

# Analisis Keragaman Genetik Galur Kedelai Transgenik Toleran Cekaman Aluminium dan Varietas Nontransgenik Berdasarkan Marka *Simple Sequence Repeat* (SSR)

## *Genetic Diversity Analysis of Aluminum Stress Tolerant Soybean Lines and Non-Transgenic Varieties Based on SSR Markers*

Saptowo J. Pardal<sup>1</sup>, V. R. Rahayu<sup>2</sup>, K. Nugroho<sup>1</sup>, dan Suharsono<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian  
Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

<sup>2</sup>Jurusan Biokimia, FMIPA Institut Pertanian Bogor, Indonesia

<sup>3</sup>Jurusan Biologi FMIPA Institut Pertanian Bogor, Indonesia  
Email: saptowop@gmail.com

---

Naskah diterima 23 Juli 2020, direvisi 11 November 2020, disetujui diterbitkan 12 November 2020

---

### ABSTRACT

*High genetic variation and large population's mean are prerequisite for population selection in order to obtain superior strains (or improved populations of cross-pollinated plants). Genetic variation is strongly influenced by genetic factors and environmental factors. The combination of these two factors will produce genetic variation in plants population. Genetically modified plants are likely to undergo genetic changes due to the insertion of genes and or the influence of media or growth regulators, during the in vitro regeneration process. The level of genetic variation in genetically modified plants requires molecular characterization to determine the rate of genetic change. Microsatellite markers (SSR-Simple Sequence Repeat) is a molecular marker that can be used to determine the genetic variation in population. Four transgenic soybean lines that are tolerant to aluminum stress, namely GM2, GM5, GM10 and GM14 lines, had been generated through genetic engineering by inserting the aluminum accumulator gene (MaMt2) isolated from Harendong (*Melastoma affine*) using *Agrobacterium tumefaciens* vector. These four lines showed tolerance to acid soil pH 3.7-4.8 in the test at the Biosafety Containment Facility. The aim of this study was to determine the genetic variation of Al tolerant transgenic soybean lines and non-transgenic soybean varieties based on SSR markers. Results showed that there were genetic variation in the samples tested, of which 15 soybean samples analyzed could be divided into two groups, namely transgenic and non-transgenic, with a similarity matrix value of 0.47 based on SSR markers.*

**Keywords:** Genetic diversity, genetic engineering, transgenic soybean lines, aluminum tolerance soybean variety.

### ABSTRAK

Keragaman genetik yang tinggi dan nilai tengah populasi yang besar merupakan syarat dari seleksi populasi untuk memperoleh galur (atau sub populasi pada tanaman menyerbuk silang) yang lebih unggul. Keragaman genetik sangat dipengaruhi oleh faktor genetik

dan faktor lingkungan. Kombinasi kedua faktor tersebut akan menghasilkan variasi genetik pada tanaman. Tanaman hasil rekayasa genetik kemungkinan akan mengalami perubahan genetik akibat insersi atau penyisipan gen dan atau pengaruh media atau zat pengatur tumbuh selama proses regenerasi *in vitro*. Tingkat keragaman genetik pada tanaman hasil rekayasa genetik membutuhkan karakterisasi molekuler untuk mengetahui tingkat perubahan genetiknya. Marka atau penanda mikrosatelit (SSR-Simple Sequence Repeat) merupakan salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik suatu populasi. Empat galur kedelai transgenik toleran cekaman aluminium, yaitu galur GM2, GM5, GM10 dan GM14 telah dihasilkan melalui rekayasa genetik dengan menyisipkan gen akumulator Aluminium (MaMt2) yang diisolasi dari tanaman Harendong (*Melastoma affine*) menggunakan bantuan vektor *Agrobacterium tumefaciens*. Keempat galur ini menunjukkan toleran terhadap tanah masam pH 3,7-4,8 pada uji di Fasilitas Uji Terbatas. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui keragaman genetik pada galur kedelai transgenik toleran Al dan varietas kedelai non transgenik berdasarkan marka SSR. Hasil penelitian menunjukkan adanya keragaman genetik pada sampel yang diuji, dimana dari 15 sampel kedelai yang dianalisis terbagi menjadi dua kelompok, yaitu transgenik dan non transgenik pada nilai matriks kesamaan sebesar 0,47 berdasarkan marka SSR. Kata kunci: Keragaman genetik, rekayasa genetik, galur kedelai transgenik, varietas kedelai toleran Al.

### PENDAHULUAN

Keragaman genetik yang tinggi dan nilai tengah populasi yang besar merupakan syarat dari seleksi populasi untuk memperoleh galur (atau subpopulasi pada tanaman menyerbuk silang) yang lebih unggul. Keragaman genetik sangat dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor lingkungan. Kombinasi kedua faktor akan menghasilkan variasi genetik pada tanaman. Tanaman hasil rekayasa

genetik kemungkinan akan mengalami perubahan genetik akibat insersi atau penyisipan gen dan atau pengaruh media atau zat pengatur tumbuh selama proses regenerasi secara *in vitro*. Untuk itu tingkat keragaman genetik tanaman hasil rekayasa genetik membutuhkan karakterisasi molekuler untuk mengetahui tingkat perubahan genetiknya.

Karakterisasi molekuler dapat dilakukan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan penanda molekuler (*molecular marker*). Jenis-jenis penanda molekuler yang biasa digunakan meliputi RFLP (*Restriction Fragment Long Polymorphism*) (Zang *et al.* 1992), RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Long Polymorphism*), STS (*Sequence Targeted Site*), SNP (*Single Nucleotide Sequence*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) (Rukam *et al.* 2015) dan SSR (*Simple Sequence Repeat*) (Zhu *et al.* 2012).

Marka atau penanda mikrosatelit (*SSR-Simple Sequence Repeat*) merupakan salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik suatu populasi. Penggunaan marka mikrosatelit dalam menganalisis keragaman genetik tanaman telah banyak dilakukan, antara lain pada tanaman kelapa sawit (Tasma *et al.* 2013), jarak pagar (Saptadi *et al.* 2011), mangga (Tasliyah *et al.* 2013), dan kedelai (Chaerani *et al.* 2011; Rislawati *et al.* 2015).

Marka SSR memiliki kelebihan, antara lain tingkat polimorfisme yang tinggi, mudah diperbanyak, didispersikan dalam genom, membutuhkan sejumlah kecil DNA yang dicetak, pengulangan yang tinggi, dan lokus spesifik (Kalia *et al.* 2011). Keunggulan ini menjadikan penanda SSR sering digunakan dalam pembelajaran taksonomi dan keragaman genetik karena dapat mengidentifikasi alel dengan keandalan tinggi dan diinduksi sebagai salah satu penanda yang tepat untuk digunakan dalam analisis keragaman genetik. Penanda SSR banyak digunakan dalam analisis beberapa tanaman seperti padi (Zhu *et al.* 2012) dan kedelai (Tantasawat *et al.* 2011). Menurut Prihatin *et al.* (2006), marka SSR bersifat kodominan (dapat membedakan alel homozigot dengan alel heterozigot), sehingga dapat dimanfaatkan dalam mendeteksi tetua atau induk suatu individu dan menguji hasil persilangan.

Empat galur kedelai transgenik toleran cekaman aluminium, yaitu galur GM2, GM5, GM10 dan GM14 telah dihasilkan melalui rekayasa genetik, dengan menyisipkan gen *MaMt2* dari tanaman Harendong (*Melastoma affine*) menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* (Anggraito 2012). Gen ini dapat menghasilkan senyawa *Methallothionein* tipe II yang berperan sebagai akumulator logam berat (Mutiasari 2008), termasuk aluminium pada jaringan akar dan daun

(Suharsono *et al.* 2009). Hasil pengujian keempat galur dengan fasilitas uji terbatas menggunakan tanah masam dengan pH 3,7-4,8 menunjukkan galur GM2 dan GM5 memiliki toleransi yang lebih baik dibanding galur GM10 dan GM14 (Pardal dan Suharsono 2016). Dua galur ini selanjutnya digunakan dalam analisis keragaman genetik bersama beberapa varietas kedelai nontransgenik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik dua galur kedelai transgenik toleran cekaman aluminium (GM2 dan GM5) dan beberapa varietas kedelai nontransgenik menggunakan penanda SSR (primer SATT).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor, dari Desember 2017 hingga April 2018. Bahan yang digunakan adalah dua galur kedelai transgenik *MaMt2* (GM2 dan GM5) toleran cekaman aluminium serta kedelai varietas Tidar, Kaba, Dering, Cikuray, dan Lumut. Kelima varietas kedelai nontransgenik ini dipilih karena telah digunakan untuk survei polimorfisme marka SATT sebelumnya dan menunjukkan adanya polimorfisme.

### Amplifikasi DNA

Sampel DNA sebanyak 15, dalam urutan (1-5 = GM 2, 6-10 = GM 5, 11 = Tidar, 12 = Kaba, 13 = Dering, 14 = Cikuray, dan 15 = Lumut). Daun setiap galur dan varietas kedelai bahan penelitian disampling pada minggu ke-3 setelah penanaman untuk isolasi DNA. Total DNA dari setiap sampel diekstraksi dari 0,1 g sampel daun menggunakan protokol modifikasi Doyle dan Doyle (1990). Sampel DNA selanjutnya diamplifikasi dengan mesin PCR menggunakan delapan primer SATT, yaitu SATT 009, SATT 030, SATT 038, SATT 191, SATT 308, SATT 463, SATT 002, dan SATT 063. Prosedur amplifikasi dan elektroforesis DNA hasil amplifikasi mengikuti prosedur Lestari *et al.* (2016).

### Analisis Polimorfisme

Electrophoregrams (foto pita DNA pada gel elektroforesis) yang diperoleh dari visualisasi dengan UV *Transiluminator* dianalisis (*scoring*) menggunakan aplikasi *gel analyzer*. Pita yang muncul pada gel dianggap sebagai satu alel dan pita DNA yang memiliki tingkat migrasi yang sama diasumsikan sebagai lokus homolog. Setiap pita diberi nilai 1 jika penampilannya jelas, dan nilai 0 jika pita tidak terlihat. Hasil *scoring tape*

dalam bentuk data biner (terdiri atas angka 0 dan 1). Hasil analisis kemudian diproses menggunakan aplikasi Power Marker 3.25 untuk mendapatkan nilai frekuensi alel utama, keragaman genetik, PIC (Konten Informasi Polimorfik), dan data lain yang dihasilkan primer yang digunakan selama penelitian.

### Analisis Filogeni

Skoring data menggunakan aplikasi *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested* (SAHN)-UPGMA (Metode Pasangan-Kelompok Tertimbang dengan Aritmatika) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1. Analisis menggunakan NTSYS dalam bentuk dendrogram.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Amplifikasi DNA

Hasil amplifikasi DNA sampel menunjukkan ukuran produk yang diamplifikasi berkisar antara 100-200 pasangan basa (bp). Hasil elektroforogram amplifikasi sampel DNA menggunakan SATT 009 dan primer SATT 063 dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil amplifikasi sampel DNA menggunakan beberapa primer SATT menghasilkan ukuran produk yang berbeda (pasangan basa). Pita DNA yang diproduksi pada primer SATT 009 memiliki ukuran dasar yang lebih besar (mendekati 200 bp) dibandingkan dengan hasil amplifikasi menggunakan primer SATT 063 (mendekati 100 bp).

Sampel nomor 15 (Lumut) pada SATT 009 elektroforogram primer menghasilkan pita yang lebih tipis dibandingkan dengan sampel lainnya. Hasil amplifikasi elektroforogram menggunakan primer SATT 063 juga menunjukkan pita-pita DNA dengan ukuran yang lebih tipis daripada pita sampel DNA lainnya, yaitu sampel pita DNA nomor 2, 3, dan 4.

Primer SATT yang digunakan dapat mengamplifikasi sampel DNA kedelai dan menghasilkan amplikon dengan kisaran ukuran pasang basa dan ketebalan yang berbeda. Amplikon DNA hasil amplifikasi menggunakan primer SATT 009, SATT 063, SATT 030, SATT 038, SATT 308, SATT 463, dan SATT 002 pada gel poliakrilamida 8% memiliki ukuran 100-200 pasang basa (bp), sedangkan SATT 191 menghasilkan amplikon dengan ukuran 200-300 bp. Menurut Yuwono (2006), hasil amplifikasi DNA kedelai menggunakan marka SSR berukuran antara 100-500 bp pada gel poliakrilamida 8%.

Amplikon yang terbentuk dari hasil amplifikasi sampel DNA kedelai menggunakan delapan primer SATT memiliki ketebalan yang berbeda setelah divisualisasi dengan elektroforesis gel poliakrilamida. Primer SATT 009, SATT 063, SATT 308, SATT 463, dan SATT 191 menghasilkan amplikon yang lebih banyak dan tebal dibandingkan dengan primer SATT 030, SATT 038, dan SATT 002 yang menghasilkan amplikon lebih tipis dan sedikit. Perbedaan ketebalan pita DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jumlah cetakan DNA yang sedikit dan penyimpanan sampel DNA yang cukup lama (Asmara *et al.* 2014).



(A) = SATT 009, (B) = SATT 063, M = DNA tangga 100 bp,  
1 sampai 15 = sampel daun kedelai menyesuaikan kode aksesori dan varietas.  
Primer SATT 009 dan SATT 063 mengamplifikasi sebagian besar sampel.

Gambar 1. Amplifikasi DNA elektroforogram sampel daun kedelai (galur transgenik dan nontransgenik) pada gel poliakrilamida 8% menggunakan primer SATT. Laboratorium Biologi Molekuler BB Biogen, Bogor, Desember 2017-April 2018.

**Analisis Polimorfisme**

Data diperoleh dalam bentuk jumlah alel, frekuensi alel utama, keragaman gen, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme (PIC). Jumlah alel yang terdeteksi menggunakan beberapa primer SATT adalah 21 alel, rata-rata 2-3 alel per primer dengan kisaran 1-4 alel per lokus. Jumlah alel yang diproduksi tertinggi adalah SATT 038, SATT 191, dan SATT 308 primer (masing-masing menghasilkan empat alel), sedangkan yang terendah adalah SATT 063 dan primer SATT 002, masing-masing memproduksi satu alel (Tabel 1). Kisaran ukuran alel terbesar diperoleh dalam SATT 009 primer, yaitu 177-186 dan kisaran terkecil dalam SATT 063 primer dengan kisaran 118-121. Frekuensi alel utama rata-rata yang diperoleh adalah 0,67 dengan nilai frekuensi alel terbesar (1,0) yang dihasilkan oleh SATT 002 primer dan SATT 063. Nilai frekuensi alel terendah diperoleh dari SATT 308 primer dengan nilai 0,40. Jumlah keragaman gen tertinggi dihasilkan oleh primer SATT 038 dengan nilai 0,71 sedangkan angka keragaman gen terendah diperoleh dari primer 002 dan SATT 063 dengan nilai 0,00.

Nilai rata-rata keragaman gen yang diperoleh dari penggunaan delapan primer SATT adalah 0,41. Heterozigositas dari setiap primer SATT yang digunakan dalam penelitian ini menghasilkan nilai 0,00. Nilai PIC terendah adalah primer SATT 002 dan SATT 063 (masing-masing 0,00), sedangkan nilai PIC tertinggi adalah sampel yang dianalisis menggunakan primer SATT 038. Nilai PIC rata-rata yang diperoleh dari delapan primer yang digunakan sama dengan 0,36. Ada tiga primer yang menghasilkan nilai PIC melebihi 0,50, yaitu SATT 038, SATT 191, dan SATT 308 sedangkan primer lainnya memiliki nilai di bawah 0,50. Data ini menunjukkan primer SATT 038 sangat bagus digunakan dalam analisis keragaman genetik sampel kedelai yang diuji karena dapat memberikan nilai PIC.

Sebagian besar primer SATT yang digunakan memperlihatkan polimorfisme pada sampel kedelai yang diuji. Amplifikasi sampel menggunakan delapan primer SATT mendeteksi 21 alel dari 15 sampel kedelai. Jumlah alel yang terdeteksi dari 15 sampel kedelai yang dianalisis lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Lestari *et al.* (2016) yang dapat mendeteksi 50 alel dari 29 sampel kedelai. Perbedaan jumlah alel yang terdeteksi dapat dipengaruhi oleh jumlah sampel yang dianalisis. Menurut Wang *et al.* (2005), peningkatan jumlah alel dapat dipengaruhi oleh jumlah varietas dan sampel yang dianalisis. Semakin banyak jumlah varietas dan sampel yang dianalisis akan menghasilkan jumlah alel yang semakin banyak.

Nilai PIC (*Polymorphysme Information Content*) menunjukkan keberhasilan suatu primer dalam mengamplifikasi DNA dan menggambarkan tingkat informatif lokus yang digunakan dalam analisis tingkat keragaman alel (Botstein *et al.* 1980). Nilai PIC yang diperoleh rata-rata 0,36 dengan nilai tertinggi pada primer SATT 038 dan terendah pada SATT 002 dan SATT 063. Nilai PIC yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan nilai PIC pada penelitian Terryana *et al.* (2017), yang mencapai 0,89.

Nilai PIC diklasifikasikan menjadi tiga kelas, yaitu kurang informatif (PIC < 0,25), moderat informatif (0,25 > PIC > 0,5), dan sangat informatif (PIC > 0,5). Nilai PIC pada penelitian ini (0,36 atau moderat informatif) menunjukkan lokus yang digunakan mampu menjelaskan keragaman genetik pada sampel kedelai (Rachman 2008).

Terdapat tiga marka SSR yang informatif (PIC > 0,5) sehingga dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik kedelai transgenik. Tiga marka SSR tersebut adalah SATT 038, SATT 191, dan SATT 308, sedangkan marka lainnya (SATT 009, SATT 030, SATT 463, SATT 002 dan SATT 063) yang memiliki nilai 0,25 > PIC < 0,5 dan

Tabel 1. Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme dari 15 sampel kedelai. Laboratorium Biologi Molekuler BB Biogen, Bogor, Desember 2017-April 2018.

Primer	Jumlah alel	Kisaran ukuran alel	Frekuensi alel utama	Diversitas gen	Heterozigositas	PIC
SATT009	3	177-186	0,73	0,42	0,00	0,37
SATT030	2	164-172	0,75	0,38	0,00	0,30
SATT038	4	164-190	0,42	0,71	0,00	0,66
SATT191	4	182-225	0,42	0,64	0,00	0,57
SATT308	4	144-162	0,40	0,69	0,00	0,64
SATT463	2	125-133	0,64	0,46	0,00	0,35
SATT002	1	143-145	1,00	0,00	0,00	0,00
SATT063	1	118-121	1,00	0,00	0,00	0,00
Jumlah	21	-	-	-	-	-
Rata-rata	2,63	-	0,67	0,41	0,00	0,36

PIC = *Polymorphic Information Content* (tingkat polimorfisme).

PIC < 0,25 kurang informatif, sehingga tidak dapat digunakan dalam analisis kekerabatan genetik kedelai transgenik. Jumlah primer yang potensial pada penelitian ini lebih sedikit dibandingkan dengan penelitian Terryana *et al.* (2017), yaitu 15 marka SSR yang menunjukkan polimorfisme.

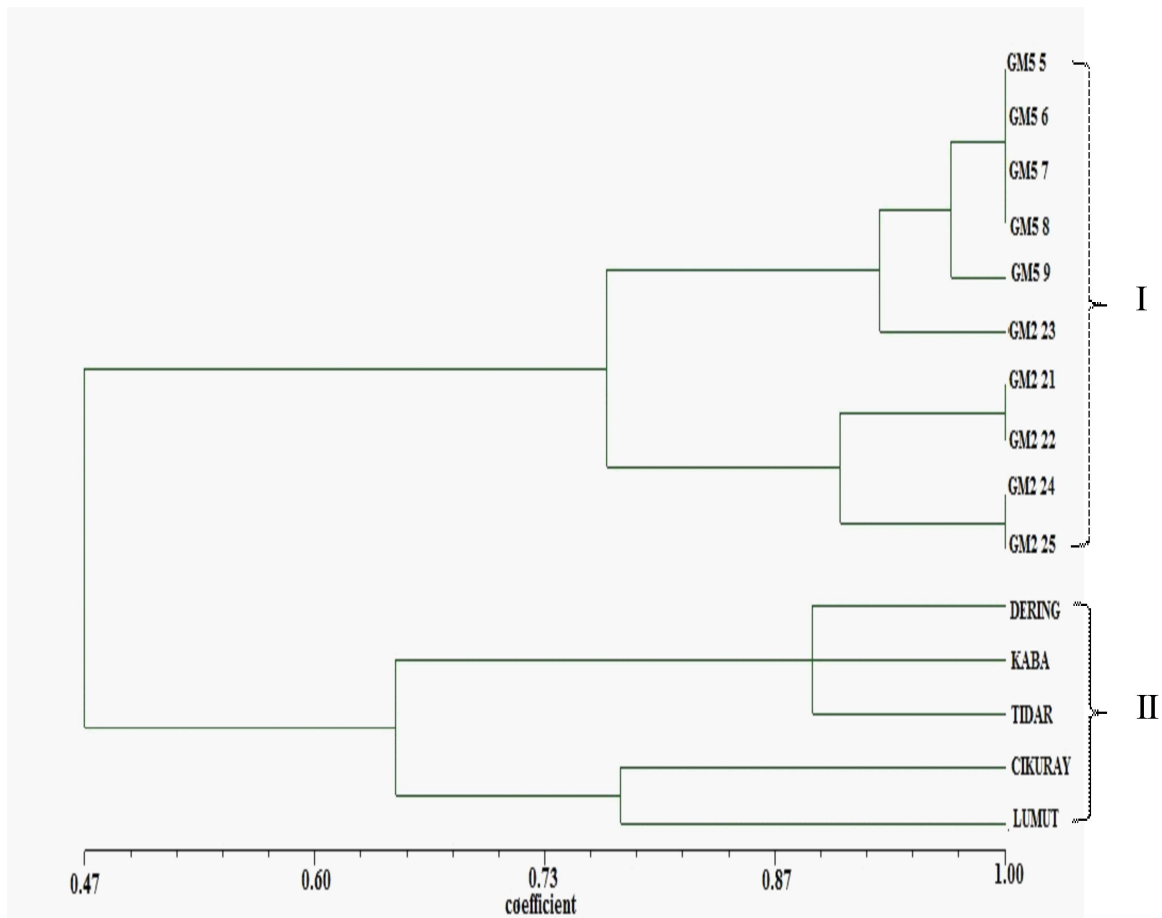
Heterozigositas merupakan parameter yang digunakan dalam mengukur tingkat keragaman genetik suatu populasi. Faktor yang mempengaruhi nilai heterozigositas yaitu silang luar (*outbreeding*) (Rachman 2008). Kisaran nilai heterozigositas yang baik berkisar antara 0-1. Nilai heterozigositas yang diperoleh pada penelitian ini adalah 0, yang menunjukkan keanekaragaman genetik sampel kedelai rendah. Menurut Arifin dan Mulliadi (2010), nilai heterozigositas yang mendekati 1 menunjukkan keanekaragaman genetik yang tinggi, sedangkan nilai yang mendekati 0 menunjukkan keragaman genetik yang rendah. Sampel kedelai transgenik toleran aluminium yang dianalisis merupakan hasil penyisipan gen *MaMt2* pada kedelai varietas Lumut yang toleran kekeringan. Rendahnya

keragaman genetik 15 sampel kedelai yang dianalisis kemungkinan karena sama-sama toleran terhadap kekeringan atau tanah masam.

### Analisis Filogeni

Sebanyak 15 sampel kedelai yang dianalisis terbagi menjadi dua kelompok pada nilai matriks kesamaan 0,47. Kelompok pertama terdiri atas kedelai transgenik, sedangkan kedelai nontransgenik terdapat pada kelompok kedua. Kelompok pertama (kedelai transgenik) pada nilai koefisien kesamaan 0,73-0,87 membentuk dua kelompok (Gambar 2).

Sebanyak empat sampel galur GM5 (GM5-5, GM5-6, GM5-7, dan GM5-8) memiliki nilai koefisien kesamaan 1,00 kecuali GM5-9. Sampel-sampel GM5 memiliki kesamaan hingga nilai koefisien 0,87-1,00 sedangkan sampel galur GM2 (GM2-21 dan GM2-22 serta GM2-24 dan GM2-25) memiliki nilai koefisien kesamaan 1,00. Sampel kedelai transgenik GM2-23 memiliki jarak kekerabatan yang lebih dekat dengan sampel GM5. Nilai



Gambar 2. Dendrogram 15 sampel kedelai hasil analisis dengan metode UPGMA menggunakan aplikasi NTSYS dengan delapan primer SATT. Laboratorium Biologi Molekuler BB Biogen, Bogor, Desember 2017-April 2018.

Tabel 2. Nilai matriks kesamaan genetik 15 sampel kedelai. Laboratorium Biologi Molekuler BB Biogen, Bogor, Desember 2017-April 2018.

Sampel	GM55	GM56	GM57	GM58	GM59	GM221	GM222	GM223	GM224	GM225	Dering	Tidar	Kaba	Cikuray	Lumut
GM55	1,00														
GM56	1,00	1,00													
GM57	1,00	1,00	1,00												
GM58	1,00	1,00	1,00	1,00											
GM59	0,88	1,00	1,00	1,00	1,00										
GM221	0,75	0,80	0,80	0,71	0,81	1,00									
GM222	0,75	0,80	0,80	0,71	0,81	1,00	1,00								
GM223	0,88	1,00	1,00	0,86	0,90	0,90	0,90	1,00							
GM224	0,63	0,80	0,80	0,71	0,71	0,90	0,90	0,81	1,00						
GM225	0,63	0,80	0,80	0,71	0,71	0,90	0,90	0,81	1,00	1,00					
Dering	0,50	0,40	0,40	0,43	0,40	0,40	0,40	0,40	0,50	0,50	1,00				
Tidar	0,43	0,40	0,40	0,43	0,44	0,44	0,44	0,44	0,56	0,56	0,89	1,00			
Kaba	0,57	0,60	0,60	0,57	0,56	0,56	0,56	0,56	0,67	0,67	0,89	0,89	1,00		
Cikuray	0,43	0,40	0,40	0,43	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,56	0,67	0,56	1,00	
Lumut	0,43	0,40	0,40	0,43	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,67	0,78	0,67	0,78	1,00

kesamaan sampel GM2 terdapat pada skala koefisien kesamaan 0,73-0,87. Sampel kedelai nontransgenik membentuk dua kelompok pada nilai koefisien kesamaan 0,60-0,73.

Data pada Tabel 2 menunjukkan nilai matriks kesamaan genetik 15 sampel kedelai yang telah diamplifikasi menggunakan delapan primer SATT dan berada pada kisaran 0,40-1,00. Nilai paling rendah umumnya terdapat di antara sampel kedelai transgenik dengan nontransgenik, sedangkan nilai tertinggi terdapat di antara sampel kedelai transgenik. Hal ini disebabkan karena kedua galur sama-sama berasal dari varietas Lumut dan membawa gen *MaMt2*. Nilai matriks kesamaan antara GM5-5 dengan GM5-6, GM5-7, dan GM5-8 yaitu 1,00 sedangkan dengan GM5-9 bernilai 0,88. Selain GM5, nilai matriks kesamaan antara GM2-22 dengan GM2-21 juga bernilai 1,00 sama dengan GM2-25 dengan GM2-24.

Dendrogram yang diperoleh dari hasil analisis filogenetik 15 sampel kedelai menghasilkan dua kelompok kedelai. Jarak kekerabatan genetik antara dua kelompok yang diperoleh menggambarkan tingkat kekerabatan antarkelompok secara genetik (Nugroho *et al.* 2015). Hasil analisis jarak kekerabatan genetik yang mengelompokkan sampel kedelai menjadi dua kelompok pada koefisien kesamaan 0,47 menghasilkan jarak kekerabatan yang jauh. Kelompok pertama terdiri atas kedelai transgenik GM2 dan GM5, sedangkan kelompok kedua terdiri atas kedelai nontransgenik. Kedelai transgenik GM2 dan GM5 memiliki jarak genetik yang paling jauh dengan varietas Lumut. Hal ini disebabkan oleh adanya insersi gen *MaMt2* pada kedelai Lumut transgenik.

Nilai matriks kesamaan yang ditampilkan pada Tabel 2 menunjukkan jarak genetik sampel yang dianalisis.

Matriks kesamaan antara GM5-5, GM5-6, GM5-7, dan GM5-8 serta nilai matriks kesamaan antara GM2-21 dengan GM2-22 dan GM2-24 dengan GM2-25 nilai 1 memiliki jarak genetik yang sangat dekat, sehingga kedua galur ini tidak baik untuk disilangkan. Nilai matriks kesamaan antara kedelai transgenik GM5-9 dan GM2-23 dengan nontransgenik memiliki kisaran nilai kesamaan yang rendah (kurang dari 0,5), sehingga dapat dilakukan persilangan (untuk tetua persilangan). Aksesori yang akan dijadikan sebagai tetua dalam persilangan tanaman sebaiknya memiliki jarak genetik yang jauh, sehingga dapat menghasilkan keragaman genetik yang tinggi pada tanaman turunannya (Nugroho *et al.* 2015).

Penyisipan suatu gen ke dalam tanaman dapat menyebabkan perubahan jarak genetik dengan tetuanya. Pada penelitian ini, gen *MaMt2* yang disisipkan pada varietas Lumut terbukti mempengaruhi jarak genetik dan meningkatkan keragaman genetik kedelai. Selain penyisipan gen, faktor lain yang dapat mempengaruhi jarak kekerabatan genetik adalah variasi somaklonal dan mutasi kimia.

## KESIMPULAN

Sebagian besar marka SSR dapat mengamplifikasi sampel DNA kedelai. Marka SSR yang digunakan bersifat polimorfik dan dapat mendeteksi variasi pada 15 sampel kedelai. Penyisipan gen *MaMt2* pada varietas Lumut menghasilkan galur transgenik yang memiliki jarak kekerabatan genetik lebih jauh dengan varietas Lumut, sehingga meningkatkan diversitas genetik dan dapat dijadikan tetua donor toleran aluminium pada persilangan varietas unggul kedelai.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraito, Y.U. 2012. Transformasi genetik *Nicotina benthamiana* L. dan kedelai dengan gen *MaMt2* penyandi *Metallothionein* tipe II dari *Melastoma malabathricum* L. [Thesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Arifin, J. dan Mulliadi, D. 2010. Pendugaan Keseimbangan Populasi dan Heterozigositas Menggunakan Pola Protein Albumin Darah pada Populasi Domba Ekor Tipis (Javanese Thin Tailed) di Daerah Indramayu Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran 10(2): 65-72.
- Asmara, A.A.R., Yustiantara, P.S., Yowani, S.C. 2014. Proses amplifikasi daerah promoter inhA pada isolat P11 *Mycobacterium tuberculosis* multidrug resistance di Bali dengan Polymeras Chain Reaction. Jurnal Farmasi Udayana 3(1): 35-39.
- Botstein, D., Whie, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in a man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics 32(1): 314-331.
- Chaerani, C., Hidayatun, N., dan Utami, D. W. 2011. Keragaman genetik 50 aksesi plasma nutfah kedelai berdasarkan sepuluh penanda mikrosatelit. Jurnal AgroBiogen, 7(2), 96-105.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13- 15.
- Kalia, R.K., Rai, M.K., Kalia, S., Singh, R., Dhawan, A.K. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica* 177:309-334.
- Lestari, P., Risliawati, A., Utami, D.W., Hidayatun, N., Santoso, T.J., Chaerani. 2016. Development of SSR based specific identity on 29 Indonesian local soybean varieties. Jurnal Biologi Indonesia 12(2): 219-229.
- Mutiasari, A. 2008. Akumulasi aluminium pada *Melastoma affine* dan *M. malabathricum*. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Nugroho, K., Refflinur, Lestari, P., Rosdiana, I., Terryana, RT., Kusmana, Tasma, IM. 2015. Keragaman genetik empat belas aksesi kentang (*Solanum tuberosum* L.) berdasarkan marka SSR dan STS. Jurnal AgroBiogen 11(2): 41-48.
- Pardal, S.J. and Suharsono, 2016. Evaluation of Transgenic Soybean Lines Tolerant to Aluminum in Biosafety Containment. Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 35(2): 155-161.
- Prihatin, I., Taryono, dan Rimbawanto. 2006. Penggunaan penanda mikrosatelit untuk analisis induk *Acacia mangium* wild. *Pusat Litbang Hutan Tanaman* 3(1):139-148.
- Rachman, RH. 2008. *Genetik Ternak*.: PT Penebar Swadaya, Jakarta.
- Risliawati, A., Riyanti, E. I., Lestari, P., Utami, D.W., and Silitonga, T. S., 2015. Development of SSR marker set to identify forty two Indonesian soybean varieties. *Jurnal AgroBiogen* 11(2): 49-58.
- Rukam, T.S, Parakhia, M.V., Rathod, V.M., Kheni, J.V., Thakkar, J.R., Thummar, V.D. and Golakiya, B.A. 2015. Development of Inter Simple Sequence Repeat based SCAR marker for sex determination in Carica papaya. *RESEARCH Journal of Biotechnology* 10(12), 91-97.
- Saptadi, D., Hartati, R.S., Setiawan, A., Heliyanto, B., and Sudarsono, S. 2011. Pengembangan Marka *Simple Sequence Repeat* untuk *Jatropha spp.* *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 17(4), 140-149.
- Suharsono, N. Trisnaningrum, N., Sulistyarningsih, L.D. and Widyastuti, U. 2009. Isolation and cloning of fragment of cDNA of gene encoding for multidrug resistance associated protein from *Melastoma affine*. *Biotropia* 9(1): 27-36.
- Tantasawat, P., Trongchuen, J., Prajongjai, T., Jenweenrawat S., and Chaowiset, W. 2011. SSR analysis of soybean (*Glycine max* L. Merr.) genetic relationship and varietal identification in Thailand. *Australian Journal of Crop Science* 5: 283-290.
- Tasliah, R.H., Hariyadi, T.Z.P, Yuriah, S., Rebin, Masumah, dan Silitonga, T.S. 2013. Analisis keragaman genetik 161 aksesi mangga Indonesia menggunakan marka mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen* 9(3): 125-134.
- Tasma, I.M. dan Arumsari, S. 2013. Analisis diversitas genetik aksesi kelapa sawit Kamerun berdasarkan marka SSR. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 19(4): 194-202.
- Terryana, R.T., Nugroho K., Refflinur, Mulya K., Dewi N., dan Lestari P. 2017 Keragaman genotipik dan fenotipik 48 aksesi kedelai introduksi asal Cina. *Jurnal AgroBiogen* 13(1): 1-16.
- Wang, L., Guan, R., Zhangdong, L., Chang, R., Qiu, L. 2005. Genetic diversity of classic cultivated soybean revealed by SSR markers. *Crop Sciences* 46(1): 1032-1038.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan aplikasi *polymerase chain reaction*. Andi Offset. Yogyakarta.
- Zang, Q., Saghai, M.M.A., Lu, T.Y., Shen, B.Z. 1992. Genetic diversity and differentiation of indica and japonica rice detected by RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* 83:495-459.
- Zhu, Y.F., Qin, G.C., Hu, J., Wang, Y., Wang, J.C., Zhu, S.J. 2012. Fingerprinting and variety identification of rice (*Oryza sativa* L.) based on simple sequence repeat markers. *Plant Omics Journal* 5: 421-426.

