

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)**

**PENERAPAN PRIMER ISSR (*INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS*) SEBAGAI
PENANDA MOLEKULER TERHADAP PENGULANGAN URUTAN DNA
PADA KULTIVAR MARCHANTIA**



Oleh :

Susilo, S.Pd., M.Si (NIDN. 0326028502/ Ketua)

Dra. Maryanti Setyaningsih, M.Si (NIDN. 0022126501/ Anggota)

Nomor Surat Kontrak Penelitian : 533/F.03.07/2017

Nilai Kontrak : Rp. 10.000.000;

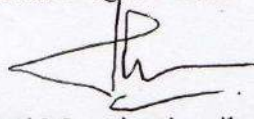
**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**

2018

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)

Judul Penelitian	: Penerapan Primer ISSR (<i>Inter-Simple Sequence Repeats</i>) sebagai Penanda Molekuler untuk Pengulangan Urutan DNA pada Kultivar <i>Marchantia</i> .
Ketua Peneliti	
a. Nama Lengkap	: Susilo, S.Pd., M.Si.
b. NPD/NIDN	: 0326028502
c. Jabatan Fungsional	: Asisten Ahli/IIIb
d. Fakultas/Program Studi	: KIP/Biologi
e. Nomor HP	: 0817220185
f. e-mail	: susilo@uhamka.ac.id
Anggota Peneliti I	
a. Nama Lengkap	: Dra. Maryanti Setyaningsih, M.Si
b. NPD/NIDN	: 0022126501
c. Fakultas/Program Studi	: KIP/Biologi
Lama Penelitian	: 1 Tahun
Luaran Penelitian	1. Jurnal Nasional
Biaya Penelitian	Rp. 10.000.000;

Mengetahui
Ketua Program Studi

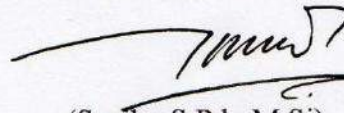


(Dr. Susanti Murwitaningsih, M.Pd)
NIDN. 0026086006



(Dr. Desyiah Bandarsyah, M.Pd)
NIDN. 0317126903

Jakarta, 21 Mei 2018
Ketua Peneliti



(Susilo, S.Pd., M.Si)
NIDN. 0326028502

Menyetujui



(Prof. Dr. Suswandari, M.Pd)
NIDN. 0020116601



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : 533/F.03.07/2017
Tanggal : 12 Oktober 2017

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Kamis, tanggal dua belas, bulan Oktober, tahun dua ribu tujuh belas, yang bertanda tangan di bawah ini **Prof. Dr. Hj. Suswandari, M.Pd.**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**; **SUSILO S.Pd., M.Si.**, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA.

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **Penerapan Metode ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) sebagai Penanda Molekuler untuk Pengulangan Urutan DNA pada Kultivar Marchantia.** dengan luaran wajib sesuai data usulan penelitian Baeth 2 Tahun 2017 melalui simakip.uhamka.ac.id dan luaran tambahan (bila ada).

Pasal 2

Bukti luaran hasil penelitian sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1 wajib dilampirkan dalam laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 12 Oktober 2017 dan selesai pada tanggal 31 Mei 2018.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.10.000.000,- (Terbilang : *Sepuluh Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA melalui Lembaga Penelitian dan Pengembangan.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut:

(1) Termin I 70 % : sebesar Rp.7.000.000,- (Terbilang : *Tujuh Juta Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut pada Pasal 1.


(2) Termin II 30 %: sebesar Rp.3.000.000,- (Terbilang : *Tiga Juta Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan laporan akhir berikut luaran yang telah dijanjikan dalam kegiatan penelitian tersebut dalam Pasal 1.

Pasal 6

- (1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.
- (2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1.
- (3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5% (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.
- (4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) pada poin honor peneliti sebesar 10% (sepuluh persen).
- (5) Besarnya Honor peneliti dapat dilihat pada Proposal.

Jakarta, 12 Oktober 2017


PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Ketua,


Prof. Dr. Hj. Suswandari, M.Pd.

PIHAK KEDUA
Peneliti,


SUSILO S.Pd., M.Si.

Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA


Dr. H. Muchdie, MS.

ABSTRAK

Informasi tingkat polimorfik marker Inter-simple sequence repeat (ISSR) atau mikrosatelit penting untuk diketahui untuk menentukan marker-marker yang efektif yang digunakan untuk identifikasi sidik jari DNA. Penelitian ini dilakukan untuk memverifikasi keefektifan dari 5 primer mikrosatelit (F218, F231, F209, BS537, dan BS3) dalam mengamplifikasi spesies *Marchantia*. *Marchantia emarginata*, *Marchantia geminata*, *Marchantia paleacea*, dan *Marchantia polymorpha* digunakan sebagai sample yang diambil dari Gunung Gedhe Pangrango, Jawa Barat Indonesia. Analisis Nilai *polymorphism information content* (PIC) digunakan sebagai dasar penentuan efektivitas dalam proses amplifikasi yang diperoleh dari hasil visualisasi pita DNA dengan GelAnalyzer dan *Power Marker*. Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa tiga primer ISSR (F218, F231, dan F209) yang diuji adalah polimorfik, sementara dua diantaranya monomorfik. Tiga lokus mikrosatelit menunjukkan tingkat keragaman genetic yang tinggi (> 0.5) dengan ukuran fragmen berkisar antara 173 bp – 286 bp. Nilai PIC tertinggi terdapat pada primer F209 yaitu 0,91. Sedangkan nilai PIC pada primer F218 dan F231 masing-masing adalah 0,90 dan 0,64. Hasil ini mengungkapkan bahwa 3 penanda mikrosatelit yang polimorfik dapat digunakan untuk eksplorasi keragaman genetic *Marchantia*.

Kata kunci: *Marchantia emarginata*, *Marchantia geminata*, *Marchantia paleacea*, *Marchantia polymorpha*, polimorfisme Information Content (PIC), PCR-ISSR

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
IDENTITAS USULAN PENELITIAN	v
RINGKASAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan	2
D. Urgensi	2
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	4
A. ISSR (<i>Inter-Simple Sequence Repeats</i>)	4
B. Keragaman Genetik	5
C. Marchantiophyta	7
D. State of the Art	10
E. Roadmap Penelitian	11
BAB III. METODE PENELITIAN	11
A. Alur Penelitian	11
B. Lokasi Penelitian	11
C. Metode Penelitian	12
D. Subyek Penelitian	13
E. Langkah Kerja Penelitian	13
F. Pengumpulan Data	14
G. Analisis Data	14
H. Indikator Capaian Hasil	14
I. Fishbond Penelitian	15
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
A. Hasil Penelitian	16

B. Pembahasan	16
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	22
BAB VI. LUARAN PENELITIAN	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	27
	29

DAFTAR TABEL

Tabel 1. <i>State of the Art</i> Penelitian	8
Tabel 2. Indikator pencapaian keberhasilan penelitian	15
Tabel 3. Hasil uji kuantitas DNA menggunakan Nanodrop	17
Tabel 4. Primer yang digunakan dan jumlah pita DNA hasil amplifikasi pada 4 spesies <i>Marchantia</i>	18
Tabel 5. Hasil skoring dari hasil sidik fragmen DNA	21
Tabel 6. Nilai PIC tiap primer pada 4 spesies <i>Marchantia</i>	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Roadmap penelitian	10
Gambar 2. Alur penelitian	11
Gambar 3. Fishbond penelitian	15
Gambar 4. Hasil uji kualitas <i>Marchantia</i> menggunakan agarose	17
Gambar 5. Pita DNA ISSR hasil amplifikasi dengan 2 pasang primer JQ812721	19
Gambar 6. Pita DNA ISSR hasil amplifikasi dengan 3 pasang primer JQ812714, JQ307463, dan JQ307442	20

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Suatu organisme dianggap memiliki hubungan yang sangat dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang dapat dilihat berdasarkan banyaknya kesamaan karakter atau ciri. Contoh variasi genetik ini dapat terlihat pada lumut hati yang terdapat berbagai bentuk, ukuran dan warna lumut. Variasi genetik disebabkan pembentukan genetik suatu individu yang tidak statis, selalu berubah akibat faktor internal dan eksternal. Keragaman materi genetik memungkinkan terjadi seleksi alam.

Pada umumnya sekelompok tumbuhan dianggap mempunyai hubungan paling erat (dekat), jika terdapat ciri-ciri atau tanda-tanda yang serupa. Sedangkan hubungan kekerabatan dianggap paling renggang (jauh) apabila ciri-ciri yang sama sangat sedikit ditemukan. Tumbuhan dianggap mempunyai hubungan yang erat, contohnya pada jenis tumbuhan lumut hati dari marga *Marchantia* yang terdiri dari 3 spesies dengan struktur morfologi yang hampir sama, yaitu *Marchantia emarginata*, *Marchantia paleaea*, dan *Marchantia treubii* (Bowman, *et al.*, 2016; Laura, *et al.*, 2017).

Morfologi tumbuhan yang hampir mirip antara varietas satu dengan yang lain, menyebabkan pengelompokan kekerabatan pada tumbuhan lumut ini dirasa sangat sulit untuk menentukan kedekatan bila hanya dilihat dari morfologi (Banting, *et al.*, 2017). Maka dari itu perlu dilakukan klasifikasi filogeni untuk mengetahui kekerabatan yang paling terdekat dalam kajian mengenai hubungan evolusi diantara organisme atau gen dari unit taksonomi. Lebih lanjut, filogenik molekuler dapat digunakan untuk mengetahui perbedaan besar molekul DNA antara spesies satu dengan yang lain sehingga diperlukan kombinasi ilmu antara biologi molekuler dan teknik statistik (Ichinose & Sugita, 2017).

Dasar klasifikasi digunakan dalam sistem filogenetik adalah persamaan dan perbedaan sifat morfologi, anatomi dan molekuler (Zulfahmi, 2013). Sistem tersebut mencerminkan urutan perkembangan serta jauh dekatnya kekerabatan antar takson. Selain mencerminkan persamaan dan perbedaan sifat berupa morfologi anatomi. Taksonomi filogenetik yang digunakan untuk pengelompokan spesies atau jenis baru dengan cara analisis molekuler dan morfologi (Gradstein, *et al.* 2010).

Klasifikasi sistem filogenetik disusun berdasarkan persamaan fenotip yang mengacu pada sifat-sifat bentuk luar, tingkah laku yang dapat diamati dan pewarisan keturunan yang mengacu pada hubungan evolusioner jenis nenek moyang hingga cabang-cabang keturunannya untuk itu perlu adanya data molekuler yang dapat mendukung data lain seperti morfologi dan anatomi, sehingga memungkinkan para ahli sistematika untuk memilih di antara hipotesis kekerabatan yang sudah diajukan.

Salah satu cara untuk mengetahui variasi gen ialah menggunakan penanda molekuler yang banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik tumbuhan, salah satu penanda DNA yang dapat diterapkan adalah ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*). ISSR merupakan salah satu teknik molekuler yang digunakan untuk pemetaan genetik, analisis keragaman genetik, dan studi evolusi (Celka, *et al.* 2010; Brzysk, *et al.*, 2012). Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk mengkaji lebih dalam mengenai keanekaragaman genetik pada tumbuhan lumut hati (*Marchantia*) dengan menggunakan salah satu metode yaitu ISSR.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat diambil perumusan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Adakah variasi genetik pada beberapa kultivar *Marchantia* dengan menggunakan metode ISSR?
2. Bagaimakah pengaruh metode ISSR dalam membaca variasi DNA beberapa kultivar *Marchantia*?
3. Seberapa efektifkah penanda ISSR mampu membaca lokus DNA pada masing-masing kultivar *Marchantia* tersebut?

4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui perbedaan variasi genetik pada beberapa kultivar *Marchantia* dengan menggunakan metode ISSR?
2. Mengetahui keefektifan metode ISSR mampu membaca lokus DNA pada masing-masing kultivar *Marchantia* tersebut.

5. Urgensi Penelitian

Saat ini, penanda RAPD dan ISSR telah berhasil diterapkan untuk mendeteksi kesamaan genetik atau ketidaksamaan pada berbagai tanaman (Celka, *et al.* 2010; Presti, *et al.* 2014; Okoye, *et al.* 2016). Mo, *et al.* (2013), telah melakukan karakterisasi dan hubungan genetik *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* dari China. Tumbuhan lumut lainnya yang telah dianalisis secara molekuler dengan teknik ISSR adalah *Marchantia polymorpha* (Brzyski, *et al.* 2012; Marcoux, *et al.* 2015; Kumar, *et al.* 2016). *Marchantia* merupakan kelompok lumut hati yang banyak tersebar di Indonesia. Pengelompokan spesies dari genus *Marchantia* masih didasarkan pada pengelompokan secara morfologi, sedangkan pencirian secara molekuler belum banyak dilakukan. Data molekuler menjadi penting manakala pengelompokan secara morfologi susah dilakukan (Banting, *et al.*, 2017). Data tersebut dapat digunakan sebagai acuan dalam merumuskan klasifikasi biodiversitas tanaman lumut di Indonesia. Secara ekologi *Marchantia* merupakan tumbuhan perintis dalam menciptakan habitat primer dan sekunder setelah adanya perusakan lingkungan. *Marchantia* memiliki peran yang penting dalam menjaga porositas tanah dan mengatur tingkat kelembaban ekosistem, karena kemampuannya dalam menahan dan menyerap air (Gradstein, *et al.* 2010). *Marchantia* dapat digunakan sebagai indikator pencemaran udara. Jika udara sudah penuh dengan polutan, lumut tidak dapat tumbuh dengan baik bahkan dapat mati (Cargill, *et al.* 2013).

Melihat masalah seperti diatas, maka peneliti mengharapkan luaran dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan basis data molekuler *Marchantia* untuk dapat dipublikasi secara umum baik pada jurnal nasional maupun internasional.
2. Mendapatkan pengetahuan tentang variasi genetik berupa pola pita DNA *Marchantia* yang dapat digunakan untuk pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam pembelajaran biologi. Salah satu contohnya adalah pengenalan metode-metode molekular dengan marka DNA guna membantu proses pengklasifikasian tanaman. Secara khusus perkembangan markah molekuler berimplikasi pada penambahan materi perkuliahan genetika lanjut. bioinformatika, biologi sel dan molekuler dan rekayasa genetik.

BAB II KAJIAN PUSTAKA

A. Filogenetik Molekuler

Filogenetik digambarkan sebagai klasifikasi secara taksonomi dari suatu organisme berdasarkan sejarah evolusi yaitu filogeninya, dan merupakan bagian integral dari ilmu pengetahuan yang sistematis yang mempunyai tujuan untuk menentukan filogeni dari organisme berdasarkan pada karakteristiknya (Banting, *et al.*, 2017). Dalam pendekatan filogenetik, suatu organisme dianggap memiliki hubungan yang sangat dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang di kelompokkan berdasarkan banyaknya kesamaan karakter atau ciri. Nenek moyang dan semua turunannya akan membentuk sebuah kelompok monofiletik. Dalam analisis filogenetik kelompok outgroup sangat dibutuhkan dan menyebabkan polarisasi karakter atau ciri, yaitu karakter apomorfik dan plesiomorfik (Ichinose & Sugita, 2017). Karakter apomorfik adalah karakter yang berubah dan diturunkan dan terdapat pada ingroup, sedangkan karakter plesiomorfik merupakan karakter primitif yang terdapat pada outgroup. Karakter sinapomorfik adalah karakter yang diturunkan dan terdapat pada kelompok monofiletik (Heinrichs, *et al.* 2015).

Selanjutnya, pohon filogenetik yang dihasilkan dapat diterjemahkan ke dalam sebuah sistem klasifikasi (sering disebut klasifikasi filogenetik), dan untuk itu hanya kelompok monofiletik yang dapat digunakan. Berbeda dengan klasifikasi tradisional (klasifikasi Linnaeus), klasifikasi filogenetika mengelompokkan satu outgroup takson berdasarkan pengetahuan tentang hubungan filogenetik takson tersebut dengan takson lainnya, sehingga sistem klasifikasi yang dihasilkan bersifat objektif (Demir, *et al.*, 2010; (Banting, *et al.*, 2017).

Analisis filogenetik tidak terlepas dari evolusi biologi. Analisis filogenetik digunakan untuk mengikuti perubahan yang terjadi secara cepat yang mampu mengubah suatu spesies, seperti virus (Ichinose & Sugita, 2017). Dalam mempelajari variasi dan diferensiasi genetik antar populasi, jarak genetik dapat dihitung dari jumlah perbedaan basa polimorfik suatu lokus gen masing-masing populasi berdasarkan urutan DNA (Okoye, *et al.*, 2016). Analisis sistematika dilakukan melalui konstruksi sejarah evolusi dan hubungan evolusi antara keturunan dengan nenek moyangnya berdasarkan pada kemiripan karakter sebagai dasar dari perbandingan. Untuk membuat pohon filogenetik dengan menggunakan pendekatan molekuler dari perubahan DNA, kita memerlukan banyak sekali tabel perbandingan DNA yang nantinya dari sana bisa didapatkan hubungan kekerabatan antar spesies yang satu dan lainnya. Barulah dari situ bisa dibuat pohon filogenetiknya. Saat ini, pembuatan pohon

filogenetik dengan pendekatan DNA sudah dipermudah dengan program yang telah dibuat oleh para ilmuwan (Sri Yulita, 2012).

B. Mikrosatelit atau ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*)

Mikrosatelit adalah sekuen DNA yang berulang, dimana satu motif mengandung satu sampai enam pasang basa yang diulang secara tandem dalam sejumlah waktu (Ichinose & Sugita, 2017). Jika ulangan tersebut cukup panjang dan tidak terpotong-potong (*uninterrupted*), mereka sangat baik digunakan sebagai penanda genetik karena tingkat polimorfisme mereka yang tinggi (Wang, *et al.* 2015). Dalam literatur, mikrosatelit sering disebut sebagai *simple sequence repeats* (SSRs), *short tandem repeat* (STR), *variable number tandem repeat* (VNTR) dan *simple sequence length polymorphism* (SSLP). Banyaknya istilah ini, cenderung membingungkan terutama ketika melakukan studi literatur, tetapi istilah mikrosatelit telah menjadi umum untuk menggambarkan motif DNA pendek yang berulang (Najafi, *et al.* 2014; Okoye, *et al.*, 2016).

Mikrosatelit mempunyai karakteristik sebagai berikut: tingkat polimorfisme yang tinggi, bersifat kodominan, dan diwariskan mengikuti hukum mendel. Mikrosatelit diaplikasikan untuk:

1. Identifikasi forensik, bertujuan untuk mengkaitkan sampel darah, sperma, jaringan rambut atau daging dari kasus kriminal.
2. Diagnosis dan identifikasi penyakit, seperti deteksi kanker.
3. Studi populasi genetika, untuk mengamati variasi dan membuat kesimpulan tentang struktur populasi, hanyutan genetik (*genetic drift*), dan *genetic bottlenecks*.
4. Konservasi biologi, untuk mengamati perubahan dalam populasi, pengaruh fragmentasi dan interaksi populasi yang berbeda serta untuk identifikasi populasi yang baru terbentuk (Sri Yulita, 2012; Zulfahmi, 2013).

Rata-rata kecepatan mutasi mikrosatelit berkisar dari 10^{-6} sampai 10^{-2} kejadian per lokus per generasi, hal ini lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata mutasi pada gen yang mengkodekan loci (Mo, *et al.*, 2013). Mutasi menghasilkan perubahan dalam jumlah unit ulangan dan itu diamati sebagai variasi panjang mikrosatelit (Najafi, *et al.* 2014). Ada dua mekanisme yang dapat menerangkan tingginya kecepatan mutasi mikrosatelit. Pertama, rekombinasi diantara kromosom DNA homolog melalui *unequal crossing over* (UCO) atau dengan konversi gen yang menghasilkan ketidaksempurnaan susunan dan menyebabkan

adanya peningkatan ulangan dalam mikrosatelit. Kedua, *slippage strand mispairing* (SSM) yang terjadi selama replikasi DNA (Prestri, *et al.*, 2014; Najafi, *et al.* 2014; Okoye, *et al.*, 2016).

Peristiwa ini dimulai dengan slipnya DNA polimerase selama replikasi yang menyebabkan template dan untai DNA yang baru menjadi tidak sejajar sementara waktu, ketika replikasi dilanjutkan, untaian DNA harus disejajarkan kembali dan mutasi akan dihasilkan jika penjajaran ini tidak sempurna. Hilang atau majunya ulangan mikrosatelit dapat keluar dari loops DNA ganda dari dua jenis mekanisme mutasi yang disebutkan diatas. Banyak peneliti menyatakan bahwa SSM selama replikasi DNA adalah penyebab utama ketidakstabilan mikrosatelit (Hirano, *et al.* 2015). Rata-rata mutasi mikrosatelit dipengaruhi oleh sifat mikrosatelit, seperti: jumlah ulangan, motif ulangan sekuen, panjang unit ulangan, sekuen flanking, dan interruption dalam mikrosatelit, rata-rata transkripsi dan rata-rata rekombinasi, posisi kromosom, seks dan genotipe (Prestri, *et al.*, 2014). Slippage strand mispairing selama replikasi DNA dapat dikoreksi oleh exonucleolytic proofreading dan mismatch repair. Exonucleolytic proofreading adalah proses pengujian untaian DNA yang salah, yang dibuat oleh DNA polimerase selama sintesis DNA (Hirano, *et al.* 2015). Jika kesalahan ditemukan, exonuclease akan mendegradasi DNA tersebut dan kemudian akan mereplikasi kembali untaian DNA yang baru, dengan back-up DNA polimerase (Heinrichs, *et al.* 2013).

Kesalahan yang dibuat oleh DNA polimerase tidak akan menjadi mutasi semuanya, sebab kesalahan itu akan diperbaiki (dihapus) oleh proofreading. Exonucleolytic proofreading mendeteksi kesalahan dengan memonitor DNA yang telah direplikasi, apakah membentuk struktur DNA double helix yang normal dengan untaian template-nya. Struktur DNA yang tidak normal akan merangsang (*trigger*) aktivitas exonuclease. Proofreading dipengaruhi oleh GC content dan sekuen DNA. Mismatch repair berperan dalam mengenali dan memperbaiki kembali basa yang muncul karena salah dalam penggabungan. Mismatch repairs memainkan peranan kunci dalam meregulasi kestabilan mikrosatelit, perbedaan dalam perbaikan loops oleh mismatch repairs menyebabkan banyaknya variasi mikrosatelit di dalam dan diantara spesies (Hirano, *et al.* 2015; Okoye, *et al.*, 2016).

Namun, terdapat beberapa permasalahan dalam menggunakan penanda mikrosatelit. Permasalahan ini dapat dikelompokkan ke dalam problem praktek dan problem data. Problem praktek meliputi:

- a) Pemilihan primer untuk mikrosatelit, banyak jenis primer yang telah didesain untuk analisis mikrosatelit pada tanaman. Primer-primer itu perlu di-screening dan dioptimasi sebelum diaplikasikan pada jenis tanaman tertentu, karena setiap tanaman mempunyai karakteristik spesifik yang berbeda satu sama lain.
- b) Slippage selama proses amplifikasi, termopolimerase dapat slip sehingga menghasilkan produk yang berbeda dalam ukurannya.
- c) Ukuran produk amplifikasi berbeda dari ukuran produk sebenarnya. Ketidakakuratan dalam identifikasi alel mungkin juga disebabkan oleh Taq polimerase yang menambah nukleotida adenosin sampai ujung 3' produk amplifikasi (Milewicz & Sawicki, 2011).

Untuk mengatasi permasalahan ini adalah dengan menambah polimerase pfu selama atau setelah proses PCR, atau dengan menggunakan polimerase DNA T4 setelah PCR (Hirano, *et al.* 2015). Dan Salah satu problem data dalam analisis mikrosatelit adalah homoplasi. Homoplasi didefinisikan sebagai dua alel sama dalam keadaan, tetapi tidak sama secara keturunan. Homoplasi mungkin menyebabkan problem dalam analisis studi genetika populasi, dimana dapat mempengaruhi pengukuran keragaman genetik, aliran gen, jarak genetik, ukuran neighbourhood, metode penetapan dan analisis filogenetik (Mo, *et al.* 2013). Homoplasi dalam analisis DNA kloroplas menggunakan mikrosatelit dianggap sebagai sebuah pembatas utama, ketika digunakan sebagai penanda genetik. Para peneliti secara umum telah menganggap bahwa tingkat homoplasi cukup rendah pada mikrosatelit menggunakan DNA kloroplas (Marcoux, *et al.*, 2015; Okoye, *et al.*, 2016).

C. Marchantia

Lumut hati atau Marchantia terdiri dari kurang lebih terpadat 23 spesies dengan penyebaran di seluruh dunia, terutama di daerah tropis. Morfologinya sangat sederhana. Pada lapisan atas, talus dan percabangannya memiliki kloroplas untuk melakukan fotosintesis dan asimilasi unsur hara. Lapisan bawah terdapat ruang udara dan tempat keluarnya rizoid untuk menempelkan talus ke tempat tumbuhnya. Talus tumbuh menempel di bebatuan, batang pohon, dan tanah berhumus (Ensiklopedia Lumut, 2012).

Spesies lumut di marga *Marchantia* bereproduksi dengan talus yang memiliki anteridium dan talus dengan arkegonium. Pada talus yang sudah cukup dewasa akan tumbuh anteridium berupa payung bertangkai pendek dengan bentuk membulat. Pada bagian atas payung anteridium ini terbentuk sel-sel sperma. Sel sperma akan masak dalam proses meiosis (1n). Pada talus betina tumbuh arkegonium. Arkegonium ini memiliki bentuk berupa payung berjari-jari dengan tangkai yang lebih panjang bila dibandingkan dengan tangkai payung anteridium. Dari atas payung arkegonium ini terbentuk ovum melalui proses meiosis (1n).

Reproduksi aseksual dilakukan melalui gemma (kuncup) atau tunas yang tumbuh pada talus. Apabila tunas tersebut sudah matang maka ia akan terlepas. Dan bila tunas jatuh pada tempat yang sesuai maka tunas akan tumbuh menjadi lumut gametofit baru, dengan kromosom (1n). Tunas akan membentuk rizoid, kemudian membentuk talus dan semakin membesar.

Apabila ovum dibuahi maka akan terbentuklah lumut sporofit yang memiliki kromosom (2n). Beberapa spesies lumut pada marga *Marchantia* mengandung senyawa brassinosteroid dan diterpenes yang berpotensi menjadi bahan obat.

Pada penelitian ini akan digunakan 4 spesies lumut dari marga *Marchantia* dengan struktur morfologi yang hampir mirip. 4 spesies tersebut antara lain spesies *Marchantia emarginata*, *Marchantia marginata*, *Marchantia paleacea*, dan *Marchantia treubii* yang terdapat di Taman Lumut Cibodas.

D. State of The Art

Penelitian ini dilakukan dengan mengacu pada referensi penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan tema penelitian ini.

Tabel 1. State of the Art Penelitian

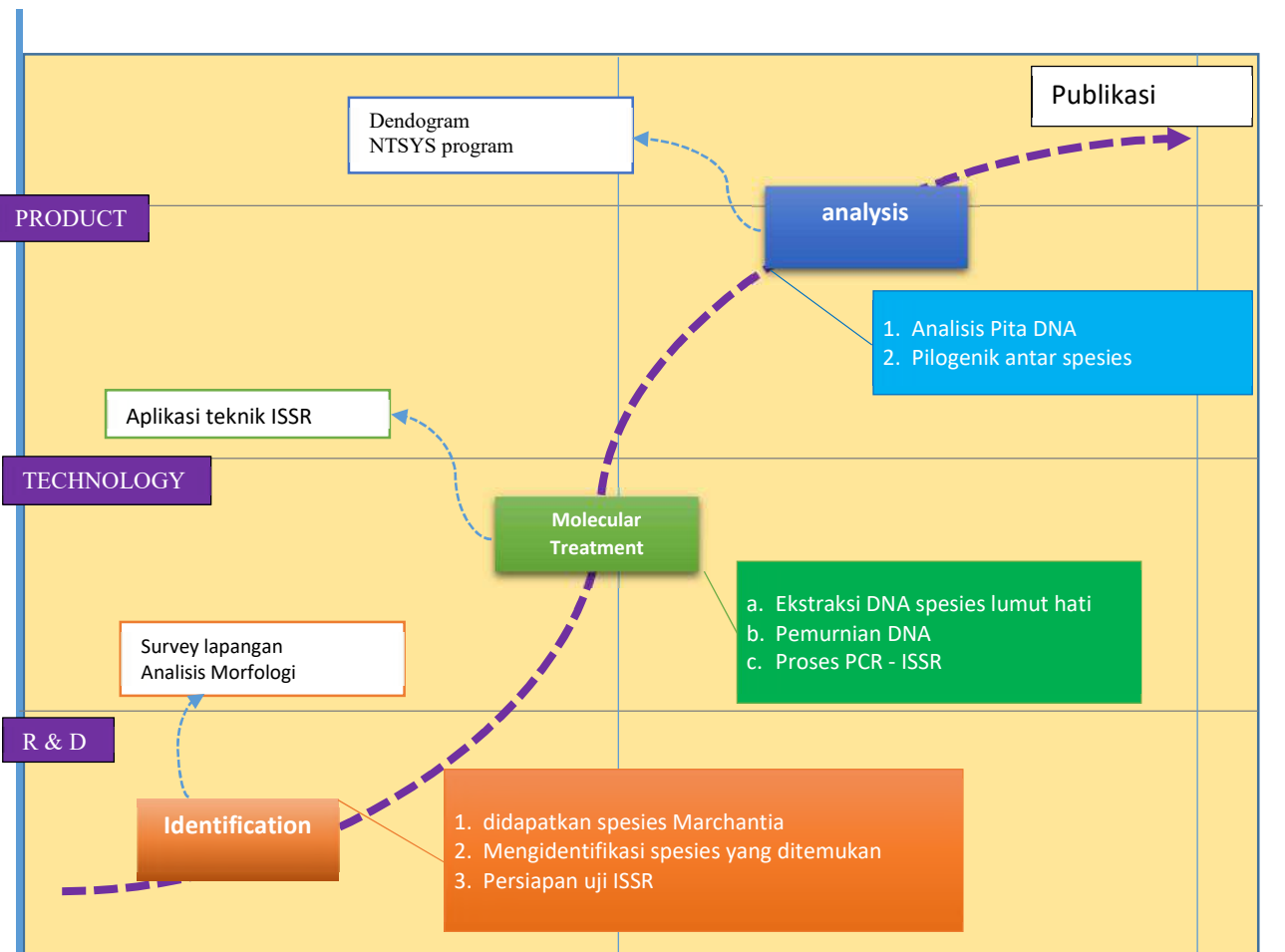
No	Referensi Penelitian	Isi Penelitian
1.	<p>“<i>Keragaman Genetik Beberapa Aksesori Jagung dari Nusa Tenggara Timur Berdasarkan Profil Inter Short Sequence Repeat (ISSR)</i>”.</p> <p>Peneliti: Kusumadewi Sri Yulita.</p> <p>Jurnal: <i>Jurnal Biologi Indonesia</i>. Vol. 9(2): 255-253 Tahun: 2013</p>	<p>Tujuan dari penelitian tersebut adalah untuk memperkirakan keragaman genetik dan fenotipik dari 15 aksesori jagung yang berasal dari sembilan ras yang dikoleksi dari enam lokasi di NTT berdasarkan sidik Inter Short Sequence Repeat (ISSR) dan beberapa karakter morfologi. Lima primer ISSR (UBC 809, 822, 834, 876 dan 892) diskriminasi dan dua diantaranya (UBC 809 dan 834) terseleksi untuk analisis. Primers ini menghasilkan 16 pita yang dapat diskriminasi dengan dua pita monomorfik, yaitu UBC 809 pada ukuran 700</p>

		<p>bp dan UBC 834 pada ukuran 900 bp. Analisis pengelompokan dibuat berdasarkan profil ISSR menggunakan metoda UPGMA. Jarak genetik berkisar antara 0.30-0.80 menunjukkan adanya keragaman genetik yang cukup luas antar aksesori jagung. Analisis yang menggabungkan profil ISSR dan karakter morfologi menghasilkan keragaman genetik yang lebih tinggi yang ditunjukkan lewat koefisien jarak genetik yang lebih luas, yaitu antara 0.52-1.25. Sebagaimana halnya dengan data dari profil ISSR, data gabungan juga menunjukkan bahwa seluruh aksesori tidak mengelompok berdasarkan rasnya atau progeninya.</p>
2.	<p><i>“Identification of Reference Genes for Real-Time Quantitative PCR Experiments in the Liverwort <i>Marchantia polymorpha</i>.”</i> Peneliti: Marcoux, S. S., Proust, H., Dolan, L. & Langdale, J. A Jurnal: <i>PLoS ONE</i>. Vol.10(3): e0118678. doi:10.1371/journal.pone.0118678 (2015).</p>	<p>Dalam penelitiannya menjelaskan bahwa tingkat transkripsi dari sebelas kandidat gen telah dianalisis di berbagai konteks biologis yang mencakup stres abiotik, perawatan hormon dan tahap perkembangan yang berbeda pada aplikasi PCR. Hasilnya diperoleh Konsistensi tingkat transkrip dinilai yang berbeda dengan menggunakan algoritme geNorm dan NormFinder, dan konsensus peringkat gen calon. MpAPT dan MpACT menunjukkan tingkat transkrip yang relatif konstan di semua kondisi yang diuji sedangkan tingkat transkripsi gen kandidat lainnya sangat dipengaruhi oleh kondisi eksperimental. Dengan menganalisis tingkat transkrip gen reporter kelaparan fosfat dan nitrat, mereka memastikan bahwa MpAPT dan MpACT adalah gen referensi yang sesuai inM. <i>Polymorpha</i> dan juga menunjukkan bahwa normalisasi dengan gen yang tidak tepat dapat menyebabkan analisis data qPCR yang salah.</p>
	<p><i>“Phylogenetic Analysis of Liverworts (<i>Marchantiophyta</i>) in Imugan Falls, Santa Fe, Nueva Vizcaya, Philippines Using <i>rbcL</i> Gene Marker”</i> Peneliti: Banting, M.D.M., Aquino, D.J.C., David, E.S., Undan, J.R. Jurnal: <i>Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.</i> Vol.6(1):81-88.</p>	<p>Penelitian ini merupakan upaya pertama untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan liverworts atau lumut hati dengan pendekatan molekuler. lumut hati diidentifikasi dengan menggunakan karakter morfologi, DNA genom dan <i>rbcL</i>, kemudian produk PCR dimurnikan dan diurutkan. Urutan digunakan untuk analisis BLAST untuk menentukan urutan kesamaan urutan yang tersedia dari NCBI GenBank. Hasilnya mereka berhasil</p>

Tahun: 2017.	<p>mengidentifikasi dua spesies; Ini adalah <i>Dumortiera hirsuta</i> dan <i>Targionia hypophylla</i> keduanya dengan identitas maksimal 99%. Untuk analisis filogeni berdasarkan daerah <i>rbcL</i>, klade proksimat terdiri dari genus thalloid kompleks dan terdiri dari <i>marchantiaceae</i> monofiletik, <i>targioniaceae</i>, dan <i>wiesnerellaceae</i> dalam hubungan saudara yang didukung dengan baik, ini juga mencakup <i>monocleaceae</i> thalloid yang lebih sederhana. Aksesori <i>Dumortiera hirsuta</i> dan <i>Wiesnerella</i> sp. Berada dalam hubungan saudara yang kuat dan saudara perempuan dengan hipofilia <i>Targionia</i> sisanya dan <i>Monoclea Forsteri</i>.</p>
--------------	--

E. Roadmap Penelitian

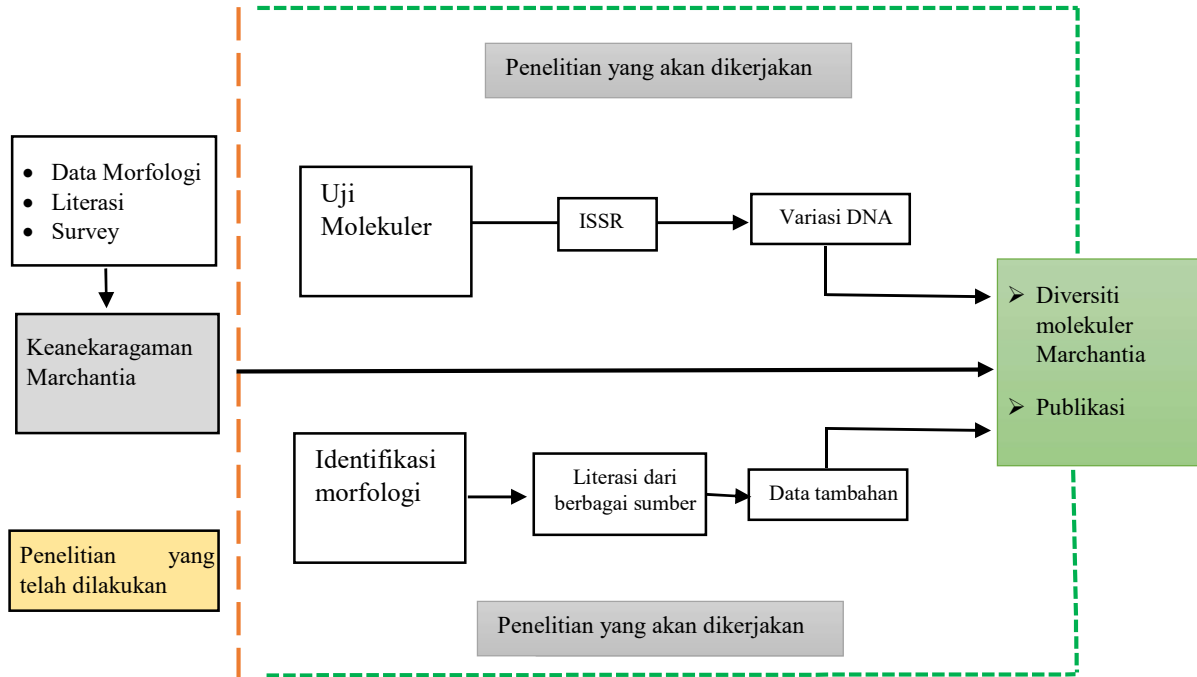
Rencana kegiatan penelitian ini disajikan dalam roadmap penelitian sebagai berikut:



Gambar 1. Roadmap penelitian

BAB III METODE PENELITIAN

A. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan dilakukan pada bulan Oktober 2017 sampai bulan Maret 2018. Pengambilan sampel tanaman sample lumut yang diambil dari Taman Lumut Kebun Raya Cibodas. Identifikasi tanaman terong dilakukan di Laboratorium Botani Puslit Biologi LIPI, Cibinong dan analisis molekuler dilakukan di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi Sel dan Molekuler Bogor.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen dengan menggunakan analisis deskriptif kuantitatif. Dengan melakukan percobaan secara langsung, mengisolasi DNA empat spesies tumbuhan lumut hati genus *Marchantia* yang memiliki struktur morfologi yang hampir sama dan melakukan PCR dengan teknik ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) untuk

melihat variasi DNA. Penelitian ini menggunakan 5 pasang primer SSR, yaitu: JQ812721F dan JQ812721R, JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R, JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R untuk mengamplifikasi 4 spesies tumbuhan lumut hati genus *Marchantia*.

D. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah variasi genotif dari 4 jenis tumbuhan lumut atau bryophyte dari genus *Marchantia*, yaitu *Marchantia emarginata* (Em), *Marchantia geminata* (Ge), *Marchantia paleacea* (Pa) dan *Marchantia polymorpha* (Po). Untuk mendapatkan atau mengetahui genotif tersebut maka digunakan metode ISSR.

E. Langkah Kerja Penelitian

Urutan langkah kerja penelitian ini dibagi menjadi empat tahapan sebagai berikut:

1. Isolasi DNA, Pemurnian, dan Pengendapan DNA Genom

Isolasi DNA pada penelitian ini mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Banting (2017). Langkah kerjanya sebagai berikut: 100 mg jaringan sampel ditambahkan dengan nitrogen cair secukupnya pada mortar. Campuran digerus hingga jaringan berubah menjadi serbuk yang kering. Serbuk sel dipindahkan ke dalam tabung eppendorf dan ditambahkan dengan 600 μ l larutan CTAB. Larutan kemudian ditambahkan 600 μ l larutan CI (24:1) dan dibolak-balik 8 hingga 10 kali. Sentrifugasi tabung dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang terbentuk dipisahkan ke dalam tabung yang baru dan ditambahkan PCI (25:24:1) sebanyak 1 kali volume supernatan. Tabung dibolak balik hingga homogen dan disentrifugasi kembali pada dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. supernatant dipisahkan ke dalam tabung baru. Supernatan ditambahkan alkohol absolut sebanyak dua kali volume dan NaOAc sebanyak 0.1 kali volume. Tabung diinkubasi pada lemari pendingin selama minimal 2 jam. Setelah diinkubasi, tabung disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan dibuang sedangkan pellet ditambahkan 500 μ l alkohol 70%. Sentrifugasi kembali dengan kecepatan 10000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan dibuang dan pellet dikeringkan. Setelah pellet kering, ditambahkan ddH₂O sebanyak 20 serta 0,4 μ l RNase. Tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit dan 70°C selama 10 menit.

2. Deteksi DNA menggunakan Gel Agarosa

5µl DNA genom ditambahkan 1µl Loading dye sampai tercampur. Campuran dimasukkan ke dalam sumur agarosa 1%. Proses running dilakukan selama 30 menit. Agarose diambil dari alat elektroforesis kemudian direndam dalam larutan Etidium Bromida. Selanjutnya pergerakan DNA diamati di bawah sinar UV.

3. Kuantifikasi DNA dengan Spektrofotometer

10µl DNA genom dipipet ke dalam eppendorff dan ditambahkan 1490 µl ddH₂O. Campuran dihomogenasi dengan cara divortex selama 30 detik. Larutan diukur nilai absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm dan 280nm kemudian dihitung konsentrasi DNA dan kemurnian DNA.

4. Analisis ISSR (*Simple Sequence Repeats*)

- a) Amplifikasi DNA menggunakan teknik PCR- ISSR dengan volume akhir 15 µl. Satu unit reaksi PCR terdiri atas: *Ultra pure water* 3,9 µl, mix (kappa 2g fast reading mix) 5 µl, dNTPs 1 µl, primer 1 µl, Taq 0,1 µl, DNA 4 µl dan ditambah satu tetes mineral oil. Penelitian ini menggunakan 5 pasang primer SSR, yaitu: JQ812721F dan JQ812721R, JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R, JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R.
- b) Reaksi PCR dilakukan 3 tahapan yaitu Pra PCR, PCR, dan Post PCR. Pada pra PCR dilakukan pradenaturation (95⁰) selama 1 menit, kemudian proses PCR dilakukan sebanyak 40 siklus dengan tahapan sebagai berikut: denaturation (95⁰) selama 30 detik, annealing (55⁰) selama 30 detik, dan extention (72⁰) selama 30 detik. Post PCR terdiri dari final extention (72⁰) selama 5 menit dan refrigeration (12⁰) selama 20 detik.
- c) Elektroforesis dilakukan dengan gel akrilamid 8%. Langkah-langkah dalam pembuatan gel akrilamid 8% dengan volume 50 ml yaitu dengan cara sebagai berikut: menyiapkan gelas beker 50 ml diisi akrilamid sebanyak 50 ml. Kemudian dimasukkan APS sebanyak 500 µl, dan temed sebanyak 50 µl diaduk sampai homogen (jernih) dan dituang ke dalam cetakan gel vertikal yang telah disiapkan. Sisir diletakkan di atas cetakan gel untuk membentuk sumur-sumur pemuat dan dibiarkan campuran memadat hingga menjadi gel selama ± 30 menit. Selanjutnya, elektroforesis gel akrilamid vertikal dengan cara mencampurkan 15 µl produk PCR dengan 2 µl loading dye. Kemudian diambil 2 µl dan dimasukkan ke dalam sumur gel akrilamid. Sisir pada gel

dilepas dan sampel yang telah diproses siap dimasukkan pada sumur-sumur yang terbentuk pada gel. Alat elektroforesis dihidupkan dengan tegangan 90 volt selama 70 menit.

- d) Gel akrilamid kemudian direndam dalam larutan EtBr sehingga pola pita dapat dilihat dibawah Chemidoc ultraviolet. Kemudian hasil dibaca dengan bantuan software GelAnalyzer dan diskor untuk mendapatkan nilai PIC (*Polymorphism Information Content*).

F. Pengumpulan Data

Hasil elektroforesis SSR akan didapatkan pita-pita DNA yang terpisahkan berdasarkan berat molekulnya. Tebal tipisnya pita yang terbentuk dari pita protein menunjukkan kandungan atau banyaknya protein yang mempunyai berat molekul yang sama yang berada pada posisi pita yang sama. Setiap pita SSR yang tampak diberi nilai 1, sedangkan pita yang tidak tampak diberi nilai 0 sehingga hasil skoring pita berupa data biner.

G. Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif. Data kualitatif pita DNA dari hasil penelitian yang diperoleh akan dibaca dengan bantuan software GelAnalyzer, kemudian data kuantitatif dihitung menggunakan program microsoft excel untuk mengetahui nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) primer paling informatif yang digunakan dalam penelitian ini.

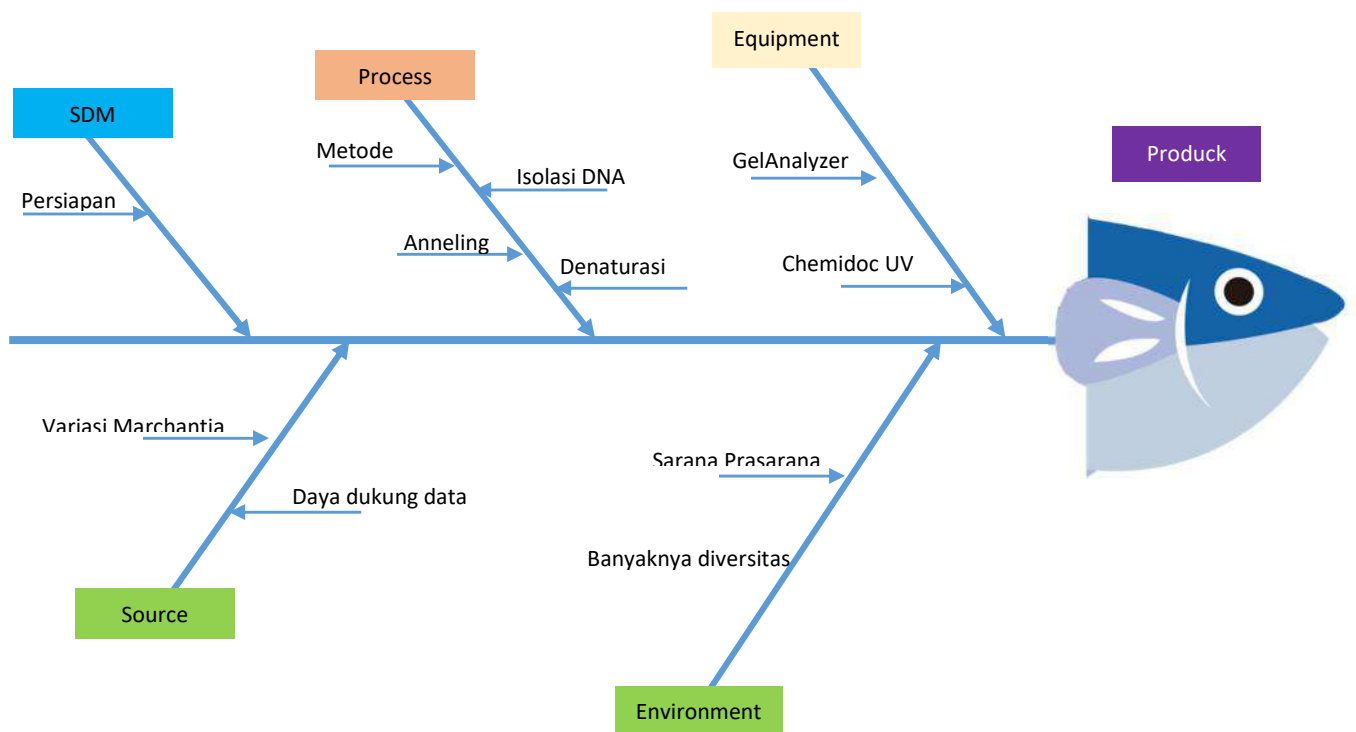
H. Indikator Capaian Hasil Penelitian

Hasil akhir atau target yang diharapkan dari penelitian ini adalah publikasi jurnal ilmiah nasional sesuai yang telah dikemukakan. Hasil penelitian yang dipublikasikan adalah karakter 5 primer ISSR berdasarkan nilai PIC pada DNA masing-masing spesies *Marchantia* yang dapat digunakan sebagai data pendukung untuk kajian indentifikasi diversitas dari jenis *Marchantia*. Indikator capaian dari hasil penelitian ini adalah didapatkannya nilai PIC masing-masing primer. Secara detail capaian hasil dari penelitian ini disajikan dalam tabel 2 berikut.

Tabel 2. Indikator pencapaian keberhasilan penelitian pada penelitian ini adalah:

Aspek yang diukur	Presentase Target Pencapaian		Cara Mengukur
	Kondisi Awal	Target Pencapaian	
Ada tidaknya pita DNA	Pita DNA belum nampak	Munculnya pita DNA secara jelas	Analisis dengan software GelAnalyzer
Efektivitas Primer ISSR (PIC)	Belum jelas	Menampilkan dengan jelas	Anlisis dengan microsoft excel

I. Fishbond Penelitian



Gambar 3. Fishbond penelitian

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Wilayah Penelitian

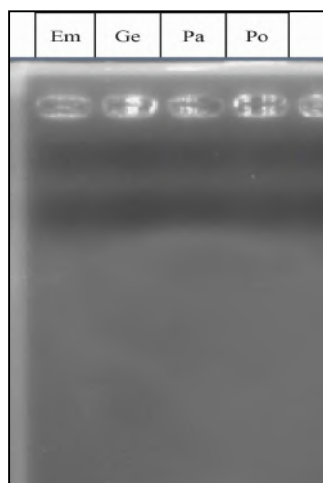
Marchantia merupakan kelompok lumut yang pemanfaatannya masih jarang sekali oleh manusia. Marchantia memiliki jenis yang cukup beragam. Di Indonesia tumbuhan ini dapat tumbuh subur diberbagai tempat mengingat Indonesia adalah daerah tropis yang sangat cocok untuk pertumbuhannya. Kajian penelitian yang dilakukan adalah mengamati variasi DNA yang muncul dari spesies genus Marchantia dengan menggunakan metode ISSR yang dibantu dengan primer selektif. Primer selektif ini adalah primer pilihan yang telah digunakan para peneliti sebelumnya untuk mengidentifikasi genetic dari kelompok Marchantia. Penelitian ini di laboratorium sel dan molekuler, Balai Besar Biogen, Bogor. Sampel yang digunakan adalah jenis lumut yang banyak dijumpai di lingkungan sekitar. Waktu penelitian dilakukan selama 3 bulan pada bulan November 2017 - Januari 2018.

B. Hasil

Telah dilakukan penelitian mengenai efektivitas penanda molekuler ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) dalam amplifikasi DNA empat spesies lumut genus marchantia yaitu *Marchantia emarginata*, *Marchantia geminata*, *Marchantia paleacea*, *Marchantia polymorpha*. Sedangkan penanda molekuler (primer) yang digunakan dalam penelitian ini adalah design primer dari penelitian-penelitian sebelumnya yang disajikan pada Tabel 3. Sebelum dilakukan analisis DNA dengan ISSR, sampel telah diuji kualitasnya untuk mengetahui kemurnian dan konsentrasi DNA sampel.

Hasil amplifikasi total genom DNA dengan uji kualitas DNA tanaman lumut hati dengan agarose tidak dapat dilihat dan uji kuantitas DNA tanaman lumut hati dengan nanodrop menghasilkan kemurnian dan konsentrasi DNA tanaman lumut yang dapat dilihat pada table 4.2, lima primer SSR pada 4 sampel *Marchantia* menghasilkan produk PCR yang tiga diantaranya dapat dibaca dan dua lainnya tidak dapat mengamplifikasi empat spesies lumut hati sehingga hanya tiga primer yang hasilnya dapat dibaca, diskor dan dihitung nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) sehingga hasilnya dapat dianalisis. Hasil dari deteksi DNA menggunakan agarose. 5 µl DNA genom ditambah 1 µl Loading dye sampai tercampur, campuran dimasukan ke dalam sumur agarose. Proses running dilakukan selama 30 menit

dengan tegangan 95 volt. Agarose diambil dari alat elektroforesis kemudian direndam dalam larutan Etidium Bromida. Selanjutnya pergerakan DNA diamati di bawah sinar UV dengan menggunakan Chemidoc. Berdasarkan hasil pengujian dengan Agarose ternyata tidak dapat menunjukkan pita DNA seperti pada gambar 4. Karena tidak mendapatkan hasil maka penelitian dilanjutkan dengan menggunakan metode lain yaitu dengan Nanodrop.



Keterangan:

Em: *Marchantia emarginata*

Ge: *Marchantia geminata*

Pa: *Marchantia paleacea*

Po: *Marchantia polymorpha*

Gambar 4. Hasil uji kualitas *Marchantia* menggunakan agarose.

Gambar 4 menunjukkan bahwa hasil uji kualitas DNA menggunakan agarose pada Em, Ge, Po, dan Pa tidak terlihat. Pada Tabel 3 merupakan hasil dari uji kuantitas DNA dengan Nanodrop yang terhubung dengan komputer, 2 μ l DNA genom dipipet ke Nanodrop. Konsentrasi dan kemurnian DNA dapat terdeteksi secara valid di komputer.

Tabel 3. Hasil uji kuantitas DNA menggunakan Nanodrop

Sampel	Kemurnian (μ g/ μ l)	Konsentrasi (nm)
<i>Marchantia emarginata</i> (Em)	1,54	52,7
<i>Marchantia geminata</i> (Ge)	1,64	48,8
<i>Marchantia paleacea</i> (Pa)	1,62	172,3
<i>Marchantia polymorpha</i> (Po)	1,53	135,1

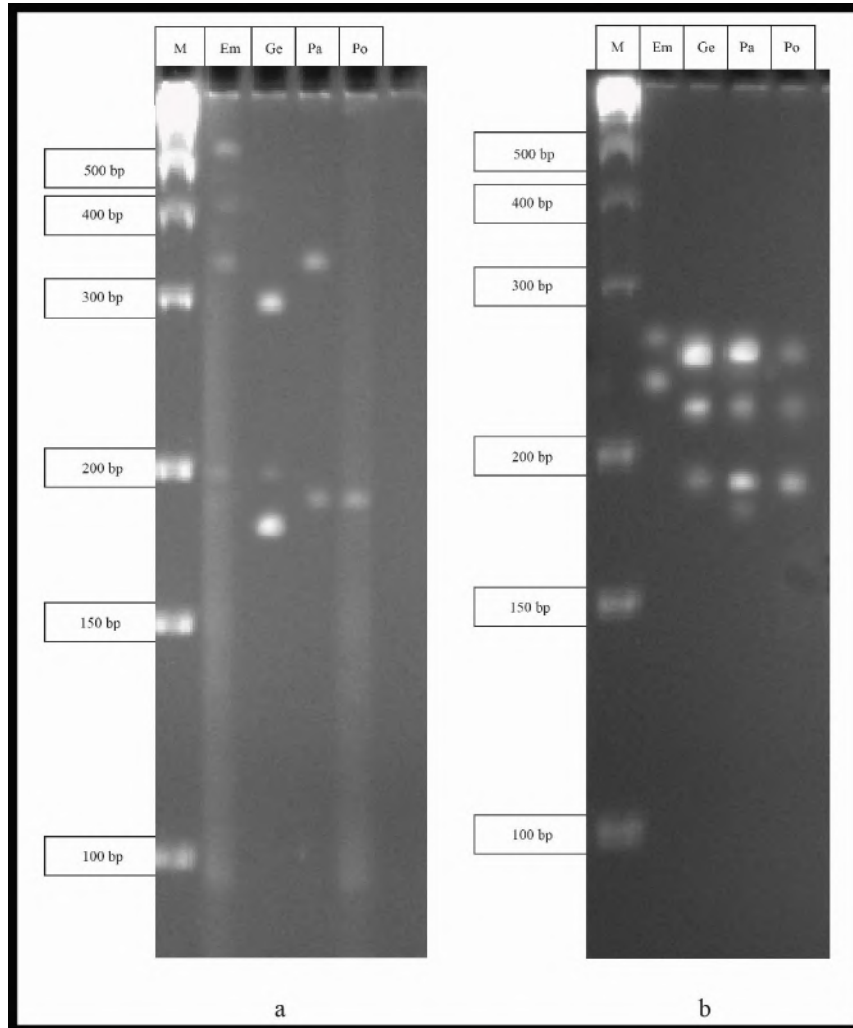
Berdasarkan Tabel 3, hasil uji kuantitas menggunakan nanodrop menunjukkan bahwa kemurnian tertinggi terdapat pada sampel Ge dengan kemurnian 1,64 M dan konsentrasi 48,8 nm sedangkan kemurnian terendah ada pada sampel Po dengan kemurnian 1,53 M dan konsentrasi 135,1 nm.

Lima pasang primer yang digunakan pada empat jenis *Marchantia* JQ812721F dan JQ812721R, JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R, JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tiap primer yang digunakan menunjukkan hasil hasil amplifikasi yang berbeda pada tiap spesies.

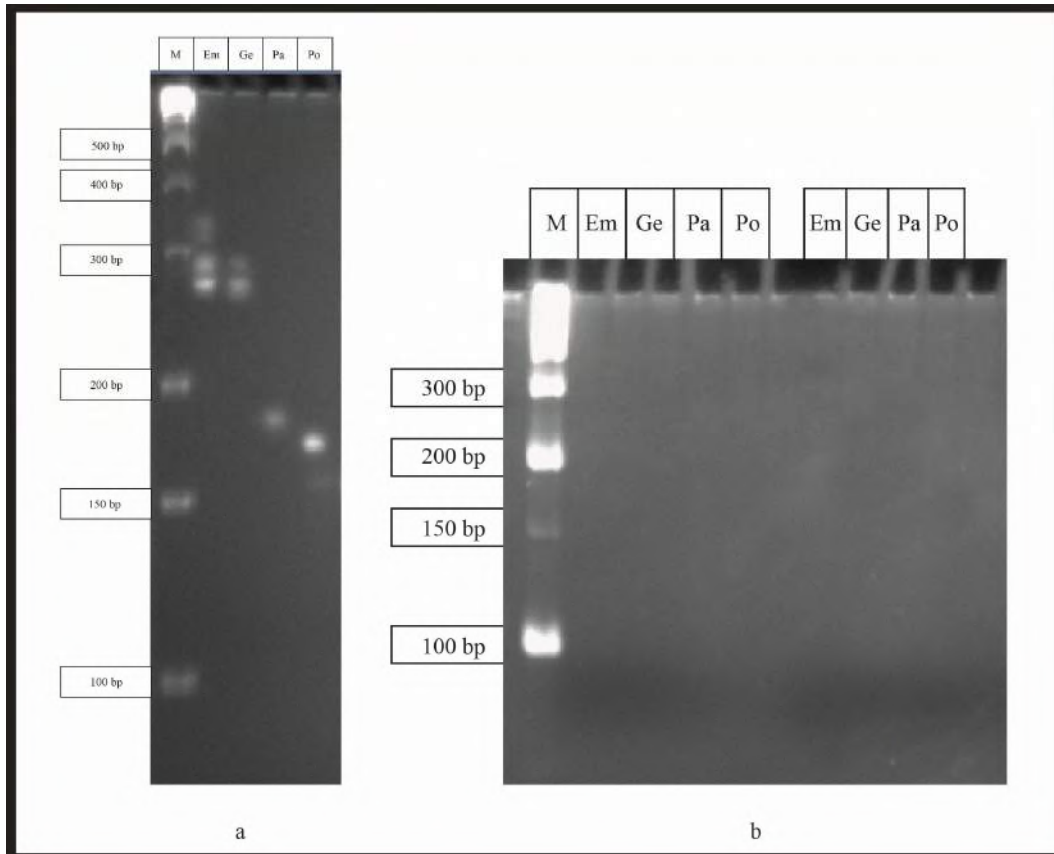
Tabel 4. Primer yang digunakan dan jumlah pita DNA hasil amplifikasi pada 4 spesies *Marchantia*

No.	Nama primer	Susunan basa	Kisaran (bp)	Referensi
1.	JQ812721 (F+R)	F:TCCAGACGGACCCGCAATTT	179	Jessica, <i>et al.</i> 2012
		R:TGCACCACGCCCTTCTCTGT		
2.	JQ812718 (F+R)	F:CGGAGCGATTTCAGGGCACACC	173	Jessica, <i>et al.</i> 2012
		R:AGCGGGTGGAGCGAGCGATT		
3.	JQ812714 (F+R)	F:CCCAGCAGCCCTCCAGAAGT	286	Jessica, <i>et al.</i> 2012
		R:CACAACGCGCAACTGCACTG		
4.	JQ307463 (F+R)	F:GGATTGATATTGGCATTGAGTT	139-190	Xinchunet <i>al.</i> 2013
		R:TGGAATGTCACATTGTTTAGGA		
5.	JQ307442 (F+R)	F:CCTCGGGTGATCGATTCTTA	117	Xinchunet <i>al.</i> 2013
		R:CGTTCAGCTCCTCGTAGTCC		

Amplifikasi PCR-SSR terhadap total DNA genom dari ke empat spesies *Marchantia* dengan menggunakan lima pasang primer SSR (JQ812721F dan JQ812721R, JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R dan JQ307463F, JQ307463R dan JQ307442F dan JQ307442R) menghasilkan pita DNA yang dapat dibaca pada software GelAnalyzer. Jumlah pita DNA yang teramplifikasi sesuai dengan ukuran ladder berkisaran antara 2 (JQ812721F dan JQ812721R, JQ812714F dan JQ812714R) hingga 3 (JQ812718F dan JQ812718R) dengan ukuran pita 179 bp (JQ812721F dan JQ812721R), 173 bp (JQ812718F dan JQ812718R), 286 bp (JQ812714F dan JQ812714R). Tiga primer yang dapat mengamplifikasi pita DNA SSR pada empat spesies *Marchantia* Gambar 5 (a, b), dan Gambar 6 (a). Dua primer yang tidak dapat mengamplifikasi empat spesies *Marchantia* Gambar 6 (b). Pita SSR yang teramplifikasi sempurna dapat dilihat dengan kotak berwarna merah.



Gambar 5. Pita DNA ISSR hasil amplifikasi dengan 2 pasang primer JQ812721 (a) Profil sidik ISSR empat spesies *Marchantia* dengan menggunakan primer JQ812721 (F+R) dengan kisaran 179 bp; (b) Profil sidik ISSR empat spesies *Marchantia* dengan menggunakan primer JQ812718 (F+R) dengan kisaran 173 bp.



Gambar 6. Pita DNA ISSR hasil amplifikasi dengan 3 pasang primer JQ812714, JQ307463, dan JQ307442. (a) Profil sidik ISSR empat spesies *Marchantia* dengan menggunakan primer JQ812714 (F+R) dengan kisaran 286 bp; (b) Profil sidik ISSR empat spesies *Marchantia* dengan menggunakan primer JQ307463 (F+R) dan JQ307442 (F+R).

Dari profil sidik SSR keempat aksesi lumut hati yang menggunakan lima pasang primer dapat menunjukkan tiga primer yang dapat mengamplifikasi dengan baik yaitu JQ812721F dan JQ812721R, JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R sedangkan dua primer JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R tidak dapat mengamplifikasi dengan baik. Hasil penelitian pada primer JQ812721F, JQ812721R menunjukkan bahwa dari 4 sample lumut hati produk PCR teridentifikasi dua alel yang teramplifikasi sempurna dan dua alel teramplifikasi tidak sempurna. Hasil amplifikasi sempurna terdapat pada spesies *Marchantia paleacea* dan *Marchantia polymorpha* dan hasil amplifikasi yang tidak sempurna terdapat pada spesies *Marchantia emarginata* dan *Marchantia geminatay* yang dapat dilihat pada gambar 6 (a).

Hasil penelitian pada primer JQ812718F, JQ812718R menunjukkan bahwa dari 4 sample lumut hati produk PCR teridentifikasi tiga alel. Primer ini dapat mengamplifikasi sempurna tiga alel yang terdapat pada spesies *Marchantia geminata*, *Marchantia paleacea* dan *Marchantia polymorpha*. dan tidak dapat mengamplifikasi secara sempurna alel pada spesies *Marchantia emarginata* yang dapat dilihat pada gambar 6 (b).

Hasil penelitian pada primer JQ812714F, JQ812714R menunjukkan bahwa dari 4 sample lumut hati produk PCR teridentifikasi dua alel yang teramplifikasi sempurna dan dua alel lainnya teramplifikasi tidak sempurna. Hasil amplifikasi sempurna terdapat pada spesies *Marchantia emarginata* dan *Marchantia geminate* dan hasil amplifikasi tidak sempurna terdapat pada spesies *Marchantia paleacea* dan *Marchantia polymorpha* yang dapat dilihat pada gambar 5a. Hasil penelitian pada primer JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R tidak dapat mengamplifikasi dari 4 sample lumut hati produk PCR sehingga pita DNA tidak dapat dibaca (Gambar 5b).

Dari hasil PCR pada tiga primer yang dapat mengamplifikasi sempurna menunjukkan hasil pita yang berbeda pada tiap spesies lumut hati atau polimorfis. Sedangkan dua primer yang tidak dapat mengamplifikasi sample tidak teridentifikasi pita DNA. Pita SSR yang teramplifikasi sempurna pada tiga primer terdapat pada kisaran (bp) yang sesuai dengan referensi dapat diskoring dan dihitung nilai PIC (*Polymorphism Information Content*). Teknik SSR pada penelitian ini menggunakan primer yang telah diuji dengan pengenceran yang tepat. Dari hasil PCR yang dilakukan didapatkan pola pita yang berbeda-beda atau polimorfik. Skoring dilakukan dengan melihat pola pita hasil PCR yang sudah dianalisis menggunakan software GelAnalyzer kemudian dimasukkan kedalam program Microsoft Excel untuk menghitung PIC (*Polymorphism Information Content*). Dari 3 primer yang polimorfis yang menghasilkan 1 sampai 7 alel. Pita SSR yang muncul diberi nilai "1" dan yang tidak muncul diberi nilai "0" dilihat pada Gambar 5 Presentase polimorfis tiap primer pun berdeda-beda. Nilai PIC tiga primer yang dapat mengamplifikasi berkisar antara 0,75-0,9375 Tabel 6.

Tabel 5. Hasil skoring dari hasil sidik fragmen DNA

JQ812721 (F+R)				JQ812718 (F+R)				JQ812714 (F+R)			
Em	Ge	Pa	Po	Em	Ge	Pa	Po	Em	Ge	Pa	Po
1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0
0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0

0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1
								1	0	0	0
								1	0	0	0

Tabel 6. Nilai PIC tiap primer pada 4 spesies Marchantia

No.	Nama primer	Nilai PIC	Keterangan
1.	JQ812721 (F+R)	0,90	Sangat informatif
2.	JQ812718 (F+R)	0,64	Sangat informatif
3.	JQ812714 (F+R)	0,91	Sangat informatif
4.	JQ307463 (F+R)	0	-
5.	JQ307442 (F+R)	0	-

Analisis pita DNA dan nilai PIC menunjukkan diantara 5 pasang primer SSR yang digunakan terdapat 3 primer yang dapat mengamplifikasi 4 spesies lumut hati. Primer-primer yang informatif ditunjukkan oleh nilai PIC $\geq 0,5$ (Zhang *et al.*, 2011). Nilai PIC tertinggi terdapat pada pasangan primer JQ812714F dan JQ812714R sebesar 0,91. Nilai PIC pada pasangan primer JQ812721F dan JQ812721R 0,90 dan primer JQ812718F dan JQ812718R memiliki nilai primer paling rendah dengan nilai 0,64. Dua pasang primer lainnya JQ307463F dan JQ307463R serta JQ307442F dan JQ307442R tidak dapat mengamplifikasi empat sample lumut hati karena tidak terdapatnya pita DNA.

C. Pembahasan

Hasil visualisasi PCR-SSR dari lima primer yang digunakan tiga primer mampu mengamplifikasi empat sampel yang digunakan dan dua primer tidak dapat mengamplifikasi empat sample yang digunakan. *Cetyl Trimetil Ammonium Bromide* (CTAB) merupakan metode yang umum digunakan dalam ekstraksi DNA genom tanaman yang banyak mengandung polisakarida dan senyawa polifenol (Ardiana, 2009). Pada dasarnya isolasi DNA genom terdiri dari tiga langkah utama, yaitu perusakan dinding sel, (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, sertapemurnian DNA (Jung Wen, 2014). Langkah-langkah tersebut menggunakan zat-zat kimia yang memiliki fungsi khusus.

Ujikuualitas dan kuantitas terhadap pengisolasian DNA penting untuk proses manipulasi semua zat. Konsentrasi DNA dan kemurniannya dapat ditentukan dengan menggunakan nanodrop yang terhubung dengan komputer.

Hasil pengujian kuantitas dengan nanodrop menunjukkan hasil yang cukup baik. Empat aksesori memperoleh DNA genom dengan kemurnian dan konsentrasi yang tinggi. Primer yang digunakan pada penelitian ini adalah primer JQ812721F dan JQ812721R, JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R dan JQ307463F, JQ307463R dan JQ307442F dan JQ307442R. Dari lima primer yang digunakan tiga primer berhasil mengamplifikasi DNA genom sedangkan dua primer lainnya tidak dapat mengamplifikasi DNA genom. Pada saat pengujian kualitas DNA empat spesies lumut hati mendapatkan hasil yang tidak signifikan, hasil elektroforesis menunjukkan tidak jelasnya pita DNA empat spesies lumut hati tersebut. Pengukuran dengan menggunakan nanodrop menghasilkan angka yang cukup bagus, terdapat DNA dan jumlah yang didapat sedang. Hasil uji kualitas dan kuantitas yang tidak terlalu bagus tidak menjamin bahwa isolasi genom benar-benar gagal. Jika terdapat DNA dengan jumlah yang terlalu sedikit, maka hasil uji bisa menunjukkan hasil negative karena adanya keterbatasan minimum alat. DNA genom yang sangat sedikit sehingga sulit terdeteksi oleh alat tetap dapat digunakan sebagai template dalam proses PCR, PCR memiliki kemampuan untuk memperbanyak fragmen-fragmen DNA yang sangat powerful. PCR hanya membutuhkan sedikit template untuk dapat memperbanyak fragmen-fragmen DNA tertentu (Muladno, 2010).

Secara umum, hasil amplifikasi total DNA genom sampel *Marchantia* dengan menggunakan primer terpilih menghasilkan serangkaian pita-pita, Hasil amplifikasi dengan lima pasang primer SSR menghasilkan beberapa pita fragmen DNA. Pita-pita ini ada yang bersifat polimorfik dan monomorfik. Pita-pita tersebut dapat diskor untuk mendapatkan nilai PIC. Nilai PIC merupakan standar untuk mengevaluasi marka genetik berdasarkan pita DNA hasil amplifikasi PCR, nilai PIC terbagi tiga yaitu $PIC > 0,5$ = sangat informatif, $0,25 > 0,5$ = sedang, dan $PIC 0,25$ = rendah (Carsono, dkk., 2014). Maka semakin besar nilai PIC sebuah primer maka menunjukkan primer tersebut baik digunakan sebagai penanda molekuler. Primer JQ812714F dan JQ812714R merupakan primer yang paling baik digunakan pada empat spesies lumut hati karena memiliki nilai PIC yang tinggi yaitu 0,91. Pasangan primer JQ812721F dan JQ812721R memiliki nilai PIC 0,90 dan pasangan primer JQ812718F dan

JQ812718R memiliki nilai PIC yang paling rendah yaitu 0,64. Sedangkan dua pasang primer JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R tidak dapat mengamplifikasi empat spesies lumut hati. Ini mungkin disebabkan oleh program PCR yang tidak tepat. Hal lain yang dapat menyebabkan sampel DNA lumut hati tidak dapat teramplifikasi dikarenakan primer yang tidak sesuai dengan DNA lumut hati yang diteliti karena tidak terdapat kecocokan antara DNA lumut hati dengan sekuens primer yang digunakan (Carsono, dkk., 2014).

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan analisis ISSR dengan menggunakan lima pasang primer ISSR pada penelitian ini, terdapat tiga primer (JQ812721F dan JQ812721R; JQ812718F dan JQ812718R, JQ812714F dan JQ812714R) yang dapat mengamplifikasi empat spesies *Marchantia*. Dan dua primer lainnya (JQ307463F dan JQ307463R, JQ307442F dan JQ307442R) tidak dapat mengamplifikasi empat spesies *Marchantia*.
2. Karakterisasi lima pasang primer ISSR pada empat aksesori *Marchantia* yang digunakan dalam penelitian menghasilkan tiga primer yang dapat mengamplifikasi sample *Marchantia* yaitu primer JQ812721 (F+R) dapat mengamplifikasi sample Em dan Ge. Primer JQ812718 (F+R) dapat mengamplifikasi sample Ge, Pa, dan Po. JQ812714 (F+R) dapat mengamplifikasi sample Pa dan Po. Primer JQ307463 (F+R) dan JQ307442 (F+R) tidak dapat mengamplifikasi empat sample *Marchantia*.
3. Hasil perhitungan nilai PIC menunjukkan bahwa primer JQ812714 (F+R) memiliki nilai tertinggi sebesar 0,91 menunjukkan primer ini sangat informatif. Primer JQ812721 (F+R) memiliki nilai PIC sebesar 0,90 menunjukkan primer ini sangat informatif dan Primer JQ812718 (F+R) memiliki nilai PIC terendah sebesar 0,64 menunjukkan tiga primer ini sangat informatif digunakan pada empat sampel *Marchantia* karena nilai PICnya lebih dari 0,5.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan peneliti memberikan saran kepada pembaca sebagai berikut:

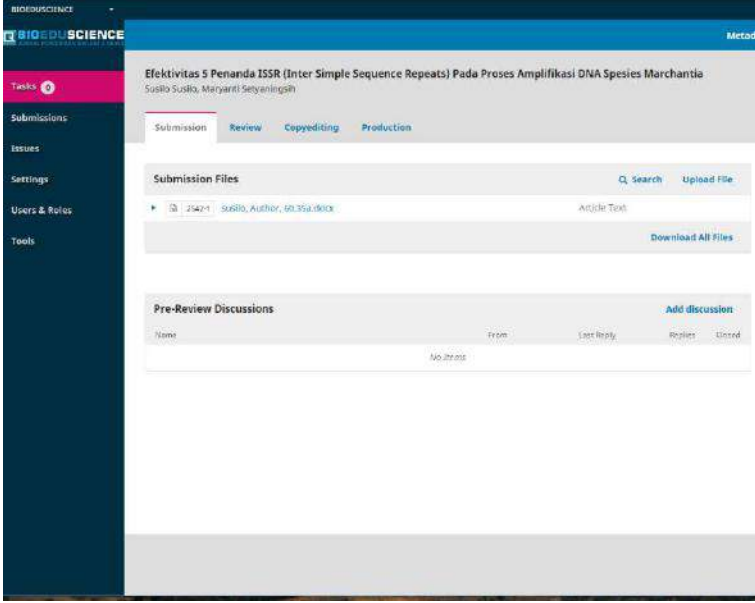
1. Penelitian ini merupakan penelitian awal yang perlu dilanjutkan dengan penggunaan lebih banyak primer ISSR yang spesifik dan spesies *Marchantia* yang juga lebih banyak sehingga selanjutnya bisa dikembangkan sebagai DNA fingerprint genus *Marchantia*.

2. Perlunya sekuensing diperlukan untuk mengkonfirmasi daerah yang diamplifikasi oleh marka ISSR.

BAB VI LUARAN PENELITIAN

Luaran yang akan dihasilkan dalam penelitian ini adalah artikel ilmiah yang akan dipublikasikan pada jurnal nasional. Jurnal yang menjadi target publikasi adalah sebagai berikut:

IDENTITAS JURNAL

1	Nama Jurnal	BIOEDUSCIENCE
2	Website Jurnal	https://journal.uhamka.ac.id/index.php/bioeduscience
3	Status Makalah	Submission
4	Jenis Jurnal	Jurnal Nasional
4	Tanggal Submit	20 April 2018
5	Bukti Screenshot submit	

IDENTITAS SEMINAR

1	Nama Jurnal	
2	Website Jurnal	
3	Status Makalah	
4	Jenis Prosiding	
4	Tanggal Submit	
5	Bukti Screenshot submit	

IDENTITAS HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL

1	Nama Karya	
2	Jenis HKI	
3	Status HKI	
4	No Pendaftaran	

DAFTAR PUSTAKA

- Banting, M.D.M., Aquino, D.J.C., David, E.S., Undan, J.R. 2017. Phylogenetic Analysis of Liverworts (Marchantiophyta) in Imugan Falls, Santa Fe, Nueva Vizcaya, Philippines Using rbcL Gene Marker. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.* Vol.6(1):81-88.
- Bowman, J. L., Araki, T. & Kohchi, T. 2016. Marchantia: Past, Present and Future. *Plant Cell Physiol.* Vol.57(2):205–209. [doi:10.1093/pcp/pcw023](https://doi.org/10.1093/pcp/pcw023).
- Brzyski, J.R., Adams, K. L., Walter, C. M., Gale, K. H. & Mcletchie, D.N. 2012. Characterization of 12 Polymorphic Microsatellite Markers in the Liverwort *Marchantia Inflexa* (Marchantiaceae). *American Journal of Botany*: e440–e442. [doi:10.3732/ajb.1200187](https://doi.org/10.3732/ajb.1200187).
- Celka, Z., Szczecińska, M., & Sawicki, J. 2010. Genetic Relationships Between Some of *Malva* Species as Determined with ISSR and ISJ Markers. *Biodiv. Res. Conserv.* Vol. 19: 23-32. [doi:10.2478/v10119-010-0006-2](https://doi.org/10.2478/v10119-010-0006-2).
- Demir, K., Bakır, M., Sarıkamis, G., dan Acunalp, S. 2010. Genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena*) germplasm from Turkey assessed by SSR and RAPD markers. *Genet. Mol. Res.* 9 (3): 1568-1576.
- Gradstein S. R. 2011. *Guide to the liverworts and hornworts of Java*. SEAMEO-BIOTROP. Bogor
- Hannachi, H., Breton, C., Msallem, M., Hadj, S. B. E., Gazzah, M. E., & Bervillé, A. 2010. Genetic Relationships between Cultivated and Wild Olive Trees (*Olea europaea* L. var. *europaea* and var. *sylvestris*) Based on Nuclear and Chloroplast SSR Markers. *Natural Resources.* Vol.1: 95-103. [doi:10.4236/nr.2010.12010](https://doi.org/10.4236/nr.2010.12010).
- Heinrichs, J., Dong, S., Verwimp, A.S., Pocs, T., Feldberg, K., et al. 2013. Molecular Phylogeny of the Leafy Liverwort *Lejeunea* (Porellales): Evidence for a Neotropical Origin, Uneven Distribution of Sexual Systems and Insufficient Taxonomy. *PLoS ONE.* Vol.8(12):e82547. [doi:10.1371/journal.pone.0082547](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082547).
- Heinrichs, J., Scheben, A., Lee, G.E., Vána, J., Verwimp, A.S., Krings, M., Schmidt, A.R. 2015. Molecular and Morphological Evidence Challenges the Records of the Extant Liverwort *Ptilidium pulcherrimum* in Eocene Baltic Amber. *PLoS ONE.* Vol.10(11):e0140977. [doi:10.1371/journal.pone.0140977](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140977)
- Hirano, R. M., Cruz, C., González, B. A. A., Íñiguez, J. C., Shirata, K., & Watanabe, K. N. 2015. Isolation and Characterization of Novel Microsatellite Markers in Chayote [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.]. *American Journal of Plant Sciences.* Vol. 6: 2033-2041. [doi: 10.4236/ajps.2015.613203](https://doi.org/10.4236/ajps.2015.613203).
- Ichinose, Mizuho & Sugita, Mamoru. 2017. RNA Editing and Its Molecular Mechanism in Plant Organelles. *Genes.* Vol.8(5):1-15. [doi:10.3390/genes8010005](https://doi.org/10.3390/genes8010005).
- Laura R. E. B., Nyree J. C., Zerega, H., Thorsten L., Michael S., Ekaphan K., Matthew J. V. K., John J. E. & Norman J. W. 2017. Molecular, morphological, and biogeographic perspectives

- on the classification of Acrobolboideae (Acrobolbaceae, Marchantiophyta). *Phytotaxa*. Vol.319 (1): 056–070. doi.org/10.11646/phytotaxa.319.1.2
- Marcoux, S. S., Proust, H., Dolan, L. & Langdale, J. A. 2015. Identification of Reference Genes for Real-Time Quantitative PCR Experiments in the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *PLoS ONE*. Vol.10 (3):e0118678. [doi:10.1371/journal.pone.0118678](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118678).
- Milewicz, M., & Sawicki, J. 2011. Molecular Identification of Sex in Dioecious Moss *Nyholmiella obtusifolia* (Orthotrichaceae) on the Basis of ISSR Markers. *The Journal of Silesian Museum in Opava*. Vol. 60: 1-6. [doi:10.2478/v10210-011-0001-z](https://doi.org/10.2478/v10210-011-0001-z).
- Mo, X., Gao, J., & Gao, L. 2013. Characterization of Microsatellite Markers and Their Application to Genetic Diversity Analysis of *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* from Yunnan, China. *American Journal of Plant Sciences*. Vol. 4: 1427-1434. [doi:10.4236/ajps.2013.47174](https://doi.org/10.4236/ajps.2013.47174).
- Najafi, F., Mardi, M., Fakheril, B., Pirseyedi S. M., Mehdinejad, N., & Farsi, M. 2014. Isolation and Characterization of Novel Microsatellite Markers in Walnut (*Juglans regia* L.). *American Journal of Plant Sciences*. Vol.5: 409-415. [doi: 10.4236/ajps.2014.53054](https://doi.org/10.4236/ajps.2014.53054)
- Okoye, M, N., Uguru, M. I., Bakoumé, C., Singh, R., & Okwuagwu, C. O. 2016. Assessment of Genetic Diversity of NIFOR Oil Palm Main Breeding Parent Genotypes Using Microsatellite Markers. *American Journal of Plant Sciences*. Vol. 7: 218-237. [doi:10.4236/ajps.2016.71022](https://doi.org/10.4236/ajps.2016.71022).
- Presti, F. T., & Wasko, A. P. 2014. A Review of Microsatellite Markers and their Application on Genetic Diversity Studies in Parrots. *Open Journal of Genetics*. Vol. 4: 69-77. [doi:10.4236/ojgen.2014.42010](https://doi.org/10.4236/ojgen.2014.42010).
- Sri Yulita, Kusumadewi. 2013. Keragaman Genetik Beberapa Aksesi Jagung dari Nusa Tenggara Timur Berdasarkan Profil Inter Short Sequence Repeat (ISSR). *Jurnal Biologi Indonesia*. Vol. 9(2): 255-253
- Wang, A., Wujisguleng, W., Liu, Y., Liu, Y., & Long, C. 2013. Isolation and Characterization of Polymorphic Microsatellite Loci for the Valuable Medicinal Plant *Astragalus mongholicus*. *Open Journal of Genetics*. Vol.3: 89-92. [doi: 10.4236/ojgen.2013.32011](https://doi.org/10.4236/ojgen.2013.32011).
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi*. Vol. 3(2):41-52

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Dokumentasi Empat Sampel Spesies *Marchantia* yang ditemukan



1. *Marchantia Emarginata*



2. *Marchantia Geminata*



3. *Marchantia paleaea*



4. *Marchantia polymorpha*

Lampiran 2

Dokumentasi Alat dan Bahan Selama Penelitian



1. Timbangan Digital



2. Stirer



3. Centrifuge



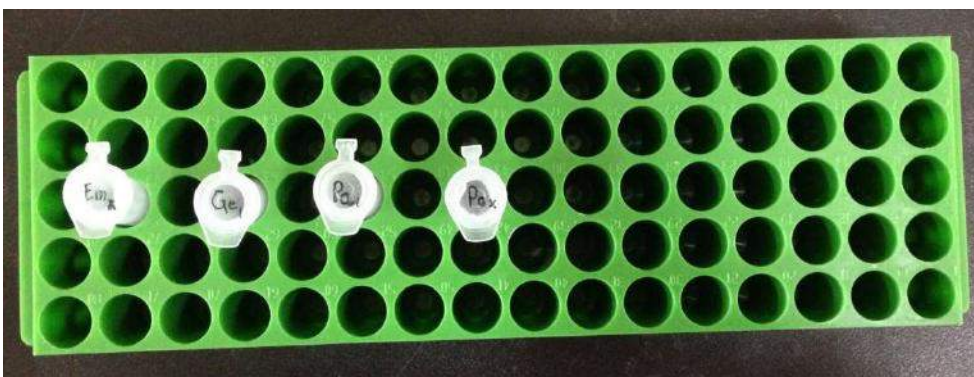
4. Mikropipet



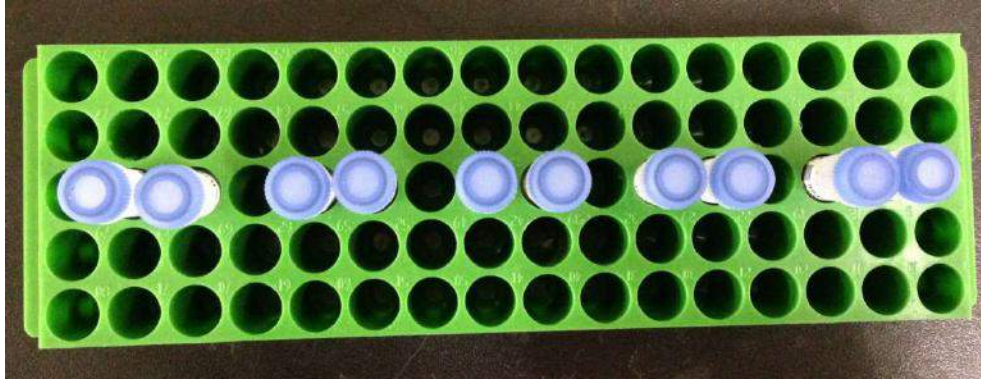
5. Mesin PCR



6. Chemidoc



7. Sampel Lumut

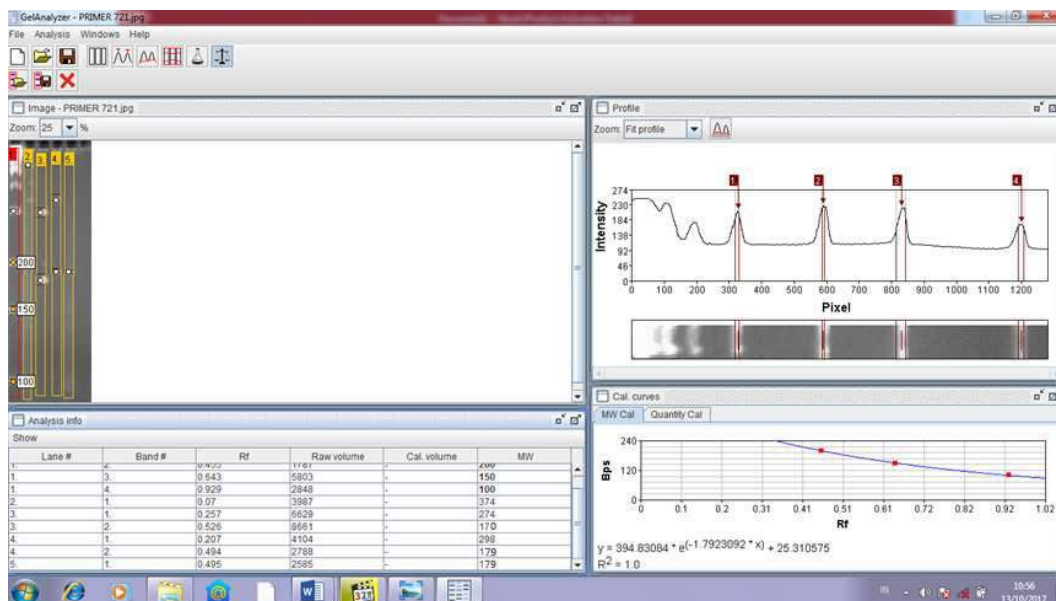
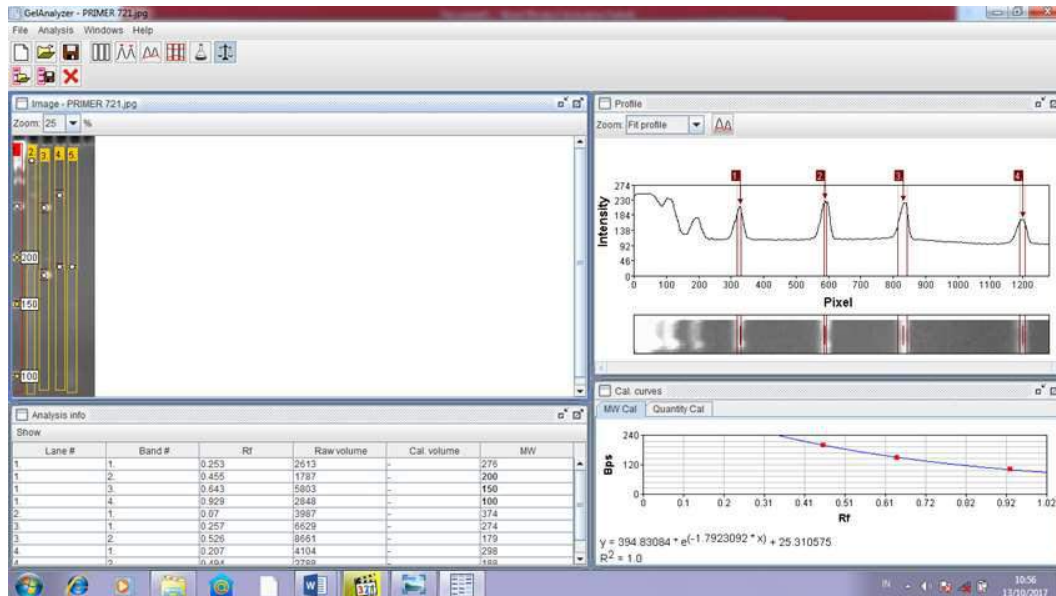


8. Primer SSR

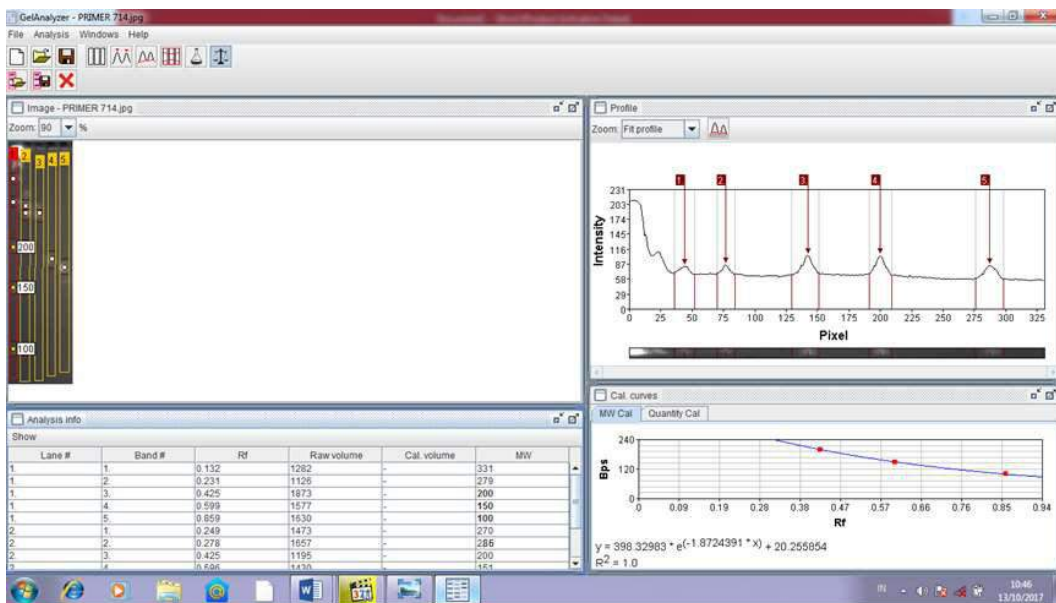
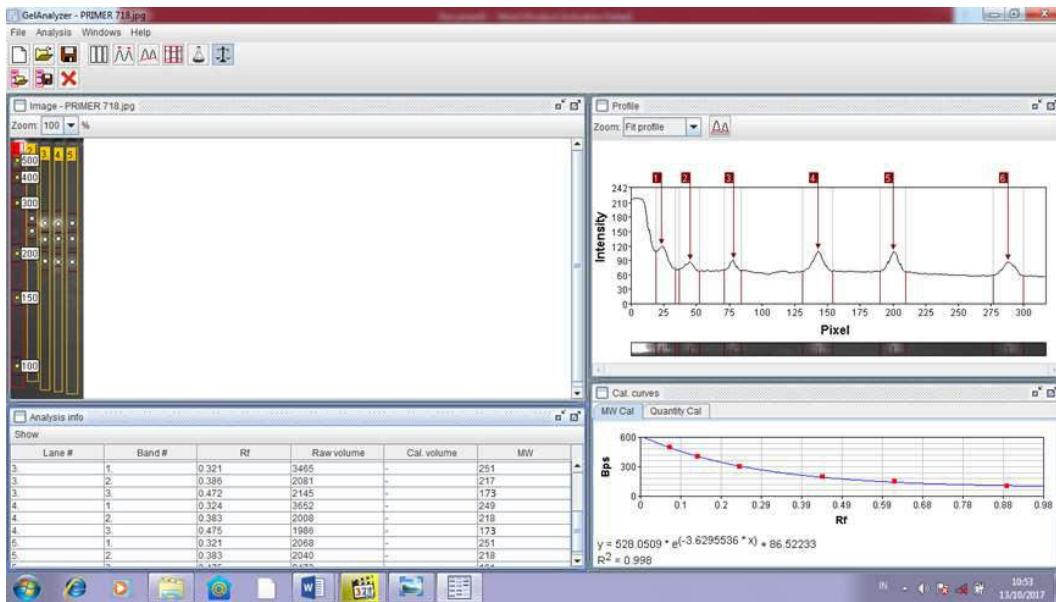
Lampiran 3

Hasil Analisis Pita DNA dengan Menggunakan Software GelAnalyzer

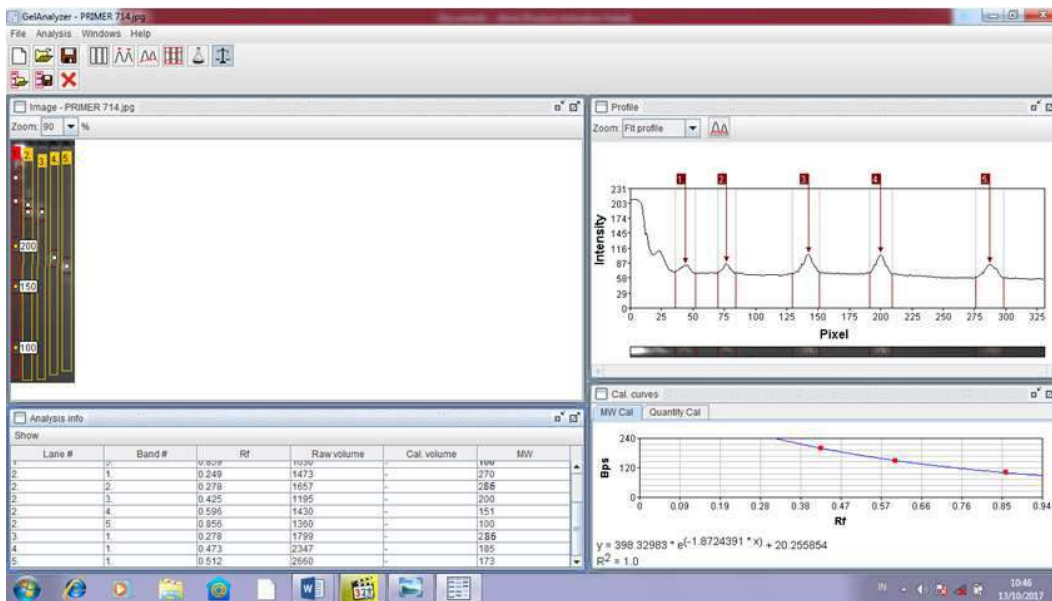
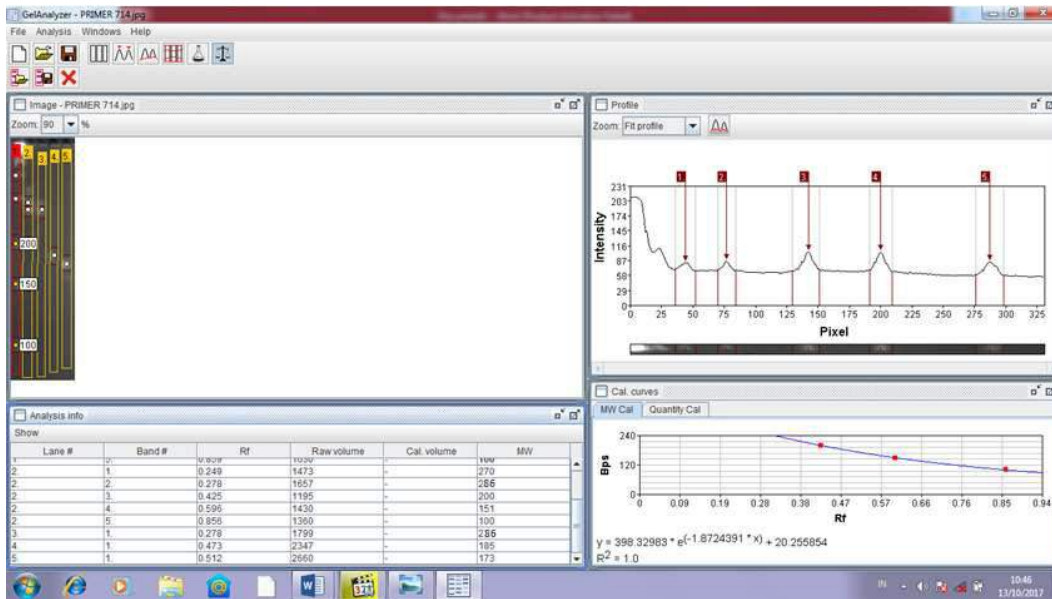
Primer JQ812721F dan JQ812721R



Primer JQ812718F dan JQ812718R



Primer JQ812714F dan JQ812714R



Lampiran 4

Hasil Perhitungan Nilai PIC dengan Software Microsoft Excel

	Genotype 1	Genotype 2	Genotype 3	Genotype 4	Total	Total/Genotype	(Total/Genotype) ²	1-(Total/Genotype) ²
Primer 721	1	0	0	0	1	0,25	0,0625	0,9375
	0	0	1	0	1	0,25	0,0625	0,9375
	0	1	0	0	1	0,25	0,0625	0,9375
	0	0	1	1	2	0,5	0,25	0,75
	0	1	0	0	1	0,25	0,0625	0,9375
								0,9

1. Nilai PIC primer JQ812721F dan JQ812721R

	Genotype 1	Genotype 2	Genotype 3	Genotype 4	Total	Total/Genotype	(Total/Genotype) ²	1-(Total/Genotype) ²
Primer 718	1	0	0	0	1	0,25	0,0625	0,9375
	0	1	1	1	3	0,75	0,5625	0,4375
	1	0	0	0	1	0,25	0,0625	0,9375
	0	1	1	1	3	0,75	0,5625	0,4375
	0	1	1	1	3	0,75	0,5625	0,4375
								0,6275

2. Nilai PIC primer JQ812714F dan JQ812718R

	Genotype 1	Genotype 2	Genotype 3	Genotype 4	Total	Total/Genotype	Total/Genotype 2
Primer 714	1	0	0	0	1	0,25	0,9375
	1	1	0	0	2	0,5	0,75
	1	0	0	0	1	0,25	0,9375
	0	0	1	0	1	0,25	0,9375
	0	0	0	1	1	0,25	0,9375
	1	0	0	0	1	0,25	0,9375
	1	0	0	0	1	0,25	0,9375
							0,918714286

3. Nilai PIC primer JQ812714F dan JQ812718