

# KERAGAMAN JENIS SALAK BANGKALAN {*Salacca Zalacca* (Gaertner) Voss} MENGUNAKAN PENANDA MORFOLOGI DAN ANALISIS ISOZIM

## SALAK BANGKALAN DIVERSITY {*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss} USING MORPHOLOGICAL MARKERS AND ISOZYME ANALYSIS

Yuliamita Ariestin<sup>1)</sup>, Kuswanto dan Sumeru Ashari

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur, Indonesia  
<sup>1)</sup>E-mail: yuliamitaariestin@rocketmail.com

### ABSTRAK

Kabupaten Bangkalan merupakan salah satu daerah yang memiliki potensi cukup besar dalam sektor pertanian khususnya salak. Keragaman tanaman salak yang ada di Kabupaten Bangkalan perlu diidentifikasi untuk melihat sifat dan keragaman genetik. Untuk tujuan pemuliaan tanaman salak, telah dilakukan penelitian identifikasi tanaman pada bulan Februari sampai bulan Maret 2014. Berdasarkan hasil survey dan wawancara dengan petani telah ditemukan enam jenis tanaman salak antara lain salak Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, dan Senase. Jenis-jenis salak tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan metode morfologi dan isozim. Pengamatan morfologi kualitatif berdasarkan Radford (1986) dan Departemen Pertanian Republik Indonesia (2006), sedangkan analisis isozim menggunakan metode Wendel dan Weeden (1989) dan beberapa modifikasi menurut prosedur Fajriani (2008). Pengamatan morfologi dilakukan di Desa Bilaporah, Kecamatan Socah, Kabupaten Bangkalan dan analisis isozim di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang. Analisis isozim menggunakan enzim esterase dan peroksidase. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan hasil dari 2 metode yang digunakan. Berdasarkan karakter morfologi, salak Bangkalan memiliki jarak genetik sebesar 18-25%, sedangkan analisis isozim menghasilkan jarak genetik yang lebih longgar, yaitu 0-70%. Dua jenis enzim yang digunakan juga menunjukkan hasil yang berbeda. Enzim Esterase mempunyai pola pita yang sama. Sedangkan enzim Peroksidase menunjukkan keragaman. Berdasarkan enzim Peroksidase terdapat 3

variasi pola pita. Pola pita I adalah Apel, Bunter, dan Cocor, pola pita ke-II adalah Kerbau dan Senase dan pola pita ke-III adalah Penjalin. Keragaman genetik kultivar-kultivar salak tersebut sesuai dengan sifat salak Bangkalan yang menyerbuk silang sehingga keturunannya akan berbeda satu sama lain.

Kata kunci : Salak Bangkalan, *Salacca Zalacca* (Gaertner) Voss, Morfologi kualitatif, Analisis Isozim.

### ABSTRACT

Bangkalan was one area that has large enough potential in agricultural sector, especially salak. The diversity of salak need to be identified to see the nature and genetic diversity. For the purpose of plant breeding programs, plant identification of salak has been carried out from February to March 2014. Based on the survey and interviews, it was found six types of salak including Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, and Senase. These six salak types were further analyzed by using morphological characters and isozyme analysis. Morphological traits according to Radford (1986) and Anonymous (2006). Meanwhile the isozyme analysis using Wendel and Weeden (1989) methods and some modifications according to Fajriani (2008). Exploration works were conducted in Bilaporah Village, District Socah, Bangkalan and isozyme analysis at the Central Science Laboratory (LSIH) University of Brawijaya. Isozyme analysis used two enzymes, Esterase and Peroxidase. The two methods used showed differences in the genetic distances. Based on morphological characters, salak

Bangkalan have genetic distance of 18-25%, while the isozyme analysis of genetic distances were more wide, which is 0-70%. Two types of enzymes used also showed different results. Esterase enzymes have the same banding pattern. While peroxidase enzymes showed 3 variations of banding pattern. The salak type for Banding pattern I were Apel, Bunter, and Cocor; banding pattern II including salak Kerbau and Senase and banding pattern III was Penjalin. The genetic diversity of salak cultivars in this research was due to the way of salak that cross pollinated with different pollen.

Keywords: Salak Bangkalan, *Salacca Zalacca* (Gaertner) Voss, Qualitative morphology, Isozyme analysis.

## PENDAHULUAN

Salak {*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss} merupakan salah satu buah tropis Indonesia. Buahnya banyak digemari masyarakat karena rasanya manis, renyah dan dapat dikonsumsi sebagai buah segar maupun diolah sebagai manisan. Buah salak Bangkalan mempunyai kekhasan tersendiri dibandingkan dengan jenis salak lainnya, yaitu memiliki kandungan air lebih banyak, sehingga apabila dikonsumsi akan terasa lebih segar (Nurhayati, 2008 *dalam* Fatimah dan Sucipto, 2011). Kabupaten Bangkalan merupakan salah satu daerah yang memiliki potensi cukup besar dalam sektor pertanian khususnya salak. Dari hasil survei dan wawancara berdasarkan respon petani di lokasi penelitian menggunakan pencirian morfologi buah terdapat 6 (enam) jenis tanaman salak dan belum diidentifikasi. Ke-6 jenis tanaman salak tersebut adalah Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, dan Senase. Tanaman salak yang bervariasi perlu diidentifikasi untuk melihat sifat dan keragaman genetik. Penanda morfologi dan analisis isozim merupakan penanda genetik yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi atau membedakan antar varietas tanaman. Namun keragaman secara morfologi belum tentu menunjukkan keragaman genetik yang berbeda. Menurut Aradya *et al.* (1994)

analisis isozim merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengklasifikasi koleksi plasma nutfah, karena isozim relatif stabil terhadap lingkungan dan umumnya polimorfik dan juga dapat dipertimbangkan untuk memperoleh informasi genetik dalam waktu singkat. Enzim merupakan protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis tanaman yang pengadaan dan pengaturannya dikontrol secara genetik (Shannon, 1986). Sifat genetik cenderung stabil terhadap perubahan lingkungan, sehingga penanda genetik dapat memberikan informasi yang relatif lebih akurat. Semakin tinggi tingkat keanekaragaman genetik dalam suatu populasi tanaman, akan semakin meningkatkan peluang keberhasilan perbaikan tanaman tersebut.

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Pengamatan morfologi dan pengambilan sampel (daun) tanaman salak Bangkalan dilaksanakan di kebun salak yang ada di Desa Bilaporah, Kecamatan Socah, Kabupaten Bangkalan dan analisis isozim dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Maret 2014.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kamera digital, gunting/ *cutter*, *ice box*, satu set alat elektroforesis, lemari es/ruang pendingin, nampan tempat pewarnaan, mortar dan pestel, tabung eppendorf, timbangan elektrik, gelas ukur, erlenmeyer. *blue tip*, *yellow tip*, dan penggaris. Bahan yang digunakan adalah 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan, yaitu Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, dan Senase. Sedangkan bahan kimia yang digunakan dalam analisis isozim adalah buffer pengestrak, nitrogen cair, gel poliakrilamida (separating gel 7% dan stacking gel 5%), *Reducing Sample Buffer* (RSB), aquades, kertas aluminium foil, serta pewarna Esterase (EST) dan Peroksidase (PER).

### **Pengamatan Morfologi Kualitatif**

Pengambilan data morfologi tanaman salak berpedoman pada Radford (1986) dan Departemen Pertanian Republik Indonesia (2006). Karakter morfologi yang diamati adalah karakter kualitatif pada tanaman salak betina, meliputi warna pupus, warna permukaan atas daun, warna permukaan bawah daun, ketebalan lapisan lilin, warna pelepah, bentuk pangkal daun, bentuk ujung daun, warna duri, ketajaman duri, kekerasan duri, bentuk duri, kerapatan duri, warna seludang bunga, bentuk seludang bunga, warna mahkota bunga, warna kulit buah matang, bentuk buah, warna daging buah, rasa buah, dan tekstur daging buah. Setiap jenis tanaman diamati 1 (satu) sampel, karena tanaman salak Bangkalan diperbanyak melalui cangkok, sehingga semua tanaman mirip/ identik dengan induknya.

### **Pengambilan Sampel (Daun Salak)**

Sampel daun yang digunakan ialah daun muda dari 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan (salak betina). Menurut Lisdiyanti *et al.* (2003) material dari daun muda lebih terlihat variasi keragaman penampakan pola pita. Pengambilan sampel dilakukan pagi hari pukul 05.00-06.00 WIB. Sampel daun dicuci dengan aquades atau air bersih lalu dibungkus tissu basah dan dimasukkan dalam plastik, kemudian diberi label dan disimpan dalam *ice box* pada suhu 2<sup>o</sup>C-4<sup>o</sup>C. Dilaboratorium sampel daun dipindahkan ke dalam lemari es untuk digunakan sebagai bahan ekstraksi enzim.

### **Analisis Isozim**

Masing-masing sampel daun salak sebanyak 0,3 g dilumatkan dan dilarutkan dalam 0,8 ml buffer ekstraksi. Setelah itu, sampel di inkubasi pada suhu 0-2 °C selama 1 jam dan di sentrifugasi dalam suhu dingin 4<sup>o</sup>C dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit untuk mendapatkan supernatan. Selanjutnya supernatan dielektroforesis dengan tegangan listrik 20 mA selama 3-4 jam. Gel yang telah dielektroforesis selanjutnya direndam dan dalam larutan pewarna esterese dan peroksidase. Setelah terbentuk pita, gel

dicuci dengan aquades steril. Gel yang telah diwarnai selanjutnya difiksasi dan didokumentasikan (Wendel dan Weeden, 1989).

### **Analisis Data**

Data hasil karakterisasi morfologi kualitatif disajikan secara deskriptif. Selanjutnya data diterjemahkan menjadi data biner, nilai 1 (satu) untuk fenotip yang diekspresikan dan nilai 0 (nol) untuk fenotip yang absen. Demikian pula pada analisis isozim, data biner ditentukan berdasarkan kemunculan pita. Nilai 0 untuk genotipe (pita) yang tidak hadir dan nilai 1 untuk nilai genotipe yang hadir. Berdasarkan pada data biner pola pita isozim maupun data morfologi dianalisis menggunakan *Cluster Simple Matching Coefficient Analysis* dengan metode *Unweighted Pair Group Methode with Arithmetic Average* (UPGMA) pada program komputer *Multi Variate Statistical Package* (MVSP) dan hasilnya disajikan dalam bentuk dendogram. Dendogram yang dihasilkan menunjukkan tingkat kemiripan atau nilai similaritas antar sampel dari jenis-jenis tanaman salak Bangkalan. Koefisien persamaan menggunakan skala nilai 0,00 s.d. 1,00. Nilai 1,00 menunjukkan nilai persamaan 100% yang berarti juga nilai jarak genetiknya 0,00.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Morfologi Kualitatif**

Data morfologi kualitatif digunakan untuk mengidentifikasi tanaman salak berdasarkan sifat-sifat yang terekspresi dalam fenotipe tanaman. Selain itu, untuk mengetahui kedekatan kekerabatan dan tingkat kemiripan genetik antar tanaman salak Bangkalan. Berdasarkan pengamatan morfologi kualitatif, ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki karakter kualitatif yang beragam. Keragaman tersebut meliputi, warna pupus, warna permukaan atas daun, warna permukaan bawah daun, ketebalan lapisan lilin permukaan bawah daun, kekerasan daun, bentuk duri, kerapatan duri, warna seludang bunga, warna mahkota bunga, warna kulit

buah matang, bentuk buah, warna daging buah, rasa buah dan tekstur daging buah.

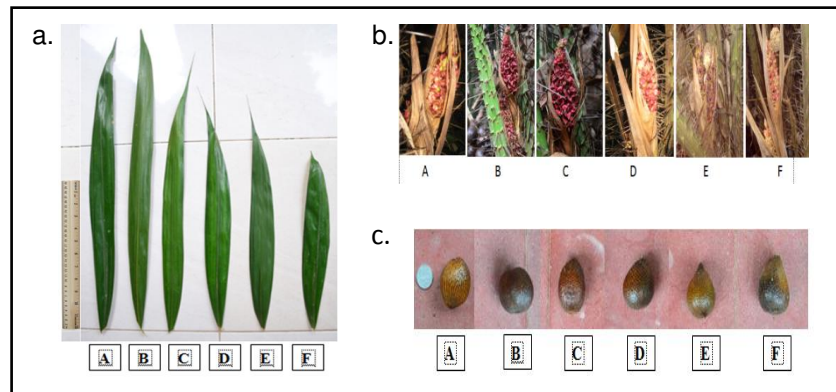
Sedangkan karakter kualitatif meliputi warna pelepah, bentuk pangkal daun, bentuk ujung daun, pelipatan tepi helai daun, warna duri, ketajaman duri, kekerasan duri, duri mudah lepas, dan bentuk seludang bunga pada ke-6 (enam)

jenis tanaman salak Bangkalan pada umumnya seragam. Hasil pengamatan morfologi kualitatif tanaman salak Bangkalan meliputi daun, duri, bunga, dan buah berturut-turut disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

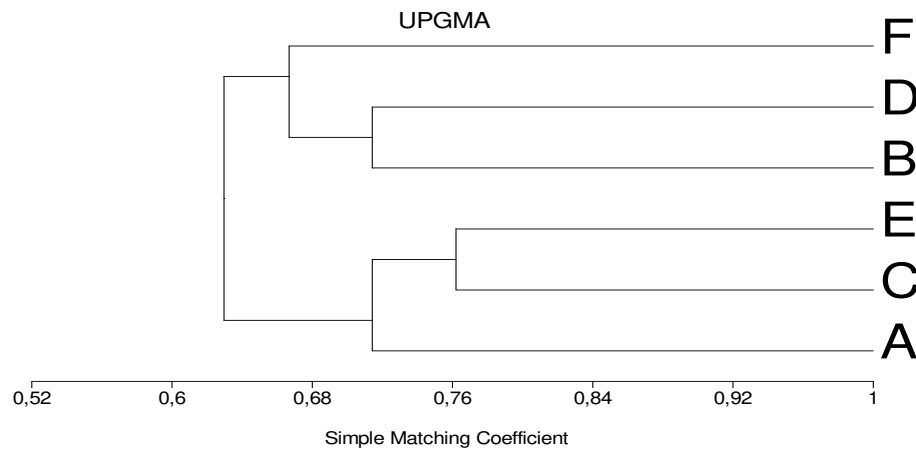
**Tabel 1** Hasil Pengamatan Morfologi Kualitatif Tanaman Salak Bangkalan

Ciri Morfologi	Jenis Salak Bangkalan					
	A	B	C	D	E	F
Warna pupus	HK	CK	HK	CK	HK	HK
Warna permukaan atas daun	HJ	HT	HT	HT	HT	HT
Warna permukaan bawah daun	HAC	HAC	HA	HAC	HAC	HAC
Ketebalan lapisan lilin	TP	TP	TP	TP	TP	TP
Warna pelepah	HC	HC	HC	HC	HC	HC
Kekerasan daun	LN	LN	LN	LN	LN	KR
Bentuk pangkal anak daun	RT	RT	RT	RT	RT	RT
Bentuk ujung anak daun	RC	RC	RC	RC	RC	RC
Pelipatan tepi helai	TA	TA	TA	TA	TA	TA
Warna duri pada pelepah daun	H/C	H/C	H/C	H/C	H/C	H/C
Ketajaman duri	TJ	TJ	TJ	TJ	TJ	TJ
Kekerasan duri	KR	KR	KR	KR	KR	KR
Duri mudah lepas	T	T	T	T	T	T
Bentuk duri	TLK	TLB	TLK	TLB	TLB	TLK
Kerapatan duri	AR	AR	JR	SR	AR	AR
Warna seludang bunga	C	C	C	C	K	C
Bentuk seludang bunga	B	B	B	B	B	B
Warna mahkota bunga	MK	MM	MM	MM	MK	MM
Warna kulit buah matang	KH	C	KG	H	CK	H
Bentuk buah	SP	B	SPJ	SP	SPJ	SPJ
Warna daging buah	PK	PK	PK	PK	PK	P
Rasa Daging Buah	SM	MS	M	MS	SM	SM
Tekstur daging buah	TM	TM	M	M	TM	M

Keterangan : A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase, HK = Hijau Kekuningan, CK = Coklat Kekuningan, HJ = Hijau, HT = Hijau Tua, HAC = Hijau Alur Cokelat, HA = Hijau Keabuan, TP = Tipis, HC = Hijau Kecoklatan, LN = Lunak, KR = Keras, RT = Rata, RC = Runcing, TA = Tidak Ada, H/C = Hitam/ Coklat, TJ = Tajam, KR = Keras, T = Tidak, TLK = Tipis Lancip Kecil, TLB = Tipis Lancip Besar, AR = Agar Rapat, JR = Jarang, SR = Sangat Rapat, C = Cokelat, B = Bulat, MK = Merah Kekuningan, MM = Merah Muda, KH = Kuning Kehijauan, KG = Kuning Gading, H = Hitam, CK = Cokelat Kekuningan, SP = Segitiga Pendek, SPJ = Segitiga Panjang, PK = Putih Kuning, P = Putih, SM = Sangat Manis, MS = Manis Sepet, M = Manis, TM = Tidak Masir, M = Masir.



**Gambar 1** Keragaman tanaman salak Bangkalan, yaitu Daun (a), Bunga (b), dan Buah (c) dimana A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase



**Gambar 2** Dendrogram Morfologi Kualitatif

Berdasarkan dendrogram morfologi kualitatif, ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki kemiripan genetik berkisar antara 0,75-0,82 atau 75-82%. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman salak Bangkalan memiliki keragaman morfologi kualitatif sebesar 18-25% atau jarak genetik sebesar 0,18-0,25. Kemiripan genetik 0,75-0,82 atau 75%-82% diduga tanaman salak Bangkalan memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Hal ini berdasarkan pernyataan Cahyarini, *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa dua varietas atau lebih dapat dikatakan mirip apabila jarak kemiripannya atau tingkat similaritasnya tidak kurang dari 0,60 atau 60%. Dendrogram morfologi

kualitatif tanaman salak disajikan pada Gambar 2.

Pada kesamaan genetik 0,75 atau 75% tanaman salak Bangkalan terbagi menjadi 2 (dua) cluster. Cluster I (satu) terdiri dari salak jenis Apel, Penjalin, Cocor, dan Senase, sedangkan pada cluster II (dua) terdiri dari salak jenis Bunter dan Kerbau. Salak tersebut termasuk dalam satu cluster diduga karena memiliki beberapa kemiripan morfologi kualitatif, antara lain warna pupus, kerapatan duri, warna seludang bunga, bentuk seludang bunga, bentuk buah, rasa buah dan warna daging buah. Pengamatan terhadap sifat morfologi kualitatif memiliki kelemahan antara lain membutuhkan pengamatan lebih lanjut apakah karakter

yang diamati dipengaruhi oleh faktor genetik atau faktor lain seperti lingkungan. Faktor lingkungan seperti intensitas matahari dapat mempengaruhi morfologi tanaman. Ketergantungan proses pembentukan klorofil pada cahaya dapat menyebabkan perbedaan warna daun. Keberadaan unsur hara tertentu, seperti unsur hara N dan P juga dapat mempengaruhi perubahan warna daun. Selain itu, pengaruh tepung sari pada tanaman salak Bangkalan sangat jelas, karena tanaman salak Bangkalan menyerbuk silang dan kemungkinan penyerbukannya berasal dari jenis salak jantan yang tidak selalu sama (berbeda-beda) sehingga dapat menyebabkan keragaman penampilan pada buah salak. Dalam hal ini karakter buah bukan merupakan komponen yang tepat.

Pada pengamatan morfologi ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki karakter morfologi yang hampir sama/ tidak jauh berbeda, oleh karena itu masih memiliki kemiripan yang dekat. Kemiripan ini diduga penyerbukan tanaman salak Bangkalan berasal dari tetua (jantan) yang mirip atau tetua yang berkerabat dekat. Vanderpool (2001) dalam Cahyarini, *et al.* (2004) menyatakan bahwa apabila tingkat similaritas antara strain lebih dari 50% maka dapat dikelompokkan kedalam genus yang sama, apabila tingkat similaritas antar strain lebih dari 70% maka dapat dikelompokkan kedalam satu spesies sama dan apabila tingkat similaritas lebih dari 90% maka dapat dikelompokkan kedalam strain yang sama. Berdasarkan pendapat Vanderpool (2001) dalam Cahyarini, *et al.* (2004), dapat dikatakan bahwa ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan masih dalam satu spesies yang sama, yaitu *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.

### Analisis Isozim

Analisis isozim/ isoenzim dalam penelitian ini dilakukan untuk mendukung hasil pengamatan morfologi, karena isozim merupakan produk langsung dari gen dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Keragaman tanaman salak Bangkalan yang dianalisis dengan penanda isozim dapat dilihat dari keragaman pola pita yang muncul pada setiap jenis enzim yang

digunakan. Keragaman pola pita yang terinterpretasikan akan menunjukkan keragaman genetik antar tanaman salak Bangkalan. Menurut Hayward dan Mc. Adam (1998) menjelaskan bahwa pola pita isozim sebagai ciri genetik lebih dipercaya dalam mempelajari keragaman individu atau populasi, identifikasi untuk klasifikasi, membantu seleksi, dan mempelajari penyebaran suatu jenis tanaman pada berbagai lingkungan yang berbeda.

Penelitian ini menggunakan 2 (dua) jenis enzim, yaitu Peroksidase dan Esterase, karena enzim-enzim esterase dan peroksidase mempunyai pola pita yang jelas dan polimorfis. Enzim Peroksidase dan Esterase menampakkan pola pita yang jelas pada identifikasi salak jantan dan betina menggunakan morfologi dan analisis isozim (Fajriani, 2008), penelitian Cahyarini *et al.* (2004) pada identifikasi keragaman genetik varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim dengan pewarnaan esterase dan peroksidase juga memberikan kenampakan pola pita yang jelas.

Berdasarkan hasil analisis isozim, enzim PER (peroksidase) memperlihatkan pola pita yang jelas dan polimorfik dan dapat divisualisasikan dengan baik sehingga memungkinkan untuk dilakukan interpretasi genetik. Aktivitas isoenzim peroksidase mudah dideteksi karena aktivitasnya yang luar biasa pada jaringan (Touti, 1988). Sedangkan enzim esterase (EST) tidak menunjukkan/ memperlihatkan adanya pola pita (tidak ada pola pita yang tampak/ muncul) pada hasil elektroforesis sehingga tidak dapat divisualisasikan/ diinterpretasikan. Hasil elektroforesis isozim Peroksidase (PER) dan Esterase (EST) dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan hasil elektroforesis menggunakan enzim peroksidase (PER) terdapat 3 (tiga) keragaman pola pita yang berbeda. Pola pita I (pertama) adalah salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor, pola pita II (kedua) adalah salak jenis Kerbau dan Senase, pola pita III (ketiga) adalah salak jenis Penjalin.

Keragaman pola pita tersebut menunjukkan susunan genetik yang berbeda pula, karena enzim merupakan produk langsung dari gen dengan asam amino sebagai penyusunnya. Asam amino

tersebut mengandung informasi genetik yang disandi oleh basa nukleotida DNA yang khas untuk setiap enzimnya (Hartl, 1980; Ayala and Kriger, 1980 *dalam* Na'im, 2000). Perubahan susunan asam amino yang membentuk protein akan merubah pula fenotipe tanaman sehingga mengakibatkan munculnya keragaman genetik (Suryo, 2005).

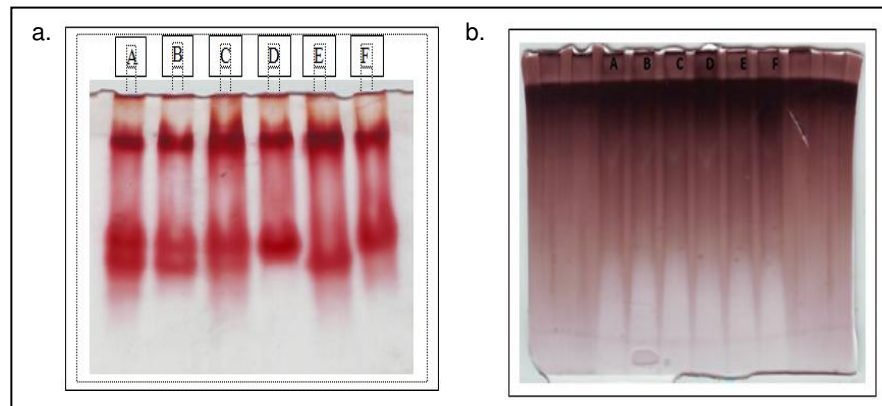
Pada hasil elektroforesis menggunakan enzim EST (esterase) tidak ada pola pita yang tampak/ muncul, diduga hal ini disebabkan oleh kandungan fenol yang tinggi yang sangat mudah rusak karena suhu atau lingkungan yang tidak sesuai. Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda, karena enzim merupakan protein yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan pH berubah. Diluar suhu dan pH yang tidak sesuai enzim tidak dapat bekerja secara optimal sehingga strukturnya akan mengalami kerusakan, hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya. Hadiati dan Sukmadjaja (2002) menjelaskan bahwa aktivitas enzim esterase dipengaruhi oleh lingkungan tertentu yang dominan seperti panas, suhu, dan pH. Esterase merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut.

Hasil analisis kekerabatan ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan pada dendogram similaritas isozim menggunakan enzim peroksidase menunjukkan bahwa koefisien kemiripan genetik pada ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan berkisar antara 0,30-1 (30-100%). Hal ini menunjukkan bahwa ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki keragaman 0-70% atau jarak genetik 0,00-0,70. Dendogram isozim peroksidase disajikan pada Gambar 4. Pada kemiripan 50% terdiri dari 2 (dua) subcluster. Subcluster I terdiri dari salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor, sedangkan pada subcluster II terdiri dari salak jenis Kerbau dan Senase. Hal ini mengandung makna bahwa antar subcluster I dan subcluster II memiliki kesamaan enzim PER sebesar

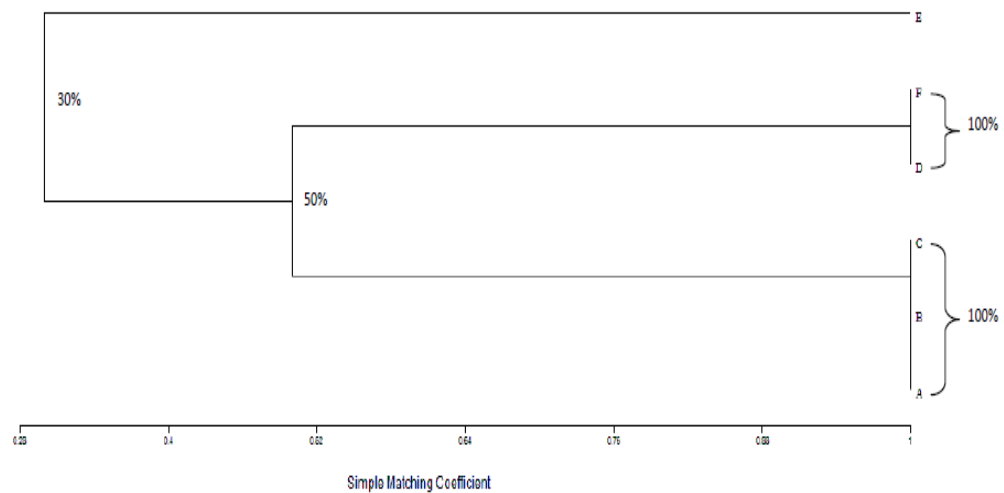
50% atau terdapat keragaman sebesar 50% dan jarak genetik 0,50. Salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor memiliki kesamaan genetik 1, hal ini mengandung makna bahwa antar jenis salak Bangkalan tersebut memiliki kesamaan/ kemiripan enzim Peroksidase sebesar 100%. Begitu juga dengan salak jenis Kerbau dan Senase memiliki kemiripan genetik 1 atau memiliki kesamaan enzim PER 100%. Menurut Hartatik (2002) jarak genetik 0 atau nilai kesamaan genetik 1, menunjukkan adanya kesamaan genetik yang mutlak antar aksesi tersebut.

Kemiripan pada setiap cluster tersebut dapat dilihat dari pola pita isozimnya yang juga memiliki kesamaan. Kemiripan genetik 0,50 (50%) menunjukkan bahwa antar subcluster tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang jauh. Hal ini berdasarkan pernyataan Cahyarini *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa jarak kemiripan dapat dikatakan jauh apabila kurang dari 0,60 atau 60%. Dari ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan, salak jenis Penjalim memiliki hubungan kekerabatan yang paling jauh karena memiliki kemiripan genetik 0,30 (30%) atau terdapat keragaman 70% atau jarak genetik sebesar 0,70 dengan ke-5 (lima) jenis salak Bangkalan lainnya, yaitu Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, dan Senase.

Analisis isozim dengan menggunakan enzim PER menunjukkan adanya variasi genetik dimulai dari kemiripan genetik tinggi sampai pada kemiripan genetik rendah. Hal ini sesuai dengan sifat salak Bangkalan yang mempunyai sifat menyerbuk silang sehingga akan diperoleh variasi genetik tanaman. Variasi genetik yang muncul, diduga dipengaruhi oleh asal tetua. Genotipe salak yang memiliki kedekatan genetik, diduga berasal dari tetua yang berkerabat dekat. Sebaliknya genotipe salak yang jarak genetiknya relatif jauh, diduga berasal dari tetua yang jauh hubungan kekerabatannya dengan tetua varietas lain. Semakin jauh hubungan kekerabatan antar sampel, maka semakin kecil keberhasilan persilangan, tetapi kemungkinan untuk memperoleh genotip unggul lebih besar jika persilangan berhasil.



**Gambar 3** Hasil Elektroforesis Pola Pita Isozim Peroksidase (a) dan Hasil Elektroforesis Pola Pita Isozim Esterase (b), dimana A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase.



**Gambar 4** Dendrogram Analisis Isozim Peroksidase (PER)

### KESIMPULAN

Terdapat perbedaan hasil antara 2 (dua) metode dengan menggunakan penanda morfologi dan analisis isozim yang dapat dilihat dari perbedaan jarak genetik dari ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan yang dapat diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi dengan keragaman sebesar 18-25% atau jarak genetik 0,18-0,25 dan besarnya perbedaan polimorfisme pola pita isozim PER (peroksidase) dengan keragaman sebesar

0-70% atau jarak genetik 0,00-0,70. Keragaman genetik kultivar-kultivar salak tersebut sesuai dengan sifat salak Bangkalan yang mempunyai sifat menyerbuk silang sehingga keturunannya akan berbeda satu sama lain. Keragaman genetik yang tinggi dapat dimanfaatkan sebagai modal dalam perakitan varietas unggul baru.



**UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dinas Pertanian Kabupaten Bangkalan, Mantri Pertanian Kecamatan Socah, dan Kelompok Tani Ambudi Makmur II, atas segala bantuan dan kesediaannya memberikan ijin tempat untuk dilakukan penelitian ini.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Aradya, K.M., F. Zee, and R.M. Manshardt. 1994.** Isozyme variation in cultivated and wild pineapple. *Euphytica*. 79: 87-99.
- Cahyarini, R.D, A. Yunus and E. Purwanto. 2004.** Identification Of Genetic Variability Of Many Local Varieties Of Soybean in Java Based on Isozyme Analysis. *Agrosains* 6 (2): 79-83.
- Fajriani, S. 2008.** Identifikasi Salak Jantan dan Betina Menggunakan Morfologi dan Analisis Isozim. Tesis. Universitas Brawijaya.
- Fatimah, S dan Sucipto. 2011.** Hubungan Kekerabatan Sebelas Jenis Tanaman Salak (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss) Bangkalan Berdasarkan Analisis Isoenzim dan Morfologi. Seminar Nasional Reformasi Pertanian Terintegrasi Menuju Kedaulatan Pangan. Fakultas Pertanian Universitas Trunojoyo. Bangkalan.
- Hadiati, S. dan D. Sukmadjaja. 2002.** Keragaman Pola Pita Aksesori Nenas Berdasarkan Analisis Isozim. *Bioteknologi Pertanian*. 7 (2): 62-70.
- Hayward M.D and N.J. Mc. Adam. 1998.** The Effect of Isozyme Selection on Yield and Flowering Time in *Lotium perenne*. *Plant Breeding*. 101 (1): 24-29.
- Lisdiyanti, P, S. Hartati, A. Estiati, dan E. Jusuf. 2003.** Analisa Genom Tanaman HTI menggunakan teknik RAPD dan Isoenzim. Penelitian Bioteknologi Rekayasa Genetika dan Pendayagunaan Plasma Nutfah. *Bioteknologi J*. p 32-48.
- Shannon, L.M. 1968.** Plant Isozymes. *Ann. Rev. Plant Physiology* 19: 187-210.
- Suryo. 2005.** Genetika Strata 1. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Touti, D. 1988.** Molecular Genetic of SOD Free Radical. *Biol. Med* 5 : 393-405.
- Wendel J.F and N.F. Weeden. 1989.** Visualization and Interpretation of plant isozymes. Dioscorides Press Portland. *Oregon*. p 5-45.