Keragaman morfologi dan genetik beberapa aksesori tanaman Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) berdasarkan penanda molekuler gen *mat-K*

Eka Fitri Wulandari¹, Nouke Lenda Mawikere^{1,2}, Barahima Abbas^{1,2*}

¹Fakultas Pertanian, Universitas Papua, Jl. Gunung Salju Amban, Manokwari

²Program Pascasarjana, Universitas Papua, Jl. Gunung Salju Amban, Manokwari

*E-mail: barahimabas@gmail.com

ABSTRACT: Sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) is one of the carbohydrate-producing crops that has great potential in supporting food security programs. This study aims to determine the morphological and genetic diversity based on the *mat-K* gene marker of 15 accessions of sago palm that have been collected by the Sago Research Consortium. This research was conducted by preparing plant samples, extracting DNA, amplifying DNA with a PCR tools, visualizing the results of DNA amplification, sequencing, editing DNA sequencing, and blasting. The results showed that the sago palm accessions collected by the UNIPA Sago Research Consortium were morphologically different in the Russet stages. Based on the maturase K (*mat-K*) gene marker of 15 sago palm accessions were divided into two haplotypes, namely haplotype 1 which experienced deletion at base number 5 (amino acid phenylalanine) and haplotype 2 which did not experience deletion so it had phenylalanine amino acid. Phylogenetic analysis showed that 15 sago palm accessions were divided into 2 groups, namely group 1 and group 2. Sago palm were observed closely related to *Metroxylon warburgii* with genetic distance of 0.001.

Keywords: maturase K, phylogenetic, *Metroxylon sagu*, sago palm

PENDAHULUAN

Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) merupakan salah satu tanaman penghasil karbohidrat yang sangat potensial dalam mendukung program ketahanan pangan (Tarigan, 2001). Potensi tanaman sagu di Indonesia cukup besar, karena memiliki areal yang luas. Diperkirakan sekitar 1.128 juta ha atau 51,3% dari luas areal sagu dunia terdapat di Indonesia, dengan daerah penyebaran utama adalah Maluku, Papua, dan beberapa daerah lain seperti di Sulawesi, Sumatera, dan Kalimantan. Sebagian besar lahan dalam bentuk hutan sagu dengan luasan berjumlah 1.067.590 ha atau 90,3% dan tanaman sagu yang semi budidaya

sekitar 114.000 ha atau 9,7% (Budianto, 2003).

Luas areal penyebaran sagu di Indonesia tidak menyebar rata begitu pula keragamannya. Flach (1983) memperkirakan keragaman sagu di Indonesia lebih tinggi dijumpai di Provinsi Papua dibanding dengan pulau-pulau lainnya di Indonesia. Tanaman sagu di Indonesia beragam berdasarkan morfologi dan berdasarkan marker molekuler (Abbas 2018, Riyanto et al 2018). Keragaman sagu yang dimiliki saat ini mengalami erosi plasma nutfah dari tahun ke tahun (Tenda et al. 2006). Kondisi ini sejalan dengan tingkat konversi lahan atau hutan sagu menjadi

lahan komoditas lain, bangunan, dan tingkat eksploitasi yang berlebihan.

Untuk menyelamatkan keragaman sagu, maka perlu dilakukan konservasi plasma nutfah. Konservasi plasma nutfah dapat dilakukan dengan cara in situ dan ex situ. Konservasi secara ex situ memerlukan informasi keragaman morfologi dan genetik tanaman yang akan dikonservasi agar efisien dalam penggunaan ruang dan penanganannya. Informasi keragaman morfologi dapat diungkap dengan mengidentifikasi karakter morfologi tanaman dan informasi keragaman genetik dapat diungkapkan melalui berbagai macam teknik molekuler seperti penanda RAPD (Abbas et al. 2009), penanda cpDNA (Abbas et al. 2010), penanda gen *nad2* (Abbas et al 2019) dan penanda gen spesifik (Abbas and Ehara 2012).

Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan yaitu DNA barkoding. DNA barkoding adalah satu atau lebih sekuen gen pendek yang diambil dari bagian genom standar dan digunakan untuk mengidentifikasi spesies (Kress dan Erickson, 2008). Beberapa kandidat gen yang disarankan untuk barkoding DNA tanaman kebanyakan berada pada DNA kloroplas, yang meliputi gen *accD*, *mat-K*, *ndhJ*, *rpoB2*, *rpoC1*, dan *ycf5* (Chase et al., 2007, Lahaye et al., 2008); *rbcL* (Kress dan Erickson, 2007); *trnL* intron (Taberlet et al., 2007); dan *trnH-psbA* (Kress et al., 2005; Kress dan Erickson, 2007). Consortium for the Barcoding of Life (CBOL) merekomendasikan tiga gen yang dapat digunakan untuk barcoding yaitu *rbcL*, *mat-K*, dan ITS, sedangkan pada hewan sekuen DNA yang dapat dijadikan untuk barkoding adalah gen sitokrom c oksidasi (COI) di DNA mitokondria. Gen COI tidak dapat digunakan sebagai barkoding pada tanaman karena variabilitas yang rendah antar spesies.

Menurut Kress dan Erickson (2008), DNA barkoding dapat digunakan dalam bidang taksonomi dan filogenetik tumbuhan untuk hasil identifikasi tumbuhan yang lebih akurat dibandingkan dengan identifikasi secara morfologi. Salah satu DNA barkoding yang dapat digunakan yaitu *matK* (Maturase K) yang merupakan gen kloroplas berukuran sekitar 1500 pasang basa (bp) yang berlokasi di intron *trnK*. Hollingsworth et al., (2011) menyatakan bahwa saat ini gen *matK* telah digunakan sebagai alat yang penting untuk memeriksa keanekaragaman genetik intraspesies dan interspesies.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah 15 aksesori tanaman sagu koleksi Konsorsium Riset Sagu. Aksesori itu dikarakterisasi morfologinya yaitu warna daun tombak, warna pelepah, warna daun mudah berdasarkan *color chart* serta menentukan pola pendurian. Analisis DNA menggunakan sampel daun muda yang diambil dari tiap-tiap aksesori kemudian diekstraksi DNANYA di Laboratorium Bioteknologi Unipa.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan *Genomic DNA mini kit (plant)* GENEID. DNA genom diekstraksi dari daun sagu yang muda, dengan cara digerus hingga daun sagu menjadi halus kemudian dimasukkan ke dalam tube 1,5 ml sebanyak 25 mg dan dicampurkan dengan GPX1 buffer (400 µl) serta RNase (5 µl) menggunakan vortex dan spiner. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit menggunakan *heat block*. GP2 *buffer* sebanyak 100 µl ditambahkan ke dalam campuran kemudian dihomogen-

kan menggunakan vortex, setelah itu diinkubasikan dalam freezer selama 3 menit. Campuran tersebut dipindahkan ke dalam kolom filter yang dipasang dalam tube 2 ml, kemudian disentrifuges dengan kecepatan 5.000 rpm selama 1 menit. *Supernatant* pada tube 2 ml dipindahkan dengan hati-hati ke dalam tube 1,5 ml yang baru. Volume *lysate* pada GP3 buffer 1,5 kali ditambahkan dan divortex selama 5 detik. Campuran 700 μ L dipindahkan ke dalam kolom GD yang telah diletakkan pada tube 2 ml, kemudian disentrifuges dengan kecepatan 15.000 rpm selama 2 menit. Cairan yang keluar dari tube dibuang dan sisa campuran dimasukkan ke dalam kolom GD, kemudian disentrifuge pada kecepatan 15.000 rpm selama 2 menit. Cairan yang keluar dibuang dan kolom GD yang digunakan diletakkan pada tube 2 ml. W1 buffer 400 μ L ditambahkan pada saat kolom dicuci dan kemudian disentrifuge dengan kecepatan 15.000 rpm selama 30 detik. *Wash buffer* 600 μ L ditambahkan pada kolom yang dicuci setelah filtrate dibuang dan disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 30 detik. Kolom GD dikeringkan dengan disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 15.000 rpm dan filtrat dibuang. Kolom GD yang telah kering dipindahkan pada tube 1,5 ml dan ditambahkan Elution Buffer 100 μ L, kemudian dibiarkan selama 4 menit hingga Elution Buffer terserap oleh matriks. Selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 15.000 rpm selama 30 detik untuk mendapatkan DNA yang murni.

Pengujian Kualitas DNA

Gel agarose dibuat dengan cara menimbang agarose sebanyak 0,45 gram kemudian ditambahkan 45 ml SB buffer 1x. Campuran tersebut dipanaskan hingga mendidih dan dituangkan ke dalam cetakan gel elektroforesis saat suhunya sudah turun mendekati 40°C

yang telah pasang sisir pada bagian tepinya.

Gel dalam cetakan dimasukkan ke dalam camber elektroforesis dan ditambahkan SB buffer hingga gel terendam seluruhnya. Sisir yang digunakan untuk membentuk sumur-sumur diangkat dan sumur-sumur diisi dengan *loading dye* yang telah dicampur DNA genom. Ekstrak DNA 4 μ l dicampur dengan *loading dye* sebanyak 1 μ l. Sumur terakhir diisi dengan *marker* 1 kb *DNA ladder* sebanyak 4 μ l. Camber elektroforesis ditutup dan alirkan listrik menggunakan tegangan 110 V selama 25 menit. Selanjutnya gel hasil elektroforesis direndam ke dalam etidium bromide selama 15 menit, kemudian dibilas dengan air dan divisualisasi menggunakan UV transiluminator.

Ampilifikasi fragmen gen yang menyandi protein maturase K dilakukan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses PCR menggunakan *GoTaq Green* (Promega). Total volume reaksi amplifikasi sebanyak 50 μ l, yang terdiri atas 5 μ l DNA Template, 13 μ l ddH₂O, 2,5 μ l primer MatK-1RKIM-f dan 2,5 μ l primer MatK-3FKIM-r, 1 μ l BSA, 1 μ l DMSO, dan 25 μ l GoTaq Green PCR Mix 2X. Profil suhu yang digunakan dalam *thermocycler* disajikan pada Tabel 1.

Elektroforesis Produk PCR

Gel agarose 1% (b/v) sebagai media penyangga dan larutan SB buffer 1x digunakan untuk elektroforesis hasil amplifikasi PCR. Gel agarose dibuat dengan melarutkan 0,5 gram agarosa ke dalam 50 ml SB buffer, campuran tersebut dipanaskan hingga mendidih dan dituangkan ke dalam cetakan gel elektroforesis pada saat suhu turun sekitar 40°C yang telah pasang sisir pada bagian tepinya. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 V selama 30 menit.

Tabel 1. Tahapan amplifikasi DNA

Tahapan	Suhu	Waktu	Jumlah Siklus
Predenaturasi	80°C	10 detik	1
Denaturasi	94°C	5 menit	1
Denaturasi	94°C	30 detik	40 kali
Annealing	50°C	30 detik	40 kali
Extantion	72°C	45 detik	40 kali
Extansion	72°C	7 menit	1
Extansion	37°C	1 menit	1

Gel yang telah dielektroforesis direndam ke dalam larutan ethidium bromide selama 15 menit dan dibilas dengan air, kemudian divisualisasi dengan menggunakan UV transiluminator. Dokumentasi dilakukan dengan menggunakan kamera digital.

Sequensing Hasil PCR

DNA 15 aksesi sagu yang telah diperoleh kemudian dikirim ke Singapore melalui PT Genetika Science Indonesia Jakarta untuk dilakukan sequencing dengan metode dideoksi terminasi Sanger oleh 1st base.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Tanaman Sagu

Karakterisasi penampilan morfologi suatu tanaman menjadi salah satu hal yang penting dalam pemuliaan tanaman. Hasil karakteristik merupakan salah satu sumber data yang dapat digunakan untuk upaya melakukan kegiatan pemuliaan tanaman ataupun menentukan tetua guna menghasilkan bibit yang unggul. Penampilan karakter morfologi 15 aksesi sagu yang dikarakterisasi disajikan pada Gambar 1.

Hasil pengamatan morfologi 15 sampel sagu di lapangan ditemukan berbagai variasi, salah satunya pada warna daun tombak. Variasi warna daun tombak yaitu hijau, merah kehijauan, dan merah. Aksesi sagu 01, 03, 04, 05, 06, 08, dan 12 memiliki daun tombak

berwarna merah kehijauan (RHS174B), aksesi sagu 07, 09, 10 dan 13 memiliki warna daun tombak hijau kekuningan (RHS142A), dan aksesi sagu 02, 11, 14, dan 15 memiliki warna daun tombak merah (RHS67A) (Gambar 2 dan Tabel 2). Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Riyanto et al., (2018) aksesi sagu memiliki 3 varian warna daun tombak yaitu merah, merah kehijauan, dan hijau. Perbedaan warna daun tombak pada aksesi sagu diduga karena adanya perbedaan waktu terekspresinya warna hijau daun (pigmen klorofil). Aksesi sagu yang memiliki daun tombak berwarna hijau, ketika daun tombak memasuki fase pemanjangan pigmen warna merah perlahan menghilang dan ketika sudah mencapai tinggi optimum warna merah sudah tidak tampak sama sekali. Aksesi sagu yang memiliki daun tombak berwarna merah kehijauan dan merah, ketika daun terbuka pigmen warna hijau masih belum terekspresi. Warna hijau akan terekspresi ketika daun berumur 8-10 hari setelah daun terbuka.

Karakter Pendurian

Tumbuhan sagu dibagi menjadi dua kelompok menurut penduriannya, yaitu berduri atau tidaknya tangkai daun (Harsanto 1986). Aksesi sagu 01, 02, 03, 07, 08, 10, 11, 09, dan 13 termasuk tanaman sagu yang tidak berduri dan aksesi sagu 04, 05, 06, 12, 14, dan 15 memiliki duri pada tangkai atau pelepah

daunnya. Penampilan dan bentuk pendurian dari beberapa aksesori tanaman

sagu disajikan pada Gambar 2 dan Tabel 2.

Gambar 1. Warna daun tombak 15 aksesori sagu

Gambar 2. Karakter pendurian dan bentuk *cluster* pendurian tanaman sagu pada stadia russet

Bentuk Cluster Pendurian

Bentuk cluster duri pada bibit sagu terdiri dari 2 kategori, yaitu mengumpul dan menyebar. Kategori mengumpul yaitu setiap duri berada pada kedudukan yang teratur di tengah pelepah dan di tepi pelepah. Kategori menyebar yaitu setiap duri memiliki posisi pada pelepah yang tidak beralur jelas atau tidak teratur (Riyanto *et al.*, 2018).

Aksesi tanaman sagu yang dikarakterisasi dijumpai enam sampel sagu yang memiliki duri pada bagian pelepahnya, yaitu aksesi sagu 04, 05 dan 06 masuk dalam kategori duri yang mengumpul dan aksesi sagu 12, 14 dan 15 masuk dalam kategori duri menyebar (Gambar 3 dan Tabel 2).

Warna Pelepah

Pelepah muda dan tua pada bibit sagu juga memiliki variasi warna yang cukup mencolok. Bibit sagu memiliki 5 varian warna pelepah muda dan 2 varian warna pelepah tua. Pelepah muda memiliki lima warna yaitu merah tua, kuning pucat, merah muda kekuningan, hijau

kekuningan, dan mosaik. Pelepah tua pada bibit sagu memiliki dua varian warna yaitu hijau tua dan hijau muda (Riyanto *et al.*, 2018).

Warna pelepah muda pada sampel penelitian ini yaitu sampel aksesi 01, 06 dan 14 memiliki warna pelepah merah tua (RHS179A), aksesi sagu 02, 04, 09, 10, 11, 12, 13 dan 15 memiliki warna pelepah kuning pucat (RHS158), aksesi sagu 05 dan 14 memiliki warna pelepah merah muda kekuningan (RHS19A), aksesi sagu 07 memiliki warna pelepah hijau kekuningan (RHS142A), dan aksesi sagu 03 memiliki warna pelepah mosaik. Menurut Riyanto *et al.*, (2018), pelepah muda mosaik yaitu pelepah yang terdiri lebih dari satu warna dengan pola yang tidak beraturan. Warna pelepah tua pada sampel penelitian ini terdiri atas aksesi sagu 01, 02, 08, 10, dan 15 memiliki pelepah yang berwarna hijau muda (RHS140C) dan aksesi sagu 03, 04, 05, 06, 07, 09, 11, 12, 13, dan 14 memiliki pelepah berwarna hijau tua (RHS140B) disajikan pada Gambar 3 dan Tabel 2.

Gambar 3. Penampilan warna pelepah beberapa aksesi tanaman sagu pada stadia russet

Tabel 2. Morfologi tanaman sagu pada stadia ruset

No	Aksesi	Karakter pendurian	Ukuran klister	Warna daun tombak	Warna pelepah setelah daun tombak terbuka	Warna pelepah ke empat
1	Sagu 01	Tidak berduri	-	RHS174B (Merah kehijauan)	RHS179A (Merah tua)	RHS140C (Hijau muda)
2	Sagu 02	Tidak berduri	-	RHS67A (Merah)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140C (Hijau muda)
3	Sagu 03	Tidak berduri	-	RHS174B (Merah kehijauan)	Mosaic	RHS140B (Hijau tua)
4	Sagu 04	Berduri	Mengumpul	RHS174B (Merah kehijauan)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140B (Hijau tua)
5	Sagu 05	Berduri	Mengumpul	RHS174B (Merah kehijauan)	RHS19A (Merah muda kekuningan)	RHS140C (Hijau muda)
6	Sagu 06	Berduri	Mengumpul	RHS174B (Merah kehijauan)	RHS179A (Merah tua)	RHS140B (Hijau tua)
7	Sagu 07	Tidak berduri	-	RHS142A (Hijau kekuningan)	RHS142A (Hijau kekuningan)	RHS140B (Hijau tua)
8	Sagu 08	Tidak berduri	-	RHS174B (Merah kehijauan)	RHS179A (Merah tua)	RHS140C (Hijau muda)
9	Sagu 09	Tidak berduri	-	RHS142A (Hijau kekuningan)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140B (Hijau tua)
10	Sagu 10	Tidak berduri	-	RHS142A (Hijau kekuningan)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140C (Hijau muda)
11	Sagu 11	Tidak berduri	-	RHS67A (Merah)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140B (Hijau tua)
12	Sagu 12	Berduri	Menyebar	RHS174B (Merah kehijauan)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140B (Hijau tua)
13	Sagu 13	Tidak berduri	-	RHS142A (Hijau kekuningan)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140B (Hijau tua)
14	Sagu 14	Berduri	Menyebar	RHS67A (Merah)	RHS19A (Merah muda kekuningan)	RHS140B (Hijau tua)
15	Sagu 15	Berduri	Menyebar	RHS67A (Merah)	RHS158A (Kuning pucat)	RHS140C (Hijau muda)

Amplikon Fragmen DNA Gen *mat-K*

Hasil amplifikasi DNA dari 15 sampel tanaman sagu dan marker 1kb DNA ladder (*Thermoscientific*) dengan ukuran pita DNA berkisar 250 bp – 10000 bp, disajikan pada Gambar 4. Jumlah pita yang teramplifikasi menggunakan primer Maturase K berkisar 1000 bp. Hal ini menunjukkan bahwa produk PCR (amplikon) yang diperoleh adalah benar dari Gen Maturase K yang menjadi target dari primer MatK-1RKIM-f dan MatK-3FKIM-r (Kuzmina *et al.*, 2012).

Kualitas amplikon yang diperoleh cukup baik yang terlihat dari kecerahan pita DNA (sangat terang) disajikan pada Gambar 4. Kualitas amplikon akan berpengaruh terhadap hasil dari sekuensing DNA. Konsentrasi DNA

yang rendah akan menyebabkan hasil sekuensing yang kurang bagus. Menurut Elviana (2010), konsentrasi DNA sampel, ukuran panjang primer, konsentrasi ion Mg dan suhu hibridasi primer harus dikontrol dengan hati-hati agar dapat diperoleh pita-pita DNA yang utuh dan baik.

Urutan Sekuens Fragmen Gen Maturase K pada Tanaman Sagu

Urutan sekuens fragmen gen *mat-K* yang diperoleh dalam format Ab1 file diedit dan dicocokkan dengan elektroferogramnya sehingga diperoleh urutan sekuens yang benar. Seluruh sekuens yang diperoleh memiliki kualitas elektroferogram yang baik. Penampilan sampel elektroferogram ditampilkan pada Gambar 7. Setiap basa

nukleotida yang dihasilkan memberikan warna puncak yang berbeda-beda, yaitu Adenin berwarna hijau, Guanin berwarna ungu, Timin berwarna merah, dan Sitosin berwarna biru.

Hasil penggabungan sekuens *forward* dan *reverse* disimpan dalam bentuk fasta

file yang digunakan dalam analisis selanjutnya. Panjang sekuens yang diperoleh yaitu 700 bp (keompok I) dan 701 bp (kelompok II). Urutan sekuens DNA sampel sagu yang diteliti disajikan pada Tabel 3.

Gambar 4. Penampilan pola pita DNA hasil PCR

Gambar 5. Elektroferogram sampel sagu

Tabel 2. Urutan sekuens aksesori tanaman sagu kelompok I dan II

ID Sampel	Urutan sekuens
Kelompok I	TTTA-TTTTTTTTTGAAAAAGAAAATAAAAGACTATTTTCGGTTCCTATATAATTCCTATGTATCTGAATGCGAATT TGTATTAGTTTTCTTCGTAACAATCTCTTATTTACGATTAAACATCTTCTGGAGCTTTTCTTGAGCGAACACATT TCTATGGAAAAATAGAACATCTTATAGTAGTGCGCCATAATTATTTTCAGAGGACCTATGGTCTTCAAGGATC CTTTCATGCATTATGTTTCGATATCAAGGAAAAAGCAATTCTGGTTTCAAAGGGGGCTCATCTTCTGATGAAGAAAT GGAAATGTCACCTTGTCATTTCTGGCAATATCATTTTCACCTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATCCATATAGACCA ATTATCAAAGTCTTCTTCTATTTCTAGGTTATCTTTCAAGTGTATTAATAAATCTTTTCGACGGTAAGGAATCAAA TGCTAGAGAATTCATTTCTAATGGATACTGTTACTAAAAAATTCGATACCGAGTCCAGTATTCTCTTATTGA ATCATTGTCTAAAGCAAAATTTGTACCGTATCGGGGCACCCTATTAGTAAGCCGATCTGGACCGATTATCAGA TTGCGATATTATTGATCGATTTGGTCCGATATGTAGAAATCTTTCTCATTATCACAGTGGATCCTCAAAAAACA GAGTTTGTATCGAATAAA
Kelompok II	TTTTTTTTTTTTTTTTGAAAAAGAAAATAAAAGACTATTTTCGGTTCCTATATAATTCCTATGTATCTGAATGCGAATT TGTATTAGTTTTCTTCGTAACAATCTCTTATTTACGATTAAACATCTTCTGGAGCTTTTCTTGAGCGAACACATT TCTATGGAAAAATAGAACATCTTATAGTAGTGCGCCATAATTATTTTCAGAGGACCTATGGTCTTCAAGGATC CTTTCATGCATTATGTTTCGATATCAAGGAAAAAGCAATTCTGGTTTCAAAGGGGGCTCATCTTCTGATGAAGAAAT GGAAATGTCACCTTGTCATTTCTGGCAATATCATTTTCACCTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATCCATATAGACCA ATTATCAAAGTCTTCTTCTATTTCTAGGTTATCTTTCAAGTGTATTAATAAATCTTTTCGACGGTAAGGAATCAAA TGCTAGAGAATTCATTTCTAATGGATACTGTTACTAAAAAATTCGATACCGAGTCCAGTATTCTCTTATTGA ATCATTGTCTAAAGCAAAATTTGTACCGTATCGGGGCACCCTATTAGTAAGCCGATCTGGACCGATTATCAGA TTGCGATATTATTGATCGATTTGGTCCGATATGTAGAAATCTTTCTCATTATCACAGTGGATCCTCAAAAAACA GAGTTTGTATCGAATAAA

Hasil Blast

Menurut Barthet dan Hilu (2007), Gen *mat-K* yang digunakan sebagai gen penyandi protein memiliki model evolusi yang tidak biasa karena tingkat substitusi nukleotida gen *mat-K* tiga kali lebih tinggi dibandingkan gen *rbcL* dan tingkat substitusi asam amino enam kali lebih tinggi dibandingkan gen *rbcL*. Xiong (2006) menyatakan bahwa hasil dari pembacaan urutan nukleotida

fragmen gen *mat-K* menghasilkan runutan DNA yang selanjutnya dapat dianalisis menggunakan BLAST pada situs NCBI. BLAST merupakan teknik untuk menyelaraskan urutan nukleotida sampel dengan membandingkan urutan nukleotida yang terdapat di dalam database GenBank. Hasil Blast 15 aksesori sagu dengan tanaman yang falmae lainnya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil blast tanaman sagu dengan tanaman selain sagu

No	Sampel ID	Hasil BLAST			
		Spesies	Accession number	Query coverage	Identity
1	Sagu 01	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	99%	100%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,71%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	99%	99,71%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,43%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,43%
2	Sagu 02	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	99%	100%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,71%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	99%	99,71%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,43%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	99%	99,43%
3	Sagu 03	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
4	Sagu 04	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
6	Sagu 06	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
7	Sagu 07	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
8	Sagu 08	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%

Lanjutan Tabel 4

No	Sampel ID	Hasil BLAST			
		Spesies	Accession number	Query coverage	Identity
9	Sagu 9	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
10	Sagu 10	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
11	Sagu 11	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
12	Sagu 12	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	99%	100%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,71%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	99%	99,71%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,43%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,43%
13	Sagu 13	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
14	Sagu 14	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	100%	99,86%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,72%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,57%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,57%
	Sagu 15	<i>Metroxylon warburgii</i>	KT312926.1	99%	100%
		<i>Metroxylon salomonense</i>	AM114548.1	100%	99,71%
		<i>Salacca ramosiana</i>	KT312921.1	99%	99,71%
		<i>Pigafetta elata</i>	KT312923.1	100%	99,43%
		<i>Pigafetta elata</i>	AM114549.1	100%	99,43%

Berdasarkan hasil blast pada penelitian ini menunjukkan bahwa 15 sampel yang diuji dibandingkan dengan spesies tanaman lainnya di GenBank, berdasarkan *Accession number*, *Query coverage*, dan *Identity*nya dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok. Kelompok 1 terdiri dari sampel sagu 01, 02, 08, 12, 15 dan kelompok 2 terdiri dari sampel sagu 03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13, 14. Keragaman genetik tanaman sagu berdasarkan market gen *matK* juga membagi aksesori menjadi dua bagian genotype (Abbas et al 2020).

Nugraha *et al.*, (2014) menyatakan bahwa nilai *Query coverage* menunjukkan persentase sampel yang terpakai di dalam analisis BLAST. Menurut Daniels *et al.*, (2013), urutan nukleotida dikatakan identik apabila memiliki nilai minimal *Query coverage* sebesar 40%. Pada penelitian ini nilai *Query coverage* pada masing-masing kelompok, yaitu kelompok 1 dibandingkan dengan *Metroxylon warburgii* dan *Salacca ramosiana* adalah sebesar 99%. Pada spesies *Metroxylon salomonense* dan *Pigafetta elata* memiliki *Query coverage*

sebesar 100%. Untuk kelompok 2 jika dibandingkan dengan spesies *palmae* memiliki nilai *Query coverage* sebesar 100%. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa urutan nukleotida dari masing-masing sampel identik dengan spesies *palmae* yang telah disebutkan sebelumnya.

Identity merupakan nilai tertinggi dari persentase identitas atau kecocokan antara urutan nukleotida *Query* dengan urutan nukleotida database yang disejajarkan (Altschul *et al.*, 1990). Semakin tinggi nilai *Identity* maka semakin cocok urutan nukleotida sampel dengan urutan nukleotida database. Pada penelitian ini masing-masing sampel memiliki nilai *identity* yang sangat tinggi, yaitu 99,43% sampai 100%. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa urutan nukleotida sampel cocok dengan urutan nukleotida database. *Accession number* merupakan nomor akses atau penomoran khusus bagi tiap record (Nugraha *et al.*, 2014). *Accession number* dalam penelitian ini adalah nomor akses dari spesies *palmae* lain yang diambil dari GenBank.

Karakter Fragmen DNA Sagu Berdasarkan Marker Gen *mat-K*

Komposisi nukleotida

Menurut Sambrook dan Russell (2001), peruntukan DNA dapat membantu dalam hal merunut nukleotida yang ada, berbeda, ataupun bermutasi. Keragaman genetik dapat muncul karena adanya mutasi, aliran gen, migrasi, dan proses seleksi.

Berdasarkan komposisinya nukleotida (T/U) pada semua individu memiliki persentase yang berbeda-beda, yaitu pada sampel sagu 01, 02, 08, 12 dan 15 memiliki persentase sebesar 36,1%, sedangkan pada sampel sagu 03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13 dan 14 memiliki persentase sebesar 36,4%. Komposisi

nukleotida sitosin (C) pada semua sampel sagu memiliki persentase yang sama, yaitu sebesar 17,0%. Komposisi nukleotida adenin (A) paling banyak pada sampel sagu 03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13 dan 14 yaitu sebesar 30,6% dan pada sampel sagu 01, 02, 08, 12 dan 15 sebesar 30,4%. Komposisi nukleotida guanin (G) pada setiap sampel memiliki nilai persentase yang sama, yaitu sebesar 16,3%.

Jika keseluruhan sampel ditambah dengan data *palmae* lainnya, rata-rata komposisi nukleotida (T/U) sebesar 36,3%, sitosin (C) sebesar 17,0%, adenin (A) sebesar 30,4%, dan guanin (G) sebesar 16,3%, sehingga total rata-rata komposisi nukleotida penyusun sebesar 100% dengan jumlah basa berkisar 700 bp sampai 701 bp. Terlihat bahwa komposisi nukleotidanya tidak memiliki selisih komposisi yang jauh. Menurut situs Open Course Ware (2009) jumlah adenin dengan timin selalu sama dalam DNA suatu organisme, demikian juga terjadi pada jumlah guanin dan sitosin. Komposisi nukleotida dari hasil sekuen setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 5.

Polimorfisme DNA

Hasil analisis polimorfisme tanaman sagu dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok 1 dan kelompok 2 (Tabel 6). Kelompok 1 terdiri dari sampel sagu 01, 02, 08, 12 dan 15, sedangkan kelompok 2 terdiri dari sampel 03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13 dan 14. Kelompok tersebut hanya ada satu perbedaan nukleotida, yaitu nukleotida Adenin (A) pada kelompok 1 dan nukleotida Timin (T) pada kelompok 2 dengan posisi urutan yang sama yaitu pada urutan ke-4. Kesamaan urutan nukleotida dari kedua kelompok tersebut adalah 99,9%. Mengikuti pola penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Lawodi *et al.*, (2013) mendapatkan bahwa primer MatK-1RKIM-f dan MatK-3FKIM-r

berhasil digunakan untuk memperkuat gen mat-K dari tomat lokal Sulawesi (*L. esculentum*). Hanya ada satu perbedaan nukleotida antara tomat dengan tomat kecil atau tomat cherry dan kesamaan urutan keduanya jenis tomat ini adalah 99,9% bila dibandingkan dengan data base GenBank. Perbedaan urutan itu sama tingginya dengan 3 nukleotida dengan urutan yang sama dalam beberapa spesies *L. esculentum* yaitu 99,64%.

Data yang diperoleh yang dibandingkan dengan data base GenBank, maka kelompok 1 dengan nukleotida adenin (A) pada posisi 4 berbeda dengan *Metroxylon warburgii* (kode akses KT312926.1) pada

nukleotida *Cytosine*. Urutan 548 dengan nukleotida *Cytosine* berbeda dengan data base Genbank *Metroxylon salomonense* (kode akses AM114548.1) pada nukleotida Timin. Hal ini berarti bahwa hanya ada satu urutan nukleotida yang berbeda, sehingga memiliki kesamaan sebesar 99,9%. Kelompok 1 pada posisi 4, 9, 188, dan 549 berbeda dengan data base *Pigafetta elata* dengan kode akses KT312923.1 pada nukleotida adenin dan timin. Posisi nukleotida 4, 337, dan 549 yang membedakan dengan data base *Salacca ramosiana* (kode akses KT312921.1) pada nukleotida cytosin dan timin. Pada posisi 4, 9, 188, dan 549 terdapat perbedaan dengan data base *Pigafetta elata* (kode akses AM114549.1) pada nukleotida Timin dan Adenin.

Tabel 4. Komposisi nukleotida pada 15 sampel tanaman sagu yang diuji

ID Sampel	Komposisi Nukleotida (%)					Jumlah basa
	T(U)	C	A	G	Total	
Sagu 01	36.1	17.0	30.6	16.3	100	700.0
Sagu 02	36.1	17.0	30.6	16.3	100	700.0
Sagu 03	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 04	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 05	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 06	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 07	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 08	36.1	17.0	30.6	16.3	100	700.0
Sagu 09	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 10	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 11	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 12	36.1	17.0	30.6	16.3	100	700.0
Sagu 13	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 14	36.4	17.0	30.4	16.3	100	701.0
Sagu 15	36.1	17.0	30.6	16.3	100	700.0
KT312926.1 <i>Metroxylon warburgii</i>	36.2	17.1	30.4	16.3	100	701.0
AM114548.1 <i>Metroxylon salomonense</i>	36.4	16.8	30.5	16.3	100	701.0
KT312923.1 <i>Pigafetta elata</i>	36.4	17.0	30.5	16.1	100	701.0
KT312921.1 <i>Salacca ramosiana</i>	36.5	17.0	30.2	16.3	100	701.0
AM114549.1 <i>Pigafetta elata</i>	36.4	17.0	30.5	16.1	100	701.0
Rata-rata	36.3	17.0	30.4	16.3	100	700.8

Tabel 5. Hasil polimorfisme tanaman sagu

ID Sampel	Untaian DNA					
	4	9	188	337	548	549
Sagu 01	A	T	G	C	C	A
Sagu 02	.	.	.	.	.	.
Sagu 03	T	.	.	.	.	.
Sagu 04	T	.	.	.	.	.
Sagu 05	T	.	.	.	.	.
Sagu 06	T	.	.	.	.	.
Sagu 07	T	.	.	.	.	.
Sagu 08	.	.	.	.	.	.
Sagu 09	T	.	.	.	.	.
Sagu 10	T	.	.	.	.	.
Sagu 11	T	.	.	.	.	.
Sagu 12	.	.	.	.	.	.
Sagu 13	T	.	.	.	.	.
Sagu 14	T	.	.	.	.	.
Sagu 15	.	.	.	.	.	.
KT312926.1 <i>Metroxylon warburgii</i>	C	.	.	.	.	.
AM114548.1 <i>Metroxylon salomonense</i>	.	.	.	.	T	.
KT312923.1 <i>Pigafetta elata</i>	T	A	A	.	.	T
KT312921.1 <i>Salacca ramosiana</i>	C	.	.	T	.	T
AM114549.1 <i>Pigafetta elata</i>	T	A	A	.	.	T

Kelompok 2 jika dibandingkan dengan data base GenBank *Metroxylon warburgii* dengan kode akses KT312926.1 memiliki perbedaan pada posisi 4 untuk nukleotida Timin dan Cytocine. Pada urutan 548 kelompok 2 dengan nukleotida cytosin berbeda dengan data base *Metroxylon salomonense* (kode akses AM114548.1) yang memiliki nukleotida Timin. Pada untai 9, 188, dan 549 memiliki perbedaan pada nukleotida adenin dan timin apabila dibandingkan dengan data base *Pigafetta elata* dengan kode akses KT312923.1. Jika dibandingkan dengan *Salacca ramosiana* dengan kode akses AM114548.1, perbedaan terdapat pada untai 4, 337, dan 549 pada nukleotida Cytosin dan Timin. Pada data base *Pigafetta elata* dengan kode akses

AM114549.1 memiliki perbedaan dengan untai 9, 188 dan 549 pada nukleotida Adenin dan Timin.

Haplotipe

Berdasarkan hasil polimorfisme 15 akses sagu dikelompokkan menjadi dua haplotipe yaitu haplotipe tipe 1 dan haplotipe tipe 2. Haplotipe 1 terdiri sampel sagu 01, 02, 08, 12, dan 15, sedangkan haplotipe 2 terdiri dari sampel 03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13, dan 14 (Tabel 5). Tipe haplotipe 1 memiliki ciri khas pada urutan basa nukleotida yaitu Adenin (A) pada posisi nukleotida urutan ke 4, sedangkan tipe haplotipe 2 memiliki ciri khas pada urutan basa nukleotida yaitu Timin (T) pada posisi nukleotida ke 6.

Polimorfisme haplotipe 1 dan haplotipe 2 berbeda dengan haplotipe referensi dari data GenBank. Perbedaan dapat terlihat pada nukleotida-nukleotida penyusunnya. Keragaman haplotipe dapat menunjukkan tingkat keragaman genetik. Haplotipe yang semakin beragam menandakan tingkat keragaman genetik semakin tinggi. Pada penelitian ini 15 aksesori sagu hanya mendapatkan dua haplotipe berarti tidak menunjukkan adanya keragaman genetik yang tinggi, namun apabila dibandingkan dengan data base GenBank maka memiliki tingkat keragaman yang cukup tinggi.

Urutan asam amino

Urutan asam amino dari 15 sampel sagu, hanya diambil perwakilan sampel dari setiap haplotipe untuk analisis urutan asam amino. Haplotipe 1 diwakilkan oleh sampel sagu 01 dan haplotipe 2 diwakilkan oleh sampel sagu 03. Analisis urutan asam amino menggunakan aplikasi MEGA 5.2 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) (Tamura *et al.*, 2011)

menghasilkan panjang 701 bp nukleotida yang terdiri dari 233 asam amino. Analisis berdasarkan *variable sites* hanya terdapat 1 asam amino yang berbeda seperti pada Tabel 7.

Pada Tabel 7 terlihat bahwa dari 233 asam amino hanya ditemukan satu asam amino yang berbeda di antara individu, yaitu pada sampel sagu 01 mengalami delesi asam amino urutan ke 2, yaitu Phenylalanine (F). Sampel sagu 03 memiliki asam amino Phenylalanine (F). Perbedaan ini dikarenakan adanya delesi pada nukleotida nomor 5 yang berada dalam kelompok haplotipe 1.

Komposisi asam amino

Komposisi asam amino diwakilkan oleh 2 sampel tanaman sagu, yaitu sampel sagu 01 yang mewakili haplotipe 1 dan sampel sagu 03 yang mewakili haplotipe 2. Komposisi asam amino berdasarkan analisis menggunakan aplikasi MEGA 5.2 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) (Tamura *et al.*, 2011) mendapatkan hasil seperti pada Tabel 8.

Tabel 7. Urutan asam amino sampel sagu yang diuji berdasarkan market *Mat-K* gen

No	ID Sampel	Urutan Asam amino
1	Sagu 01 (Haplotipe 1)	F?FFFEKENKRLFRFLYNSYVSECEFLVFLRKQSSYLRLTS SGAFLERTHFYKGIEHLIVVRHNYFQRTLWSFKDPFMHYVRY QGKAILVSKGAHLLMKKWKCHLVNFWQYHFFHWSQPYRIHID QLSNCSFYFLGYLSSVLINLSTVRNQMLENSFLMDTVTKKFD TRVPVIPLIESLSKAKFCTVSGHPISKPIWTDLSDCDIIDRF GRICRNLSHYHSGSSKKQSLYRI
2	Sagu 03 (Haplotipe 1)	FFFFFEKENKRLFRFLYNSYVSECEFLVFLRKQSSYLRLTS SGAFLERTHFYKGIEHLIVVRHNYFQRTLWSFKDPFMHYVRY QGKAILVSKGAHLLMKKWKCHLVNFWQYHFFHWSQPYRIHID QLSNCSFYFLGYLSSVLINLSTVRNQMLENSFLMDTVTKKFD TRVPVIPLIESLSKAKFCTVSGHPISKPIWTDLSDCDIIDRF GRICRNLSHYHSGSSKKQSLYRI

Tabel 8. Komposisi asam amino sampel sagu yang dianalisis berdasarkan marker mat-K gen

Asam amino	ID sampel	
	Sagu 01	Sagu 03
Ala (A)	1.7	1.7
Cys (C)	2.6	2.6
Asp (D)	3.4	3.4
Glu (E)	3.4	3.4
Phe (F)	9.5	9.9
Gly (G)	3.4	3.4
His (H)	5.2	5.2
Ile (I)	6.0	6.0
Lys (K)	7.3	7.3
Leu (L)	10.8	10.7
Met (M)	1.7	1.7
Asn (N)	3.9	3.9
Pro (P)	2.6	2.6
Gln (Q)	3.4	3.4
Arg (R)	6.5	6.4
Ser (S)	10.8	10.7
Thr (T)	3.9	3.9
Val (V)	6.0	6.0
Trp (W)	2.2	2.1
Tyr (Y)	5.6	5.6

Komposisi asam amino dari sampel sagu 01 dan sampel sagu 03 memiliki beberapa perbedaan pada asam amino penyusunnya. Contoh pada asam amino Phenylalanine (Phe), komposisinya memiliki rentang perbedaan yang cukup jauh dibandingkan komposisi asam amino lainnya yaitu 9,5% untuk sampel sagu 01, sampel sagu 03 memiliki asam amino yang lebih tinggi yaitu sebesar 9,9%. 20 asam amino tanaman sagu memiliki komposisi tertinggi sebesar 10,8% pada asam amino Leucine (Leu) untuk sampel sagu 01 dan sagu 03 sebesar 10,7%, sama halnya pada asam amino Serine (Ser). Komposisi yang paling rendah sebesar 1,7% pada asam amino Alanine dan Methionine untuk sampel sagu 01 dan sagu 03.

Filogenetik Tanaman Sagu dan Famili Palmae Lainnya

Menurut Saitou dan Imanishi (1989), konstruksi pohon filogenetika adalah hal yang terpenting dan menarik dalam studi evolusi. Beberapa metode dapat digunakan untuk mengkonstruksi pohon filogenetika dari data molekuler (nukleotida atau asam amino), salah satunya adalah metode UPGMA. Diagram filogenetik dikonstruksi menggunakan metode UPGMA model kimura-2 dan analisis *Bootstrap* 1000 replikasi disajikan pada Gambar 8. Nilai *bootstrap* sebanyak 100 sampai 1000 ulangan digunakan untuk memperkirakan tingkat kepercayaan sebuah pohon filogenetik (Hall, 2001). Semakin besar nilai *bootstrap* yang digunakan maka semakin tinggi kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi yang didasarkan atas distribusi karakter dalam data akibat pengaruh efek acak (Ubaidillah dan Sutrisno 2009).

Pohon filogenetik menggambarkan bahwa semua sampel terbagi menjadi dua kelompok besar. Sampel sagu 03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13 dan 14 berada pada satu kelompok yang sama yang didukung dengan nilai *bootstrap* 61, sedangkan sampel sagu 01, 02, 08, 12 dan 15 dengan nilai *bootstrap* 44. Seluruh sampel dalam penelitian ini juga berada dalam satu kelompok besar dengan sequens *Metroxylon warbugii* yang berasal dari GenBank (kode akses KT312926.1). Pengelompokan ini didukung dengan nilai *bootstrap* 37.

Gambar 5. Diagram filogenetik tanaman sagu berdasarkan marker gen *mat-K*

Jarak genetik

Tabel matriks jarak genetik aksesi sagu dan palmae lain ditampilkan pada Tabel 9. Pengelompokan sampel sagu terdiri dari haplotipe 1 (01, 02, 08, 12, dan 15) dan haplotipe 2 (03, 04, 05, 06, 07, 09, 10, 11, 13, dan 14). Haplotipe 1 dan haplotipe 2 memiliki jarak genetik 0,001 (Tabel 9) yang artinya hubungan kekerabatan kedua haplotipe ini sangat dekat. Menurut Tallei et al., (2016), semakin sedikit nilai jarak genetik antara dua organisme, semakin dekat pula hubungan kekerabatan keduanya.

Jarak genetik antara KT312926.1 *Metroxylon warburgii* dan AM114548.1 *Metroxylon salomonense* dengan haplotipe 1 adalah 0.001, sedangkan haplotipe 2 jika dibandingkan dengan KT312926.1 *Metroxylon warburgii* memiliki jarak genetik 0.003. Jarak genetik antara KT312923.1 *Pigafetta elata* dan AM114549.1 *Pigafetta elata* dengan haplotipe 1 adalah 0.006, sedangkan dengan KT312921.1 *Salacca ramosiana*

memiliki jarak genetik 0.004. Haplotipe 2 jika dibandingkan dengan KT312926.1 *Metroxylon warburgii* memiliki jarak genetik 0.001 dan AM114548.1 *Metroxylon salomonense* memiliki jarak genetik 0.003. Jika dibandingkan dengan KT312923.1 *Pigafetta elata*, KT312921.1 *Salacca ramosiana* dan AM114549.1 *Pigafetta elata*, maka jarak genetiknya adalah 0.004. Famili palmae yang paling dekat dengan tanaman sagu adalah *M. warburgii*. Penelitian sebelumnya juga mengungkapkan bahwa *M. sagu* berkerabat dekat dengan *M. warburgii* (Abbas et al. 2020)

Individu-individu yang memiliki nilai jarak genetik rendah mengindikasikan bahwa individu-individu tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang semakin dekat, sedangkan bila jarak genetiknya tinggi maka individu-individu tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang jauh (Somura et al. 2013).

Tabel 9. Matriks jarak genetik tanaman sagu berdasarkan marker gen *mat-K*

No	ID Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	Sagu 01																				
2	Sagu 02	0.000																			
3	Sagu 03	0.001	0.001																		
4	Sagu 04	0.001	0.001	0.000																	
5	Sagu 05	0.001	0.001	0.000	0.000																
6	Sagu 06	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000															
7	Sagu 07	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000														
8	Sagu 08	0.000	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001													
9	Sagu 09	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001												
10	Sagu 10	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000											
11	Sagu 11	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000										
12	Sagu 12	0.000	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001									
13	Sagu 13	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001								
14	Sagu 14	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000							
15	Sagu 15	0.000	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.001						
16	KT312926.1_Metroxylon_warburgii	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001					
17	AM114548.1_Metroxylon_salomonense	0.001	0.001	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.001	0.003	0.003	0.003	0.001	0.003	0.003	0.001	0.003				
18	KT312923.1_Pigafetta_elata	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.004	0.004	0.004	0.006	0.004	0.004	0.006	0.006	0.007			
19	KT312921.1_Salacca_amosiana	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.003	0.006	0.006		
20	AM114549.1_Pigafetta_elata	0.006	0.006	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.004	0.004	0.004	0.006	0.004	0.004	0.006	0.006	0.007	0.000	0.006	

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut (1) akses tanaman sago yang telah di koleksi oleh Konsorsium Riset sago UNIPA secara morfologi berbeda pada fase Russet, (2) berdasarkan penanda molekuler maturase K (mat-K) 15 akses sago yang dianalisis terbagi menjadi dua haplotipe, yaitu haplotipe 1 yang mengalami delesi pada basa nomor 5 (asam amino phenylalanine) dan haplotipe 2 yang tidak mengalami delesi sehingga memiliki asam amino phenylalanine, dan (3) Konstruksi filogenetik menunjukkan bahwa 15 akses sago terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok 1 dan kelompok 2. Kerabat yang paling dekat *M. sago* adalah *M. warburgii* dengan jarak genetik 0.001.

UAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek Penelitian Riset Pengembangan yang berjudul “Transformasi invensi berbasis sago menjadi inovasi yang berorientasi entrepreneurship dalam rangka akselerasi daya saing dan kemandirian Bangsa dibidang pangan” dengan kontrak No. 198/SP2H/AMD/LT/DRPM/2020. Kepada Tim Peneliti dengan Ketua Prof. Dr. Ir. Barahima Abbas, M.Si dan Pengelola Riset Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi diucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas B, Bintoro MH, Sudarsono, Surahman M, Ehara H. 2009. Genetic relationship of sago palm (*Metroxylon sago* Rottb.) in Indonesia based on RAPD markers. *Biodiversitas* 10 (4): 168-174. DOI: 10.13057/biodiv/d100402

Abbas B, Renwarin Y, Bintoro MH, Sudarsono, Surahman M, Ehara H. 2010. Genetic Diversity of Sago Palm in Indonesia Based on

Chloroplast DNA (CpDNA) Markers. *Biodiversitas* 11 (3): 112-17. DOI: 10.13057/biodiv/d110302.

Abbas B, Tjolli I, Dailami M, Munarti. 2019. Phylogenetic of sago palm (*Metroxylon sago*) and others monocotyledon based on mitochondrial Nad2 gene markers. *Biodiversitas* 20 (8): 2249-2256. DOI: 10.13057/biodiv/d200820.

Abbas, B dan H. Ehara. 2012. Assessment genetic variation and relationship of sago palm (*Metroxylon sago* Rottb.) in Indonesia based on specific expression gene (Wx genes) markers. *African Journal of Plant Science*. 6(12):314-320

Abbas B. 2018. Sago palm genetic resource diversity in Indonesia. In: Ehara H, Toyoda Y, Johnson D (eds.). *Sago Palm: Multiple Contributions to Food Security and Sustainable Livelihoods*. Springer, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-10-5269-95.

Abbas B, Kabes RJ, Mawikere NL, Ruimassa RMR, Maturbong RA. 2020. DNA barcode of *Metroxylon sago* and other palm species using matK gene. *Biodiversitas* 21: 4047-4057

Abbas B, Tjolli I, Munarti. 2020. Genetic diversity of sago palm (*Metroxylon sago*) accessions based on plastid cpDNA matK gene as DNA barcoding. *Biodiversitas* 21: 219-225.

Altschul, S. F., W. Gish., W. Miller., E. W. Myers. 1990. Basic local alignment search tool. *Molecular Biology*. 215(3):403-10.

Barthet, M. M and K. W. Hilu. 2007. Expression of matK: functional and evolutionary implications. *American Journal of Botany*. 94(8): 1402-1412.

Budianto, J. 2003. Kebijakan penelitian sago di Indonesia. Makalah Utama dalam seminar Sago Untuk

- Ketahanan Pangan. Prosiding Seminar Nasional Sagu, Manado, 6 Oktober 2003. Puslitbang Perkebunan, Bogor.
- Chase, M. W., R. S. Cowan, P. M. Hollingsworth, C. Van Den Berg, S. Madrin'an, G. Petersen, O. Seberg, T. Jorsensen, K. M. Cameron, M. Carine, N. Pedersen, T. A. J. Hedderston, F. Conrad, G. A. Salazar, J. E. Richardson, M. L. Hollingsworth, T. G. Barraclough, L. Kelly, and M. Wilkinson. 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxon* 56: 295–299.
- Daniels N. M., A. Gallant, J. Peng, L. J. Cowen, M. Baym, and B. Berger. 2013. Compressive genomics for protein databases. *Bioinformatics*. 29:1283-1290.
- Elviana 2010. Keragaman genetik kloroplas (cpDNA) bangkirai (*Shorea laevis* Ridl.) di Kalimantan berdasarkan penanda PCR-RFLP dan sekuens sebagian wilayah trnL-f [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Flach, M. 1983. The Sago Palm Domestication Exploitation and Product. FAQ Plant Production and Protection Paper. Roma.
- Hall, B. G. 2001. *Phylogenetic Trees Made Easy: A How - To Manual for Molecular Biologists*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA
- Harsanto, P. B. 1986. *Budidaya dan Pengelolaan Sagu*. Kanisius. Yogyakarta.
- Hollingsworth, P. M., S. W. Graham, and D. P. Little. 2011. Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLoS ONE*. 6(5):1-13.
- Kress, W. J and D. L. Erickson. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the noncoding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE* 2: e508. doi: 10.1371/journal.pone.0000508.
- Kress, W. J and D. L. Erickson. 2008. DNA Barcoding a Windfall for Tropical Biology? *Biotropica*, 40(4): 405–408 DOI: 10.1111/j.1744-7429. 2008.00426.x
- Kress, W. J., K. J. Wurdack, E. A. Zimmer, L. A. Weigt, and D. H. Janzen. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102: 8369–8374.
- Kuzmina, M. L, K. L. Johnson, H. R. Barron, and P. D. N. Herbert. 2012. Identification of vascular plants of Churchill, Manitoba, using a DNA barcode library. *BMC Ecology* 12:1-11. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6785-12-2>
- Lahaye, R., M. Van Der Bank, D. Bogarin, J. Warner, F. Pupulin, G. Gigot, O. Maurin, S. Duthoit, T. G. Barraclough, and V. Savolainen. 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0709936105 Diakses 18 Maret 2019
- Lawodi, E. N, T. E. Tallei, F. R. Mantiri, and B. J. Kolondam. 2013. Variasi genetik tanaman tomat dari beberapa tempat di Sulawesi berdasarkan gen *matK*. *Pharmakon* 2:114-121
- Nugraha F, D. I. Roslim, Y. P Ardilla, and Herman. 2014. Analysis of partial gene sequence *Ferritin2* on Rice Plants (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir, Riau. *Biosaintifika*. 6(2):70-79.
- Open Course Ware. 2009. Asam nukleat (nucleic acid) [terhubung berkala]

- http://ocw.usu.ac.id/.../bbc115_slid_e_asam_nukleat_atau_nucleic_acid.pdf [07 Mei 2019].
- Riyanto, R., I. Widodo., B. Abbas. 2018. Morphology, Growth and genetic variations of sago palm (*Metroxylon sagu*) seedlings derived from seeds. *Biodiversitas*. 19(2):682-688.
- Saitou, N and T. Imanishi. 1989. Relative efficiencies of the fitch-margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Molecular Biology and Evolution*. 6(5).
- Sambrook. J., D. W. Russell. 2001. *Molecular cloning a laboratory manual*. Planview, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Somura, H., H. Hori, and Y. Manome. 2013. *Nycticebus bengalensis* mitochondrion, complete genome. <https://www.ebi.ac.uk/ena/dataview/KC977312>.
- Taberlet, P., E. Coissac., F. Pompanon., L. Gielly., C. Miquel., A. Valentini., T. Vermat., G. Corthier., C. Brochmann, and E. Willerslev. 2007. Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*. 35(3):e14.
- Tallei, T. E., R. E. Rembet, J. J. Pelealu, and B. J. Kolondam. 2016. Sequence Variation and Phylogenetic Analysis of *Sansevieria trifasciata* (Asparagaceae). *Bioscience Research* 13(1): 01-07.
- Tamura K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, and S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731-2739.
- Tarigan, D. D. 2001. Sagu memantapkan swasembada pangan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 23 (5), 1-3.
- Tenda E. T, H. Novianto, and J. Limbongan. 2006. Biodiversity of sago palm in Indonesia and conservation strategy. *Proceeding of the eight International sago palm symposium*. Pp. 239.
- Ubaidillah, R dan H. Sutrisno. 2009. *Pengantar Biosistemik: Teori dan Praktikum*. LIPI Press, Jakarta
- Xiong, J. 2006. *Essential Bioinformatics*. Cambridge (GB): Cambridge University Pr.