

Keragaman Genetik 27 Aksesori Kedelai (*Glycine Max L. Merr.*) Introduksi Subtropis Berdasarkan Marka SSR

*Genetic Diversity of 27 Accessions of Soybean (*Glycine max L. Merr.*) Introduced from Subtropics Based on SSR Marker*

Puji Lestari^{1*)}, Rizki Eka Putri²⁾, Innaka Ageng Rineksane²⁾, Ety Handayani²⁾, Kristianto Nugroho³⁾, dan Renestradika Tizar Terryana³⁾

¹⁾ Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Jl. Raya 9, Sukamandi, Subang, Jawa Barat 41256

²⁾ Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jalan Brawijaya, Kasihan, Bantul Yogyakarta 55483

³⁾ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Telp. 0251-8337975; Faks. 0251-8338820.

^{*)} Penulis untuk korespondensi E-mail: plestari129@yahoo.com

Diajukan: 7 Agustus 2020 /**Diterima:** 15 Februari 2021 /**Dipublikasi:** 26 Februari 2021

ABSTRACT

Characterization of soybean (*Glycine max L. Merr.*) accessions in the collection needs to be done based on molecular markers to support morphological characters. This study aimed to analyze the genetic diversity of soybean accessions introduced from subtropical regions using simple sequence repeats (SSR) markers supported by morphological characters. The results showed that a total of 15 SSR successfully were detected in the 27 soybean accessions introduced from subtropics which produced 158 alleles with size range of 100-368 bp and 4-18 alleles per locus. The average polymorphism information content (PIC) was found to be 0.92, with the highest value of 0.96 (SATT463, ATT249, SATT063) and the lowest value was 0.87 (SATT038). All 15 markers used had a PIC value > 0.8, which indicates their very high informativeness, denoting their ability to differentiate among accessions and could be applied to estimate genetic diversity from the other soybean germplasm. The genetic diversity of these soybean accessions was very high, as reflected by the average of gene diversity index of 0.93. Cluster analysis revealed that 27 accessions of soybean were split in two main groups majority belonging to group I (26 accessions), and the remaining one accession (D76-8070) was in group II. The molecular characterization using SSR is in good agreement with the highly diverse morphological characters separating the total accessions into four quadrants. In this study, the genetic diversity with SSR-based which is supported by the morphological characters could be a preliminary basis for selection of parental lines for crossing accessions which are introduced from subtropical climate for improved varieties in soybean breeding in tropics of Indonesia.

Keywords: cluster; morphology; gene diversity index; PIC; soybean

INTISARI

Karakterisasi aksesori kedelai (*Glycine max L. Merr.*) dalam koleksi perlu dilakukan berdasarkan marka molekuler untuk mendukung karakter morfologi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik aksesori kedelai yang diintroduksi dari daerah subtropis menggunakan marka *simple sequence repeats* (SSR) yang didukung melalui informasi karakter morfologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 15 SSR berhasil dideteksi polimorfismenya pada 27 aksesori kedelai dari daerah subtropis dengan total 158 alel

berukuran antara 100-368 bp dengan kisaran jumlah 4-18 alel per lokus. Rata-rata *polymorphism information content* (PIC) ditemukan sebesar 0,92 dengan nilai tertinggi 0,96 (SATT463, SATT249, SATT063) dan nilai terendah 0,87 (SATT038). Semua marka SSR memiliki nilai PIC >0,8 yang mengindikasikan sebagai marka sangat informatif, artinya mampu mendiferensiasi antar aksesori dan dapat diaplikasikan dalam mendeteksi keragaman genetik plasma nutfah kedelai lainnya. Keragaman genetik aksesori kedelai tersebut sangat tinggi seperti yang direfleksikan oleh rata-rata indeks diversitas gen sebesar 0,93. Analisis kluster dengan marka SSR berhasil membagi 27 aksesori kedelai menjadi dua kelompok utama yang sebagian besar dalam kelompok I (26 aksesori) dan kelompok II khusus aksesori D76-8070. Karakterisasi molekuler dengan SSR tersebut mendukung keragaman yang tinggi karakter morfologi yang memisahkan total aksesori menjadi empat kuadran. Informasi keragaman genetik berdasarkan marka SSR yang didukung karakter morfologi tersebut dapat menjadi dasar awal seleksi tetua persilangan aksesori dari daerah subtropis untuk pengembangan varietas baru melalui pemuliaan kedelai di iklim tropis Indonesia.

Kata kunci: indeks keragaman genetik; kedelai; kluster; morfologi; PIC

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L. Merr.) merupakan komoditas tanaman pangan yang mengandung 35-40% protein nabati. (Siburian *et al.*, 2013; Sudaryanto dan Swastika, 2007). Di Indonesia kebutuhan kedelai meningkat dari tahun ke tahun karena peningkatan konsumsinya oleh penduduk (Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, 2016). Sampai saat ini, varietas unggul baru (VUB) kedelai dengan produktivitas tinggi cukup berkontribusi pada pemenuhan konsumsi kedelai nasional namun belum mencukupi seiring dengan pertambahan jumlah penduduk ke depannya. Jumlah VUB dengan produktivitas tinggi masih terbatas sehingga pengembangan varietas unggul berkualitas khususnya biji kedelai masih sangat diperlukan. Program pengembangan VUB memerlukan sumber daya genetik yang memiliki keragaman tinggi dengan karakter target yang diinginkan (Nuryati *et al.*, 2016). Selaras dengan Permentan nomor 37 tahun 2006 tentang “varietas introduksi” yaitu varietas yang pertama kali dimasukkan dari luar negeri, maka introduksi aksesori kedelai adalah salah satu alternatif untuk meningkatkan

keragaman genetik kedelai yang dapat mendukung program pemuliaan di Indonesia.

Karakterisasi koleksi sumber daya genetik kedelai sebagian besar berdasarkan fenotip telah dilaporkan baik di Indonesia (Handayani dan Hidayat, 2016; Suhartina *et al.*, 2016; Wirnas *et al.*, 2006) maupun di negara lain (Mahbub *et al.*, 2016; Ngalamu *et al.*, 2012; Showkat and Tyagi, 2010) yang seringkali sulit membedakan antar aksesori yang memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Selain itu, karakter fenotip dipengaruhi oleh lingkungan sehingga sulit menentukan apakah suatu karakter bersifat genetik atau lebih banyak dipengaruhi lingkungan. Marka molekuler dapat digunakan untuk karakterisasi gen dan relatif stabil sehingga dapat membantu para pemulia tanaman melalui kegiatan seleksi. Salah satu kelebihan yaitu seleksi menggunakan marka molekuler jauh lebih akurat dibandingkan dengan pengamatan fenotip (Nuraida, 2012) dan marka tersebut berfungsi sebagai penciri genotip (Afifah, 2012).

Salah satu marka molekuler yang memiliki tingkat polimorfisme tinggi adalah marka SSR (*Simple Sequence Repeats*),

merupakan sekuen berulang yang jumlahnya melimpah pada genom tanaman (Li *et al.*, 2008). Kelebihan marka SSR adalah bersifat kodominan, mampu mendeteksi keragaman alel yang tinggi, melalui teknik PCR, dan visualisasi dengan gel agarosa atau poliakrilamid, sehingga tidak perlu menggunakan radioisotop (Kumawat *et al.*, 2014).

Marka SSR telah banyak dimanfaatkan untuk mengidentifikasi keragaman genetik berbagai jenis tanaman seperti tanaman legume, yaitu kacang tanah (Siise and Massawe, 2013; Somta *et al.*, 2011; Yi *et al.*, 2011), kacang hijau (Kaur *et al.*, 2018; Lestari *et al.*, 2014), buncis (Matondo *et al.*, 2017), dan kacang merah (Wang *et al.*, 2009). Keragaman genetik plasma nutfah kedelai juga telah banyak diteliti dengan marka SSR dengan jumlah dan lokus yang bervariasi (Bisen *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2011; Tantasawat *et al.*, 2011). Di Indonesia, beberapa pemanfaatan marka molekuler telah digunakan untuk estimasi keragaman genetik aksesori kedelai lokal maupun introduksi (Chaerani *et al.*, 2011; Lestari *et al.*, 2019; Nugroho *et al.*, 2017), namun demikian aksesori kedelai introduksi dari daerah subtropis yang potensial untuk membantu program pemuliaan di Indonesia masih perlu dikarakterisasi molekuler lebih lanjut. Terutama aksesori kedelai introduksi dalam studi ini belum pernah dikarakterisasi sebelumnya secara molekuler, sehingga informasi keragaman genetik yang didukung informasi morfologi akan menjadi sumber informasi penting sebagai materi genetik potensial untuk sumber tetua persilangan dalam program pemuliaan kedelai ke depan di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk

mengidentifikasi keragaman genetik kedelai introduksi dari daerah subtropis menggunakan marka SSR yang didukung informasi karakter morfologi.

BAHAN DAN METODE

Materi genetik

Sebanyak 27 aksesori kedelai (*Glycine max* L. Merr.) yang diintroduksi (definisi sesuai Permentan nomor 37 tahun 2006 tentang “Pengujian, penilaian, pelepasan dan penarikan varietas” yaitu aksesori/varietas yang dimasukkan pertama kali dari luar negeri) dari negara subtropis melalui *US Department of Agriculture* (USDA), digunakan dalam penelitian ini. Sebagian besar aksesori kedelai berasal dari USA, dan minoritas dari Asia seperti Jepang, Brazil dan Cina. Informasi morfologi dari keseluruhan aksesori yang berasal dari database USDA pada tautan laman <http://www.ars-grin.gov/> digunakan untuk mendukung informasi molekuler. Data sekunder karakter morfologi kedelai di database USDA tersebut dikoleksi dari penanaman aksesori kedelai di daerah subtropis sesuai dengan asalnya. Untuk keperluan analisis DNA, semua aksesori kedelai ditanam di polybag yang dipelihara di rumah kaca dengan pemeliharaan sesuai rekomendasi penanaman kedelai. Pada umur 1 bulan daun muda dan sehat dipanen dan dikoleksi untuk diisolasi DNA genomiknya.

Ekstraksi DNA

Daun tanaman kedelai muda dan sehat diambil sebanyak 0,5 g dan digerus sampai lumat menggunakan *blue pestle*. DNA genomik diekstraksi menggunakan CTAB berdasarkan metode Doyle and Doyle (1990) yang

dimodifikasi dengan penambahan polinivil pirolidon (PVP) (Lestari *et al.*, 2016). Pelet yang telah kering dilarutkan dalam 100 µl bufer TE dan ditambahkan RNase A (10 mg/ml). Selanjutnya larutan DNA tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam lalu disimpan pada suhu -20°C hingga siap digunakan. Larutan DNA yang diperoleh diuji kuantitatif dengan Nanodrop Spektrofotometer (Thermo Scientific, USA) dan uji kualitatif dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa 0,8%.

Amplifikasi PCR

Karakterisasi molekuler dilakukan melalui teknik PCR dengan menggunakan 15 marka SSR yang berasal dari beberapa referensi yang ditampilkan pada Tabel 1. Sebanyak empat belas marka SSR (SATT191, SATT009, SATT030, SATT063, SATT045, SATT197, SATT341, SATT463, SATT294, SATT147, SATT114, SATT308, SATT038, and SATT002) diambil dari basis data www.soybase.org, adapun satu marka SSR (GMES1604) merupakan hasil penelusuran dari www.marker.kazusa.jp

Tabel 1. Marka SSR dengan sekuennya yang digunakan dalam penelitian.

Nama marka	Forward	Reverse	Posisi Kromosom	Motif SSR
SATT191	CGCGATCATGTCTCTG	GGGAGTTGGTGTCTTCTGTG	18	(TAT)19
SATT009	CCAAC TTGAAAT TACTAGAGAAA	CTTACTAGCGTATTAACCCCTT	3	(AAAT)3(AAT)13
SATT030	AAAAAGTGAACCAAGCC	TCTTAAATCTTATGTTGATGC	13	(ATA)21
SATT063	AAATGATTAACAATGTTTATGAT	ACTTGCATCAGTTAATAACAA	14	(TAA)20
SATT045	TGGTTTCTACTTTCTATAATTATTT	ATGCCTCTCCCTCCT	15	(AAT)18
SATT197	CACTGCTTTTTCCCCTCTCT	AAGATACCCCAACATTATTTGTAA	11	(ATT)20
SATT341	GCGGAGCTTACCAACATAAAAAAACT	GCGGTCCAACATTGAGGCAAGAATAC	8	(AAT)17
SATT463	TTGGATCTCATATTCAAACTTTCAAG	CTGCAAATTTGATGCACATGTGTCTA	7	(AAT)13(GAT)17(AAT)19
SATT294	GCGGGTCAAATGCAAATTATTTTT	GCGCTCAGTGTGAAAGTTGTTTCTAT	4	(TAT)23
SATT147	CCATCCCTTCTCCAAATAGAT	CTTCCACACCCTAGTTTAGTGACAA	1	(ATA)15
SATT114	GGGTATCCTCCCAATA	ATATGGGATGATAAGGTGAAA	13	(AAT)17
SATT308	GCGTTAAGGTTGGCAGGGTGAAGTG	GCGCAGCTTTATACAAAATCAACAA	7	(TTA)22
SATT038	GGGAATCTTTTTTCTTTCTATTAAGTT	GGGCATTGAAATGGTTTTAGTCA	18	(ATA)17
SATT002	TGTGGGTAATAATAGATAAAAAAT	TCATTTTGAATCGTTGAA	17	(TA)5gtacgatt Taaaataaaat a(AT)5
GMES1604	GTTGCAGGCACACTGGAGTA	CTCAGCCTTCTCCCTGTT	8	(AAG)28

Sumber: www.soybase.org and www.marker.kazusa.jp.

Amplifikasi DNA menggunakan metode PCR yang reaksinya menggunakan kit *Kapa 2G Fast Ready Mix*, primer *Forward* dan *Reverse* dengan konsentrasi 10 µM, DNA dengan konsentrasi 10 ng/ µl hingga total dalam satu reaksi sebanyak 10 µL. Reaksi PCR dilakukan dalam mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Germany) dengan kondisi suhu yaitu pre denaturasi pada suhu

95°C selama 5 menit, diikuti 35 siklus proses denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, tahap penempelan marka pada suhu 55°C selama 1 menit, dan tahap perpanjangan basa pada suhu 72°C selama 1 menit. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap akhir perpanjangan basa pada suhu 60°C selama 15 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan gelpoliakrila-

mid 8% dan staining dalam larutan *Etidium Bromida*. Visualisasi pita DNA dilakukan dibawah sinar UV menggunakan Gel Doc (Biorad, USA).

Analisis data molekuler

Analisis data SSR dilakukan dengan skoring terhadap pita DNA yang muncul pada hasil elektroforesis gel poliakrilamida 8%. Pita-pita yang terlihat pada hasil visualisasi dianggap sebagai satu alel. Pita-pita DNA yang memiliki laju migrasi yang sama dianggap sebagai lokus yang sama. Pada laju migrasi yang sama, setiap pita yang terlihat diberi skor 1, sedangkan pita yang tidak terlihat diberi skor 0, sehingga hasil dari skoring pita berupa data biner.

Data hasil skoring dianalisis menggunakan program UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic*)-SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested*) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1 (Rohlf, 2000). Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram. Selanjutnya, data hasil skoring juga dianalisis statistik menggunakan perangkat lunak PowerMarker 3.25 (Liu and Muse, 2005) untuk mengetahui nilai frekuensi alel utama, indeks diversitas gen, dan *Polymorphic Information Content* (PIC) yang dihasilkan oleh total marka DNA yang digunakan dalam penelitian ini. Analisis tingkat polimorfisme dilakukan untuk menghitung nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) yang dapat menunjukkan perkiraan kemampuan masing-masing marka SSR untuk membedakan antar varietas yang diuji. Nilai PIC diperoleh dari perhitungan yang didasarkan pada

formulasi Hildebrand *et al.* (1992), yaitu sebagai berikut:

$$PIC_i = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

Nilai PIC ke-j adalah nilai PIC pada marka ke-j, P_i merupakan frekuensi alel ke-i pada marka ke-j, dan n merupakan jumlah alel pada marka ke-j

Analisis data morfologi

Data sekunder yang diperoleh berupa data morfologi kualitatif (warna bunga, warna polong, warna biji, warna hilum, tipe pertumbuhan, warna bulu polong, dan grup umur masak), yang dieksplorasi dari database USDA, perlu diubah terlebih dahulu menjadi data kuantitatif. Data tersebut dianalisis menggunakan Analisis Komponen Utama (*Principal Component Analysis*, PCA) menggunakan perangkat lunak XLSTAT (Iyai *et al.*, 2008) Karakter morfologi kualitatif aksesori kedelai ini diubah menjadi data kuantitatif dalam analisisnya, meliputi:

Warna bunga : Putih 1; Ungu 2

Warna polong : Coklat 1; Coklat muda 2

Warna biji : Kelabu 1; Kuning 2; Kuning kelabu 3; Kuning mengkilat 4

Warna hilum : Hitam 1; Kuning 2; Hitam muda 3; Abu-abu 4; Kekuningan 5; Hitam coklat 6; Coklat 7

Tipe pertumbuhan : Indeterminate 1;

Determinate 2

Warna bulu polong : Kuning kecoklatan 1; Abu-abu 2; Coklat 3

Grup umur masak : OO 1; II 2; III 3; IV 4; V 5, VI 6; VII 7

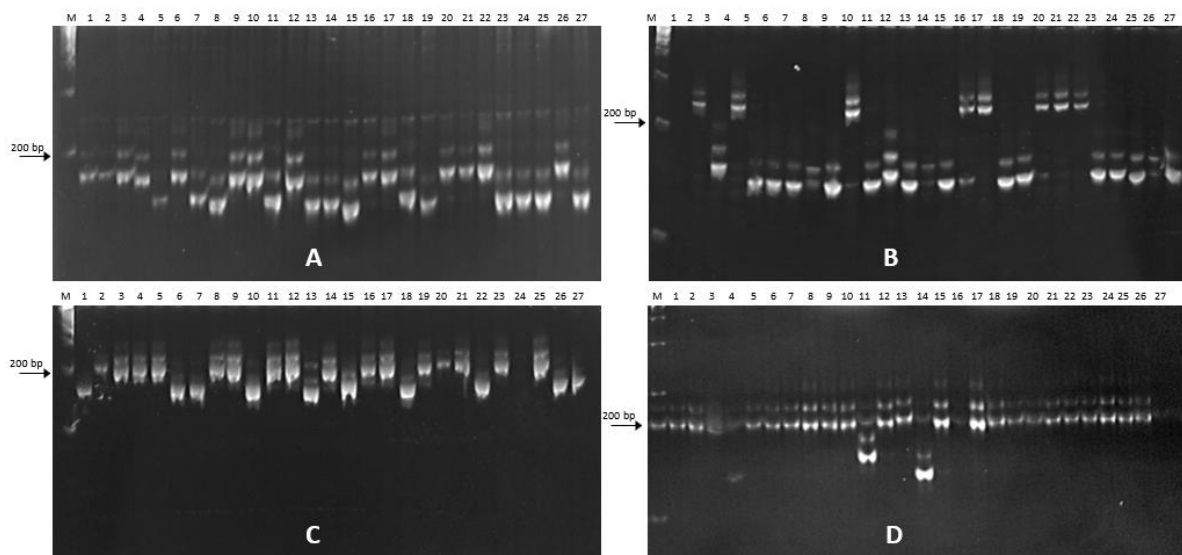
Asal : Ohio 1; North Dakota 2; China 3; Mississippi 4; Illinois 5; Parana, Brazil 6; Indiana 7; Saitama, Jepang 8; Liaoning, China 9; Iowa 10, North Carolina 11; Arkansas 12; Michigan 13; Tennessee 14; Missouri 15.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis polimorfisme SSR

Keragaman genetik yang tinggi ditemukan pada 27 aksesori kedelai introduksi menggunakan 15 marka SSR. Sebanyak 158 alel diidentifikasi dengan rata-rata 10,53 alel per lokus dan berkisar 4-18 alel per lokus. Jumlah alel pada penelitian ini lebih tinggi daripada hasil penelitian Lestari *et al.* (2016) dan Santoso *et al.* (2006) yang masing-masing menganalisis 29 aksesori kedelai lokal Indonesia dan 96 aksesori kedelai lokal dan introduksi. Namun, jumlah alel dan rata-rata

alel per lokus yang ditemukan pada aksesori kedelai introduksi di penelitian ini lebih rendah dibandingkan yang diamati pada aksesori kedelai asal Cina yang sebagian besar wilayahnya merupakan zona subtropis (Terryana *et al.*, 2017) dan dari negara subtropis lainnya, yaitu USA, Jepang, Swedia, Kanada, dan Rusia (Nugroho *et al.*, 2017). Ragam latar belakang genetik dan jumlah dari aksesori, serta marka SSR yang digunakan mempengaruhi polimorfisme SSR yang dihasilkan pada studi ini. Marka SSR berhasil membedakan aksesori kedelai dari daerah subtropis yang melengkapi karakter morfologi masing-masing aksesori. Ringkasan statistik total 15 marka SSR yang diuji pada 27 aksesori kedelai ditampilkan pada Tabel 2. Contoh pola pita DNA marka SSR disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Elektroforegram pola pita DNA yang dihasilkan marka SATT308 (A), SATT463 (B), SATT249 (C) dan SATT063 (D) yang dimigrasikan pada gel poliakrilamid. Keterangan: M= DNA ladder 100 bp, No 1-27 = aksesori kedelai sesuai urutan yang tercantum pada Tabel 4.

Tabel 2. Statistik polimorfisme dari 15 marka SSR yang diobservasi pada 27 aksesori kedelai introduksi.

Marka	Frekuensi alel utama	Diversitas gen	PIC	Jumlah alel	Kisaran ukuran alel (bp)
SATT463	0,06	0,97	0,96	17	124-254
SATT249	0,04	0,96	0,96	14	245-341
SATT191	0,09	0,95	0,95	12	199-254
SATT147	0,13	0,93	0,92	9	172-237
SATT431	0,09	0,95	0,94	9	138-190
SATT308	0,17	0,91	0,91	10	143-204
SATT197	0,16	0,92	0,92	9	195-247
SATT114	0,15	0,95	0,94	12	146-248
SATT063	0,09	0,96	0,96	18	124-276
SATT045	0,16	0,91	0,90	7	155-279
SATT038	0,29	0,88	0,87	12	100-188
SATT030	0,17	0,91	0,90	8	170-213
SATT009	0,17	0,93	0,93	13	160-275
SATT002	0,19	0,89	0,88	4	202-219
GMES1604	0,19	0,88	0,87	4	352-368
Jumlah				158	
Rata-rata	0,14	0,93	0,92	10,53	

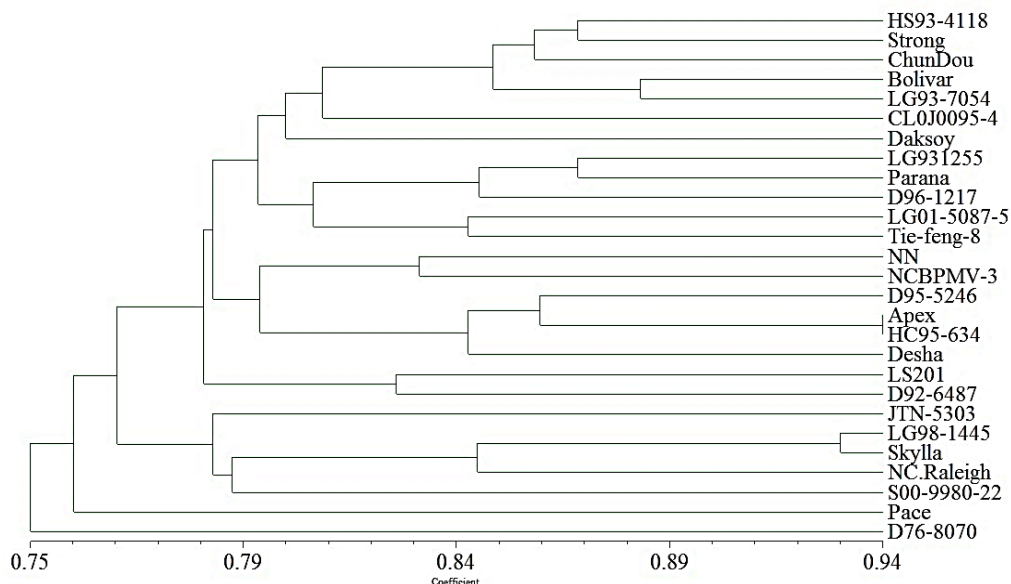
Nilai PIC merupakan pengukuran kuantitatif tingkat keinformatifan marka DNA yang menunjukkan level polimorfisme suatu lokus antar genotip dengan menggunakan informasi jumlah alel. Artinya marka DNA yang polimorfik dengan banyak alel, dapat dideteksi tiap alelnya sehingga genotip pada lokus marka tersebut dapat ditentukan pada tiap aksesori tanaman (Sajib *et al.*, 2012). Total 15 marka memiliki nilai PIC >0,7; yang mengindikasikan sebagai marka yang sangat informatif untuk studi genetika (Hilderbandt *et al.*, 1992). Pada penelitian ini, nilai rata-rata PIC cukup tinggi (0,92), dengan kisaran dari 0,87 (SATT038 dan GMES1604) hingga 0,96 (SATT463, SATT249 dan SATT063), yang mengindikasikan level polimorfisme masih sebanding dengan koleksi kedelai introduksi lainnya (Nugroho *et al.*, 2017; Terryana *et al.*, 2017). Rata-rata frekuensi alel utama adalah sebesar 14,29% dan rata-rata indeks

diversitas gen sebesar 0,93. Frekuensi alel merefleksikan jumlah alel dalam populasi atau terhadap total alel dalam suatu populasi (Nei dan Kumar, 2000). Indeks diversitas gen pada aksesori kedelai subtropis dalam studi ini masih relatif sebanding dengan nilai diversitas gen pada aksesori kedelai introduksi lainnya (Nugroho *et al.*, 2017; Terryana *et al.*, 2017), namun lebih tinggi daripada diversitas gen aksesori kedelai asal dari daerah lainnya di Asia maupun USA (Kumawat *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013). Indeks diversitas gen yang tinggi menggambarkan kemampuan marka SSR tersebut dalam membedakan antar aksesori.

Analisis filogeni

Analisis filogenetik penting untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar aksesori kedelai. Pohon filogenetik dibuat berdasarkan polimorfisme dari 15 marka SSR pada aksesori kedelai introduksi.

Berdasarkan analisis kluster, 27 aksesori kedelai subtropis terbagi menjadi dua kluster utama pada koefisien 0,75. Sebagian besar aksesori (26 aksesori) terkelompok dalam kluster I, dan sisanya (satu aksesori, yaitu D76-8070) berada pada kluster II. Dendrogram 27 aksesori kedelai introduksi berdasarkan 15 marka SSR ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Dendrogram 27 aksesori kedelai introduksi subtropis berdasarkan 15 marka SSR

Pohon filogeni menunjukkan bahwa aksesori yang berada dalam kluster yang sama cenderung dekat kekerabatannya secara genetik. Semakin tinggi koefisien kesamaan genetik antar aksesori, semakin dekat kekerabatannya. Aksesori yang berasal dari negara bagian yang sama di USA tidak selalu dalam sub grup yang sama, kecuali dua aksesori dari Ohio yaitu Apex dan HC95-634 yang memiliki nilai koefisien kesamaan genetik tertinggi, yaitu 0,94 (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai matriks kesamaan genetik dari 27 kedelai introduksi subtropis

Varietas	HS93-4118	Strong	Dakloy	Chun Dou	Bolivar	LG93-7054	LG931255	Parana	D96-1217	CL030095-4	LG01-5087-5	NN	Pace	Tie-feng-8	D76-8070	LS201	D92-6487	NCBP MV-3	D95-5246	Apex	HC95-634	Deiha	LG98-1445	Skylla	NC Raleigh	JTN-5303	S00-9980-22		
HS93-4118	1.00																												
Strong	0.87	1.00																											
Dakloy	0.87	0.81	1.00																										
ChunDou	0.87	0.86	0.78	1.00																									
Bolivar	0.84	0.85	0.78	0.86	1.00																								
LG93-7054	0.86	0.85	0.81	0.85	0.88	1.00																							
LG931255	0.85	0.80	0.81	0.78	0.85	0.83	1.00																						
Parana	0.81	0.82	0.81	0.79	0.81	0.83	0.87	1.00																					
D96-1217	0.79	0.79	0.79	0.79	0.81	0.80	0.84	0.85	1.00																				
CL030095-4	0.83	0.81	0.77	0.82	0.79	0.80	0.79	0.79	0.78	1.00																			
LG01-5087-5	0.76	0.78	0.75	0.76	0.82	0.80	0.83	0.79	0.77	0.79	1.00																		
NN	0.78	0.77	0.77	0.75	0.78	0.77	0.79	0.77	0.74	0.77	0.79	1.00																	
Pace	0.75	0.74	0.75	0.77	0.80	0.78	0.78	0.79	0.77	0.78	0.80	0.73	1.00																
Tie-feng-8	0.79	0.78	0.77	0.78	0.79	0.83	0.85	0.79	0.81	0.85	0.76	0.79	1.00																
D76-8070	0.77	0.77	0.76	0.74	0.77	0.77	0.73	0.73	0.68	0.76	0.75	0.78	0.72	0.73	1.00														
LS201	0.83	0.82	0.79	0.80	0.77	0.79	0.78	0.84	0.77	0.74	0.78	0.78	0.74	0.81	0.74	1.00													
D92-6487	0.80	0.79	0.79	0.76	0.77	0.81	0.76	0.78	0.75	0.76	0.77	0.75	0.71	0.80	0.77	0.83	1.00												
NCBP MV-3	0.78	0.81	0.75	0.78	0.83	0.81	0.78	0.83	0.77	0.80	0.80	0.83	0.77	0.79	0.78	0.79	0.77	1.00											
D95-5246	0.80	0.81	0.76	0.79	0.81	0.78	0.79	0.82	0.77	0.81	0.83	0.80	0.78	0.84	0.74	0.82	0.77	0.83	1.00										
Apex	0.81	0.84	0.77	0.81	0.80	0.81	0.81	0.82	0.81	0.79	0.81	0.79	0.76	0.84	0.76	0.84	0.80	0.84	0.87	1.00									
HC95-634	0.80	0.83	0.75	0.80	0.78	0.78	0.79	0.80	0.79	0.78	0.79	0.78	0.76	0.83	0.72	0.80	0.78	0.84	0.86	0.91	1.00								
Deiha	0.75	0.80	0.71	0.79	0.76	0.75	0.71	0.74	0.73	0.75	0.76	0.73	0.75	0.78	0.74	0.77	0.75	0.78	0.82	0.86	0.86	1.00							
LG98-1445	0.79	0.82	0.75	0.77	0.81	0.80	0.75	0.75	0.73	0.77	0.74	0.77	0.73	0.75	0.73	0.77	0.77	0.81	0.79	0.80	0.79	0.77	1.00						
Skylla	0.78	0.80	0.74	0.75	0.80	0.77	0.74	0.73	0.72	0.74	0.73	0.76	0.69	0.72	0.70	0.74	0.74	0.79	0.80	0.82	0.80	0.77	0.93	1.00					
NC Raleigh	0.76	0.77	0.74	0.74	0.79	0.74	0.74	0.73	0.69	0.75	0.72	0.73	0.73	0.72	0.76	0.73	0.73	0.77	0.75	0.78	0.77	0.76	0.85	0.85	1.00				
JTN-5303	0.78	0.78	0.75	0.75	0.81	0.79	0.77	0.73	0.72	0.71	0.80	0.76	0.70	0.76	0.74	0.75	0.78	0.74	0.80	0.81	0.79	0.77	0.78	0.82	0.76	1.00			
S00-9980-22	0.78	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.78	0.76	0.73	0.75	0.77	0.78	0.74	0.75	0.74	0.73	0.79	0.80	0.79	0.79	0.80	0.75	0.80	0.81	0.77	0.78	1.00		

Sebaliknya, kekerabatan paling jauh ditemukan antara aksesori D76-8070 dengan aksesori 96-1217, ditunjukkan oleh nilai koefisien kesamaan genetik yang paling rendah (0,68). Marka SSR ini menunjukkan bahwa beberapa aksesori yang mayoritas berasal dari Mississippi memiliki koefisien kesamaan genetik rendah yang membuktikan perbedaannya karena tidak berada dalam satu sub grup sesuai ditunjukkan di dendrogram. Bahkan satu aksesori dari Mississippi (D76-8070) berada di klaster II yang menunjukkan jarak genetik yang jauh dengan aksesori lainnya dari Mississippi yang berada di klaster I. Marka SSR ini juga berhasil menunjukkan kedekatan antara aksesori dari Cina dengan asal USA (Mississippi), aksesori dari Jepang dengan dari USA (North Colorado), dan antara aksesori dari Brazil dengan dari USA (Illinois). Dengan demikian, matrik kesamaan genetik berdasarkan variasi marka SSR mendukung dendrogram aksesori kedelai tersebut (Tabel 3). Marka SSR berhasil mengelompokkan aksesori kedelai subtropis berdasarkan latar belakang genetik tiap aksesori, namun tidak berdasarkan umur masak ataupun asal/origin. Genetik tiap aksesori lebih berperan besar dalam pengelompokkan berbasis marka SSR tersebut. Hal menarik adalah terdapat kesesuaian beberapa sub grup aksesori berdasarkan marka SSR dengan karakter morfologi kualitatifnya. Sebagai contoh, aksesori Strong, Bolivar, dan HS93-4118 yang berada dalam sub grup yang sama secara molekuler ternyata memiliki kesamaan pada

warna hilum (hitam) dan warna polong (kuning kelabu). Aksesori LG98-1445, Skylla, NC Raleigh, dan S 00-9980-22 yang dekat secara genetik berdasarkan marka SSR diketahui memiliki warna bulu polong coklat meskipun umur masaknya berada pada grup II- VI

Informasi genetik berdasarkan marka SSR ini membantu menentukan pemilihan tetua persilangan, terutama pada kedelai yang merupakan tanaman yang menyerbuk sendiri. Keragaman genetik kedelai di Indonesia rendah sehingga berpengaruh terhadap perakitan VUB yang dilakukan melalui persilangan (Anwar *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, perlu upaya peningkatan keragaman melalui introduksi aksesori dari wilayah subtropis ini yang potensial sebagai materi persilangan terutama aksesori dengan jarak genetik jauh yang disilangkan dengan varietas/aksesori dari Indonesia akan dapat membantu dalam program pemuliaan (Sulistyo *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2017). Estimasi jarak genetik yang tepat antara tetua yang dipilih, makin memperbesar peluang mendapatkan progeni heterosis atau hibrida yang bagus (Chauhan *et al.*, 2015). Berdasarkan jarak genetik terendah (0,69), diketahui bahwa antara NC-Raleigh dengan D96-1217, dan antara Skylla dengan Pace potensial menjadi tetua persilangan karena kekerabatannya yang paling jauh. Aksesori kedelai introduksi dalam studi ini sebagian besar adalah varietas dari negara asal. Dengan demikian studi ini menunjukkan keefektifan marka SSR untuk estimasi keragaman genetik aksesori kedelai

subtropis yang diharapkan dapat diuji potensi untuk dikembangkan di daerah adaptasi di wilayah tropis untuk dilepas tropis Indonesia. menjadi varietas nasional atau menjadi donor

Tabel 4. Karakter morfologi 27 aksesori kedelai introduksi subtropis yang digunakan dalam penelitian

No.	Nama Aksesori	Kode Aksesori	Warna				Tipe Pertumbuhan	warna bulu polong	Grup umur masak	Asal
			Bunga	Polong	Biji	Hilum				
1	HS 93-4118	PI 614155	Putih	Coklat	Kuning Kelabu	Hitam	<i>Indeterminate</i>	Kuning Kecoklatan	IV	Ohio
2	Strong	PI 614808	Putih	Tan	Kuning Kelabu	Hitam	<i>Determinate</i>	Kuning Kecoklatan	IV	Ohio
3	Daksoy	PI 602896	Ungu	Coklat	Kelabu	Kuning	<i>Indeterminate</i>	Abu-abu	OO	North Dakota
4	Chun Dou	PI 603723								China
5	Bolivar	PI 612146	Ungu	Tan	Kuning Kelabu	Hitam		Coklat	V	Mississippi
6	LG 93-7054	PI 615554	Ungu	Coklat	Kuning	Hitam Muda	<i>Indeterminate</i>	Abu-abu	II	Illinois
7	LG 93-1255	PI 615553	Ungu	Tan	Kuning	Hitam	<i>Indeterminate</i>	Coklat	II	Illinois
8	Parana	PI 628879								Parana, Brazil
9	D 96-1217	PI 631157								Mississippi
10	CL0J0 095-4	PI 657626	Ungu	Tan	Kuning Kelabu	Abu-abu	<i>Indeterminate</i>	Coklat	III	Indiana
11	LG 01-5087-5	PI 667734	Ungu	Coklat	Kuning	Hitam Muda	<i>Indeterminate</i>	Abu-abu	IV	Mississippi
12	NN	PI 84976-1								Saitama, Jepang
13	Pace	PI 602496	Putih	Tan	Kuning	Kekuningan	<i>Determinate</i>	Abu-abu	V	Mississippi
14	Tie-feng-8	PI 436684								Liaoning, China
15	D76-8070	PI 536521	Putih		Kuning	Hitam	<i>Determinate</i>	Kuning Kecoklatan	V	Mississippi
16	LS 201	PI 539866	Ungu	Tan	Kuning Kelabu	Kuning		Abu-abu	II	Iowa
17	D 92-6487	PI 573188							V	Mississippi
18	NCBPMV-3	PI 593647								North Carolina
19	D 95-5246	PI 608357							V	Mississippi
20	Apex	PI 632401	Ungu	Coklat	Kuning Mengkilat		<i>Determinate</i>	Coklat	III	Ohio
21	HC 95-634	PI 632423							III	Ohio
22	Desha	PI 633610	Putih	Tan	Kuning Kelabu	Kekuningan	<i>Determinate</i>	Abu-abu	VI	Arkansas
23	LG 98-1445	PI 639284	Ungu	Coklat	Kuning	Hitam	<i>Indeterminate</i>	Coklat	III	Illinois
24	Skylla	PI 639693	Ungu	Tan	Kuning	Hitam	<i>Indeterminate</i>	Coklat	II	Michigan
25	NC. Raleigh	PI 641156	Putih	Coklat		Hitam Coklat		Coklat	VII	North Carolina
26	JTN-5303	PI 641937	Putih		Kuning	Hitam Muda	<i>Determinate</i>	Coklat	V	Tennessee
27	S 00-9980-22	PI 643913	Ungu	Tan	Kuning Mengkilat	Coklat	<i>Determinate</i>	Coklat	V	Missouri

Keterangan: *Indeterminate*: pucuk batang tanaman masih bisa tumbuh daun, walaupun tanaman sudah mulai berbunga; *Determinatae*: batang yang tidak tumbuh lagi pada saat tanaman mulai berbunga.

Keragaman karakter morfologi

Data sekunder morfologi yang ditelusuri dari database bermanfaat sebagai informasi pendukung analisis molekuler (Sudiby, 2011). Karakter morfologi aksesori

kedelai yang terdiri atas warna bunga, warna polong, warna biji, warna hilum, tipe pertumbuhan dari tanaman, warna bulu polong, dan grup umur masak dari 27 aksesori kedelai introduksi telah ditelusuri dari

pangkalan data USDA (<http://www.ars-grin.gov>) dan menunjukkan keragaman antar aksesori (Tabel 4). Namun tidak semua data karakter tersebut tersedia pada semua aksesori, sehingga hanya sebagian yang selanjutnya dianalisis.

Berdasarkan jumlah aksesori dengan informasi karakter morfologi tersebut, diketahui bahwa sebagian besar (11 aksesori) berbunga ungu, dan sisanya berwarna putih, sedangkan aksesori dengan warna polong coklat dan coklat muda memiliki jumlah yang relatif sebanding. Keragaman warna biji 17 aksesori meliputi kuning (8 aksesori), kelabu (1 aksesori), kuning kelabu (6 aksesori) dan kuning mengkilat (2 aksesori). Keragaman warna hilum dari kedelai subtropis ini meliputi hitam sebagai warna dominan, diikuti warna kuning, hitam muda, abu-abu, kekuningan, hitam coklat, dan coklat. Warna hilum kuning umumnya lebih diterima pasar karena

cocok untuk warna tempe sehingga lebih menarik (OMARFA, 2012). Jumlah aksesori dengan tipe pertumbuhan indeterminate relatif sebanding dengan tipe determinate. Grup umur masak menunjukkan variasi tinggi, yaitu berkisar dari grup II hingga grup VIII dengan warna bulu polong yang mayoritas berwarna hitam (Tabel 4).

Sebanyak 27 aksesori kedelai subtropis yang digunakan dalam penelitian ini yang sebagian besar dari USA dan sebagian kecil asli dari Asia menunjukkan variasi karakter morfologi. Negara bagian di USA, Mississippi berkontribusi terbanyak dalam jumlah aksesori (7 aksesori). Total tujuh karakter morfologi yang terdiri dari warna bunga, warna polong, warna biji, warna hilum, tipe pertumbuhan, dan warna bulu polong dianalisis menggunakan analisis korelasi Pearson (Tabel 5).

Tabel 5. Nilai matriks korelasi Pearson tujuh karakter morfologi dari 27 aksesori kedelai introduksi subtropis

Variabel	Warna bunga	Warna polong	Warna biji	Warna hilum	Tipe pertumbuhan	Warna bulu polong
Warna polong	0,739					
Warna biji	0,784	0,694				
Warna hilum	0,458	0,637	0,442			
Tipe pertumbuhan	0,495	0,401	0,727	0,484		
Warna bulu polong	0,890	0,754	0,713	0,608	0,532	
Umur masak	0,269	0,422	0,414	0,585	0,455	0,451

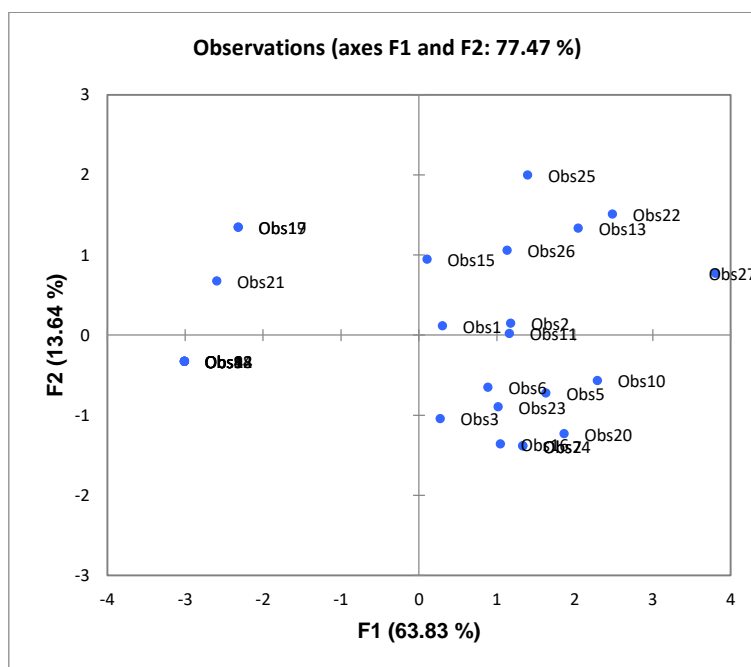
Keterangan : Angka yang dicetak tebal menunjukkan beda nyata pada tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$.

Keseluruhan karakter memiliki korelasi positif yang nyata satu sama lain kecuali antara warna bunga dengan grup umur masak, dan warna polong dengan grup umur masak. Karakter yang memiliki

keterkaitan sangat dekat ditemukan antara warna bunga dan warna bulu polong (nilai korelasi tertinggi, yaitu $r=0,890$) diikuti dengan antara warna bunga dengan warna biji ($r = 0,784$). Semakin tinggi nilai matriks

korelasi Pearson, maka semakin dekat pula keterkaitan antar karakter kedelai yang memiliki korelasi positif. Karakter-karakter yang berkorelasi positif ini dapat menjadi

bagian target pemuliaan secara paralel, sehingga karakter-karakter target tersebut dapat disatukan dalam suatu VUB dalam perbaikan genetiknya.



Gambar 3. Pengelompokan 27 aksesori kedelai introduksi subtropis.

Posisi relatif 27 aksesori kedelai introduksi berdasarkan karakter morfologi melalui analisis PCoA disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis PCoA berdasarkan dua komponen utama telah mampu menjelaskan total keragaman 27 aksesori kedelai dari iklim subtropis sebesar 77,47%. Komponen utama pertama berkontribusi terhadap 63,83% keragaman total, sedangkan komponen utama kedua berkontribusi terhadap 13,64% keragaman total diantara 27 aksesori kedelai introduksi yang diuji. Sebanyak 27 aksesori kedelai introduksi dikelompokkan pada empat kuadran. PCoA ini menunjukkan adanya kecenderungan bahwa aksesori-aksesori dalam satu kuadran memiliki kemiripan karakter

morfologi. Sebagai contoh Observasi 1 (HS 93-4118) dengan Observasi 15 (D76-8070) berkumpul dalam satu kuadran yang sama menunjukkan bahwa kedua aksesori tersebut memiliki kesamaan karakter morfologi baik segi warna bunga, polong, biji, hilum, tipe pertumbuhan, warna bulu polong, dan grup umur masak. Aksesori yang berkumpul dalam satu kuadran yang sama disarankan untuk tidak digunakan sebagai sumber tetua jantan dan betina dalam kegiatan persilangan karena cenderung dekat secara genetik akan tidak efektif menghasilkan progeni unggul. Sebaliknya persilangan dengan tetua yang jauh jarak genetiknya diharapkan dapat menghasilkan keturunan heterosis yang melebihi karakter kedua tetuanya (Taliercio

et al., 2017). Namun berdasarkan hasil analisis filogeni menggunakan marka SSR menunjukkan hasil yang berkebalikan yang menunjukkan bahwa Observasi 1 (HS 93-4118) dengan Observasi 15 (D76-8070) memiliki tingkat kekerabatan jauh karena berada pada klaster berbeda. Hasil ini mengindikasikan bahwa marka SSR yang tidak dipengaruhi lingkungan lebih presisi dalam mengestimasi kekerabatan aksesori sehingga melengkapi informasi karakter morfologi kedelai.

Hasil penelitian ini berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya (Tanta-sawat *et al.*, 2011; Terryana *et al.*, 2017; Nugroho *et al.*, 2017), yang memperoleh hasil pengelompokan yang serupa antara analisis PCoA dengan analisis filogeni. Adanya perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh jumlah dan jenis marka SSR serta aksesori kedelai yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakter morfologi yang berbeda dengan penelitian sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa karakterisasi molekuler menjadi penting dalam melengkapi data karakter morfologi, terutama pada karakter morfologi kuantitatif yang banyak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Dengan demikian, pendekatan terintegrasi antara marka morfologi dan marka molekuler dalam seleksi tetua persilangan sangat diperlukan dalam menentukan jarak genetik terkait kekerabatannya sebagai sumber materi tetua persilangan

KESIMPULAN

Marka SSR berhasil mengidentifikasi keragaman genetik bersifat polimorfik dari 27 aksesori kedelai introduksi USDA. NC-Raleigh dengan D96-1217, dan antara Skylla dengan Pace memiliki kekerabatan jauh dibandingkan dengan aksesori kedelai lainnya sehingga potensial sebagai tetua dalam pemuliaan tanaman kedelai. Hasil analisis morfologi mengelompokkan 27 aksesori kedelai dalam empat kuadran yang menunjukkan variasi morfologi antar kuadran. Karakterisasi SSR mampu memverifikasi hubungan kekerabatan antar aksesori kedelai subtropis yang tidak dapat dibedakan secara morfologi kualitatifnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Meddy Saputra yang telah membantu untuk isolasi DNA genomik, serta Widya Rachmatika dan Derry Budiman yang telah membantu secara teknis dalam penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, E. N. 2012. *Penggunaan penanda molekuler untuk mempercepat dan mempermudah perbaikan kualitas tanaman teh (Camellia sinensis L O. Kuntze)*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Anwar, D.P., D.S. Hanafiah dan E.S. Bayu. 2019. Parameter genetik generasi F4 persilangan kedelai Detam-2 dan Grobogan. *Jurnal Agroekoteknologi FP*

- USU. 7:149-155.*
- Bisen, A., D. Khare, P. Nair and N. Tripathi. 2014. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine max* L. Merr.) genetic diversity in India. *Physiology and Molecular Biology of Plants. 21:109-115.*
- Chaerani, N. Hidayatun dan D.W. Utami. 2011. Keragaman genetik 50 aksesori plasma nutfah kedelai berdasarkan sepuluh penanda mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen. 7(2):96-105.*
- Chauhan, D.K., J.A. Bhat, A.K. Thakur, S. Kumari, Z. Hussain and C.T. Satyawathi. 2015. Molecular characterization and genetic diversity assessment in soybean (*Glycine max* L. Merr.) varieties using SSR markers. *Indian Journal of Biotechnology. 14:504-510.*
- Cregan, P.B., T. Jarvik, A.L. Bush, R.C. Shoemaker, K.G. Lark, A.L. Kahler, N. Kaya, T.T. VanToai, D.G. Lohnes, J. Chung and J.E. Specht. 1999. An integrated genetic linkage map of the soybean. *Crop Sci. 39:1464-1490.*
- Handayani, T. dan I.M. Hidayat. 2016. Keragaman genetik dan heritabilitas beberapa karakter utama pada kedelai sayur dan implikasinya untuk seleksi perbaikan produksi. *Jurnal Hortikultura. 22(4):327-333.*
- Hildebrand, C.E., D.C. Torney and R.P. Wagner. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science. 20:100-102.*
- Hisano, H., S. Sato, S. Isobe, S. Sasamoto, T. Wada, A. Matsuno, T. Fujishiro, M. Yamada, S. Nakayama, Y. Nakamura and S. Watanabe. 2007. Characterization of the soybean genome using EST-derived microsatellite markers. *DNA Research. 14:271-281.*
- Iyai, D. A., D. Woran and I. Sumpe. 2008. Clustering and principal component analyses of constraints in smallholding pig keeping systems in Manokwari. *Indonesia Animal Production. 12:199-206.*
- Kaur, G., A. Joshi and D. Jain. 2018. SSR-marker assisted evaluation of genetic diversity in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) genotypes. *Brazilian Archives of Biology and Technology. 61: 1-8*
- Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. 2016. Data produksi padi, jagung, kedelai 2015 naik dibandingkan tahun 2014. <<http://tanamanpangan.pertanian.go.id/berita/123>>. Diakses pada 8 Februari 2020.
- Kumawat, G., G. Singh, C. Gireesh, M. Shivakumar, M. Arya, D.K. Agarwal and S.M. Husain. 2014. Molecular characterization and genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* L. Merr.) germplasm accessions in India. *Physiology and Molecular Biology of*

- Plants*. 21(1):101-107.
- Lestari, P., S.K. Kim, Reflinur, Y.J. Kang, N. Dewi and S.H. Lee. 2014. Genetic diversity of mungbean (*Vigna radiata* L.) germplasm in Indonesia. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 12:91-94.
- Lestari, P., A. Risliawati, D.W. Utami, N. Hidayatun, T.J. Santoso dan Chaerani. 2016. Pengembangan identitas spesifik berbasis marka SSR pada 29 varietas kedelai lokal Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia*. 12(2):219-230.
- Lestari, P., K. Nugroho, R.T. Terryana, Sustiprijatno, Mastur, A.A. Cahyono and D. Saptadi. 2019. Assessment of genetic variability in introduced and Indonesian soybean genotypes using morphological and SNAP markers. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 6(1):1-8.
- Li, Y., R. Guan, Z. Liu, Y. Ma, L. Wang, L. Li, F. Lin, W. Luan, P. Chen, Z. Yan, Y. Guan, L. Zhu, X. Ning, M.J.M. Smulders, W. Li, R. Piao, Y. Cui, Z. Yu, M. Guan, R. Chang, A. Hou, A. Shi, B. Zhang, S. Zhu and L. Qiu. 2008. Genetic structure and diversity of cultivated soybean (*Glycine max* L. Merr.) landraces in China. *Theoretical and Applied Genetics* 117(6):857-871.
- Liu, K. and S.V. Muse. 2005. PowerMarker : an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*. 21(9):2128-2129.
- Liu, M., M. Zhang, W. Jiang, G. Sun and H. Zhao. 2011. Genetic diversity of Shaanxi soybean landraces based on agronomic traits and SSR markers. *African Journal of Biotechnology*. 10(24):4823-4837.
- Mahbub, M.M., M.M. Rahman, M.S. Hossain, L. Nahr and B.J. Shirazy. 2016. Morpho-physiological variation in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*. 16(2):234-238.
- Matondo, N.K., K.N. Yao, M. Kyalo, R. Skilton, K.K. Nkongolo, D. Mumba, D.K. Tshilenge and A.K. Lubobo. 2017. Assessment of the genetic diversity and the relationship among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions from DR-Congo germplasm using SSR molecular markers. *International Journal of Current Research*. 9(3):47814-47821.
- Nei, M. and S. Kumar. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Ngalamu, T., S. Meseka and M. Ashraf. 2012. Performance of soybean (*Glycine max* L Merrill) genotypes under different planting dates in Sennar State of the Sudan. *Journal of Applied Biosciences*. 49: 3363-3370.
- Nugroho, K., R.T. Terryana dan P. Lestari. 2017. Analisis keragaman genetik

- kedelai introduksi menggunakan marka mikrosatelit. *Informatika Pertanian* 36(2):121-132.
- Nuraida, D. 2012. Pemuliaan tanaman cepat dan tepat melalui pendekatan marka. *El-Hayah*. 2(2):97-103.
- Nuryati, L., B. Waryanto dan R. Widaningsih. 2016. *Outlook of agricultural commodities sub sector of food crops : soybean*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Kementerian Pertanian, Jakarta.
- OMARFA. 2012. Soybeans: variety selection. <<http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/pubB'11/2variety.html>>. Diakses pada 25 Januari 2017.
- Rohlf, F.J. 2000. *NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis sistem. Version:2.1*. Exeter Software, New York.
- Sajib, A.M., M.M. Hossain, A.T.M.J. Mosnaz, H. Hossain, M.M. Islam, M.S. Ali and S.H. Prodhan. 2012. SSR marker-based molecular characterization and genetic diversity analysis of aromatic landraces of rice (*Oryza sativa* L.). *J. BioSci. Biotech*. 1(2):107-116.
- Santoso, T.J., D.W. Utami dan E.M. Septiningsih. 2006. Analisis sidik jari DNA plasma nutfah kedelai menggunakan Markah SSR. *Jurnal AgroBiogen*. 2(1):1-7.
- Showkat, M., and Tyagi, S. D. 2010. Correlation and path coefficient analysis of some quantitative traits in soybean (*Glycine max* L. Merrill). *Res. J. Agric. Sci.*, 1(2), pp.102–106.
- Siburian, D., Pangestiniingsih dan L. Lubis. 2013. Pengaruh jenis insektisida terhadap hama polong *Riptortus Linearis* F. (Hemiptera:Alydidae) dan *Etiella Zinckenella* Triet (Lepidoptera: Pyralidae) pada tanaman kedelai (*Glycine Max* L.). *Jurnal Online Agroekoteknologi* 2:22.
- Siise, A. and F.J. Massawe. 2013. Microsatellites based marker molecular analysis of Ghanaian bambara groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.) landraces alongside morphological characterization. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 60:777-787.
- Somta, P., S. Chankaew, O. Rungnoi and P. Srinives. 2011. Genetic diversity of the Bambara groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.) as assessed by SSR markers. *Genome*. 54(
- Sudaryanto, T. dan D.K.S. Swastika. 2007. *Kedelai*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor.
- Sudibyoy. 2011. *Zonasi konservasi mangrove di kawasan pesisir pantai kabupaten Pati*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.

- Suhartina, R.T. Hapsari dan Purwantoro. 2016. Keragaman plasma nutfah kedelai berdasarkan karakter morfo-agronomis. *Bul. Plasma Nutfah*. 22(2):109-118.
- Sulistyo, A.F.C. Indriani, M.J. Mejaya, A.N. Sugiharto and Agronoff. 2019. Genetic diversity of Indonesian soybean (*Glycine max* L. Merrill) germplasm based on morphological and microsatellite markers. *The 2nd International Conference on Natural Resources and Life Science*. 293.
- Tantasawat, P., J. Trongchuen, T. Prajongjai, S. Jenweerawat and W. Chaowiset. 2011. SSR analysis of soybean (*Glycine max* L. Merr.) genetic relationship and variety identification in Thailand. *Australian Journal of Crop Science*. 5(3): 283-290.
- Taliercio, E., D. Eickholt, F. Rouf, F., and Charter, T. 2019. Changes in gene expression between a soybean F1 hybrid and its parents are associated with agronomically valuable traits. *PLoS ONE*, 12(5):e0177225.
- Terryana, R.T., K. Nugroho, Reflinur, K. Mulya, N. Dewi dan P. Lestari. 2017. Keragaman genotipik dan fenotipik 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina. *Jurnal AgroBiogen* 13(1):1-16.
- Wang, L., X. Cheng, S. Wang, H. Liang, D. Zhao and N. Xi. 2009. Markers: genetic diversity of Adzuki bean germplasm resources revealed by SSR markers. *Acta Agronomica Sinica*. 35(10):1858-1865.
- Wirnas, D., I. Widodo, Sobir, Trikoesoemaningtyas and D. Sopandie. 2006. Pemilihan karakter agronomi untuk menyusun indeks seleksi pada 11 populasi kedelai generasi F6. *Jurnal Agronomi Indonesia* 34(1):19-24.
- Yi, J.Y., G.A. Lee, J.R. Lee, M.C. Lee, M.J. Kang, H.J. Baek and C.K. Kim. 2011. Genetic diversity assessment and phylogenetic analysis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in RDA genebank collection using SSRs. *Korean Journal of Plant Resources*. 24(3):272-279.
- Zhang, G., S. Xu, W. Mao, Q. Hu and Y. Gong. 2013. Determination of the genetic diversity of vegetable soybean [*Glycine max* L. Merr.] using EST-SSR markers. *Journal of Zhejiang University. Science. B*. 14(4):279-288.
- Zhang, J., J. Yan, X. Shen, D. Chang, S. Bai, Y. Zhang and J. Zhang. 2017. How genetic variation is affected by geographic environments and ploidy level in *Erianthus arundinaceus*. *PLoS ONE*. 12(5):e0178451.