada aksesi Wete dan 2007-ICE-1335 yang memberikan peluang untuk pemuliaan tanaman jyawut dalam menghasilkan variasi yang lebih banyak dari persilangan aksesi-aksesi tersebut. Tidak terjadi duplikasi materi koleksi pada kelompok sister line, hanya aksesi ICE-276-11A dan ICE-276-8A-1 yang memiliki koefisien kemiripan yang besar.

Kesimpulan

Keragaman genetik dari plasma nutfah menjadi informasi paling penting untuk menghasilkan tanaman jyawut bernutrisi lebih baik dengan produksi yang tinggi. Keterbatasan karakter morfologi dapat dibantu dengan penggunaan marka molekuler untuk memudahkan dalam mengidentifikasi kedekatan genetik dari aksesi

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Badan Litbang Pertanian, Kementerian Pertanian, atas pembiayaan penelitian ini melalui DIPA Balai Penelitian Tanaman Sereal, juga kepada segenap teknisi yang terlibat dalam penelitian ini. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat seluas-luasnya bagi kemaslahatan umat.

Daftar Pustaka

- Al-Badeiry, N.A., A.H. Al-Saadi, and T.K. Merza. 2014. Analysis of Genetic Diversity in Maize (*Zea mays* L.) Varieties Using Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. *Pure & Applied Science*, 6, 1768-1774.
- Anderson, J.A., G.A. Churchill, J.E. Autrique, S.D. Tanksley, and M.E. Sorrells. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36, 181-186.
- Benabdelmouna, A., M. Abirached-Darmency and H. Darmency. 2001. Phylogenetic and genomic relationships in *Setaria italica* and its close relatives based on the molecular diversity and chromosomal organization of 5S and 18S-5.8S-25S rDNA genes. *Theor Appl Genet* 103, 668-677.
- Cholastova, T., M. Soldano and R. Pokorny. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and simple sequence repeats (SSR) marker efficacy for maize hybrid identification. *Afr. J. Biotech* 10(24): 4794-4801.
- CIMMYT. 2004. Protokol untuk Karakterisasi Jagung secara Genotipik menggunakan Marka SSR serta Analisis Data. Metro Manila, Philippines.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12, p.13-15.
- Ellegren, H. and N. Galtier. 2016. Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, Nature Publishing Group, 17 (7), pp.422 - 433.
- George, M.L.C., E. Regalado, W. Li, M. Cao, M. Dahlan, M.B. Pabendon, Warbuton, X. Xianchun, D. Hoisington. 2004. Molecular Characterization of Asians maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor Appl Genet* 109:80- 91.
- Ghimire, B.K., C.Y. Yu, S.-H. Kim, I.-M. Chung. 2019. Assessment of Diversity in the Accessions of *Setaria italica* L. Based on Phytochemical and Morphological Traits and ISSR Markers *Molecules* 2019, 24, 1486.
- Govindaraj, M., M. Vetriventhan, and M. Srinivasan. 2014. Importance of Genetic Diversity Assessment in Crop Plants and Its Recent Advances: An Overview of Its Analytical Perspectives. *Hindawi Publishing Corporation Genetics Research International Volume 2015, Article ID 431487, 14 pages.*
- Gupta, S., K. Kumari, and P.P. Sahu. 2012. Sequence-based novel genomic microsatellite markers for robust genotyping purposes in foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.]. *Plant Cell Rep* 31, 323-337. <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1168-x>.
- Hoxha, S., M.R. Shariflou, and P. Sharp. 2004. Evaluation of genetic diversity in Albanian Maize using SSR markers. *Journal Maydica* 49:97-103.
- Kellogg, E.A., S.S. Aliscioni, O. Morrone, J. Pensiero, and F. Zuloaga. 2009. A phylogeny of *Setaria* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) and related genera based on the chloroplast gene *ndhF*. *International Journal of Plant Sciences*, 170(1), 117-131.
- Kumari R., N. Dikshit, D. Sharma, and K.V. Bhat. 2011. Analysis of molecular genetic diversity in a representative collection of foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] from different agro-ecological regions of India. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 17(4):363-374.
- Lin, H.S., C.Y. Chiang, S.B. Chang, G.I. Liao, and C.S.S. Kuoh. 2012. Genetic Diversity in The Foxtail Millet (*setaria italica*) germplasm determined by agronomic traits and microsatellite markers. *Australian Journal of Crop Science (AJCS)* 6 (2) 342-349.
- Mulsanti, W. Indria, M. Surahman, S. Wahyuni, dan D.W. Utami. 2013. Identifikasi galur tetua padi hibrida dengan marka SSR spesifik dan pemanfaatannya dalam uji kemurnian benih. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 32 (1): 1- 8
- Nirmalakumari, A. and M. Vetriventhan. 2010. Characterization of foxtail millet plasmanutfah collections for yield contributing traits. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 1(2): 140-147
- Ramanatha, R.V. and T. Hodgkin. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1-19. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Randall, A., Y. Yuwariah, A. Nuraini, T. Nurmala, A.W. Irwan, dan W.A. Qosim. 2016. Karakterisasi dan kekerabatan 23 genotip Jawawut (*Setaria italic* L. Beauv) yang ditanam tumpangsari dengan ubi jalar berdasarkan karakter agromorfologi. *Pangan*, Vol. 25 No. 1 April 2016 : 21 - 32

- Rini, D.W. 2018. Potensi akses lokal jewawut (*setaria italica* (L.) p. beauv) sebagai pangan alternatif di lahan kering pulau sumba ntt. Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek III. ISSN: 2527-533x :558-564.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. Applied Biostatistics Inc.
- Sharma, N. and K. Niranjana. 2018. Foxtail millet: Properties, processing, health benefits, and uses, *Food Reviews International*, 34:4, 329-363.
- Vetriventhan, M., H.D. Upadhyaya, C.R. Anandakumar, S. Senthilvel, H.K. Parzies, A. Bharathi, R.K. Varshney, and C.L.L. Gowda. 2012. Assessing genetic diversity, allelic richness and genetic relationship among races in ICRISAT foxtail millet core collection *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 10(3); 214-223.