

Identifikasi Primer *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR) untuk Uji Hibriditas Empat Calon Varietas Baru Terung (*Solanum melongena* L.)

Preliminary Screening of Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Primers for Hybridity Testing of Four Candidate Eggplant Varieties (Solanum Melongena L.)

Anas Mu'tashim Hidayatullah¹, Elea Nur Aziza^{1*}, Annisa Khoiriyah¹, Yeni Fatmawati², Nurina Almira²

¹Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta Magelang, Yogyakarta, Indonesia,

²Department of Molecular Biology, PT Tani Murni Indonesia, Yogyakarta, Indonesia,

Abstrak.

Pengujian kemurnian genetik benih hibrida terung (*Solanum melongena* L.) di Indonesia umumnya mengandalkan *grow-out test* (GOT) berbasis morfologi, yang memerlukan waktu lama dan dipengaruhi oleh lingkungan. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi primer *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR) dengan polimorfisme dan *polymorphic information content* (PIC) tinggi serta menentukan primer untuk membedakan galur tetua dan hibrida F1 pada empat calon varietas terung. Penelitian dilakukan di kebun percobaan dan laboratorium molekuler PT Tani Murni Jogja. Tujuh primer ISSR dari UBC Primer Set No. 9 (UBC 807, UBC 808, UBC 811, UBC 812, UBC 813, UBC 815, dan UBC 825) digunakan untuk amplifikasi DNA delapan galur tetua dan empat hibrida F1. UBC 811 menunjukkan polimorfisme tertinggi (68,42%; 26 dari 38 pita) dan nilai PIC tertinggi (0,31). UBC 807 paling efektif mengonfirmasi hibriditas TR 1 melalui pita spesifik tetua jantan berukuran 700 bp. UBC 811 (1.500 dan 800 bp), UBC 812 (1.200 bp), dan UBC 825 (1.000 bp) menghasilkan pita spesifik tetua betina yang mendukung penelusuran pewarisan maternal pada TR 1, TR 2, dan TR 3. Marka ISSR terpilih berpotensi mempercepat verifikasi hibriditas F1 dan pengujian kemurnian genetik benih sebelum evaluasi lapangan.

Kata kunci: ISSR, penanda molekuler, polimorfisme, *Solanum melongena* L., uji hibriditas

Abstract.

Genetic purity testing of hybrid eggplant (Solanum melongena L.) seeds in Indonesia generally relies on morphological grow-out tests (GOTs), which are time-consuming and environmentally influenced. This study aimed to identify Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) primers with high polymorphism and polymorphic information content (PIC) and assess their ability to distinguish parental lines from F1 hybrids of four candidate eggplant varieties. Research was conducted at the experimental field and molecular laboratory of PT Tani Murni Jogja. Seven ISSR primers from UBC Primer Set No. 9 (UBC 807, UBC 808, UBC 811, UBC 812, UBC 813, UBC 815, and UBC 825) amplified DNA from eight parental lines and four F1 hybrids. UBC 811 showed the highest polymorphism (68.42%; 26 of 38 bands) and PIC value (0.31). UBC 807 was most effective in confirming TR 1 hybridity through a 700-bp paternal-specific band. UBC 811 (1,500 and 800 bp), UBC 812 (1,200 bp), and UBC 825 (1,000 bp) produced maternal-specific bands supporting maternal inheritance tracing in TR 1, TR 2, and TR 3. These ISSR markers could accelerate F1 hybridity verification and genetic purity testing before field evaluation.

Keywords: Hybridity test, ISSR, molecular marker, polymorphism, Solanum melongena L.

1 PENDAHULUAN

Kemurnian genetik benih hibrida merupakan salah satu faktor penting yang menentukan kualitas benih dan keberhasilan produksi varietas hibrida. Benih hibrida F1 perlu dipastikan berasal dari kombinasi tetua yang sesuai agar karakter genetik yang diharapkan dapat dipertahankan. Oleh karena itu, pengujian hibriditas menjadi bagian penting dalam proses produksi dan pengendalian mutu benih hibrida. Salah satu metode yang umum digunakan adalah *Grow Out Test* (GOT), yaitu pengujian berdasarkan perbandingan karakter morfologi tanaman hasil persilangan dengan

* Korespondensi Penulis
Email : eleanuraziza@gmail.com

tetuanya. Meskipun sederhana, GOT memerlukan pertumbuhan tanaman hingga karakter pembeda dapat diamati dan ekspresi karakter morfologi dapat dipengaruhi oleh lingkungan.

Penanda molekuler dapat digunakan sebagai pendekatan alternatif untuk mendeteksi variasi genetik secara langsung pada tingkat DNA. *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR) merupakan salah satu penanda molekuler dominan yang dapat menghasilkan banyak lokus dalam satu reaksi PCR dan tidak memerlukan informasi sekuens genom sebelumnya. ISSR juga telah digunakan untuk mengidentifikasi variasi genetik dan membedakan genotipe tanaman. Amiteye (2021) menjelaskan bahwa ISSR merupakan salah satu sistem penanda DNA yang banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik tanaman. Pada tanaman terung, penggunaan ISSR telah menunjukkan kemampuan dalam mendeteksi variasi genetik antargenotipe. Husnudin et al. (2019), misalnya, memperoleh 40 pita polimorfik atau 64,5% dari total pita menggunakan lima primer ISSR pada 23 aksesori terung Indonesia. Sementara itu, Shafura et al. (2022) menunjukkan bahwa ISSR dapat digunakan bersama karakter fenotipik untuk mengevaluasi keseragaman genetik dan fenotipik terung 'Nasubi'. Penelitian lain oleh Isshiki et al. (2008) juga menunjukkan bahwa ISSR dapat digunakan untuk membedakan kultivar terung dan mengidentifikasi hubungan genetik pada genus *Solanum*.

Meskipun demikian, informasi mengenai primer ISSR yang efektif untuk membedakan tetua jantan dan betina serta menelusuri pewarisan pita tetua pada hibrida F1 calon varietas baru terung masih terbatas. Penelitian ini berfokus pada penapisan primer ISSR untuk memperoleh primer yang memiliki tingkat polimorfisme dan nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) tinggi, serta mengevaluasi kemampuan pita polimorfik tersebut dalam membedakan tetua dan mendeteksi pewarisan pita parental pada empat kombinasi persilangan calon varietas baru terung.

Kebaruan penelitian ini terletak pada evaluasi primer ISSR dari UBC Primer Set #9 terhadap empat kombinasi tetua dan hibrida F1 calon varietas baru terung yang dikembangkan pada materi genetik yang digunakan dalam program pemuliaan perusahaan benih di Indonesia. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai primer ISSR yang potensial digunakan sebagai marka

pendukung dalam verifikasi hibriditas dan pengendalian mutu genetik benih hibrida terung.

2 METODOLOGI

2.1 Lokasi dan waktu penelitian

Kegiatan penelitian dilaksanakan di kebun riset dan laboratorium molekuler PT. Tani Murni Indonesia yang berlokasi di Padasan, Pakembinangun, Kec. Pakem, Kab. Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober 2025 hingga Mei 2026.

2.2 Prosedur dan analisis data

a. Desain penelitian dan bahan genetic

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif berupa penapisan primer ISSR untuk mengevaluasi tingkat polimorfisme dan potensi pita diagnostik dalam mendeteksi pewarisan marka parental pada empat kombinasi persilangan terung. Materi penelitian terdiri atas 24 individu yang meliputi delapan individu tetua jantan, delapan individu tetua betina, dan delapan individu hibrida F1. Setiap kombinasi persilangan diwakili oleh dua tetua jantan, dua tetua betina, dan dua individu F1. Dengan demikian, unit analisis molekuler dalam penelitian ini adalah individu tanaman.

Kode sampel yang digunakan adalah TRM sebagai kode tetua jantan, TRF sebagai kode tetua betina, dan TRTM sebagai kode hibrida F1. Kombinasi sampel untuk masing-masing galur adalah $TRM-1 \times TRF-10 \rightarrow TRTM-11$ (Galur TR 1), $TRM-2 \times TRF-20 \rightarrow TRTM-22$ (Galur TR 2), $TRM-3 \times TRF-30 \rightarrow TRTM-33$ (Galur TR 3), dan $TRM-4 \times TRF-40 \rightarrow TRTM-44$ (Galur TR 4). Setiap sampel dianalisis menggunakan dua ulangan dari dua individu tanaman yang berbeda pada kode yang sama untuk mengevaluasi konsistensi pola pita.

b. Pembentukan hibrida F1

Hibrida F1 diperoleh melalui persilangan terkendali antara tetua jantan dan tetua betina yang telah ditentukan untuk masing-masing kombinasi persilangan. Bunga pada tetua betina yang dipilih untuk persilangan diidentifikasi sebelum anthesis, kemudian dilakukan emaskulasi untuk mencegah penyerbukan sendiri.

Serbuk sari dari tetua jantan yang telah ditentukan digunakan untuk penyerbukan secara manual pada bunga betina yang telah diemaskulasi. Setelah penyerbukan, bunga dibungkus untuk mencegah masuknya serbuk sari dari tanaman lain dan diberi label berdasarkan kombinasi tetua dan tanggal persilangan. Buah hasil persilangan dipanen setelah mencapai tingkat kematangan yang sesuai, kemudian benih dipisahkan dan digunakan sebagai sumber tanaman F1.

c. Ekstraksi dan isolasi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi dari Aboul-Maaty and Oraby (2019). Sampel daun segar seberat 0,1 g digerus halus dengan penambahan 500 µL larutan CTAB dan β-merkaptotanol. Sampel diinkubasi pada suhu 60 °C selama 10 menit, kemudian disentrifugasi pada 8.000 × g selama 5 menit. Supernatan ditambahkan 500 µL Chloroform Isoamyl Alcohol (CIAA), disentrifugasi kembali, dan supernatan dicampur dengan 500 µL etanol absolut dingin untuk mengendapkan DNA. Pelet DNA dicuci menggunakan etanol 70%, dikeringkan, dan dilarutkan dalam 30 µL buffer TE 1X.

d. Amplifikasi DNA dan elektroforesis

Sebanyak 7 primer ISSR dari UBC Primer Set #9 (UBC 807, 808, 811, 812, 813, 815, dan 825) digunakan untuk amplifikasi. PCR dilakukan dalam total volume 12,5 µL yang terdiri atas 6,25 µL MyTaq HS RedMix, 0,5 µL primer, 4,75 µL nuclease-free water, dan 1 µL DNA cetakan. Program PCR disetel pada 35 siklus pada mesin *Thermal Cycler*. Produk PCR divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarose 1,5% dalam buffer TBE 1X pada tegangan 100 V selama 25 menit, kemudian diamati di bawah UV transilluminator.

e. Skoring pita dan analisis polimorfisme

Pita DNA yang teramplifikasi dengan jelas dan dapat dibedakan secara visual diberi skor biner, yaitu 1 untuk pita yang muncul dan 0 untuk pita yang tidak muncul. Pita yang lemah, kabur, atau tidak dapat dibedakan secara konsisten tidak dimasukkan dalam skoring. Hanya pita yang menunjukkan pola konsisten pada kedua ulangan yang digunakan dalam analisis.

Persentase pita polimorfik atau *Percentage of Polymorphic Bands* (PPB) dihitung berdasarkan proporsi jumlah pita polimorfik terhadap total pita yang teramplifikasi (Husnudin et al. 2019). Nilai Polymorphic Information Content (PIC) dihitung menggunakan rumus Roldán-Ruiz et al. (2000):

$$PIC_i = 2f_i(1 - f_i) \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan:

PIC_i = nilai informasi polimorfik lokus ke-i;

f_i = frekuensi kemunculan pita pada lokus ke-i.

Frekuensi kemunculan pita dihitung sebagai proporsi jumlah individu yang menunjukkan pita tersebut terhadap total 24 individu yang dianalisis. Karena ISSR yang digunakan merupakan penanda dominan, keberadaan pita merepresentasikan kelas fenotipik molekuler hadir/tidak hadir dan tidak membedakan keadaan homozigot dan heterozigot.

Evaluasi hibriditas dilakukan dengan membandingkan pola pita tetua jantan, tetua betina, dan F1 pada masing-masing kombinasi persilangan. Suatu pita parental dikategorikan sebagai kandidat pita diagnostik apabila terdapat pada salah satu tetua dan muncul pada F1, tetapi tidak terdeteksi pada tetua lainnya. Pita yang berasal dari tetua jantan digunakan sebagai kandidat marka paternal, sedangkan pita yang berasal dari tetua betina digunakan sebagai marka maternal pendukung.

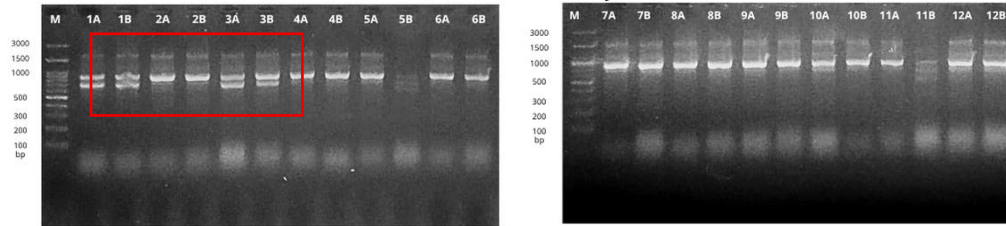
Konfirmasi hibriditas dinyatakan lebih kuat apabila F1 memiliki setidaknya satu pita paternal yang tidak terdapat pada tetua betina. Pita maternal saja digunakan sebagai bukti pewarisan alel maternal dan tidak dianggap cukup untuk mengonfirmasi hibriditas secara definitif.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Evaluasi model pengukuran

Profil elektroforesis dari 7 primer ISSR menunjukkan variasi pola pita DNA antargalur tetua dan keturunan F1. Hasil amplifikasi masing-masing primer dijabarkan sebagai berikut:

a. Desain penelitian dan bahan genetik



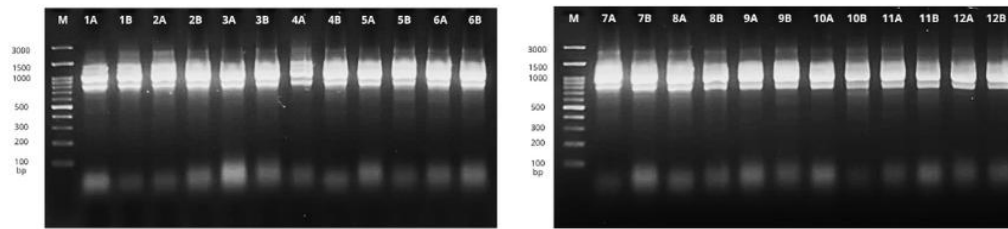
Gambar 2. Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 807

Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

Primer UBC 807 menghasilkan beberapa fragmen DNA yang dapat dibedakan pada ukuran sekitar 700, 900, dan 2.000 bp. Pita berukuran sekitar 700 bp terdeteksi pada tetua jantan TRM-1 dan hibrida F1 TRTM-11, tetapi tidak ditemukan pada tetua betina TRF-10. Pola tersebut menunjukkan bahwa pita 700 bp merupakan kandidat pita spesifik paternal yang diwariskan dari tetua jantan kepada F1. Primer UBC 807 memiliki potensi sebagai marka diagnostik untuk kombinasi persilangan pada galur TR 1.

Keberadaan pita paternal pada F1 memiliki arti yang lebih kuat untuk pengujian hibriditas dibandingkan dengan hanya ditemukannya pita maternal. Hal ini karena pita tersebut memberikan bukti bahwa F1 membawa fragmen DNA yang berasal dari tetua jantan dan tidak ditemukan pada tetua betina. Oleh karena itu, pada kombinasi TR 1, pita 700 bp dapat digunakan sebagai kandidat marka untuk membedakan F1 dari kemungkinan tanaman yang hanya berasal dari tetua betina.

Hasil ini sejalan dengan penelitian Isshiki *et al.* (2008) yang menunjukkan bahwa ISSR dapat digunakan untuk membedakan kultivar terung dan menghasilkan pola pita yang mampu mengidentifikasi variasi genetik antar materi. Penelitian Husnudin *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa ISSR efektif mendeteksi variasi genetik pada terung Indonesia melalui keberadaan pita polimorfik. Namun, tingkat polimorfisme dan kemampuan diagnostik suatu primer sangat bergantung pada kombinasi genotipe yang diuji. Hal tersebut terlihat pada penelitian ini, karena UBC 807 hanya menghasilkan tingkat polimorfisme sebesar 7,69%, tetapi memiliki satu pita yang bersifat diagnostik terhadap kombinasi TR 1. Dengan demikian, rendahnya persentase polimorfisme suatu primer tidak selalu berarti primer tersebut tidak dapat digunakan untuk pengujian hibriditas; keberadaan pita yang spesifik terhadap salah satu tetua dapat lebih relevan untuk tujuan identifikasi hibrida.

b. Primer ISSR UBC 808**Gambar 3.** Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 808

Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

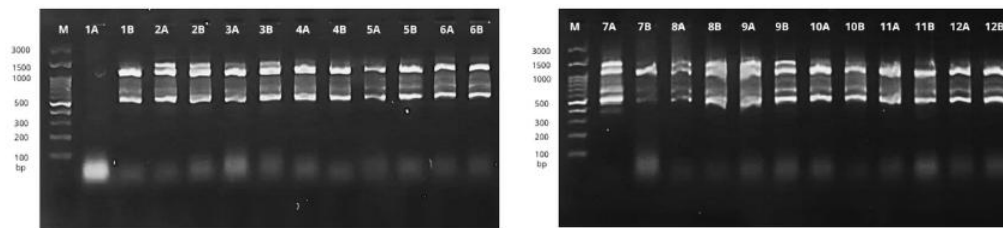
Primer UBC 808 menghasilkan pita utama pada ukuran 800–900 bp. Seluruh lokus yang teramplifikasi bersifat monomorfik dan muncul secara seragam pada seluruh sampel tetua maupun F1. Pola pita yang seragam membuat primer ini tidak dapat digunakan untuk membedakan status hibriditas. Primer UBC 808 hanya berfungsi sebagai kontrol positif untuk memastikan proses amplifikasi DNA berlangsung dengan baik.

c. Primer ISSR UBC 811

Primer UBC 811 menghasilkan fragmen DNA dengan ukuran sekitar 500–1.500 bp (**Gambar 4**) dan menunjukkan tingkat polimorfisme tertinggi dibandingkan primer ISSR lainnya, yaitu 68,42%, dengan nilai PIC sebesar 0,31. Tingginya persentase polimorfisme menunjukkan bahwa UBC 811 mampu mendeteksi variasi pola amplifikasi yang relatif lebih besar di antara 24 individu yang dianalisis. Nilai PIC sebesar 0,31 juga menunjukkan bahwa primer tersebut memiliki kemampuan informatif yang lebih tinggi dibandingkan dengan primer lain yang digunakan dalam penelitian ini.

Tingginya variasi yang terdeteksi oleh UBC 811 menunjukkan bahwa primer tersebut berpotensi digunakan sebagai primer penyaring untuk mendapatkan marka kandidat pada materi genetik terung yang diuji. Hasil ini sesuai dengan penelitian Husnudin *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa ISSR dapat menghasilkan tingkat polimorfisme yang berbeda antarprimer pada terung Indonesia. Perbedaan tingkat polimorfisme antarprimer merupakan konsekuensi dari perbedaan distribusi situs target ISSR pada genom masing-masing genotipe. Amiteye (2021) menjelaskan bahwa ISSR menghasilkan marka multilokus berdasarkan daerah genom yang diapit oleh

sekuens pengulangan sederhana, sehingga variasi pada daerah tersebut dapat menghasilkan perbedaan pola pita antarindividu.



Gambar 4. Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 811

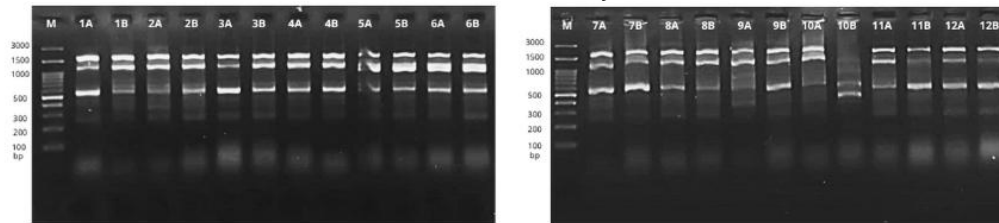
Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

UBC 811 menghasilkan pita yang diwariskan dari tetua betina pada TR 1 dan TR 2, masing-masing sekitar 1.500 bp dan 800 bp. Kemunculan pita maternal pada F1 menunjukkan bahwa fragmen tersebut dapat digunakan untuk menelusuri pewarisan alel dari tetua betina. Namun, karena pita maternal tidak secara eksklusif menunjukkan keberadaan kontribusi genetik dari tetua jantan, keberadaan pita tersebut belum cukup untuk menyatakan F1 sebagai hibrida sejati. Konfirmasi yang lebih kuat tetap memerlukan pita spesifik paternal yang terdapat pada tetua jantan dan diwariskan kepada F1.

UBC 811 dapat diposisikan sebagai primer paling informatif untuk penapisan variasi genetik pada penelitian ini, sedangkan penggunaannya sebagai marka diagnostik hibriditas perlu dipadukan dengan primer yang menghasilkan pita paternal spesifik. Kombinasi karakteristik tersebut menunjukkan bahwa efektivitas primer untuk uji hibriditas tidak hanya ditentukan oleh nilai PPB dan PIC, tetapi juga oleh keberadaan pita yang dapat menelusuri kontribusi genetik salah satu tetua pada individu F1.

d. Primer ISSR UBC 812

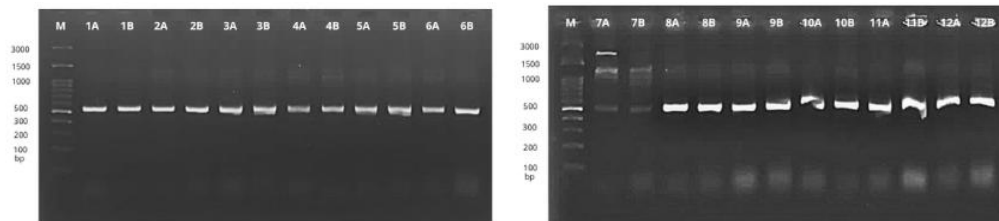
Primer UBC 812 mengamplifikasi fragmen DNA pada kisaran 600–1.800 bp. Locus polimorfik spesifik terdeteksi pada ukuran 1.200 bp yang diwariskan dari tetua betina (TRF-20) kepada F1 (TRTM-22). Pewarisan pita betina tersebut membantu melacak alel maternal pada Galur TR 2. Penentuan status hibrida sejati pada galur ini masih membutuhkan pengujian lanjutan untuk menemukan pita spesifik tetua jantan.



Gambar 5. Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 812

Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

e. Primer ISSR UBC 813



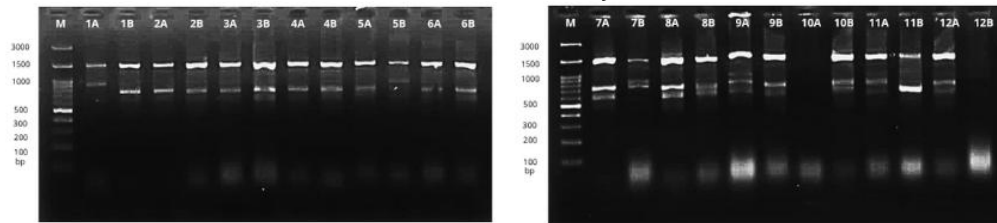
Gambar 6. Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 813

Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

Primer UBC 813 menghasilkan satu pita DNA utama yang tajam. Hasil skoring menunjukkan seluruh sampel memiliki pola pita monomorfik. Ketiadaan variasi pita membuat primer UBC 813 kurang informatif untuk uji perbedaan genotipe maupun evaluasi hibriditas.

f. Primer ISSR UBC 815

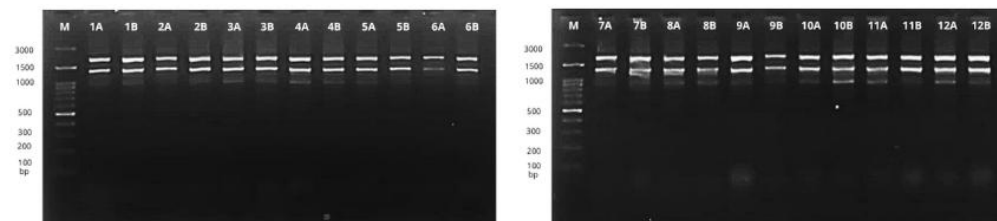
Primer UBC 815 menghasilkan profil pita DNA pada kisaran ukuran sekitar 600–1.200 bp. Hasil skoring menunjukkan persentase pita polimorfik sebesar 20,00% dengan nilai PIC sebesar 0,17. Nilai tersebut menunjukkan bahwa UBC 815 mampu mendeteksi variasi genetik pada sebagian lokus yang teramplifikasi, meskipun tingkat polimorfismenya lebih rendah dibandingkan dengan UBC 811. Namun, tidak ditemukan pita paternal spesifik yang dapat digunakan untuk mengonfirmasi status hibriditas pada kombinasi persilangan yang diuji. Primer UBC 815 memiliki potensi untuk membedakan sebagian variasi genetik antargenotipe, tetapi belum dapat digunakan sebagai marka diagnostik utama untuk uji hibriditas.



Gambar 7. Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 815

Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

g. Primer ISSR UBC 825



Gambar 8. Hasil Elektroforesis Gel Primer UBC 825

Keterangan: A (Ulangan 1); B (Ulangan 2); 1 (TRM-1); 2 (TRF-10); 3 (TRTM-11); 4 (TRM-2); 5 (TRF-20); 6 (TRTM-22); 7 (TRM-3); 8 (TRF-30); 9 (TRTM-33); 10 (TRM-4); 11 (TRF-40); 12 (TRTM-44).

Primer UBC 825 mengamplifikasi fragmen DNA dengan ukuran berkisar antara 800–2.000 bp. Locus berukuran 2.000 bp dan 1.500 bp bersifat monomorfik karena muncul secara seragam pada seluruh sampel. Locus berukuran sekitar 1.000 bp menunjukkan sifat polimorfik yang terdeteksi pada tetua betina (TRF-30) dan hibrida F1 (TRTM-33), tetapi tidak muncul pada tetua jantan (TRM-3). Kehadiran pita maternal tersebut membantu memperlihatkan pewarisan sifat betina pada Galur TR 3. Validasi keberhasilan persilangan secara definitif tetap memerlukan konfirmasi dari marka lain yang mampu mendeteksi alel spesifik jantan (*paternal-specific band*).

3.2 Analisis Polimorfisme dan Evaluasi Primer

Primer UBC 811 tercatat sebagai marka paling informatif dalam penelitian ini karena menghasilkan tingkat polimorfisme (PPB) tertinggi sebesar 68,42% dan nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) sebesar 0,31 (**Tabel 1**). Nilai PIC yang tinggi mencerminkan kapasitas primer yang baik dalam membedakan variasi genetik antar-genotipe terung yang diuji. Penggunaan kombinasi primer UBC 807 yang membawa pita paternal 700 bp bersama primer UBC 811 yang membawa pita maternal 1.500 bp terbukti efektif memverifikasi hibriditas Galur TR 1 secara definitif. Keberadaan pita

spesifik tetua jantan dari UBC 807 menjadi kunci utama penentu keberhasilan persilangan sejati pada galur tersebut.

Tabel 1. Persentase pita polimorfik dan nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) primer

No	Primer ISSR	Persentase pita polimorfik (%)	Nilai PIC
1	UBC 807	7,69	0,09
2	UBC 808	0,00	0,00
3	UBC 811	68,42	0,31
4	UBC 812	5,26	0,07
5	UBC 813	0,00	0,00
6	UBC 815	20,00	0,17
7	UBC 825	17,24	0,16

Evaluasi terhadap empat kombinasi persilangan menunjukkan bahwa kemampuan primer ISSR dalam mendeteksi kontribusi genetik parental berbeda antarkombinasi. Pada TR 1, primer UBC 807 menghasilkan pita sekitar 700 bp yang terdapat pada tetua jantan TRM-1 dan F1 TRTM-11, tetapi tidak terdapat pada tetua betina TRF-10. Pola tersebut memberikan bukti molekuler paling kuat dalam penelitian ini untuk mendukung status hibrida pada TR 1.

Pada TR 2, pita sekitar 800 bp dari UBC 811 dan 1.200 bp dari UBC 812 ditemukan pada tetua betina TRF-20 dan F1 TRTM-22. Kedua pita tersebut menunjukkan pewarisan fragmen maternal pada F1. Namun, karena belum ditemukan pita paternal yang spesifik pada F1, data tersebut belum cukup untuk mengonfirmasi hibriditas sejati TR 2. Hasil serupa terlihat pada TR 3, yaitu pita sekitar 1.000 bp dari UBC 825 ditemukan pada tetua betina TRF-30 dan F1 TRTM-33, tetapi tidak ditemukan pita paternal yang dapat digunakan sebagai bukti tambahan terhadap kontribusi tetua jantan.

Pada TR 4, tidak ditemukan pita diagnostik yang dapat digunakan untuk menelusuri kontribusi genetik paternal maupun maternal secara meyakinkan berdasarkan tujuh primer yang diuji. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa primer yang digunakan belum memberikan resolusi yang memadai untuk konfirmasi hibriditas pada kombinasi tersebut.

Perbedaan kemampuan deteksi antarkombinasi menunjukkan bahwa keberhasilan penggunaan ISSR sebagai marka hibriditas sangat bergantung pada

adanya perbedaan pola pita antara kedua tetua. ISSR telah terbukti efektif untuk mendeteksi keragaman dan membedakan genotipe terung, tetapi efektivitas tersebut tidak berarti setiap primer akan menghasilkan pita diagnostik pada seluruh kombinasi persilangan. Husnudin et al. (2019) menemukan tingkat polimorfisme yang berbeda antarprimer pada materi terung Indonesia, sedangkan Isshiki et al. (2008) menunjukkan bahwa kombinasi beberapa primer diperlukan untuk membedakan kultivar terung. Oleh karena itu, pada TR 2–TR 4 diperlukan penapisan primer tambahan atau penggunaan marka dengan resolusi lebih tinggi untuk memperoleh pita paternal yang dapat digunakan sebagai bukti konfirmasi hibriditas.

4 KESIMPULAN DAN SARAN

Primer ISSR UBC 811 merupakan primer paling informatif dalam penelitian ini dengan tingkat polimorfisme tertinggi sebesar 68,42% dan nilai PIC sebesar 0,31. Primer UBC 807 menghasilkan pita paternal spesifik sekitar 700 bp yang diwariskan dari tetua jantan kepada F1 pada kombinasi TR 1, sehingga menjadi kandidat marka paling kuat untuk mendukung konfirmasi hibriditas pada kombinasi tersebut. Pada TR 2 dan TR 3 ditemukan pita yang menunjukkan pewarisan maternal, tetapi belum diperoleh pita paternal yang dapat mengonfirmasi hibriditas secara definitif, sedangkan pada TR 4 belum ditemukan pita diagnostik yang memadai.

Interpretasi hasil penelitian dibatasi oleh jumlah individu yang terbatas, penggunaan ISSR sebagai penanda dominan, belum dilakukannya validasi langsung melalui Grow Out Test (GOT), serta belum ditemukannya pita paternal pada tiga kombinasi persilangan lainnya. Oleh karena itu, diperlukan pengujian pada lebih banyak individu dan penapisan marka tambahan, termasuk marka dengan resolusi lebih tinggi, untuk memperkuat validasi hibriditas pada TR 2–TR 4.

5 UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada manajemen dan staf laboratorium molekuler PT. Tani Murni Indonesia atas fasilitas dan dukungan sarana penelitian yang diberikan selama pelaksanaan kegiatan.

6 DAFTAR PUSTAKA

- Aboul-Maaty, N. A. F., & Oraby, H. A. S. 2019. Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0066-1>
- Amiteye, S. 2021. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding *Heliyon*, 7(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>
- Husnudin, U. B., Daryono, B. S., & Purnomo. 2019. Genetic variability of Indonesian eggplant (*Solanum melongena*) based on ISSR markers.. *Biodiversitas* 20(10):3049–3055. [10.13057/biodiv/d201038](https://doi.org/10.13057/biodiv/d201038)
- Isshiki, S., Iwata, N., & Khan, M. M. R. 2008. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horticulturae*, 117(3), 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.04.003>
- Nandi, L. L., Saha, P., Behera, T. K., Lyngdoh, Y. A., Munshi, A. D., Saha, N. D., ... & Tomar, B. S. 2021. Genetic characterisation and population structure analysis of indigenous and exotic eggplant (*Solanum* spp) accessions using microsatellite markers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 96(1), 73-86. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1763211>
- Orgogozo, V., Morizot, B., & Martin, A. 2015. The differential view of genotype–phenotype relationships. *Frontiers in genetics*, 6(1):179. [10.3389/fgene.2015.00179](https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00179)
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., & De Loose, M. A. F. L. P. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular breeding*, 6(2), 125-134. <https://doi.org/10.1023/A:1009680614564>
- Shafura, N., Rabbani, A., & Daryono, B. S. 2022. Genetic variability of eggplant (*Solanum Melongena* L.'Nasubi') based on ISSR markers and phenotypic characters. *Journal of Biodiversity and Biotechnology*, 2(2), 53-62. <http://dx.doi.org/10.20961/jbb.v2i2.65874>
- Thakare, V. S., Undirwade, D. B., Khelurkar, V. C., Moharil, M. P., Ghawade, S. M., & Kulkarni, U. S. (2025). Molecular characterization of cultivated and wild

genotypes of brinjal (*Solanum melongena* L.) using microsatellite markers.

Vegetos, 1(1): 1-12. <https://doi.org/10.1007/s42535-025-01324-9>