

Keragaman Genetik Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.) Berdasarkan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Genetic Diversity of Chinese Betel (*Peperomia pellucida* L.) based on the Marker RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Nandariyah^{1*}, Hardian Ningsih², Annisa Nur Fadhillah¹, Parjanto¹, Edi Paryanto²

¹Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Central Java, Indonesia

²Department of Agribusiness, Vocation School, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Central Java, Indonesia

*Corresponding author. nandariyah@staff.uns.ac.id

ABSTRACT

Chinese betel is a plant widely found in Indonesia, especially in the ex-Karasidenan area of Surakarta. The existence of growing Chinese betel can be found at various altitudes with humid growing conditions with low sun intensity. People in Surakarta believe that Chinese betel can be used as a traditional medicine. Chinese betel nut is suspected to contain a minerals and bioactive substances that are beneficial to health. Currently, there are few references to Chinese betel, especially related to genetic diversity. This study aims to study the diversity of Chinese betel band patterns based on RAPD markers using OPA-3, OPA-4, OPA-11, OPC-05, and OPD-4 primers. This research was carried out at the Plant Breeding Laboratory, Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University, Yogyakarta in July - November 2023 using Chinese betel leaf DNA taken from various places in the ex-karasidenan area of Surakarta. The results of the data analyzed by NTSYSpc version 2.02 with the SimQual (Similarity for Qualitative Data) function using the UPGMA (Unweighted Pair Group with Arithmetic Averaging) method based on the Jaccard similarity index value. The amplification results showed 30 bands with 13 polymorphic bands and 17 monomorphic bands. The level of polymorphism among Chinese betel samples in the five RAPD primers used presented 44.36% of the total 13 polymorphic bands. Jaccard's genetic similarity matrix data ranged from 0.667 – 0.964. The results of the dendrogram show that the sample is divided into two clusters with a diversity index of 0.28.

Keywords: Genetic diversity; Jaccard; Molecular Marker; Piperaceae; Polymorphism

Cite this as: Nandariyah., Ningsih, H., Fadhillah, A. N., Parjanto., & Paryanto, E. 2024. Keragaman Genetik Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.) Berdasarkan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi*, 26(1), 31-37. DOI: <http://dx.doi.org/10.20961/agsjpa.v26i1.92694>

PENDAHULUAN

Sirih cina merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Selatan, tetapi pada umumnya sering ditemukan di Asia Tenggara, seperti di Indonesia. Sirih cina umumnya tumbuh di liar di tempat-tempat yang lembab seperti di bebatuan, di tepi saluran air atau pematang, maupun di pekarangan rumah. Tanaman ini memiliki rasa pedas dan bersifat sejuk. Sirih cina secara morfologi tidak memiliki kesamaan dengan sirih merah maupun sirih hijau. Sirih pada umumnya merupakan tanaman merambat dengan tinggi 0,5-8 meter dengan bentuk batang bulat, bersulur, serta memiliki akar udara (Yuliana, 2023). Sirih cina memiliki bau yang kuat seperti sirih merah dan sirih hijau. Berdasarkan morfologi Sirih cina memiliki bentuk daun yang unik yaitu berbentuk seperti hati dan runcing dengan tangkai daun yang pendek (Htun et al. 2020). Daun sirih cina termasuk daun tunggal dengan kedudukan spiral dengan panjang 1-4 cm dan lebar 1-2 cm. Batangnya sukulen dan berwarna hijau muda (Wahua dan Mandah, 2020). Tumbuhan ini memiliki bunga majemuk berbentuk bulir dengan Panjang 1-6 cm yang terletak di ujung batang atau di axilla daun. Bulirnya berbentuk bulat dan berukuran sangat kecil dengan diameter kurang dari 1 mm yang

tersusun seperti buah lada, serta berwarna hijau ketika mentah dan coklat saat sudah matang (Andriani et al. 2022).

Sirih cina dapat digunakan sebagai makanan, penyedap rasa maupun obat (Marlina et al. 2023). Sirih cina umumnya dimanfaatkan masyarakat sebagai sayuran, obat herbal, rempah-rempah, maupun sebagai tanaman hias. pemanfaatan sirih cina sebagai obat herbal dikarenakan didalamnya banyak mengandung zat-zat yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Kandungan yang terdapat dalam sirih cina, yaitu zat bioaktif tanin, flavonoid, glikosida, alkaloid, saponin, terpen, fenol, fitosterol, steroid, dan resin. Daun sirih memiliki aroma yang khas karena mengandung minyak atsiri 1-4,2%, air, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B, vitamin C, yodium, gula dan pati. terdapat fenol alam (senyawa alami) yang mempunyai daya fungisida yang sangat kuat tetapi tidak sporosid (Partati dan Windono 2016). Sirih cina dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Imansyah dan Hamdayani, 2022). Selain itu, ada juga yang mengklaim bahwa tanaman sirih cina juga dapat dimanfaatkan dalam kosmetik (Kanedi, 2022).

Melihat banyaknya potensi sirih cina, pengembangan dan budidaya sirih cina sangat penting untuk dilakukan. Domestikasi sirih cina perlu dilakukan karena tumbuhan ini masih tumbuh liar dan belum dibudidayakan. Upaya domestikasi sirih cina memerlukan informasi genetik yang memadai. Saat ini belum banyak informasi yang menyampaikan mengenai genetik sirih cina. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan untuk mengidentifikasi karakteristik sirih cina secara molekuler. Penanda molekuler digunakan karena dapat memberikan informasi yang akurat dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan serta tidak membutuhkan waktu yang lama (Shirmohammadi et al. 2018).





Penanda molekuler yang digunakan dalam penelitian ini yaitu RAPD. Metode RAPD dirasa lebih tepat karena hanya menggunakan sampel sirih cina dalam jumlah sedikit. Teknik RAPD hanya membutuhkan DNA yang murni dalam jumlah yang sedikit (Elfianis et al. 2021). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keragaman sirih cina menggunakan penanda RAPD. Penggunaan RAPD tidak memerlukan informasi urutan sebelumnya sehingga berguna dalam penelitian spesies yang belum memiliki genom yang sepenuhnya terurutkan atau ketika data genomic tidak tersedia (Patel et al. 2015). Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti mengenai keragaman genetik Sirih cina menggunakan penanda RAPD karena hanya





memerlukan DNA dalam jumlah sedikit untuk mendapatkan informasi mengenai keragaman genetik guna pengembangan dan peningkatan hasil produksi dari *Peperomia pellucida*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juli hingga November 2023 di Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Penelitian dilakukan menggunakan analisis molekuler dengan penanda RAPD. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah DNA dari daun sirih cina yang diambil dari berbagai tempat di karasidenan surakarta. Analisis molekuler menggunakan bahan larutan buffer CTAB (terdiri dari 2% CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris HCl pH 8, 20 mM EDTA pH 8, 2% PVP, 2% β-mercaptoethnol), chloroform, isoamil alkohol (CIAA), bubuk agarose, etanol, aquabides, isopropanol, sodium asetat, *GoTaq Green Master Mix* (promega), *primer IDT-Integrated DNA Technologies, nuclease-free water*, dan *TBE buffer*. Alat yang digunakan selama pengambilan sampel ialah plastik klip, label, *cooler box*, *Ice gel* dan timbangan. Analisis molekuler menggunakan mikropipet, mortar dan alu, alumunium foil, *microcentrifuge*, tabung *ependorf* 1,5 ml, mikropipet, tip, *tissue*, cetakan gel, *microwave*, *submarine electrophoresis system* (mupid), botol semprot alkohol, spatula, *gel documentation*.

Tabel 1. Daftar sampel yang dianalisis dengan marka RAPD

Nama sampel	Kode sampel	Foto
Dataran rendah di Sroyo	R1	
Dataran rendah di Mojosongo	R2	
Dataran rendah di Jebres	R3	
Dataran tengah di Jantiharjo	Te1	

Nama Sampel	Kode Sampel	Foto
Dataran tengah di Dawung	Te2	
Dataran tengah di Tegalgede	Te3	
Dataran tinggi di Ngargoyoso	Ti1	
Dataran tinggi di Ngeblak	Ti2	
Dataran tinggi di Ngasinan	Ti3	

Sampel daun dicuci bersih dan dikeringkan dengan tisu. Sampel digunakan sebanyak 100 mg kemudian digerus menggunakan mortar sampai halus dan ditambahkan 1.500 μ L larutan buffer CTAB (terdiri dari 2% CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris HCl pH 8, 20 mM EDTA pH 8, 2% PVP, 2% β -mercaptoethanol) yang sebelumnya telah diinkubasi pada waterbath pada suhu 65°C selama 30 menit. Inkubasi larutan hasil gerusan pada suhu 65°C selama 60 menit dan dibolak-balik setiap 10 menit agar tetap homogen. Larutan diambil dari *waterbath* dan didiamkan selama 2 menit kemudian setiap sampel ditambahkan 500 μ L campuran 24 chloroform : 1 isoamil alkohol (CIAA) dan divortex selama 5 menit lalu disentrifuse 15 menit pada kecepatan 12.000 rpm

Primer yang digunakan dalam analisis PCR yaitu OPA-04, OPA-11, OPA-03, OPC-05, OPD-04. Reaksi PCR dilakukan pada total volume 12,5 μ L untuk setiap tabung PCR. Setiap reaksi PCR terdiri dari 6,25 μ L GoTaq Green Master Mix (Promega), 1 μ L 10 μ M primer IDT-Integrated DNA Technologies, 2,5 μ L DNA template

dan 2,75 μ L nuclease-free water. Tahap denaturasi awal dilakukan pada suhu 94 °C selama 3 menit, kemudian diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 37 °C selama 1 menit, dan elongasi pada suhu 72 °C selama 1 menit 30 detik. Setelah siklus berulang, diikuti dengan elongasi akhir pada suhu 72 °C selama 8 menit dan inaktivasi pada suhu 12 °C.

DNA yang dihasilkan dari PCR dilakukan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1,5% dan dimasukkan kedalam larutan TBE buffer 1x yang telah ditambahkan floresafe DNA stain sebagai pewarna, dengan tegangan 100 volt dan arus listrik 400 mA selama 70 menit. Visualisasi pita DNA dilakukan dengan menggunakan UV- transilluminator untuk mendapatkan gambar-gambar pita DNA.

Analisis data didasarkan pada ada atau tidaknya pita profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 jika tidak terdapat pita dan nilai 1 jika terdapat pita DNA pada satu posisi yang sama dari individu-individu yang dibandingkan. Hasil data

dianalisis menggunakan NTSYS 2.02 untuk menghasilkan dendrogram (analisis filogenetik). Analisis filogenetik divisualisasikan dalam bentuk dendrogram menggunakan metode *Unweighted Pair*

Group with Arithmetic Averaging (UPGMA) berdasarkan nilai indeks kesamaan Jaccard dengan persamaan:

$$S = A \frac{A}{A+B+C}$$

S : nilai kesamaan genetik

A : Jika keduanya terdapat pita ; (1) dan (1)

B : Jika ada pita dan tidak ada pita ; (1) dan (0)

C : Jika tidak ada pita dan ada pita; (0) dan (1)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA merupakan proses pemurnian DNA dari sampel yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari

komponen sel lain, seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Daun yang digunakan dalam ekstraksi tidak boleh terlalu muda maupun terlalu tua. Menurut Sari dan Restato (2022), penggunaan daun yang terlalu muda dapat menyebabkan hasil kualitas dan kuantitas DNA sangat rendah. Hikmatiyar et al (2015) juga menyatakan bahwa daun yang masih muda lebih mudah untuk dilakukan proses penggerusan dan kemurnian DNA karena memiliki tekstur yang lunak dan mengandung sedikit serat. Indikator keberhasilan proses ekstraksi DNA salah satunya dipengaruhi oleh tingkat kemurnian DNA. DNA dapat dikatakan murni apabila memiliki nilai rasio antara 1,8-2,0. Hasil uji kuantitatif DNA menggunakan spektrofotometri dengan nilai rasio 260/A280 menghasilkan nilai kemurnian DNA lebih dari 2,0 pada 9 sampel yang diuji. Hal tersebut menunjukkan bahwa DNA terkontaminasi oleh RNA.

Tabel 2. Nilai kemurnian dan nilai konsentrasi DNA

Kode Sampel	Nilai Kemurnian (A260/A280)	Nilai Konsentrasi (ng/uL)
Re1	2,173	804
Re2	2,194	621
Re3	2,094	779
Te1	2,140	383
Te2	2,055	674
Te3	2,061	544
Ti1	2,094	754
Ti2	2,128	766
Ti3	2,156	759

Keterangan: R1: Dataran rendah di Sroyo; R2: Dataran rendah di Mojosoongo; R3: Dataran rendah di Jebres; Te1: Dataran tengah di Jantiharjo; Te2: Dataran tengah di Dawung; Te3: Dataran tengah di Tegalgede; Ti1: Dataran tinggi di Ngargoyoso; Ti2: Dataran tinggi di Ngeblak; Ti3: Dataran tinggi di Ngasinan

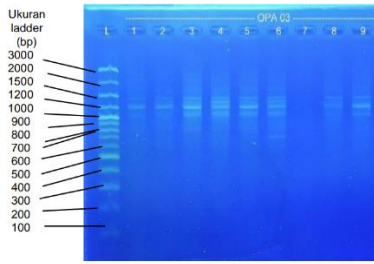
Kualitas dari fragmen DNA yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi DNA. Menurut Harahap (2017), DNA yang memiliki konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan fragmen terlihat tebal sehingga sulit dibedakan antara satu fragmen dengan fragmen lainnya, sedangkan konsentrasi yang terlalu rendah menghasilkan fragmen yang terlalu tipis pada gel serta dapat menyebabkan tidak terlihat secara visual. Nilai konsentrasi yang dihasilkan antara 383-804 (ng/uL). Nilai konsentrasi pada Tabel 1. menunjukkan bahwa nilai terendah ada pada sampel Te2 dengan nilai 383 ng/uL dan nilai konsentrasi tertinggi ada pada Re1 yaitu sebesar 804 ng/uL.

Pemilihan primer yang tepat merupakan salah satu hal yang penting dalam analisis keragaman genetik. Menurut Poerba (2007), pemilihan primer yang tepat dapat menampilkan pita-pita DNA polimorfosis pada sampel yang diuji. Merdekawati dan Nurhayati (2023), mengatakan bahwa primer berfungsi sebagai pembatas dari fragmen DNA sampel yang akan di amplifikasi, sehingga perlu dilakukan pemilihan primer yang tepat agar dapat memperoleh keberhasilan pada saat amplifikasi.

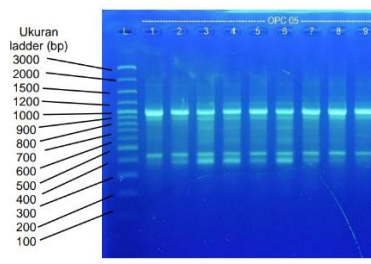
Analisis molekuler PCR RAPD menggunakan lima primer yaitu OPA-03, OPA-04, OPA-11, OPC-05, dan OPD-04. Hasil amplifikasi primer OPA-03 pada Gambar 1. menghasilkan 6 pita polimorfik dengan panjang 700 hingga 1450 bp. Hasil amplifikasi pada Gambar 2.

memperlihatkan primer OPC-05 menghasilkan 1 pita polimorfik dan 4 pita monomorfik dengan panjang 400-1000 bp, dan OPD-04 pada Gambar 3. menghasilkan 2 pita polimorfik dan 2 pita monomorfik dengan panjang 250 hingga 1200 bp. Primer OPA-11 yang terlihat pada Gambar 4. menghasilkan pita terbanyak dengan 3 pita polimorfik dan 5 pita monomorfik dengan panjang 410 hingga 1800 bp. Primer OPA-04 pada Gambar 5. memperlihatkan adanya 1 pita polimorfik dan 6 pita monomorfik dengan panjang 190 hingga 1430 bp. Hasil amplifikasi memperlihatkan bahwa lima primer yang digunakan memiliki pita polimorfik yang lebih sedikit dibandingkan dengan pita monomorfik. Rendahnya pita polimorfik menandakan bahwa sirih cina memiliki tingkat keragaman genetik yang rendah.

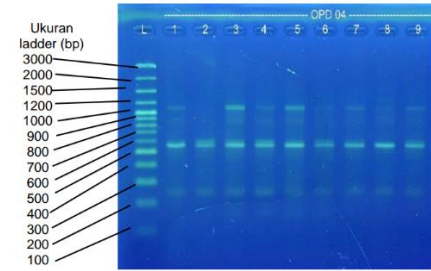
Pita polimorfik merupakan pita yang memiliki ukuran yang berbeda antara dua atau lebih sampel, sedangkan pita monomorfik merupakan pita yang memiliki ukuran yang sama diantara semua sampel yang dianalisis. Hasil amplifikasi memperlihatkan pita DNA memiliki gradasi intensitas dan ketebalan yang berbeda-beda mulai dari yang sangat tebal dan tegas hingga tipis dan buram (gambar 1). Pita DNA yang terlihat tebal dan bersih menandakan kualitas ekstraksi DNA yang baik. Ardiana (2009) menyatakan bahwa ketebalan pita juga dapat menentukan kuantitas DNA yang dilakukan dengan membandingkan DNA contoh dengan pita standar DNA *ladder*.



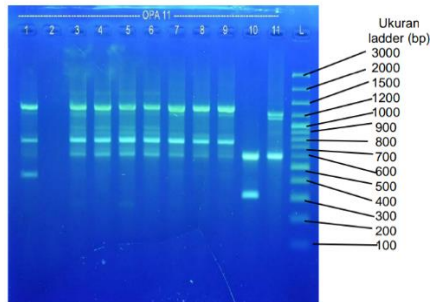
Gambar 1. Hasil Amplifikasi DNA Primer OPA-03



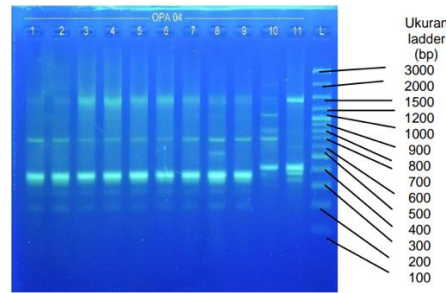
Gambar 2. Hasil Amplifikasi DNA Primer OPC-05



Gambar 3. Hasil Amplifikasi DNA Primer OPD-04



Gambar 4. Hasil Amplifikasi DNA Primer OPA-11



Gambar 5. Hasil Amplifikasi DNA Primer OPA-04

Menurut Wardhana dan Mushih (2021), DNA cetakan diperoleh dari hasil isolasi DNA yang digunakan sebagai cetakan awal dalam proses amplifikasi DNA. Reaksi amplifikasi dipengaruhi oleh kualitas cetakan DNA dan dapat menghambat kerja enzim polimerase yang dapat mempersulit proses amplifikasi. Proses amplifikasi DNA

menghasilkan pita-pita DNA yang sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. Konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil serta kandungan senyawa-senyawa polisakarida dan senyawa fenolik sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau jelas (Langga et al, 2012).

Tabel 3. Persentase polimorfisme 5 primer pada sirih cina dalam reaksi PCR RAPD

Primer	Ukuran (bp)	Jumlah Pita	Pita Polimorfik	Pita Monomorfik	% Polimorfik	% Monomorfik
OPA-04	190-1430	7	1	6	14,3	85,7
OPA-11	410-1800	8	3	5	37,5	62,5
OPA-03	700-1450	6	6	0	100	0
OPC-05	400-1000	5	1	4	20	80
OPD-04	250-1100	4	2	2	50	50
Total		30	13	17	221,8	278,2
Rata-rata		6	2,6	3,4	44,36	55,64

Hasil amplifikasi DNA di beberapa primer tidak terlihat dikarenakan urutan basa primer tidak komplemen dengan urutan basa atau hilangnya potongan pada DNA template, selain itu perlu diperhatikan bahwa visualisasi pita polimorfik tidak selalu jelas (*smear*). Hal ini terjadi bila jumlah salinan fragmen DNA rendah. Jelas tidaknya pita dapat menentukan primer atau lokus yang akan digunakan dalam analisis (Sulistiyawati dan widyatmoko, 2017). Pola pita polimorfik yang dihasilkan oleh setiap primer terlihat pada tabel 2. Jumlah pita yang teramplifikasi untuk setiap primer beragam antara 4 - 7 pita dengan ukuran berkisar 190-1800.

Derajat polimorfisme dapat menentukan keragaman genetik tumbuhan (Nazarzadeh et al. 2020). Tingkat polimorfisme antar sampel sirih cina dengan lima primer RAPD yang digunakan pada Tabel 3. menunjukkan sebesar 44,36% dari 13 total pita polimorfis. Persentase pita polimorfik yang tertinggi terdapat pada primer OPA-03 sebesar 100%, kemudian primer OPD-04 sebesar 50%. Primer lainnya memiliki persentase pita polimorfik yang rendah kurang dari

50% yaitu pada primer OPA-04, OPC-05, dan OPA-11. Rendahnya rata-rata keragaman genetik menandakan tingkat keragaman genetik yang sempit (Sharma et al., 2018). Persentase pita monomorfik menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan pita polimorfik yaitu sebesar 55,64%. Tingginya tingkat monomorfik menandakan bahwa sampel sirih cina di tiga ketinggian tempat memiliki keragaman genetik yang rendah.

Penanda molekuler menjadi cara yang efektif untuk mendapatkan informasi tentang keragaman genetik dan mempelajari struktur populasi. Nilai koefisien kesamaan genetik berkisar antara 0 sampai 1 Mir et al. (2021). Nilai koefisien yang semakin kecil mendekati 0 maka semakin berbeda genetik jenis tanaman. Semakin besar mendekati 1 maka nilai kesamaan semakin tinggi atau hampir mirip. Keragaman genetik sirih cina tergolong rendah, dengan koefisien kesamaan yang cukup tinggi. Berdasarkan data matriks kesamaan genetik Jaccard pada Tabel 3. berkisar antara 0.667 – 0.964. Koefisien kesamaan genetik yang terendah yaitu Ti1 dan Te2 dengan nilai 0.667.

Tabel 4. Matriks Kesamaan Genetik Jaccard pada Sirih cina

	R1	R2	R3	Te1	Te2	Te3	Ti1	Ti2	Ti3
R1	1.000								
R2	0.840	1.000							
R3	0.786	0.852	1.000						
Te1	0.786	0.852	1.000	1.000					
Te2	0.815	0.815	0.963	0.963	1.000				
Te3	0.759	0.821	0.964	0.964	0.929	1.000			
Ti1	0.750	0.750	0.704	0.704	0.667	0.679	1.000		
Ti2	0.880	0.880	0.821	0.821	0.852	0.793	0.720	1.000	
Ti3	0.917	0.917	0.852	0.852	0.815	0.821	0.826	0.880	1.000

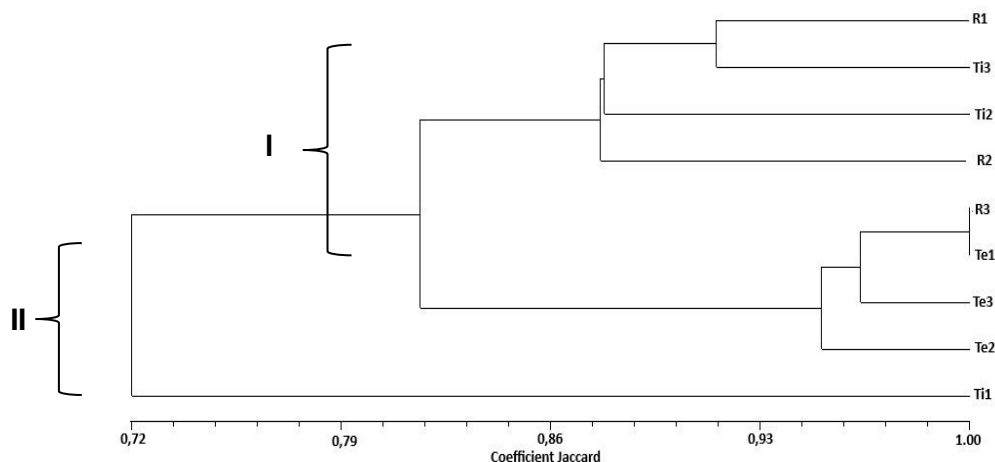
Keterangan: R1: Dataran rendah di Sroyo; R2: Dataran rendah di Mojosongo; R3: Dataran rendah di Jebres; Te1: Dataran tengah di Jantiharjo; Te2: Dataran tengah di Dawung; Te3: Dataran tengah di Tegalgede; Ti1: Dataran tinggi di Ngargoyoso; Ti2: Dataran tinggi di Ngeblak; Ti3: Dataran tinggi di Ngasinan

Koefisien kesamaan genetik tertinggi terdapat pada Te3 dan R3 dengan nilai 0.964. Hasil matriks menunjukkan bahwa sirih cina hanya memiliki keragaman genetik sebesar 0.036 – 0.333. Nilai koefisien sirih cina yang mendekati 1 menunjukkan bahwa sirih cina memiliki genetik yang sama.

Menurut Vyas et al. (2016) marka yang dihasilkan dalam analisis RAPD dapat memberikan informasi praktis untuk pengelolaan sumber daya genetik. Analisis dendogram dilakukan dengan mengelompokkan populasi berdasarkan kedekatan genetik. Hasil dendogram menunjukkan adanya pengelompokan sirih cina menjadi dua kluster. Hasil pengelompokan menunjukkan bahwa setiap kluster maupun subkluster dapat berasal dari berbagai tempat yang berbeda-beda. Hal tersebut berarti sirih cina tidak dipengaruhi oleh ketinggian tempat dan letak geografis. Pembagian kelompok tidak dipengaruhi oleh ketinggian tempat yang dilihat dari beragamnya ketinggian tempat pada setiap

kluster.

Hasil *clustering* 9 sampel sirih cina dapat dilihat bahwa pada kluster pertama terdiri dari R1, Ti3, Ti2, R2, R3, Te1, Te3, dan Te2 merupakan sampel yang berasal dari tiga ketinggian tempat yaitu dataran rendah, dataran tengah, dan dataran tinggi. Pada kluster pertama terbagi kedalam dua sub kluster. Sub kluster pertama terdiri R1, Ti3, Ti2, dan R2 yang berasal dari dua ketinggian tempat yaitu dataran rendah dan dataran tinggi, sedangkan pada sub kluster kedua terdiri dari R3, Te1, Te3, dan Te2 yang berasal dari dataran rendah dan dataran tengah. Kluster kedua hanya terdiri dari satu individu yaitu Ti1 yang berasal dari dataran tinggi. Pada kluster kedua terlihat bahwa sirih cina di Ngargoyoso (Ti1) memiliki perbedaan genetik dengan kedelapan sampel sirih cina yang lain. Perbedaan genetik ini disebabkan oleh faktor lingkungan yang tidak dapat diketahui maupun asal tetua yang berbeda sehingga membutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahuinya.



Keterangan: R1: Dataran rendah di Sroyo; R2: Dataran rendah di Mojosongo; R3: Dataran rendah di Jebres; Te1: Dataran tengah di Jantiharjo; Te2: Dataran tengah di Dawung; Te3: Dataran tengah di Tegalgede; Ti1: Dataran tinggi di Ngargoyoso; Ti2: Dataran tinggi di Ngeblak; Ti3: Dataran tinggi di Ngasinan

Gambar 6. Dendogram Pengelompokan Sirih Cina berdasarkan penanda RAPD dengan koefisien Jaccard

Analisis dendogram digunakan untuk menentukan keragaman genetik diantara spesies yang berbeda (Al-Khayri et al. 2022). Gambar 6. menunjukkan bahwa hasil dendogram memiliki indeks kemiripan sebesar 0,72-1,00 dan indeks keragaman genetik sebesar 0,28. Hal tersebut menunjukkan bahwa sirih cina dari berbagai tempat yang berbeda memiliki keragaman genetik yang rendah. Sirih cina R1 dan Ti3 memiliki kemiripan genetik dengan koefisien 0,91 dan keduanya memiliki kemiripan

genetik dengan koefisien 0,88 terhadap Ti2. Sirih cina R3 dan Te1 memiliki kemiripan genetik yang lebih dekat dengan 1.00 dan keduanya memiliki kemiripan genetik dengan koefisien 0,964 terhadap Te3. Sirih cina R3, Te1, dan Te3 memiliki kemiripan genetik dengan koefisien 0,95 terhadap Te2. Sirih cina Ti1 memiliki kemiripan genetik yang paling jauh dengan kedelapan sampel sirih cina dengan koefisien 0.72 dan memiliki keragaman genetik yang paling tinggi dengan koefisien 0.28.

Koefisien kemiripan genetik yang semakin tinggi menunjukkan tingkat keragaman genetik yang rendah, sedangkan semakin rendah kemiripan genetik maka tingkat keragaman genetik semakin tinggi. Rendahnya tingkat keragaman genetik sirih cina menandakan bahwa sirih cina dari berbagai tempat berdasarkan penanda RAPD memiliki genetik yang sama.

KESIMPULAN

Keragaman genetik sirih cina berdasarkan koefisien Jaccard menunjukkan hasil yang rendah dengan koefisien keragaman genetik berkisar 0.036 - 0.333 dan tingkat kemiripan genetik sebesar 0.667-0.964. Hasil analisis dendrogram menunjukkan keragaman genetik sebesar 0.28 dan kemiripan genetik sebesar 0.72-1.00. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa sirih cina yang diambil dari berbagai ketinggian di eks-karasiden Surakarta tidak memiliki keragaman genetik berdasarkan penanda RAPD.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana dengan baik berkat dukungan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih kepada PUT-UNS atas dana yang diberikan untuk penelitian ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada pihak laboratorium pemuliaan tanaman fakultas pertanian Universitas Gadjah Mada atas kerja samanya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-khayri JM, Mahdy EMB, Taha, HAS., et al. 2022. Genetic and Morphological Diversity Assessment of Five Kalanchoe Genotypes by SCoT, ISSR, and RAPD-PCR Markers. *Plants* 11: 1-12. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11131722>
- Andriani L, Monica T, Lubis, NI. 2022. Pemanfaatan tanaman herbal (sirih cina, jahe, and kayu manis) melalui kegiatan KKN di RT 03 Kelurahan Suka Karya Kecamatan Kotabaru, Kota Jambi. *J Abdi Masyarakat Indonesia* 2(2): 465-472. DOI: <https://doi.org/10.54082/jamsi.180>
- Ardiana DW. 2009. Teknik isolasi DNA genom tanaman pepaya and jeruk dengan menggunakan modifikasi buffer CTAB. *Buletin Teknik Pertanian* 14(1): 12-16.
- Arrigoni-Black MF, Dmitrieva EG, Franzotti EM, et al. 2004. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae). *J of Ethnopharmacology* 91: 215-218. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.030>
- Elfianis R, Zulfahmi, Rowmaina. 2017. Genetic relationship of kantong semar (*Nepenthes spp.*) based on RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers. *J Agrotechnology* 1(2): 123-139.
- Harahap AS. 2017. Uji kualitas and kuantitas DNA beberapa populasi pohon kapur Sumatra. *J of Animal Science and Agronomy Panca Budi*.2(2): 1-6.
- Hikmatyar MF, Royani JL, Dasumiati. 2015. Isolasi and amplifikasi DNA keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) untuk identifikasi keragaman genetik. *J Bioteknologi and Biosains Indonesia* 2(2): 42-48. DOI: <http://ej.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- Htun S, Tin N, Tsin H, Naing TS. 2020. Comparative Study on the Morphological and Anatomical Characters of *Peperomia pellucida* L. (Kunth.) and *Piper longum* L. in Myitkyina Area. Myanmar Korea Conference Research J 3(2): 737-744.
- Imansyah MZ, Hamdayani S. 2022. Uji aktivitas etanol daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. *J Kesehatan Yamasi Makassar* 6(1): 40-47.
- Kanedi, M. 2022. Pharmacological benefits of plant extract of *Peperomia pellucida* growing wild in Suburb of Bandar Lampung, Indonesia. *Word J of Advanced Research and Reviews* 13(2): 519-522. DOI: <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.13.2.0177>
- Kartikawati E, Hartono K, Rahmawati SM, and Kusdianti IK. 2023. Aktivitas antibakteri and fraksi daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC1223. *J Medika Sains* 3(1): 21-34. DOI: <https://doi.org/10.30653/medsains.v3i1.507>
- Langga IF, Restu M, Kuswinanti T. 2012. Optimization of Temperature and Length of Incubation in Extracting Bitti Plant (*Vitex cofassus Reinw.*) Dna and Genetic Variety Analysis with RAPD-PCR. *J Sains and Technology* 12(3): 265-276.
- Mir MA, Mansoor S, Sugapriya M, et al. 2021. Deciphering genetic diversity analysis of saffron (*Crocus sativus* L.) using RAPD and ISSR markers. *Saudi J Bio Sci* 28: 1308-1317. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.063>
- Nazarzadeh Z, Onsori H, Akrami S. 2020. Genetic Diversity of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes Using RAPD and ISSR Molecular Markers. *J Gen Res* 6(1):69-76. DOI: <https://doi.org/10.22080/jgr.2020.18262.1172>
- Patel HK, Fougat RS, Kumar S, et al. 2015. Detection of genetic variation in *Ocimum* species using RAPD and ISSR Markers. *J 3 Biotech* 5: 697-707. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0269-y>
- Sari VK, Restanto DP 2022. Review artikel: metode ekstraksi DNA genom untuk tanaman tinggi kandungan polisakarida dan metabolit sekunder. *J Agroteknika* 5(2): 118-129.
- Shirmohammadi S, Sabouri H, Ahangar L, Ebadi AA, Sajadi J. 2018. Genetik diversity and association analysis of rice genotypes for grain physical quality using iPBS, IRAP, and ISSR markers. *J Gen Res* 4(2): 122-129. DOI: <https://doi.org/10.22080/jgr.2019.15415.1115>
- Sulistyawati P and Widyatmoko AYPBC. 2017. Keragaman genetik populasi kayu merah (*Pterocarpus indicus Willd*) menggunakan penanda random amplified polymorphic DNA. *J Pemuliaan Tanaman Hutan* 11(1): 67-76. DOI: <https://dx.doi.org/10.20886/jpth.2017.11.1.67-76>
- Vyas D, Joshi A, Gajamani G., et al. 2016. Genetik diversity analysis in different genotypes of black gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper] using RAPD marker. *Legume Research* 39 (5) : 690-697. DOI: <https://doi.org/10.18805/LR.V0IOF.9430>
- Wahua C, Mandah PC. 2020. Morpho-Anatomical Properties and Some Quantitative Chemical Analyses of *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *Greener J Biological Sciences* 10(1): 33-37.
- Yuliana L. 2023. Studi morfologi genus *Piper* and variasinya. *J Biocaster* 3(1): 11-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.36312/bjkb.v3i1.155>