

**KERAGAMAN GENOTIPE MELON GENERASI *SELFING* KETIGA
(S3-PL DAN S3-ME) BERDASARKAN PENANDA
SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)**

SKRIPSI

Oleh

WULAN KHOIRUN NISA



**PROGRAM STUDI S-1 AGROEKOTEKNOLOGI
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

KERAGAMAN GENOTIPE MELON GENERASI *SELFING* KETIGA
(S3-PL DAN S3-ME) BERDASARKAN PENANDA
SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)

Oleh

WULAN KHOIRUN NISA
NIM : 23020222120014

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Pertanian pada Program Studi S-1 Agroekoteknologi
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 AGROEKOTEKNOLOGI
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wulan Khoirun Nisa
N I M : 23020222120014
Program Studi : S-1 Agroekoteknologi

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Keragaman Genotipe Melon Generasi *Selfing* Ketiga (S3-PL dan S3-ME) Berdasarkan Penanda *Simple Sequence Repeat* (SSR)** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari pembimbing, yaitu : **Bagus Herwibawa, S.P., M.P., Ph.D.** dan **Prof. Dr. Ir. Syaiful Anwar, M.Si.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Agroekoteknologi, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, September 2026

Pen-



Wulan Khoirun Nisa

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Bagus Herwibawa, S.P., M.P., Ph.D.

Prof. Dr. Ir. Syaiful Anwar, M.Si.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : KERAGAMAN GENOTIPE MELON
GENERASI *SELFING* KETIGA (S3-PL DAN
S3-ME) BERDASARKAN PENANDA
SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)

Nama Mahasiswa : WULAN KHOIRUN NISA

Nomor Induk Mahasiswa : 23020222120014

Program Studi/Departemen : S-1 AGROEKOTEKNOLOGI/PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal ..08..SEP..2026.

Pembimbing Utama



Bagus Herwibawa, S.P., M.P., Ph.D.

Pembimbing Anggota



Prof. Dr. Ir. Syaiful Anwar, M.Si.

Ketua Program Studi



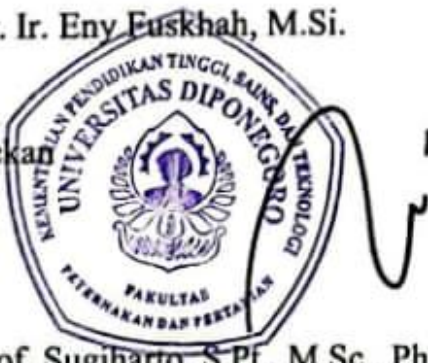
Dr. Ir. Eny Fuskhah, M.Si.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



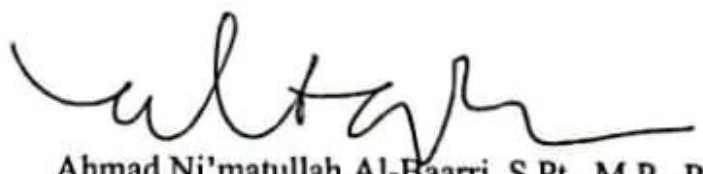
Bagus Herwibawa, S.P., M.P., Ph.D.

Dekan



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

WULAN KHOIRUN NISA. 23020222120014. 2026. Keragaman Genotipe Melon Generasi *Selfing* Ketiga (S3-PL dan S3-ME) Berdasarkan Penanda *Simple Sequence Repeat* (SSR). (Pembimbing: **BAGUS HERWIBAWA** dan **SYAIFUL ANWAR**).

Penelitian dilaksanakan dari bulan Desember 2025 – Mei 2026 di *greenhouse* dan Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman, Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genotipe melon generasi *selfing* ketiga (S3-PL dan S3-ME) berdasarkan penanda *simple sequence repeat* (SSR) serta menganalisis hubungan pola alel marka SSR dengan karakter fenotipe buah melon.

Penelitian menggunakan dua populasi melon S3, yaitu S3-PL dan S3-ME, masing-masing 25 individu. Sebanyak 10 individu dari setiap populasi dipilih melalui *simple random sampling* tanpa pengembalian, sehingga total sampel berjumlah 20 individu. Metode yang digunakan meliputi pengambilan sampel, ekstraksi DNA dengan CTAB 3%, uji kuantitas dan kualitas DNA, amplifikasi DNA menggunakan PCR dengan 10 primer SSR, visualisasi hasil PCR melalui elektroforesis gel agarosa 1,5%, serta skoring pola pita DNA. Data hasil skoring dianalisis untuk mengetahui jumlah alel, nilai *polymorphic information content* (PIC), heterozigositas teramati (H_o), heterozigositas harapan (H_e), *Shannon's Information Index* (I), koefisien *inbreeding* (F), serta korelasi Spearman antara pola alel dan karakter fenotipe.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi melon S3-PL dan S3-ME masih memiliki keragaman genetik berdasarkan penanda SSR. Lima dari sepuluh marka bersifat polimorfik, yaitu CMAG59, CMTCN38, CMN238, CMN21-06, dan CMMS35-5, sedangkan lima marka lainnya bersifat monomorfik, sehingga persentase lokus polimorfis sebesar 50%. Nilai PIC berkisar antara 0,000–0,696, dengan CMTCN38 memiliki nilai tertinggi sebesar 0,696. Analisis gabungan sepuluh marka menghasilkan nilai heterozigositas teramati (H_o) sebesar 0,155, heterozigositas harapan (H_e) sebesar 0,265, *Shannon's Information Index* (I) sebesar 0,405, dan koefisien *inbreeding* (F) sebesar 0,416. Genotipe dalam populasi yang sama cenderung memiliki kemiripan genetik yang lebih tinggi dibandingkan genotipe antarpopulasi, sedangkan heterozigositas masih ditemukan terutama pada lokus CMAG59 dan CMTCN38. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keragaman genetik pada generasi S3 belum sepenuhnya terfiksasi. Analisis korelasi Spearman menunjukkan bahwa beberapa pola alel memiliki hubungan dengan karakter fenotipe tanaman dan buah melon, tetapi hubungan tersebut masih memerlukan validasi lebih lanjut. Secara keseluruhan, populasi S3-PL dan S3-ME masih menunjukkan keragaman genetik berdasarkan marka SSR yang dianalisis.

KATA PENGANTAR

Produksi hortikultura di Indonesia terus berkembang seiring meningkatnya kebutuhan dan preferensi konsumen akan buah-buahan berkualitas, termasuk melon (*Cucumis melo* L.). Variasi karakter buah, khususnya warna daging buah oranye dan hijau, menjadi salah satu faktor penting yang memengaruhi daya tarik pasar serta nilai ekonominya. Perbedaan karakter fenotipe tersebut dipengaruhi oleh interaksi faktor lingkungan dan faktor genetik yang kompleks. Oleh karena itu, evaluasi genetik melalui pendekatan molekuler, seperti penggunaan marka SSR, menjadi langkah strategis dalam mendukung program pemuliaan tanaman melon untuk menghasilkan varietas unggul yang sesuai dengan kebutuhan pasar.

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Keragaman genotipe melon generasi *selfing* ketiga (S3-PL dan S3-ME) berdasarkan penanda *simple sequence repeat* (SSR)” dengan baik. Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada Program Studi S-1 Agroekoteknologi, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bagus Herwibawa, S.P., M.P., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dan masukan selama penelitian hingga penyusunan skripsi kepada penulis.
2. Prof. Dr. Ir. Syaiful Anwar, M.Si. selaku dosen pembimbing anggota skripsi dan dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis.
3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.
4. Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian.

5. Dr. Ir. Eny Fuskhah, M.Si. selaku Ketua Program Studi S-1 Agroekoteknologi.
6. Seluruh Dosen dan Staf Administrasi Program Studi Agroekoteknologi dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi.
7. Kedua orang tua tercinta, dua sosok luar biasa yang menjadi alasan terbesar penulis untuk terus melangkah dan tidak menyerah, yaitu (Alm) Bapak dari penulis yang tetap menjadi inspirasi dan sumber kekuatan dalam perjalanan hidup ini, serta kepada Ibu yang dengan keteguhan hati dan kasih sayang yang tak terhingga senantiasa mendukung dan mendoakan penulis hingga saat ini.
8. Kakak tercinta, Eva Zunita, yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis dalam setiap proses yang dijalani.
9. Lulu Fatikhatul Maryamah, S.P., M.Biotech., Asma Nurul Rahmah, S.P., dan Raina Maulinda Putri, S.P., yang telah membimbing dan memberikan keyakinan kepada penulis selama penelitian.
10. Dini Putri Wulandari, Adinda Tiara Ardyanti, dan Nalista Dwi Anggraeni selaku teman-teman pertama penulis di Tembalang yang telah menjadi tempat berbagi cerita, membantu penulis beradaptasi dengan lingkungan baru, serta menemani penulis dalam suka dan duka selama masa perkuliahan hingga saat ini.
11. Badriyah, Cahayani Loyalita, Andini Raihanah Suwignyo, Helsa Budi Nandini, Aisiya Febrinia Putri, Hanum Nur Hamadah, dan Hanifatul Hikmah selaku teman dekat penulis di kampus yang selalu memberikan waktu, tenaga dan hal-hal sederhana yang sangat berarti selama perkuliahan hingga proses penelitian.
12. Mujahidah Mutginah, Nur Ni'mah Mufidah, Rafif Alviansyah, Talita Sifera Ivonilakandi, Munfajirotul Afifah, Amarilis Karina Putri, Ivana Idelia Sari, Dina Rahmawati Ayuningtyas, dan Esya Aulia Putri selaku rekan tim melon yang sudah bertahan bersama, saling memberikan dukungan dan kekuatan selama penelitian.

13. Teman-teman Prodi S-1 Agroekoteknologi 2022, teman-teman Minerva RC, teman-teman Medinfo BEM FPP 2024, teman-teman KKN Tim 134 tahun 2025, dan teman-teman Asisten Praktikum Mata Kuliah: Klimatologi, Teknologi Benih, Fisiologi Tanaman, Dasar Pemuliaan Tanaman, Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman, Fitohormon, TPT Umbi, Arsitektur Pertamanan, dan TPT Hias atas semua kebersamaan dan ruang belajar yang berkesan dan menyenangkan.
14. Sahabat penulis, Anisa Dwi Wulandari, Nabila Arnelia, Melisa Ika Anggraini, dan Amelia Dwi Lestari atas kehadiran dan dukungannya dari masa SMP hingga sekarang.
15. Seluruh pihak lain yang penulis tidak dapat sebutkan satu per satu, terima kasih telah membantu penulis secara langsung maupun tidak langsung untuk menyelesaikan tugas akhir.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan, baik dari segi teknis maupun materi. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan ke depannya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis maupun pembaca pada umumnya.

Semarang, September 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
1.3. Hipotesis Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Melon	5
2.2. Perakitan Varietas Hibrida	8
2.3. <i>Selfing</i> Generasi Ketiga (S3).....	9
2.4. Analisis Molekuler Berbasis penanda SSR.....	10
BAB III. MATERI DAN METODE.....	15
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2. Materi Penelitian	15
3.3. Metode Penelitian.....	16
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Populasi Melon Generasi <i>Selfing Ketiga</i>	31
4.2. Hasil Ekstraksi DNA.....	37
4.3. Analisis Genotipe Menggunakan Penanda SSR	39
4.4. Tingkat Heterozigositas dan Homogenitas	64

4.5. Analisis Korelasi Pola Alel Marka SSR dengan Karakter Fenotipe.....	66
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN.....	77
5.1. Simpulan	77
5.2. Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA	78
LAMPIRAN.....	85
RIWAYAT HIDUP.....	134

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Daftar Genotipe Melon Generasi S3.....	15
2. Sampel Tanaman yang digunakan untuk Analisis Molekuler	18
3. Sekuens Primer SSR.....	21
4. Karakteristik Umum Tanaman Melon Populasi S3-PL	31
5. Karakteristik Umum Tanaman Melon Populasi S3-ME.....	34
6. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Genom Melon	37
7. Keragaman Alel pada 10 Primer SSR	51
8. Nilai PIC dan Persentase Lokus Polimorfis.....	53
9. Matriks Kemiripan Genetik	55
10. Matriks Jarak Genetik	58
11. Nilai Heterozigositas, Keanekaragaman Alel, dan Koefisien <i>Inbreeding</i> pada Populasi Melon Hasil <i>Selfing</i> Generasi S3 Berdasarkan Marka SSR.....	64
12. Hasil Analisis Korelasi Spearman antara Pola Alel Marka SSR CMAG59 dengan Karakter Fenotipe Melon	67
13. Hasil Analisis Korelasi Spearman antara Pola Alel Marka SSR CMTCN38 dengan Karakter Fenotipe Melon	68
14. Hasil Analisis Korelasi Spearman antara Pola Alel Marka SSR CMN238 dengan Karakter Fenotipe Melon	70
15. Hasil Analisis Korelasi Spearman antara Pola Alel Marka SSR CMN21-06 dengan Karakter Fenotipe Melon	72
16. Hasil Analisis Korelasi Spearman antara Pola Alel Marka SSR CMMS35-5 dengan Karakter Fenotipe Melon	74

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Alur Umum Pembentukan Galur Murni Hingga Perakitan Varietas Hibrida Tanaman Melon.....	8
2. Persentase Sebaran Homozigot dan Heterozigot Generasi <i>Selfing</i> (Syukur <i>et al.</i> , 2018)	10
3. Posisi marka SSR dan QTL pada linkage group melon berdasarkan Ramamurthy dan Waters (2015) dan Cuevas <i>et al.</i> (2009)	13
4. Silsilah Hasil <i>selfing</i> Genotipe Melon yang digunakan dalam Penelitian	16
5. Pengambilan Sampel Daun Tanaman Melon	19
6. Kegiatan Ekstraksi DNA Tanaman Melon.....	20
7. Kegiatan Uji Kuantitas dan Uji Kualitas DNA	21
8. Kegiatan PCR DNA Tanaman Melon	22
9. Kegiatan Visualisasi DNA	23
10. Tanaman dan Buah Representatif Populasi S3-PL.....	32
11. Tanaman dan Buah Representatif Populasi S3-ME	35
12. Hasil Amplifikasi DNA dan Dendrogram UPGMA Berdasarkan Marka SSR CMAG59.....	40
13. Hasil Amplifikasi DNA dan Dendrogram UPGMA Berdasarkan Marka SSR CMTCN38.....	41
14. Hasil Amplifikasi DNA Berdasarkan Marka SSR CMTCN21	43
15. Hasil Amplifikasi DNA dan Dendrogram UPGMA Berdasarkan Marka SSR CMN238.....	43
16. Hasil Amplifikasi DNA dan Dendrogram UPGMA Berdasarkan Marka SSR CMN21-06	45

17.	Hasil Amplifikasi DNA Berdasarkan Marka SSR DM0085	46
18.	Hasil Amplifikasi DNA Berdasarkan Marka SSR DE1130	47
19.	Hasil Amplifikasi DNA dan Dendrogram UPGMA Berdasarkan Marka SSR CMMS35-5	47
20.	Hasil Amplifikasi DNA Berdasarkan Marka SSR CMN21-25	49
21.	Hasil Amplifikasi DNA Berdasarkan Marka SSR CMTCN41	50
22.	Dendrogram UPGMA Berdasarkan 10 Marka SSR	61

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. <i>Layout</i> Populasi Tanaman Melon Generasi S3.....	86
2. Deskripsi Genotipe Melon.....	87
3. Hasil Visualisasi 10 Primer SSR	89
4. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMAG59.....	90
5. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMTCN38	93
6. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMTCN21	98
7. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMN238.....	101
8. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMN21-06	104
9. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka DM0085	107
10. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka DE1130	110
11. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMMS35-5	113
12. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMN21-25	116
13. Perhitungan Keragaman Alel pada Marka CMTCN41	119
14. <i>Script</i> Analisis Matriks Jarak Genetik Menggunakan Koefisien Jaccard di RStudio	122
15. <i>Script</i> Analisis Matriks Kemiripan Genetik Menggunakan Koefisien Jaccard di RStudio	124
16. <i>Script</i> Analisis Klaster Metode UPGMA di RStudio	125
17. Data Biner Alel Marka SSR	126
18. Data Karakter Fenotipe untuk Uji Spearman	128
19. Kriteria Pengkodean Karakter Fenotipe untuk Uji Spearman	129

20. <i>Script</i> Analisis Spearman di RStudio	130
21. Dokumentasi Kegiatan	132

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Melon merupakan salah satu komoditas hortikultura yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan keragaman karakter yang luas. Keragaman tersebut dapat ditemukan pada bentuk buah, ukuran buah, warna kulit, warna daging buah, ketebalan daging buah, tekstur, dan tingkat kemanisan (Zhao *et al.*, 2019). Keragaman merupakan sumber penting dalam program pemuliaan tanaman karena menyediakan variasi yang dapat dimanfaatkan untuk memperoleh genotipe dengan karakter yang diinginkan. Oleh karena itu, informasi mengenai keragaman genetik diperlukan sebagai dasar dalam proses seleksi dan pengembangan galur.

Salah satu tahapan penting dalam pembentukan galur adalah *selfing* atau penyerbukan sendiri secara berulang. *Selfing* merupakan bentuk *inbreeding* yang meningkatkan homozigositas dan menurunkan heterozigositas dari satu generasi ke generasi berikutnya. Heterozigositas berkurang sekitar 50% pada setiap generasi sehingga alel yang masih dalam kondisi heterozigot akan mengalami segregasi dan secara bertahap mengalami fiksasi dalam keadaan homozigot (Syukur *et al.*, 2018). Proses tersebut dimanfaatkan untuk memperoleh galur yang seragam secara genetik sebelum digunakan sebagai bahan seleksi maupun tetua dalam program persilangan (Widodo *et al.*, 2024). Meskipun demikian, *selfing* tidak menyebabkan seluruh individu langsung seragam karena lokus yang belum terfiksasi masih dapat mengalami segregasi dan menghasilkan kombinasi alel yang berbeda antarindividu.

Keragaman genetik dapat dievaluasi melalui karakter fenotipe maupun genotipe. Pengamatan fenotipe dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan sehingga belum tentu menggambarkan perbedaan genetik secara langsung (Huda *et al.*, 2017). Analisis menggunakan penanda molekuler dapat melengkapi informasi tersebut melalui deteksi variasi pada tingkat DNA. Salah satu penanda yang banyak digunakan adalah *simple sequence repeat* (SSR). Marka SSR bersifat kodominan, mampu membedakan individu homozigot dan heterozigot, serta memiliki tingkat polimorfisme dan reproduksibilitas yang baik untuk analisis keragaman dan hubungan kekerabatan genetik (Terryana *et al.*, 2018). Tingkat keinformatifan marka dapat dievaluasi menggunakan *Polymorphic Information Content* (PIC). Botstein *et al.* (1980) mengelompokkan marka dengan nilai $PIC > 0,50$ sebagai sangat informatif, $PIC 0,25-0,50$ sebagai cukup informatif, dan $PIC < 0,25$ sebagai kurang informatif.

Pemilihan marka SSR pada penelitian ini juga mempertimbangkan informasi pemetaan genetik karakter buah melon. Warna daging buah memiliki dasar genetik yang berkaitan dengan pembentukan dan akumulasi pigmen, salah satunya melalui gen *CmOr* yang berperan dalam akumulasi β -karoten pada daging buah melon (Tzuri *et al.*, 2015). Cuevas *et al.* (2009) melaporkan QTL yang berkaitan dengan kandungan β -karoten dan warna daging buah dengan marka CMN21-25 dan CMTCN41 berada pada wilayah yang berasosiasi dengan karakter tersebut. Ramamurthy dan Waters (2015) juga mengidentifikasi QTL warna daging buah, yaitu FC1 pada kromosom 4 yang diapit oleh marka CMN238, CMN21-06, DM0085, dan DE1130 serta FC2 pada kromosom 9 yang berada di sekitar marka

CMMS35-5. Sementara itu, marka CMAG59, CMTCN38, dan CMTCN21 telah digunakan untuk mendeteksi polimorfisme dan membedakan keragaman genetik antargenotipe melon (Singh *et al.*, 2020).

Populasi melon S3-PL dan S3-ME merupakan populasi generasi *selfing* ketiga yang dikembangkan dalam program pemuliaan tanaman melon di Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Proses *selfing* hingga generasi S3 diperkirakan telah meningkatkan homozigositas, tetapi tingkat keragaman genetik antargenotipe pada kedua populasi tersebut belum diketahui berdasarkan analisis molekuler. Selain itu, belum diketahui apakah pola alel pada marka SSR yang digunakan menunjukkan hubungan dengan variasi karakter fenotipe tanaman dan buah, khususnya warna daging buah. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis keragaman genetik genotipe S3-PL dan S3-ME berdasarkan penanda SSR serta mengevaluasi hubungan antara pola alel dengan karakter fenotipe sebagai informasi pendukung dalam proses seleksi dan pembentukan galur melon pada generasi berikutnya.

1.2. Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisis keragaman genotipe melon generasi *selfing* ketiga (S3-PL dan S3-ME) berdasarkan penanda SSR.
2. Menganalisis hubungan antara pola alel marka SSR dan karakter fenotipe buah melon.

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai keragaman genotipe melon pada generasi *selfing* ketiga (S3-PL dan S3-ME) berdasarkan penanda SSR.
2. Memberikan informasi mengenai asosiasi antara variasi genetik dan fenotipe buah.

1.3. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat keragaman genotipe melon generasi *selfing* ketiga (S3-PL dan S3-ME) berdasarkan penanda SSR, ditunjukkan dengan nilai PIC > 0,25.
2. Marka SSR CMAG59, CMTCN38, CMTCN21, CMMS35-5, CMN21-06, CMN21-25, CMN238, DE1130, DM0085, dan CMTCN41 memiliki pola alel yang berasosiasi dengan karakter warna daging buah melon.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Melon

Melon merupakan komoditas hortikultura yang memiliki prospek ekonomi yang tinggi. Buah ini banyak diminati oleh masyarakat karena memiliki keunggulan berupa rasa yang manis, variasi warna daging, tekstur yang renyah, serta aroma yang khas. Buah melon termasuk komoditas yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai jual yang tinggi (Huda *et al.*, 2017). Melon memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap. Daging buah melon mengandung kalori, sodium, kalium, karbohidrat, serat, gula, vitamin C, kalsium, zat besi, serta senyawa adenosin yang berfungsi mencegah penggumpalan darah dan karotenoid sebagai senyawa antioksidan (Manchali *et al.*, 2021). Menurut Lija dan Beevy (2021) klasifikasi tanaman melon adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Angiospermae
Ordo	: Cucurbitales
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Cucumis</i>
Spesies	: <i>Cucumis melo</i> L.

Tanaman melon memiliki batang merambat, daun menjari, dan buah yang bervariasi dalam ukuran, bentuk, dan warna tergantung pada varietasnya. Tipe

melon dibagi menjadi dua, yaitu *netted* melon yang harum dengan kulit kasar berurat seperti jala, dan *winter* melon yang kurang harum dengan kulit mengkilap dan halus (Daryono dan Maryanto, 2018). Tanaman melon memiliki batang bertipe *herbaceous* yang basah dan ditutupi trikoma. Batangnya berbentuk segi lima dengan nodus sebagai tempat melekatnya tangkai daun. Cabang sekunder dapat tumbuh di ketiak daun dan berfungsi sebagai lokasi munculnya bunga (Daryono dan Maryanto, 2018). Tanaman melon memiliki bunga berwarna kuning dengan tipe ekspresi seksual yang beragam. Kultivar melon komersial umumnya bersifat andromonoecious, yaitu menghasilkan bunga jantan dan bunga biseksual atau bunga sempurna pada tanaman yang sama. Selain itu, pada melon juga ditemukan tipe monoecious, gynoecious, dan hermaphrodite yang ditentukan oleh interaksi genetik dalam pengaturan ekspresi seksual bunga (Shahwar *et al.*, 2023).

Melon memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai untuk dapat mendukung pertumbuhan yang optimal. Melon dapat tumbuh optimal pada ketinggian 300 – 900 mdpl (Trisnawati *et al.*, 2018). Selain itu, kondisi lingkungan juga harus diperhatikan untuk mendukung pertumbuhan. Melon dapat tumbuh optimal pada pH media tanam 6,0–7,0, suhu antara 25–30°C, apabila suhu mencapai 35 °C dapat mengurangi fertilitas serbuk sari, yang dapat memengaruhi keberhasilan proses penyerbukan pada tanaman melon (Pulela *et al.*, 2022). Intensitas cahaya memengaruhi laju fotosintesis sehingga berdampak pada pertumbuhan dan produksi tanaman. Tanaman melon membutuhkan paparan sinar matahari penuh selama 10–12 jam per hari (Tola, 2020).

Melon memiliki variasi karakter buah yang sangat beragam, mencakup

bentuk, warna kulit, tekstur kulit, warna daging, serta bobot yang bergantung pada varietasnya. Bentuk buahnya dapat berupa bulat, oval, hingga lonjong atau silindris, sementara warna kulitnya bervariasi dari putih susu, putih krem, hijau krem, hijau kekuningan, hijau muda, kuning, kuning muda, kuning jingga, hingga kombinasi warna lainnya (Pardosi *et al.*, 2022). Berdasarkan studi preferensi konsumen di Yogyakarta, terdapat perbedaan preferensi antara konsumen pasar tradisional dan modern. Varietas Sky Rocket, Glamor, Golden Langkawi, dan Mai 119 dinilai sesuai untuk kedua jenis ritel, sedangkan varietas Cantaloupe dan Rock Melon lebih cocok untuk pasar tradisional, dan varietas Honey Globe serta Action 434 lebih sesuai untuk pasar modern (Hartono *et al.*, 2023).

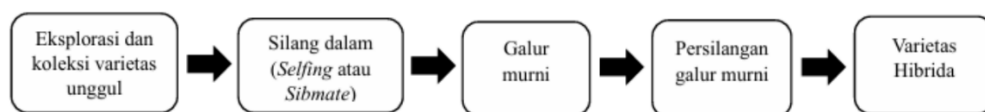
Salah satu faktor utama yang memengaruhi daya tarik dan preferensi konsumen terhadap melon adalah warna daging buah. Variasi warna daging buah tidak hanya memberikan keunikan visual tetapi juga berkaitan dengan kandungan nutrisi yang berbeda-beda. Warna daging buah oranye menjadi salah satu atribut penting yang disukai konsumen karena diasosiasikan dengan rasa manis, kesegaran, dan kualitas buah yang baik (Suhita *et al.*, 2025). Melon berdaging oranye mengandung beta karoten yaitu pigmen alami yang berperan dalam memberikan warna oranye pada buah (Daryono *et al.*, 2016). Kandungan beta karoten yang tinggi menjadikan melon berdaging oranye sebagai sumber utama vitamin A dan antioksidan yang bermanfaat untuk kesehatan jantung serta sistem imun tubuh (Zuraida, 2019). Melon berdaging hijau memiliki tekstur berjala dengan rasa yang lebih kuat serta mengandung vitamin B6, vitamin C, folat, dan kalium dalam jumlah tinggi. Kandungan vitamin B6 dalam melon hijau diketahui bermanfaat dalam

menjaga kekuatan tulang dan kesehatan gigi, sedangkan vitamin C berperan dalam meningkatkan daya tahan tubuh (Huda *et al.*, 2018).

2.2 Perakitan Varietas Hibrida

Perakitan varietas hibrida merupakan upaya pemuliaan tanaman untuk memperoleh genotipe yang memiliki karakter unggul, seragam, dan memiliki daya hasil tinggi. Varietas hibrida umumnya memiliki tingkat keseragaman yang tinggi serta dapat menunjukkan heterosis, yaitu kondisi ketika keturunan hasil persilangan memiliki penampilan atau daya hasil yang lebih baik dibandingkan dengan kedua tetuanya (Abdullah *et al.*, 2023). Oleh karena itu, pembentukan varietas hibrida membutuhkan tetua yang memiliki karakter unggul dan tingkat homozigositas tinggi agar sifat yang diharapkan dapat diwariskan secara lebih stabil.

Perakitan varietas hibrida diawali dengan eksplorasi dan koleksi genotipe potensial, kemudian dilanjutkan dengan *selfing* dan seleksi untuk memperoleh galur murni. Proses *selfing* menyebabkan heterozigositas menurun sekitar 50% pada setiap generasi, sehingga individu yang dihasilkan menjadi semakin homozigot dan seragam secara genetik (Syukur *et al.*, 2018). Galur murni yang telah stabil selanjutnya dapat digunakan sebagai tetua dalam persilangan untuk menghasilkan varietas hibrida. Alur umum pembentukan galur murni hingga perakitan varietas hibrida disajikan pada Ilustrasi 1.

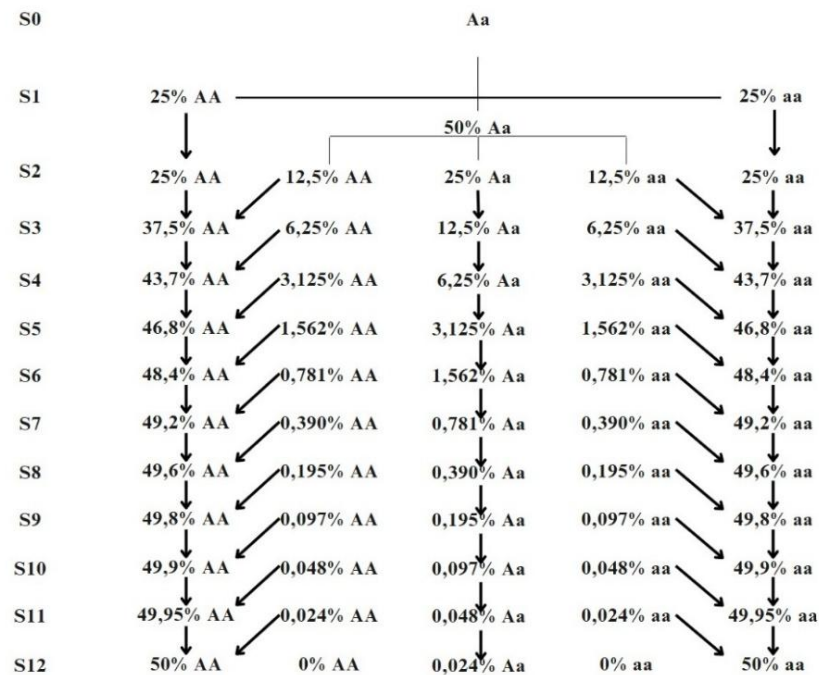


Ilustrasi 1. Alur umum pembentukan galur murni hingga perakitan varietas hibrida tanaman melon.

2.3 Selfing Generasi Ketiga (S3) Tanaman Melon

Selfing atau penyerbukan sendiri merupakan metode yang umum digunakan dalam pemuliaan tanaman untuk memperoleh galur inbrida (*inbred line*). Tanaman generasi S3 berasal dari hasil *selfing* pada generasi S2, sedangkan generasi S2 diperoleh dari hasil *selfing* pada generasi S1. Proses *selfing* menyebabkan peningkatan homozigositas dan penurunan heterozigositas secara bertahap pada setiap generasi secara genetik. *Selfing* ketiga (S3) memiliki tingkat homozigositas diperkirakan telah mencapai sekitar 87,5% (Syukur *et al.*, 2018), sehingga tanaman mulai menunjukkan keseragaman genetik yang lebih tinggi. Meskipun demikian, beberapa lokus masih dapat mengalami segregasi karena belum seluruh alel berada dalam kondisi homozigot.

Tingkat homozigositas akan terus meningkat pada generasi selanjutnya. Sebagian besar lokus pada generasi S6–S8 telah berada dalam kondisi homozigot sehingga galur memiliki tingkat keseragaman genetik yang tinggi dan relatif stabil untuk digunakan sebagai tetua dalam perakitan varietas hibrida. Persentase distribusi individu homozigot dan heterozigot pada beberapa generasi *inbreeding* disajikan pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Persentase Sebaran Homozigot dan Heterozigot Generasi *Selfing* (Syukur *et al.*, 2018).

Populasi melon S3-PL dan S3-ME dalam penelitian ini merupakan populasi generasi *selfing* ketiga yang dikembangkan di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Populasi tersebut berada pada tahap menuju pembentukan galur murni, sehingga evaluasi genetik diperlukan untuk mengetahui tingkat keseragaman antargenotipe. Evaluasi pada generasi S3 juga penting untuk menentukan individu yang memiliki pola genetik lebih stabil dan berpotensi dilanjutkan pada generasi *selfing* berikutnya. Informasi tersebut dapat digunakan sebagai dasar seleksi dalam proses pembentukan galur murni melon.

2.4 Analisis Molekuler Berbasis Penanda SSR

Analisis molekuler banyak digunakan dalam pemuliaan tanaman untuk mengetahui perbedaan genetik antartanaman. Analisis DNA dapat memberikan

dasar ilmiah untuk memahami variasi genetik antargalur, mengidentifikasi marka molekuler, menilai keragaman genetik plasma nutfah, menyeleksi tetua yang tepat, serta mempercepat proses seleksi tanaman. Keunggulan analisis DNA terletak pada kemampuannya mendeteksi perbedaan genetik hingga tingkat molekuler tunggal dengan efisiensi dan akurasi tinggi (Nugroho *et al.*, 2021).

Analisis molekuler umumnya dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu ekstraksi DNA, pengujian kualitas dan kuantitas DNA, amplifikasi, serta visualisasi hasil amplifikasi. Ekstraksi dilakukan untuk memperoleh DNA dengan memisahkannya dari membran sel, protein, dan komponen seluler lainnya (Gupta, 2019). DNA yang diperoleh kemudian diperbanyak menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses PCR membutuhkan DNA cetakan, primer, nukleotida, dan enzim DNA polimerase (Kayama *et al.*, 2021). Primer akan menempel pada sekuens DNA yang sesuai, kemudian DNA polimerase memperpanjang rantai DNA hingga terbentuk salinan fragmen yang ditargetkan.

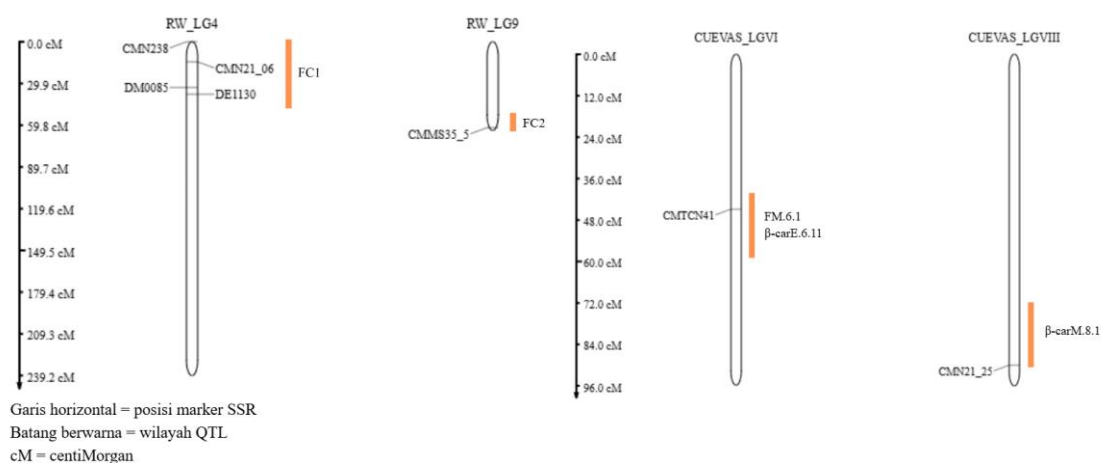
Pendekatan yang digunakan dalam analisis molekuler untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi keragaman genetik adalah penggunaan penanda DNA. Berbagai jenis penanda molekuler telah dikembangkan dan dimanfaatkan dalam studi genetika tanaman, antara lain *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR), *Simple Sequence Repeat* (SSR), dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Masing-masing penanda memiliki karakteristik, tingkat polimorfisme, serta kemampuan deteksi variasi genetik yang berbeda.

Penanda SSR tersusun atas sekuen pendek berulang yang keberadaannya melimpah dalam genom organisme eukariotik (Ting *et al.*, 2010). Penanda SSR bersifat polimorfik dan kodominan sehingga mampu membedakan individu homozigot maupun heterozigot dalam suatu populasi (Terryana *et al.*, 2018). Penggunaan penanda SSR banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik, hubungan kekerabatan, identifikasi varietas, serta pemetaan gen dan QTL.

Penggunaan penanda SSR dapat membantu mengetahui variasi genetik yang berkaitan dengan karakter buah, salah satunya warna daging buah. Karakter tersebut penting dalam seleksi karena berkaitan dengan preferensi konsumen dan nilai ekonomi melon. Selim (2020) menjelaskan bahwa warna buah melon dipengaruhi oleh dua gen yang bekerja secara epistatis, yaitu gen *gf* (*green flesh*) dan *wf* (*white flesh*). Gen *Gf* menghasilkan warna oranye yang dominan terhadap warna hijau yang dikendalikan oleh gen *gf*, sedangkan gen *Wf* menentukan warna putih. Interaksi kedua gen tersebut dapat menghasilkan variasi warna hijau, putih, dan oranye (Kesh dan Kaushik, 2020). Gen *CmOr* teridentifikasi sebagai gen pada lokus *gf*. Polimorfisme pada posisi 108 membedakan alel histidin yang berasosiasi dengan warna daging buah oranye dan akumulasi β -karoten dengan alel arginin yang berasosiasi dengan warna daging buah hijau atau putih (Tzuri *et al.*, 2015).

Hasil pemetaan QTL oleh Ramamurthy dan Waters (2015) menunjukkan bahwa karakter warna daging buah melon dikaitkan dengan dua lokus QTL, yaitu FC-1 yang terletak pada kromosom 4 dan FC-2 yang terletak pada kromosom nomor 9. Lokus FC-1 diapit oleh marka SSR CMN238, CMN21-06, DM0085 dan DE1130, sedangkan lokus FC-2 diapit oleh marka SSR CMMS35-5. Penanda SSR

tersebut berada pada daerah pengapit (*flanking region*) masing-masing lokus dan dapat dimanfaatkan untuk menganalisis variasi genetik warna daging buah melon berbasis PCR. Cuevas *et al.* (2009) melaporkan bahwa marka SSR CMN21_25 dan CMTCN41 terletak pada daerah QTL yang berasosiasi dengan karakter warna daging buah melon, khususnya akumulasi β -karoten pada *mesokarp* dan *endokarp*. Oleh karena itu, marka SSR tersebut berpotensi digunakan untuk mendukung karakterisasi genetik genotipe melon berdasarkan variasi warna daging buah.



Ilustrasi 3. Posisi marka SSR dan QTL pada linkage group melon berdasarkan Ramamurthy dan Waters (2015) dan Cuevas *et al.* (2009).

Marka SSR CMAG59, CMTCN38, dan CMTCN21 menghasilkan alel spesifik yang hanya ditemukan pada genotipe tertentu (Singh *et al.*, 2020). Berdasarkan karakteristik genotipe yang dilaporkan pada penelitian tersebut, alel spesifik pada marka CMAG59 ditemukan pada genotipe dengan warna daging buah hijau, sedangkan alel spesifik pada marka CMTCN38 dan CMTCN21 ditemukan pada genotipe dengan warna daging buah oranye. Pola tersebut menunjukkan adanya kesesuaian antara distribusi alel spesifik dan warna daging buah pada koleksi melon yang diteliti, sehingga ketiga marka tersebut berpotensi

dimanfaatkan sebagai marka pembeda genotipe berdasarkan karakter warna daging buah. Namun, penelitian tersebut belum melakukan uji asosiasi secara statistik sehingga hubungan tersebut masih perlu diverifikasi lebih lanjut.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Desember 2025 – Mei 2026. Pengambilan sampel dilaksanakan di *greenhouse*. Analisis molekuler dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman, Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.2 Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat dan bahan. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain gunting, lemari pendingin, mortar, *pestle*, sentrifus, *vortex mixer*, *dry bath*, *thermal cycler machine*, tabung eppendorf 1,5 ml, tabung PCR, mikropipet, tip, mesin elektroforesis, *gel documentation system* dan kamera, dan latar belakang foto. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel daun muda dari dua populasi genotipe S3-PL dan S3-ME (Tabel 1), 10 Primer SSR, *agarose*, *Cetyl Trimethylammonium Bromide* (CTAB) 3%, *Tris base*, *disodium* EDTA, ddH₂O, PVP40, asam borat, kloroform, isoamil alkohol, etanol absolut, 2x *PCR master mix solution (I-TAQ)*, larutan pewarna asam nukleat *Red Safe*, DNA ladder 1.000 bp, DNA ladder 100 bp, dan 6x *agarose gel loading buffer*.

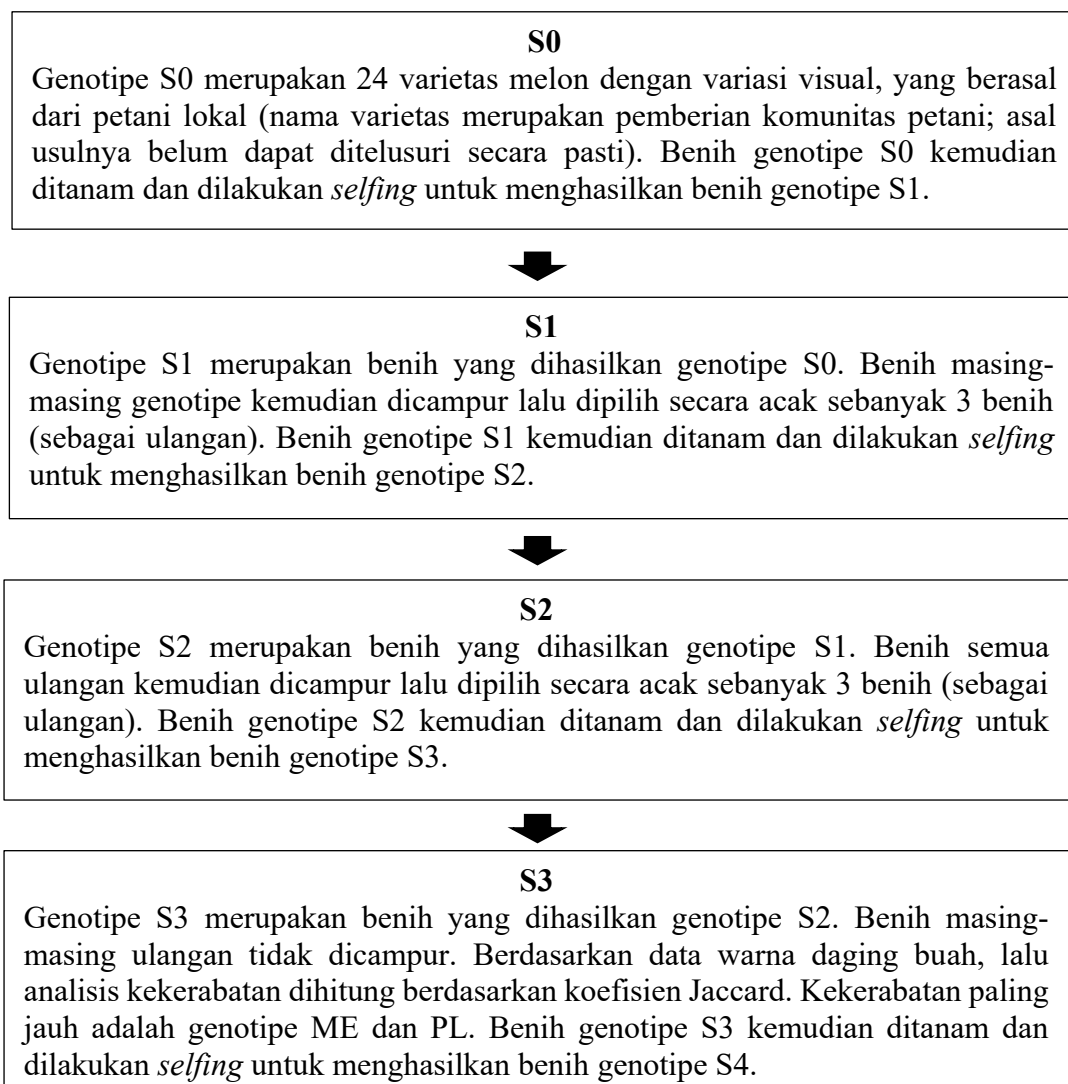
Tabel 1. Daftar genotipe Melon generasi S3

No.	Tetua Asal Genotipe	Kode Genotipe yang Digunakan
1.	S2_PL x S2_PL	S3_PL
2.	S2_ME x S2_ME	S3_ME

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif komparatif berbasis analisis molekuler tanpa perlakuan. Sampel tanaman yang digunakan berasal dari populasi hasil percobaan yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap.



Ilustrasi 4. Silsilah Hasil *Selfing* Genotipe Melon yang digunakan dalam Penelitian.

3.3.2. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dalam dua tahap utama, yaitu pengamatan karakter fenotipe secara deskriptif dan analisis molekuler. Tahap pertama dilakukan melalui pengamatan dan dokumentasi karakter fenotipe tanaman serta buah melon. Individu yang memiliki karakter fenotipe yang mewakili variasi dalam populasi dipilih sebagai sampel untuk didokumentasikan menggunakan kamera dengan menyertakan skala ukuran pada saat pengambilan gambar. Hasil dokumentasi kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ untuk memperoleh data pengukuran karakter fenotipe secara kuantitatif. Karakter kualitatif diamati dan dikategorikan berdasarkan penampakan fenotipe masing-masing sampel.

Tahap kedua berupa analisis molekuler menggunakan penanda *simple sequence repeat* (SSR). Analisis molekuler dilakukan melalui lima tahapan, yaitu pengambilan sampel, ekstraksi DNA, pengukuran kuantitas dan kualitas DNA menggunakan *NanoDrop spectrophotometer*, amplifikasi DNA melalui reaksi *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan primer SSR, serta visualisasi produk PCR melalui elektroforesis. Tahapan tersebut dilakukan secara berurutan hingga diperoleh pola pita DNA.

Pengambilan sampel daun melon. Metode pengambilan sampel dilakukan secara *simple random sampling* tanpa pengembalian dari total 25 individu pada masing-masing genotipe. Seluruh tanaman pada masing-masing genotipe terlebih dahulu diberi nomor 1 hingga 25, kemudian nomor sampel diacak dengan fungsi RAND() pada Microsoft Excel dan diurutkan dari nilai terkecil hingga terbesar. Berdasarkan hasil pengacakan tersebut, terpilih 10 individu dari setiap genotipe

sehingga jumlah sampel yang dianalisis sebanyak 20 individu. Sampel tanaman yang digunakan untuk analisis molekuler disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sampel Tanaman yang digunakan untuk Analisis Molekuler

No	Genotipe	Kode Individu
1.	S3_PL	S3_PL_14
2.	S3_PL	S3_PL_03
3.	S3_PL	S3_PL_11
4.	S3_PL	S3_PL_23
5.	S3_PL	S3_PL_25
6.	S3_PL	S3_PL_08
7.	S3_PL	S3_PL_21
8.	S3_PL	S3_PL_16
9.	S3_PL	S3_PL_07
10.	S3_PL	S3_PL_19
11.	S3_ME	S3_ME_08
12.	S3_ME	S3_ME_11
13.	S3_ME	S3_ME_13
14.	S3_ME	S3_ME_16
15.	S3_ME	S3_ME_19
16.	S3_ME	S3_ME_04
17.	S3_ME	S3_ME_17
18.	S3_ME	S3_ME_20
19.	S3_ME	S3_ME_06
20.	S3_ME	S3_ME_22

Unit sampel adalah individu tanaman dengan data fenotipe berupa warna daging buah, yaitu S3-PL berdaging buah oranye dan S3-ME berdaging buah hijau. Sampel berupa daun muda yang sehat diambil pada fase vegetatif yaitu 21 hari setelah tanam. Sampel dipotong $\pm 1-2$ g, dimasukkan ke dalam *microtube* 2 ml yang

telah diberi kode sesuai nomor individu, kemudian disimpan dalam *cooler box* selama transportasi dan selanjutnya disimpan pada suhu -20°C hingga proses ekstraksi DNA dilakukan. Kegiatan pengambilan sampel tersaji pada Ilustrasi 5.



Ilustrasi 5. Pengambilan Sampel Daun Tanaman Melon

Ekstraksi DNA. Sampel daun sebanyak 500 mg digerus di dalam mortar yang telah didinginkan di dalam *freezer*, kemudian digerus hingga halus dengan pistil dan ditambahkan *Cetyltrimethylammonium Bromide* (CTAB) 3% *buffer* sebanyak 500 μl . Sampel dipindahkan ke dalam *tube eppendorf* 1,5 ml, lalu dihomogenisasi selama 5 detik. Sampel diinkubasi di dalam *drybath* pada suhu 60°C selama 20 menit. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Transfer 250 μl supernatan ke *tube* 1,5 ml baru dan ditambahkan 250 μl *chloroform:isoamyl alcohol* (24:1), lalu campur dengan divorteks. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Transfer supernatan ke dalam *tube* 1,5 ml baru dan tambahkan 500 μl etanol absolut dingin, kemudian inversi selama 10 kali. Simpan pada suhu -20°C selama semalam.

Sentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit hingga pelet DNA terlihat mengendap pada bagian bawah *tube*. Buang supernatan dan ditambahkan 500 μl etanol 70% kemudian diinversi selama 10 kali. Sentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Buang supernatan dan kering anginkan di atas tisu

bersih selama 30 menit. Suspensikan pelet DNA dengan 50 μ l TE *buffer*. Inkubasi selama 20 menit pada suhu 65 °C. DNA siap digunakan atau disimpan pada suhu -20 °C. Kegiatan Ekstraksi DNA dapat dilihat pada Ilustrasi 6.



Ilustrasi 6. Kegiatan Ekstraksi DNA Daun Tanaman Melon.

Uji Kuantitas dan Kualitas DNA. Kuantitas DNA sampel diukur dengan *Nanodrop spectrophotometer*. Sebelum pengukuran dilakukan, alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan buffer TE. Sebanyak 2 μ L sampel DNA kemudian ditetaskan pada permukaan sensor. Nilai konsentrasi DNA (ng/ μ L) dan rasio A260/A280 sebagai indikator kemurnian diperoleh secara otomatis dari alat. DNA dengan rasio antara 1,8–2,0 dianggap cukup murni untuk analisis PCR. Kualitas DNA dievaluasi melalui elektroforesis gel agarosa 1%, dengan penambahan *ethidium bromide* atau *safe dye*. Hasil ekstraksi DNA sampel sebanyak 5 μ L dicampur dengan 1 μ L *loading dye* dan dimasukkan ke dalam sumur gel, kemudian dijalankan pada tegangan 100 Volt selama 25 menit. Pita DNA divisualisasikan dengan alat *imaging gel*. DNA yang berkualitas baik akan tampak sebagai pita tunggal dan utuh, tanpa adanya *smear*. Kegiatan uji kuantitas dan uji kualitas DNA dapat dilihat pada Ilustrasi 7.



Ilustrasi 7. Kegiatan uji kuantitas dan uji kualitas DNA Tanaman Melon.

Reaksi PCR. Primer yang digunakan yaitu primer SSR yang terkait dengan karakter warna daging buah. Primer *forward* dan *reverse* yang digunakan untuk masing-masing marka adalah sebagai berikut.

Tabel 3. Sekuens Primer SSR

Primer SSR	Sekuens forward dan reverse primer (5'-3')	Referensi
CMAG59	F: TTGGGTGGCAATGAGGAA R: ATATGATCTTCCATTTCCA	Singh <i>et al.</i> (2020)
CMTCN38	F: TAAACACTCTCGTGACTCC R: GATCTGAGGTTGAAGCAAAG	Singh <i>et al.</i> (2020)
CMTCN21	F: GCTGTAAAACGAAACGGAGA R: CGATCTTCTTTATTCTTCGCC	Singh <i>et al.</i> (2020)
CMN238	F: CTTTTTCCTAGCATGTTTG R: CAGTTCGTTCTCTTTTC	Ramamurthy dan Waters (2015)
CMN21-06	F: AAAAAGTGGAAAGATGTTCGC R: AGGAGGTCGAGATTGCAAAA	Ramamurthy dan Waters (2015)
DM0085	F: AGACAATTAGGTGACGAGG R: ACAGAACACAGAACGCAAC	Ramamurthy dan Waters (2015)
DE1130	F: AAACCTGTGATAAACAAGCG R: TCATATGTTGCCTGACATTG	Ramamurthy dan Waters (2015)
CMMS35-5	F: AACGGGATTTTGGAGGCATATTCGG R: CTCCCCAGTGTATCAGCCAAATCTC	Ramamurthy dan Waters (2015)
CMN21-25	F: TTTTGCTGAAACGCAACAAC R: TGGAAACTCTGTGGGTAGGC	Cuevas <i>et al.</i> (2009)
CMTCN41	F: CCCCAAGATTCGTATTAATC R: TGGTAGTAGAGATGATATAC	Cuevas <i>et al.</i> (2009)

Reaksi PCR dibuat 12,5 μ l yang terdiri dari ddH₂O sebanyak 4,25 μ l, *forward primer* sebanyak 0,5 μ l, *reverse primer* 0,5 μ l, DNA sebanyak 1 μ l, dan 2X PCR *MasterMix* sebanyak 6,25 μ l. Proses PCR dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: pra-denaturasi pada 95°C selama 5 menit; denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik; *annealing* pada suhu sekitar 51°C hingga 58°C selama 30 detik; ekstensi pada suhu 72°C selama 40 detik. Proses PCR tersebut diulang sebanyak 35 siklus, kemudian diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Kegiatan PCR dapat dilihat pada Ilustrasi 8.

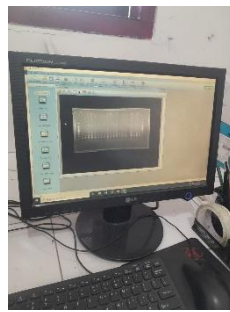


Ilustrasi 8. Kegiatan PCR DNA Tanaman Melon

Visualisasi DNA di gel Agarosa. Sebanyak 100 mL larutan stok TBE 5X diencerkan dengan 400 mL akuades sehingga diperoleh larutan penyangga TBE 1X. Sebanyak 0,9 g agarosa ditimbang dan dilarutkan dalam 60 mL larutan TBE 1X sehingga terbentuk gel agarosa dengan konsentrasi 1,5%. Campuran dihomogenkan dengan diaduk perlahan, kemudian dipanaskan dengan oven gelombang mikro selama ± 30 detik sebanyak dua kali hingga larutan menjadi bening. Setelah larutan hangat kuku, ditambahkan 4 μ L RedSafe *Nucleic Acid Staining Solution* dan dihomogenkan kembali. Larutan kemudian dituang ke dalam cetakan elektroforesis yang telah dipasang sisir gel dan dibiarkan hingga memadat selama 30 menit. Setelah gel padat, sisir dan cetakan dilepaskan, kemudian gel ditempatkan pada bak

elektroforesis yang telah diisi larutan penyangga TBE 1X hingga seluruh permukaan gel terendam. DNA *ladder* 100 bp dan produk PCR sebanyak 5 μ L dimasukkan ke dalam sumuran gel.

Elektroforesis dijalankan pada tegangan 50 volt selama 60 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, gel dipindahkan ke UV *tray* untuk visualisasi pita DNA. Gel diamati menggunakan *Gel Documentation System* dan hasil visualisasi didokumentasikan. Kegiatan Visualisasi DNA dapat dilihat pada Ilustrasi 9.



Ilustrasi 9. Kegiatan Visualisasi DNA Tanaman Melon.

Analisis Data

Skoring Data. Pita DNA hasil elektroforesis diinterpretasikan sebagai alel berdasarkan ukuran fragmen (*base pair*/bp) dengan perangkat lunak GelAnalyzer. Skoring data dilakukan dengan cara setiap pita DNA yang muncul dianggap sebagai satu alel pada lokus tertentu (Vieira *et al.*, 2016). Setiap individu diklasifikasikan ke dalam genotipe berdasarkan kombinasi alel, yaitu:

AA $\rightarrow$ homozigot (satu jenis alel)

Aa $\rightarrow$ heterozigot (dua alel berbeda)

aa $\rightarrow$ homozigot alel alternatif

Data SSR dianalisis sebagai marka kodominan sehingga alel dapat diidentifikasi secara langsung. Parameter frekuensi alel, jumlah alel per lokus (N_a), jumlah alel efektif atau *effective number of alleles* (N_e), *Polymorphic Information*

Content (PIC), heterozigositas teramati (H_o), dan heterozigositas harapan (H_e) dihitung berdasarkan data tersebut.

Analisis Data Genetik

1. Frekuensi Alel (P_i)

Hasil amplifikasi marka SSR dianalisis berdasarkan pola pita yang muncul pada gel agarosa. Setiap ukuran pita yang berbeda dianggap sebagai satu alel. Frekuensi suatu alel ditentukan berdasarkan proporsi jumlah alel tersebut terhadap jumlah total alel yang diamati pada suatu lokus. Rumus frekuensi alel yaitu sebagai berikut (Peakall dan Smouse, 2012).

$$P_i = \frac{n_i}{N}$$

Keterangan:

P_i : frekuensi alel ke-i

n_i : jumlah kemunculan alel ke-i

N : total alel pada lokus tersebut

2. Jumlah Alel per Lokus (N_a)

N_a = Jumlah alel berbeda pada satu lokus

Jumlah alel per lokus ditentukan berdasarkan banyaknya alel berbeda yang teridentifikasi pada setiap lokus SSR. Nilai N_a digunakan sebagai indikator tingkat kekayaan alel dalam populasi. Semakin tinggi jumlah alel yang ditemukan, semakin besar tingkat keragaman genetik populasi (Peakall dan Smouse, 2012).

3. *Effective Number of Alleles* (N_e)

Nilai *effective number of alleles* digunakan sebagai indikator jumlah alel efektif yang berkontribusi terhadap keragaman genetik dalam populasi. Rumus nilai

Ne yaitu sebagai berikut (Peakall dan Smouse, 2012).

$$N_e = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Keterangan:

P_i = frekuensi alel ke-i

4. Persentase Lokus Polimorfik

Persentase lokus polimorfik ditentukan berdasarkan proporsi lokus dengan lebih dari satu alel dalam populasi. Tingkat variasi genetik antarindividu dinyatakan melalui nilai tersebut, yang dihitung dengan rumus sebagai berikut (Peakall dan Smouse, 2012).

$$\%P = \frac{L_p}{L_t} \times 100$$

Keterangan:

L_p = jumlah lokus polimorfik

L_t = total lokus yang diamati

5. *Polymorphic Information Content (PIC)*

Nilai PIC digunakan sebagai indikator tingkat keinformatifan marka SSR. Tingkat polimorfisme yang lebih besar ditandai oleh nilai PIC yang lebih tinggi. Nilai PIC dihitung dengan rumus sebagai berikut (Botstein *et al.* 1980).

$$PIC = 1 - \sum (P_i^2) - \sum \sum (2p_i^2 p_j^2)$$

Keterangan:

p_i = frekuensi alel ke-i

p_j = frekuensi alel ke-j

i dan j = alel yang berbeda pada lokus yang sama

Standar Nilai:

- $PIC > 0,5$ (sangat informatif)
- $0,25 < PIC \leq 0,5$ (sedang)
- dan $PIC < 0,25$ (rendah)

6. Heterozigositas Teramati (H_o)

Heterozigositas teramati (H_o) merupakan ukuran keragaman genetik yang dinyatakan berdasarkan proporsi individu heterozigot, yaitu individu dengan dua alel berbeda pada lokus tertentu. Nilai H_o dihitung dengan rumus sebagai berikut (Peakall dan Smouse, 2012).

$$H_o = \frac{N_{het}}{N}$$

Keterangan:

H_o = Heterozigositas teramati

N_{het} = Jumlah individu heterozigot dalam populasi

N = Jumlah total individu yang dianalisis

7. Heterozigositas Harapan (H_e)

Heterozigositas harapan (H_e) dinyatakan sebagai probabilitas diperolehnya dua alel yang berbeda ketika alel dipilih secara acak dari suatu populasi. Tingkat keragaman genetik yang diharapkan dicerminkan oleh nilai tersebut. Nilai H_e dihitung dengan rumus sebagai berikut (Peakall dan Smouse, 2012).

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Keterangan:

p_i = frekuensi alel ke-i

8. *Shannon's Information Index (I)*

Shannon's Information Index (I) digunakan untuk menggambarkan tingkat keragaman alel berdasarkan jumlah alel dan distribusi frekuensi alel pada setiap lokus SSR. Indeks ini telah digunakan dalam analisis keragaman genetik berbasis marka SSR pada berbagai tanaman, dengan nilai indeks yang lebih besar menunjukkan distribusi alel yang semakin beragam, sedangkan nilai $I = 0$ menunjukkan tidak adanya variasi alel pada lokus yang diamati. Nilai *Shannon's Information Index* dihitung menggunakan persamaan berikut (Cheng *et al.*, 2024).

$$I = - \sum_{i=1}^S p_i \ln (p_i)$$

Keterangan:

I = *Shannon's Information Index*

P_i = Frekuensi alel ke- i pada lokus yang diamati

S = Jumlah total alel

$\ln$ = Logaritma natural

9. Koefisien *Inbreeding* (F)

Koefisien inbreeding (F) dinyatakan sebagai probabilitas diperolehnya dua alel yang identik karena berasal dari tetua yang sama pada suatu lokus genetik. Nilai koefisien *inbreeding* dihitung dengan rumus sebagai berikut (Peakall dan Smouse, 2012).

$$F = 1 - \frac{H_o}{H_e}$$

Keterangan:

F = Koefisien *inbreeding*

H_o = Heterozigositas teramati

H_e = Heterozigositas harapan

10. Koefisien Kesamaan Jaccard

Tingkat kemiripan genetik antarindividu diukur dengan koefisien kesamaan Jaccard berdasarkan data biner hasil skoring marka SSR. Keberadaan alel dinyatakan dengan angka 1, sedangkan ketidakhadiran alel dinyatakan dengan angka 0. Nilai koefisien Jaccard berkisar antara 0 hingga 1, dengan tingkat kemiripan genetik yang semakin tinggi ditunjukkan oleh nilai yang semakin mendekati 1. Matriks kesamaan Jaccard dihitung dengan perangkat lunak RStudio berdasarkan rumus berikut (Jaccard, 1908).

$$J = \frac{a}{a+b+c}$$

Keterangan:

a = jumlah pita yang sama

b = pita yang hanya muncul pada individu pertama

c = pita yang hanya muncul pada individu kedua

11. Jarak Genetik

Tingkat perbedaan genetik antarindividu dinyatakan melalui jarak genetik berdasarkan matriks kesamaan Jaccard. Nilai koefisien kesamaan Jaccard dikonversi menjadi matriks jarak menggunakan perangkat lunak RStudio. Hubungan kekerabatan yang semakin dekat ditunjukkan oleh nilai jarak genetik yang mendekati 0, sedangkan hubungan kekerabatan yang semakin jauh ditunjukkan oleh nilai yang mendekati 1. Jarak genetik dihitung dengan rumus sebagai berikut (Jaccard, 1908).

$$D = 1 - J$$

Keterangan :

D = Jarak genetik

J = Koefisien kesamaan Jaccard

12. Analisis Kluster (UPGMA)

Hubungan kekerabatan antargenotipe dianalisis dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) berdasarkan matriks jarak genetik Jaccard. Genotipe dikelompokkan secara hierarkis berdasarkan nilai rata-rata jarak genetik antarkelompok (Sokal dan Michener, 1958). Analisis kluster dilakukan menggunakan perangkat lunak RStudio dengan rumus sebagai berikut.

$$D_{(ij),k} = \frac{D_{ik} + D_{jk}}{2}$$

Keterangan:

D_{ik} dan D_{jk} = jarak genetik antarindividu

Hasil analisis kluster divisualisasikan dalam bentuk dendrogram dengan perangkat lunak RStudio. Hubungan kekerabatan genetik antargenotipe ditunjukkan berdasarkan posisi cabang pada dendrogram yang disusun dengan metode UPGMA. Tingkat kemiripan genetik yang lebih tinggi ditunjukkan oleh genotipe yang ditempatkan pada cabang yang sama sedangkan tingkat kemiripan yang lebih rendah ditunjukkan oleh genotipe pada cabang yang berbeda.

13. Analisis Spearman

Hubungan antara keberadaan alel pada setiap marka SSR dan karakter fenotipe yang menjadi target seleksi dianalisis menggunakan korelasi Spearman. Data alel SSR dikonversi dalam bentuk data biner, yaitu nilai 1 menunjukkan

keberadaan alel pada lokus tertentu, sedangkan nilai 0 menunjukkan tidak adanya alel pada lokus tersebut.

Data karakter fenotipe tanaman dan buah melon dikonversi menjadi data biner berdasarkan kesesuaian terhadap atribut yang diharapkan konsumen berdasarkan penelitian Suhita *et al.* (2025). Kategori fenotipe yang sesuai dengan atribut target seleksi diberi skor 1, sedangkan kategori lainnya diberi skor 0. Selain itu, karakter permukaan buah beralur diberikan skor 1, sedangkan kategori tidak beralur diberikan skor 0. Pemberian skor tersebut dilakukan karena karakter beralur merupakan karakter fenotipe unik yang ditemukan pada populasi penelitian dan memiliki nilai pembeda morfologi antarindividu. Rincian kategori atribut dan skoring karakter fenotipe disajikan pada Lampiran 19.

Analisis korelasi dilakukan pada perangkat lunak RStudio dengan fungsi `cor.test()` dan metode Spearman (*method = "spearman"*). Koefisien korelasi Spearman (ρ) dihitung dengan persamaan berikut (Spearman, 1904).

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

Keterangan:

ρ = koefisien korelasi Spearman

d_i = selisih peringkat antara pasangan data ke- i

n = jumlah pasangan data

Berdasarkan hasil analisis, diperoleh nilai koefisien korelasi (ρ) dan nilai signifikansi (*p-value*). Nilai koefisien korelasi berkisar antara -1 hingga $+1$. Nilai korelasi positif menunjukkan bahwa keberadaan alel tertentu cenderung berhubungan dengan karakter fenotipe yang sesuai dengan atribut yang diharapkan

konsumen, sedangkan nilai korelasi negatif menunjukkan hubungan berlawanan arah. Nilai koefisien yang mendekati nol menunjukkan hubungan yang lemah atau tidak terdapat hubungan antara marka SSR dan karakter fenotipe. Hubungan dinyatakan signifikan apabila diperoleh nilai $p\text{-value} < 0,05$.