

**KEKERABATAN GENETIK PULASAN  
(*Nephelium ramboutan-ake*(Labill.) Leenh) DI KABUPATEN SIAK  
DAN BENGKALIS BERDASARKAN PENANDA RAPD  
(*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

Oleh :

**RINDA ANGGINI**

**144110339**

**ABSTRAK**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU  
PEKANBARU**

**2019**

**KEKERABATAN GENETIK PULASAN  
(*Nephelium ramboutan-ake*(Labill.) Leenh) DI KABUPATEN SIAK  
DAN BENGKALIS BERDASARKAN PENANDA RAPD  
(*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

**SKRIPSI**

**NAMA : Rinda Anggini  
NPM : 144110339  
PROG. STUDI : AGROTEKNOLOGI**

**KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN  
DALAM UJIAN KOMPREHENSIF YANG DILAKSANAKAN PADA  
HARI SELASA 16 APRIL 2019  
DAN TELAH DISEMPURNAKAN SESUAI SARAN YANG DISEPAKATI.  
KARYA ILMIAH INI MERUPAKAN SYARAT PENYELESAIAN STUDI  
PADA FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS ISLAM RIAU**

**MENYETUJUI**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Drs. Maizar, MP**

**Mardaleni, SP., M.Sc**

**Dekan Fakultas Pertanian**







**Ketua Program Studi  
Agroteknologi**

**Dr. Ir. Ujang Paman Ismail, M. Agr**

**Ir. Ernita, MP**

**SKRIPSI INI TELAH DI UJI DAN DIPERTAHANKAN  
DI DEPAN PANITIA SARJANA FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU**

**TANGGAL 16 APRIL 2019**

No.	Nama	TandaTangan	Jabatan
1	Drs. Maizar, MP		Ketua
2	Mardaleni, SP., M.Sc		Sekretaris
3	Dr. Ir. H. T. Edy Sabli, M.Si		Anggota
4	Dr. Fathurrahman, M.Sc		Anggota
5	Raisa Baharuddin, SP., M.Si		Anggota
6	Sri Mulyani, SP., M.Si		Notulen



## ABSTRAK

Rinda Anggini (144110339) Kekerabatan Genetik Pulasan (*Nephelium ramboutan-ake*(Labill.) Leenh) Di Kabupaten Siak dan Bengkalis Berdasarkan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Dibawah bimbingan Bapak Drs. Maizar, MP sebagai pembimbing I dan Ibu Mardaleni, SP., M.Sc sebagai pembimbing II. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan September hingga November 2018. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kekerabatan genetic pulasan (*Nephelium ramboutan-ake*(Labill.) Leenh) dengan menggunakan lima primer berdasarkan penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

Penelitian ini melalui beberapa tahap yaitu koleksi sampel, isolasi DNA, uji kualitas, dan analisis data. Data dianalisis dengan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) dengan menggunakan software MVSP 3.22. Hasil penelitian kekerabatan genetic pulasan dengan menggunakan lima primer berdasarkan penanda RAPD menghasilkan ukuran panjang pita DNA, jumlah lokus, jumlah pita dan dendogram genotype pulasan yang berbeda. Keragaman asal Siak dan Bengkalis dapat dilihat dari hasil analisis yaitu memiliki hasil penelitian memperoleh ukuran panjang pita DNA yaitu berkisar dari 150bp - 1500bp. Jumlah lokus sebanyak 26 lokus, total keseluruhan pita DNA pulasan adalah 120 pita.

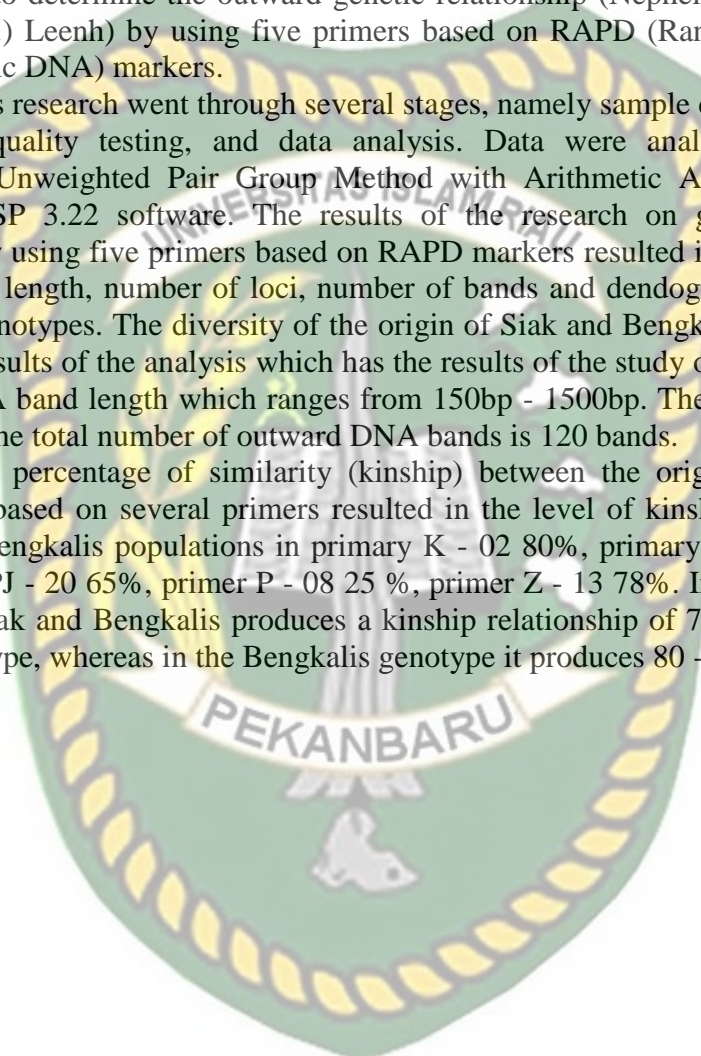
Persentase kemiripan (kekerabatan) antara pulasan asal Siak dan Bengkalis berdasarkan beberapa primer menghasilkan tingkat kekerabatan antar populasi Siak dan Bengkalis pada primer K - 02 80%, primer K - 08 65%, pada primer OPJ - 20 65%, primer P - 08 25%, primer Z - 13 78%. Dalam populasi antar Siak dan Bengkalis menghasilkan hubungan kekerabatan 70 - 100% pada genotype Siak, sedangkan pada genotype Bengkalis menghasilkan 80 - 100% hubungan kekerabatan.

## ABSTRACT

Rinda Anggini (144110339) Pulasan Genetic Relationship (*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh) In Siak and Bengkalis Regencies Based on Random Amplified Polymorphic DNA Markers. Under the guidance of Mr. Drs. Maizar, MP as mentor I and Mrs. Mardaleni, SP., M.Sc as counselor II. This research was conducted from September to November 2018. The aim of this study was to determine the outward genetic relationship (*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh) by using five primers based on RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers.

This research went through several stages, namely sample collection, DNA isolation, quality testing, and data analysis. Data were analyzed using the UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) method using MVSP 3.22 software. The results of the research on genetic outward relations by using five primers based on RAPD markers resulted in the size of the DNA band length, number of loci, number of bands and dendogram of different outward genotypes. The diversity of the origin of Siak and Bengkalis can be seen from the results of the analysis which has the results of the study obtained the size of the DNA band length which ranges from 150bp - 1500bp. The number of loci is 26 loci, the total number of outward DNA bands is 120 bands.

The percentage of similarity (kinship) between the origin of Siak and Bengkalis based on several primers resulted in the level of kinship between the Siak and Bengkalis populations in primary K - 02 80%, primary K - 08 65%, at primary OPJ - 20 65%, primer P - 08 25 %, primer Z - 13 78%. In the population between Siak and Bengkalis produces a kinship relationship of 70 - 100% in the Siak genotype, whereas in the Bengkalis genotype it produces 80 - 100% kinship.



## Kata Pengantar

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya yang tidak ternilai, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan judul “Kekerabatan Genetik Antar Pulasan (*Nephelium ramboutan-ake*(Labill.) Leenh) Di Kabupaten Siak dan Bengkalis Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada bapak Drs. Maizar, MP selaku pembimbing I dan ibu Mardaleni, SP., M.Sc selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penulisan proposal ini. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Dekan Fakultas Pertanian dan Dosen Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Ucapan terima kasih yang tak terhingga juga kepada kedua orang tua saya, rekan-rekan serta semua pihak yang telah membantu baik moril maupun materil hingga selesainya skripsi ini.

Penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun, demi kesempurnaan penulisan skripsi ini, dan untuk itu penulis mengucapkan terimakasih.

Pekanbaru, April 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
Abstrak .....	i
Kata pengantar .....	ii
Daftar isi.....	iii
Daftar table.....	iv
Daftar lampiran .....	v
I.    PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	4
II.   TINJAUAN PUSTAKA .....	5
III.  BAHAN DAN METODE .....	26
A. Tempat dan Waktu .....	26
B. Bahan dan Alat.....	26
C. Metode Penelitian.....	26
D. Bagan Penelitian.....	27
E. Pelaksanaan Penelitian .....	27
IV.  HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
V.   KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
DAFTAR PUSTAKA .....	55
LAMPIRAN.....	61

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Perbandingan Antara Penanda DNA RAPD, RFLP, AFLP, dan SSR.....	13
2. Genotipe Pulasan .....	28
3. Analisis RAPD Dari Sepuluh Genotype Pulasan.....	35
4. Ukuran Pita (bp) Hasil Amplifikasi .....	36
5. Deskripsi 10 genotipe Siak dan Bengkalis.....	52





## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Perbedaan daun, bunga, buah rambutan dan pulasan.....	9
2. Hasil ekstraksi pita DNA 10 genotipe.....	34
3. Pola pita 10 genotipe menggunakan primer K-02 .....	40
4. Pola pita 10 genotipe menggunakan primer K-06 .....	42
5. Pola pita 10 genotipe menggunakan primer OPJ-20.....	43
6. Pola pita 10 genotipe menggunakan primer P-08 .....	44
7. Pola pita 10 genotipe menggunakan primer Z-13.....	45
8. Dendogram 10 genotipe pulasan pada primer K-02 .....	46
9. Dendogram 10 genotipe pulasan pada primer K-06 .....	47
10. Dendogram 10 genotipe pulasan pada primer OPJ-20.....	48
11. Dendogram 10 genotipe pulasan pada primer P-08 .....	49
12. Dendogram 10 genotipe pulasan pada primer Z-13.....	50

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Jadwal kegiatan penelitian .....	61
2. Bagan isolasi DNA tanaman .....	62
3. Dokumentasi penelitian .....	66



## KATA PERSEMBAHAN



*“Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh”*

*Alhamdulillah... Alhamdulillah... Alhamdulillahirobbil'alamin, sujud syukurku persembahkan kepadamu ya Allah yang Maha Agung nan Maha Tinggi, Maha adil nan Maha Penyayang, atas takdirmu telah kau jadikan aku manusia yang senantiasa berfikir, berilmu, beriman dan bersabar dalam menjalani hidup ini. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal bagiku untuk meraih cita-cita besarku.*

*Detik yang berlalu, jam yang berganti, hari yang berrotasi, bulan dan tahun silih berganti hari ini 16 April 2019 saya persembahkan sebuah karya tulis buat kedua orang tua dan keluarga sebagai bukti perjuangan saya untuk membanggakan mereka meskipun tidak seimbang dengan perjuangan yang diberikan mereka, namun saya yakin yang saya lakukan hari ini merupakan langkah awal untuk saya membuat senyuman bangga kepada keluarga saya terutama ayah dan ibu.*

*Lantunan Al-fatihah beriring Shalawat dalam silahku merintih, menadahkan doa dalam syukur yang tiada terkira, terimakasihku untukmu. Ayahandaku H. Nadir Ahmad. Spd dan Ibundaku Hj. Farida Hanum. Spd tercinta, yang telah banyak berjasa dalam perjalanan kehidupanku. Sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih yang tidak terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada ayah dan ibu yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan dan cinta kasih yang tidak terhingga yang tidak mungkin dapat kubalas hanya dengan selembur kertas yang bertuliskan kata cinta dan persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat ayah dan ibu bahagia, karena kusadar selama ini belum bisa berbuat yang lebih untuk ayah dan ibu yang selalu membuat termotivasi dan selalu menyirami kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku menjadi lebih baik. Terimakasih Ayah... Terimakasih Ibu...*

*Atas kesabaran, waktu dan ilmu yang telah diberikan untuk itu penulis persembahkan ungkapan terimakasih Kepada Bapak Dr. Ir. U.P. Ismail, M.Agr selaku Dekan, Ibu Ir. Ernita, MP selaku Ketua Program studi Agroteknologi dan Bapak M. Nur, SP, MP selaku Sekretaris Program Studi Agroteknologi, dan terkhusus kepada bapak Drs. Maizar, MP selaku Pembimbing I yang sudah saya*



anggap seperti ayah saya sendiri karena telah banyak membantu, memberi masukan dan mempermudah saya dalam menyelesaikan skripsi saya dan ibu Mardaleni, SP., M.Sc selaku dosen pembimbing II yang juga saya anggap sebagai ibu saya sendiri terima kasih atas bimbingan, masukan, nasehat dan selalu ada untuk saya menjadi tempat saya bercerita, tempat saya mengadu masalah apapun dan membantu dalam penyelesaian tugas akhir penulis selama ini, dan ribuan terimakasih saya ucapkan untuk kedua pembimbing saya atas waktu dan ilmu yang telah diberikan saya tidak tau apa jadinya jika tidak dibimbing oleh bapak dan ibu, jasa bapak dan ibu tidak akan pernah saya lupakan dan saya tidak akan pernah bisa membalas atas waktu dan pengorbanan bapak dan ibu kepada saya sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. kepada ibu Sri Mulyani, SP. M.Si juga saya ucapkan terimakasih yang tak terhingga karena telah banyak membantu penelitian saya dilapangan, selalu menyemangati dan peduli kepada saya.

Dalam setiap langkahku aku berusaha mewujudkan harapan-harapan yang kalian impikan diriku, meski belum semua itu kuraih, insyaallah atas dukungan doa restu semua mimpi itu kan terjawab di masa penuh kehangatan nanti. Untuk itu saya persembahkan rasa terimakasih kepada Bapak (Syaiful Bahri) dan Ibuku (Hamida) yang selalu mendo'a kan saya, yang selalu ada untuk saya, selalu memberi saya semangat dan apapun yang saya lakukan tidak akan pernah cukup untuk membalas jasa ayah ibu dan saya memohon ampun dan beribu maaf atas segala kesalahan yang telah saya lakukan yang mungkin tidak sengaja menggoser luka dihati ayah dan ibu tapi percaya la bahwa saya sangat menyayangi dan mencintai ayah ibu dan saya akan melakukan apapun untuk membahagiakan ayah dan ibu, serta abangku tercinta Rezi, kakakku Lisa dan adikku tercinta Dafitra Hamdani karna kalian adalah alasan saya berjuang untuk menyelesaikan skripsi selama ini.

Tidak lupa pula saya persembahkan kepada kekasih saya Aditia Indra Prayoga yang selalu setia, sabar menemani saya selama penelitian maupun bimbingan skripsi. Sahabat seperjuangan pun tidak akan saya lupa kan kepada kelas I Agroteknologi 2014: Abdul Rahman (emen, teman tertawa saya dikampus), Ady Strisno, Aditia Indra Prayoga (teman sekelas yang kini menjadi kekasih saya), Apri Pratama, Ari Prasetiawan (bancet), Ari Suwandi (teman tertawa dikampus dan yang selalu setia menjadi orang ketiga antara saya dan bolok), Dedi Aksari Arif, Fahrien Apriansyah (netizen), Jinjing Ario Silitonga, M.Deny Saputra, Porinus Giawa (ketua kelas), Poso Alam Nauli, Rangga Agus Tiatama (admin PJBO), Rahmad Fauzi (pak alang yang selalu berpikir dewasa dan positif), Rijar Rionaldi, Rino Kardino (karnok), Sefrinaldi (naldi yang selalu sabar walaupun dibully), Wahyu Adhitama (teman yang setia antar jemput kekampus), Nurul Asrifah (sahabat yang paling pengertian), Rosmela (mak yang selalu memberi

*semangat untuk menyelesaikan skripsi), Ruzikna (sahabat yang selalu membantu menyelesaikan skripsi), Sri oknova Destari (Nova yang pengertian), Tari Astuti (sahabat yang selalu ada dalam suasana apapun dan paling setia menemani bimbingan dan mencari dosen dikampus), Yulia Citra (yang selalu sabar dan menyayangi teman-temannya), Yurni Sari ALphiani (my partner in nasi uduk nasi lemak dan yang mengingatkan saya untuk belajar karna besok nya kompre), Wira Sanita, bg Dedi Irwanto SP (yang telah banyak membantu saya dilapangan), Aminullah SP (tim penelitian dilapangan), Rizki Rahma Yani SP (teman seperjuangan daftar wisuda), Jumaidi SP (yang selalu mengingatkan menyelesaikan skripsi dan banyak membantu skripsi saya), teman magang, bapak Pembina serta abang-abang yang berja di BPPM ARARA ABADI karna telah membantu saya menyelesaikan 1 SKS mata kuliah dan berbagi pengalaman, kemudian tidak lupa pula saya ucapkan kepada k-pop BTS dan Blackpink karna lagu-lagu dan MV nya yang selalu menemani saya begadang untuk mengerjakan skripsi terkhusus nya Jungkook BTS dan Lisa Blackpink. Dan yang terakhir saya ucapkan terimakasih kepada anak saya civik (kucing) saya sangat menyayangimu. Terimakasih atas kebersamaan kita selama ini, terimakasih atas ketulusan cinta dan kasih sayangnya, terimakasih telah memberiku kebahagiaan dan melalui banyak hal bersama kalian. Kalian adalah saksi perjuanganku selama ini dan sampai detik ini. Kalian bukan hanya sekedar sahabat tapi kalian adalah keluarga bagiku. Suatu kehormatan bisa berjuang bersama kalian, semoga perjuangan kita dibalas oleh Tuhan Yang Maha Esa dengan sesuatu yang indah.*

*“Wassalamualaikum warahmatullahi wabarokatuh”.*

## BIOGRAFI PENULIS



Rinda Anggini, dilahirkan di Peranap, 01 Agustus 1996, merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Syaiful Bahri dan Ibu Hamida, kakak dari Dafitra Hamdani. Telah menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar Negeri (SDN) 015 Peranap, Kec. Peranap pada tahun 2008, kemudian menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Peranap, Kec. Peranap pada tahun 2011, kemudian menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Peranap, Kec. Peranap, Kab. INHU 2014. Kemudian penulis meneruskan pendidikan pada tahun 2014 ke perguruan tinggi Fakultas Pertanian Program Studi Agroteknologi (SI) Universitas Islam Riau Kota Pekanbaru, Provinsi Riau dan telah menyelesaikan perkuliahan serta dipertahankan dengan ujian Komprehensif pada meja hijau dan memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada tanggal 16 April 2019 dengan judul “Kekerabatan Genetik Pulasan (*Nephelium ramboutan-ake*(Labill.) Leenh) Di Kabupaten Siak dan Bengkalis Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)”.

**Rinda Anggini, SP**



## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Plasma nutfah atau sumber daya genetik diartikan sebagai substansi yang terdapat dalam kelompok makhluk hidup dan merupakan sumber sifat keturunan yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan atau dirakit untuk menciptakan jenis unggul atau kultivar baru (UU No. 12 tahun 1992). Sementara itu menurut Sumarno (2002) plasma nutfah atau sumber daya genetik dalam pengertian sempit adalah keanekaragam di dalam jenis.

Sumber daya genetik yang ada pada saat ini telah banyak mengalami erosi genetik. Menurut Muharso (2000), erosi genetik diantaranya terjadi akibat kegiatan eksploitasi penebangan liar secara berlebihan melebihi kemampuan regenerasi dari tanaman dan tanpa disertai usaha budidaya. FAO (2014) memperkirakan bahwa dunia sampai saat ini telah kehilangan sekitar 75% keanekaragaman genetik pertanian.

Mengantisipasi hilangnya plasma nutfah ini, maka perlu dilakukan konservasi baik secara in-cit dan ex-situ terutama bagi pemulia tanaman (Abbas dkk., 2009). Indonesia perlu melakukan konservasi terhadap plasma nutfa ini, agar potensi genetik plasma nutfah tanaman kapulasan terjaga kelestariannya dan dapat dimanfaatkan oleh pemulia tanaman untuk perakitan varietas tanaman kapulasan yang unggul dimasa yang akan datang (Sukartini, 2008).

Indonesia merupakan daerah tropik yang kaya sumberdaya genetik yang belum sepenuhnya dieksplorasi secara optimal. Kapulasan menjadi salah satu kekayaan flora dan tidak ditemukan pada semua wilayah. Menurut Sudarmadi (2003) kapulasan ditemukan di Jawa Barat dan Sumatera Barat. Kapulasan

merupakan buah tropik yang potensial untuk dikembangkan. Namun kapulasan termasuk tanaman yang sudah mulai langka sehingga populasinya sangat sedikit dibanding rambutan. Berkurangnya populasi kapulasan terjadi akibat kerusakan lingkungan dan secara habitusnya tidak banyak wilayah yang cocok untuk kapulasan. Konservasi merupakan salah satu upaya untuk menjaga kelestarian dan keragaman kapulasan di Indonesia.

Selain itu kelangkaan kapulasan diantaranya juga disebabkan oleh alih fungsi lahan dengan sistem monokultur menjadi lahan tanaman industri dan perkebunan. Upaya perkembangan budidaya tanaman pulasan secara luas belum dilakukan. Berdasarkan data BPS Riau 2015 bahwa dilaporkan hasil tanaman hortikultura seperti buah-buahan lokal seperti manggis, jeruk, rambutan, namun belum ada laporan hasil produksi khususnya buah pulasan tersebut. Keberadaan pulasan dapat ditemukan sebagai buah-buahan segar dan diperoleh sebagai tanaman pekarangan dan tumbuh liar di hutan. Rendahnya kesadaran masyarakat untuk pengembangan plasma nutfah ini merupakan suatu hal yang menarik untuk dilakukan nya suatu penelitian tentang seberapa banyak genetik pulasan yang tersebar di Riau khususnya kabupaten Siak dan kabupaten Bengkalis.

Variasi genetik merupakan landasan bagi pemulia untuk memulai kegiatan pemuliaan tanaman. Besarnya keragaman genetik dapat menjadi dasar untuk menduga keberhasilan perbaikan genetik didalam program pemuliaan. Keragaman genetik yang luas merupakan syarat berlangsungnya proses seleksi yang efektif karena memberikan keleluasaan dalam proses pemilihan suatu genotipe. Selain itu populasi dengan keragaman genetik yang luas akan memberikan peluang yang lebih besar diperolehnya karakter-karakter yang diinginkan.

Analisis keanekaragaman genetik tanaman dapat diketahui dengan identifikasi morfologi, isozom dan molekuler. Identifikasi morfologi merupakan bentuk penotif tanaman yang dapat dilihat langsung, pada organ vegetatif yang meliputi bentuk daun, batang, akar. Serta organ generatifnya seperti bunga dan buah. Kelemahannya pengkerakteran secara morfologi dipengaruhi oleh lingkungannya sehingga hasil tidak konsisten dan membutuhkan waktu lama. Selain itu penanda molekuler ini memiliki keuntungan dibandingkan dengan penanda morfologi, yaitu stabil dan dapat dideteksi dalam semua jaringan tanaman, serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

Penanda DNA dalam identifikasi keanekaragaman hayati antara lain RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), SSR (*Simple sequence Repeats*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphic*) dan RFLT (*Restriction Fragmen Length Polymorphich*) (Yunus, 2004; Finkeldey, 2000). Dalam penelitian ini, penanda molekuler yang digunakan adalah RAPD kelebihan metode ini yaitu lebih cepat dan DNA yang diperlukan cukup sedikit (0,5-50 ng), tidak memerlukan informasi genom awal tanaman yang akan dianalisis dan tidak memerlukan radioisotop (Welsh dan McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990). Teknik ini memiliki keunggulan dari metode lainnya, yaitu kesederhanaan tekniknya dan cepat pengerjaannya, tidak memerlukan informasi sekuen DNA, DNA sampel yang diperlukan tidak terlalu murni (Hu & Quiros, 1991).

RAPD ini telah banyak digunakan untuk mengetahui kekerabatan genetic pada tanaman pasak bumi yang diteliti oleh Zulfahmi (2011), berikutnya Rosmaina dkk (2003) meneliti terhadap tanaman pisang, kemudian pada tanaman jeruk sudah diteliti oleh Karsinah dkk (2002), selanjutnya Julisaniah (2008) meneliti tanaman mentimun dan Pandin (2009) juga meneliti tanaman kelapa.



Berdasarkan uraian tersebut, peneliti telah melakukan penelitian yang berjudul Kekerabatan Genetic Pulasan (*Nephelium Ramboutan-Ake*(Labill.) Leenh) Di Kabupaten Siak dan Bengkalis Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

## B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- a. Mengetahui keragaman genetic tanaman pulasan di kabupaten Siak dan kabupaten Bengkalis menggunakan penanda RAPD.
- b. Mengetahui persentase hubungan kekerabatan antar populasi dan dalam populasi pulasan asal kabupaten Siak dan populasi pulasan asal kabupaten Bengkalis.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

Indonesia merupakan negara penghasil buah-buahan tropis terbesar di Asia Tenggara. Buah lokal di Indonesia keberadaannya sangat melimpah, namun pemanfaatannya belum dilakukan secara optimal. Pemerintah masih mengimpor buah dari luar negeri sehingga buah lokal yang ada di Indonesia kalah bersaing. Untuk itu, diperlukan peningkatan produksi buah lokal yang lebih besar guna menambah daya saing di pasaran internasional. Salah satu buah lokal yang potensial dikembangkan adalah kapulasan (*Nephelium ramboutan-ake* (Labill.) Leenh). Kapulasan menjadi salah satu kekayaan flora yang tidak ditemukan di setiap daerah. Tanaman ini asli dari Indonesia yang tersebar di berbagai daerah seperti Kalimantan Barat, Jawa Barat dan Sumatra Barat. Kemudian untuk di luar negeri tanaman pulasan juga tersebar di Malaysia dan thailan (Aman 1992).

Peran hortikultura, terutama buah-buahan Indonesia dalam meningkatkan pendapatan petani maupun devisa negara masih belum berarti, meskipun permintaan buah tropis segar sampai dengan saat ini masih sangat tinggi. Budidaya buah tropis merupakan usaha pertanian yang memiliki prospek usaha yang menguntungkan, salah satu diantaranya adalah rambutan dan kapulasan. Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan salah satu buah tropis yang berkerabat dengan kapulasan (*Nephelium mutabile* Blume) yang tergolong dalam famili Sapindaceae (Iskandar dkk, 2014).

Menurut Ediwirman (2011), keanekaragaman kapulasan mampu menjelaskan hubungan kekerabatan secara umum, tetapi belum tentu memberikan informasi karakternya secara spesifik. Untuk mendapatkan informasi tersebut diperlukan suatu program karakterisasi dari plasma nutfah pada tingkat morfologi

dan molekuler. Karakterisasi morfologi sering dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sehingga penggunaan marka molekuler diharapkan dapat memberikan gambaran karakterisasi dengan akurasi yang cukup tinggi dalam melihat keragaman genetik individu, baik pada tingkat spesies maupun kerabat.

Eksplorasi merupakan kegiatan pelacakan atau penjelajahan, mencari, mengumpulkan dan meneliti jenis plasma nutfah yang dilakukan untuk mengamankan dari kepunahan (Kusumo *et al.* 2002). Kegiatan ini dilakukan untuk menyelamatkan kultivar-kultivar lokal dan kerabat dekatnya yang masih liar. Pendekatan awal dalam kegiatan ini adalah menginventarisasi tanaman dan diikuti dengan karakterisasi morfologi.

### 1. Botani Tanaman Kapulasan

Kingdom: Plantae (Tumbuhan), Subkingdom: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh), Super Divisi: Spermatophyta (Menghasilkan biji), Divisi: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga), Kelas: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil), Sub Kelas: Rosidae, Ordo: Sapindales, Famili: Sapindaceae, Genus: *Nephelium*, Spesies: *Nephelium lappaceum* L. (Anonim, 2017).

kapulasan (*Nephelium mutabile* Blume) yang tergolong dalam famili Sapindaceae. Tanaman kapulasan seringkali sulit dibedakan dengan tanaman rambutan. Buah rambutan dan kapulasan biasanya dimakan segar, rasanya ada yang masam sampai manis seperti leci. Berbeda dengan rambutan, keberadaan kapulasan saat ini sudah sangat langka, terutama di wilayah Riau. Nama kapulasan berasal dari kata pulas dalam bahasa Melayu berarti sentuhan. Cara mengupas buah ini melalui tindakan memutar buah dengan kedua tangan. Berdasarkan pengamatan di lapangan, ditemukan beberapa jenis kapulasan dan sampai dengan



saat ini belum ada varietas (kultivar) kapulasan yang dilepas sebagai varietas kapulasan unggul (Iskandar, 2014).

Rambutan dapat tumbuh baik pada lahan yang subur dan gembur serta sedikit mengandung pasir, juga dapat tumbuh baik pada tanah yang mengandung bahan organik atau pada tanah yang keadaan liat dan sedikit pasir. Pada dasarnya tingkat/derajat keasaman tanah (pH) tidak terlalu jauh berbeda dengan tanaman perkebunan lainnya di Indonesia yaitu antara 6 – 6,7 dan kalau kurang dari 5,5 perlu dilakukan pengapuran terlebih dahulu. Kandungan air dalam tanah yang diperlukan untuk penanaman pohon rambutan antara 100 – 150 cm dari permukaan tanah. Pada dasarnya tanaman rambutan tidak tergantung pada letak dan kondisi tanah, karena keadaan tanah dapat dibentuk sesuai dengan tata cara penanaman yang benar (dibuatkan bedengan) sesuai dengan petunjuk yang ada.

Rambutan dapat tumbuh subur pada dataran rendah dengan ketinggian antara 30- 500 mdpl. Pada ketinggian dibawah 30 mdpl rambutan dapat tumbuh namun tidak begitu baik hasilnya. Dalam budidaya rambutan angin berperan dalam penyerbukan bunga. Intensitas curah hujan yang dikehendaki oleh pohon rambutan berkisar antara 1.500-2.500 mm/tahun & merata sepanjang tahun. Sinar matahari harus dapat mengenai seluruh areal penanaman sejak dia terbit sampai tenggelam, intensitas pancaran sinar matahari erat kaitannya dengan suhu lingkungan.

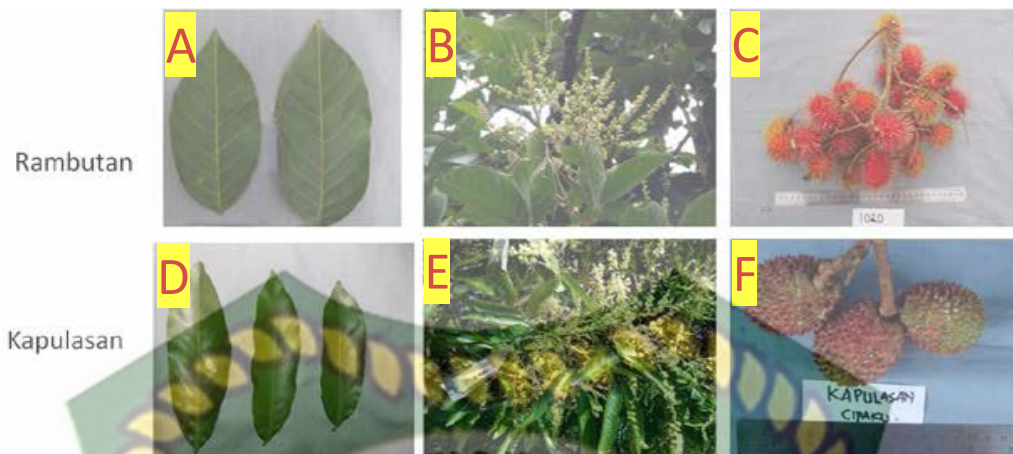
Tanaman rambutan akan dapat tumbuh dan berkembang serta berbuah dengan optimal pada suhu sekitar 25<sup>0</sup>C yg diukur pada siang hari. Kekurangan sinar matahari dapat menyebabkan penurunan hasil atau kurang sempurna (kempes). Kelembaban udara yang dikehendaki cenderung rendah karena kebanyakan tumbuh di dataran rendah & sedang. Apabila udara mempunyai

kelembaban yang rendah, berarti udara kering karena miskin uap air. Kondisi demikian cocok utk pertumbuhan tanaman rambutan (Anonim, 2017).

Perbedaan karakter antara rambutan dengan kapulasan seperti dapat dilihat pada gambar 2:1. antara lain daun rambutan umumnya berbentuk *elliptic*, sedangkan kapulasan *lanceolate*. Kerapatan malai bunga rambutan sedang sampai rapat, sedangkan kapulasan sangat rapat. Buah rambutan ditutupi rambut (*spintern*), sedangkan buah kapulasan tidak mempunyai rambut. Kerapatan tandan rambutan rapat sampai sangat rapat, sedangkan kapulasan sangat jarang.

Kapulasan adalah kerabat terdekat rambutan (*N. lappaceum* L.). Keduanya masuk dalam suku lerak-lerakan (Sapindaceae). Tanaman ini memiliki percabangan dan daun mirip dengan tanaman rambutan tetapi ukuran daun kapulasan lebih kecil dari pada daun rambutan. Buah kapulasan memiliki kulit buah tebal dengan warna merah hingga merah tua. Bentuk buah kapulasan juga mirip dengan buah rambutan yaitu bundar telur dengan cita rasa manis dan sedikit asam namun tidak memiliki rambut. Kapulasan memiliki banyak manfaat. Batang cukup keras sehingga sering digunakan untuk pembuatan peralatan rumah tangga. Bijinya mengandung minyak nabati yang dapat digunakan untuk pembuatan lilin dan sabun (BK-Kehati 2013).

Selain itu, bijinya dapat dimakan jika sebelumnya dipanggang dan rasanya seperti kacang serta dapat dibuat menjadi bubuk dan dapat dimanfaatkan seperti bubuk kakao. Buah kapulasan dapat dimakan langsung seperti pada rambutan, digunakan sebagai bahan tambahan dalam es krim, puding, selai, sirup dan dicampur dalam minuman seperti *cocktails* (Lim 2013).



Gambar 2:1. Perbedaan daun, bunga, buah rambutan dan pulasan. a) daun rambutan, b) bunga rambutan, c) buah rambutan, d) daun kapulasan, e) bunga kapulasan, f) buah kapulasan.

*Nephelium lappaceum* L. berupa pohon dengan batang berkayu, batang berbentuk silindris, permukaan batang kasar, batang berwarna coklat dengan bercak-bercak putih, percabangan simpodial. Arah tumbuh batang tegak lurus, arah tumbuh cabang ada yang condong ke atas dan ada yang mendatar. Pohon kapulasan memiliki tinggi sekitar 5 – 15 m, diameter batang 30 – 40 cm dan permukaan batangnya kasar sampai sangat kasar. Daun tanaman kapulasan berbentuk lanset dengan jumlah 2 – 5 pasang, berselang seling, dan berwarna hijau (Balitbu Litbang, 2014).

Buah Pulasan adalah sejenis buah yang menyerupai bentuk dan rasa seperti buah rambutan, tetapi biji buah pulasan lebih keras, dan isinya agak kering dan kasar dibanding rambutan. Berdasarkan pendekatan secara kemotaksonomi, pulasan diduga memiliki efek farmakologis yang mirip dengan rambutan. Daging buah (Aril) dengan warna berkilauan putih atau putih kekuningan setebal lebih kurang 1 cm, testa menempel tipis dengan cokelat keabu-abuan yang memisahkan dari benih. Rasa umumnya lebih manis daripada rambutan. Bentuk benih bulat



telur, lonjong atau ellipsoid, warna biji coklat muda, agak gepeng di satu sisi, dengan ukuran panjang 2 – 3,5 cm (Ling dkk, 2010).

Kapulasan tumbuh liar di hutan dengan ketinggian tempat antara 200 – 350 mdpl dan curah hujan 3000 mm per tahun. Kapulasan tersebar di India (Assam), Burma (Myanmar), Semenanjung Malaysia, Singapura, Sumatera, Jawa, Kalimantan, dan Filipina (Seibert 1992). Kapulasan dikatakan sebagai jenis tanaman asli Jawa, Borneo, dan Filipina (Clyde *et al.* 2005).

Kapulasan merupakan spesies tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis dengan kelembaban tinggi, 80% atau lebih, suhu udara 25 – 34°C dan curah hujan 2000 – 5000 mm per tahun, namun musim panas juga penting untuk mempercepat pembungaan. Habitat kapulasan biasanya terdapat di hutan dengan tanah alluvial, dan tanah berpasir. Tanaman ini tersebar di India (Assam), Burma, Indonesia, Malaysia, dan Filipina (Lim 2013).

## 2. Penanda Molekuler

Menurut Zulfahmi (2013), Keragaman tingkat genetik merupakan tingkat keragaman yang paling rendah dalam organisasi biologi. Keragaman genetik sangat penting bagi tanaman untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang terjadi disekitarnya. Informasi keragaman genetic tanaman pada tingkat, individu, spesies maupun populasi juga perlu diketahui, sebagai dasar pertimbangan dalam menyusun strategi konservasi, pemuliaan, pengelolaan dan pemanfaatan sumberdaya genetik tanaman secara berkelanjutan. Penilaian keragaman genetik tanaman juga dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia dan molekuler DNA.

Penilaian keragaman genetik tanaman secara morfologi dilakukan melalui uji progeni, uji provenan dan pengujian lainnya dengan mengamati penampilan

fenotipik tanaman. Pengujian ini dilakukan pada lingkungan yang berbeda dengan fokus utama adalah ciri kualitatif dan kuantitatif yang bernilai ekonomi serta ciri yang secara biologi penting seperti kemampuan hidup (*survive*), sifat toleran terhadap stres lingkungan, sifat produksi dan resistensi terhadap hama dan penyakit. Sebagian diantara ciri-ciri tersebut bersifat poligenik dan ekspresinya dipengaruhi oleh lingkungan. Studi secara tradisional dengan metode genetika kuantitatif, penilaian keragaman dan distribusi keragaman dikelompokkan ke dalam beberapa kelas, seperti pengaruh fenotifik, genotipe, lingkungan dan interaksi antara lingkungan dan genotipe. Penentuan keragaman genetic tanaman secara konvensional ini membutuhkan waktu yang lama, biaya yang digunakan juga relatif mahal, dipengaruhi oleh keadaan lingkungan dan keragaman yang diperoleh terbatas dan tidak konsisten.

Keterbatasan penanda morfologi ini mendorong perkembangan penanda lain yang dapat langsung mengakses ke bagian material yang mengendalikan karakter atau ciri suatu individu, yaitu yang dikenal dengan penanda molekuler DNA. Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. DNA merupakan sumber informasi genetic yang potensial dan akurat. DNA ditemukan dalam hampir semua sel semua organisme, baik pada jaringan hidup maupun yang mati. Ditambah lagi, jaringan tersebut dapat secara mudah disimpan di bawah kondisi lapangan. Penanda molekuler ini memiliki keuntungan dibandingkan dengan penanda morfologi, yaitu stabil dan dapat dideteksi dalam semua jaringan tanaman, serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

Penanda molekuler DNA yang ideal memiliki kriteria sebagai berikut: a) memiliki tingkat polimorfisme yang sedang sampai tinggi, b) terdistribusi merata

diseluruh genom, c) memberikan resolusi perbedaan genetic yang cukup, d) pewarisan bersifat kodominan (dapat membedakan kondisi homozigot dan heterozigot dalam organisme diploid), e) berperilaku netral, f) secara teknik sederhana, cepat dan murah, g) butuh sedikit jaringan dan DNA sampel, h) berkaitan erat dengan fenotipe, i) tidak memerlukan informasi tentang genom organisme. j) data mudah dipertukarkan antar laboratorium (Mondini *et al.*, 2009; Agarwal *et al.*, 2008; Weising *et al.*, 2005).

Karakterisasi morfologi tanaman adalah identifikasi terhadap tinggi tanaman, bentuk daun, jumlah daun, jumlah buah, jumlah cabang, dan lain-lain. Identifikasi secara morfologi memiliki kelemahan yaitu penampilan sering rancu karena dipengaruhi oleh beberapa factor seperti faktor lingkungan, subjektivitas peneliti (Hadiati & Sukmadjaya, 2002).

Karakterisasi morfologi sering kali dipengaruhi oleh perubahan lingkungan. Pengamatan morfologi juga harus memperhatikan umur tanaman, karena perubahan umur mempengaruhi perubahan morfologi. Sifat genetik cenderung stabil terhadap perubahan lingkungan, dan tidak dipengaruhi oleh umur, sehingga penanda genetik dapat memberikan informasi yang relatif lebih akurat (Pratamaningtyas, 1997); Sukartini, 2001). Oleh karena itu harus diikuti dengan identifikasi Molekuler (Dwiatmini dkk., 2003).

Penanda isozim juga dapat digunakan dalam analisis keragaman genetik karena dikendalikan oleh gen tunggal dan bersifat kodominan dalam pewarisannya. Kemudahannya yaitu mudah dilakukan dan membutuhkan bahan dalam jumlah yang sedikit. Kemudian metode isozim juga telah banyak dimanfaatkan oleh pemulia tanaman untuk mengidentifikasi varietas. Wardani (1999) melakukan analisis isozim esterase dan peroksidase untuk memilih tetua



tanaman tebu yang berpotensi produksi tinggi, di Indonesia, Rahayu & Hartana (2002) meneliti kekerabatan marga Cucurbitaceae di Jawa menggunakan pewarna isozim *aspartat amino transferase* (AAT), *endopeptidase* (END), *asam fosfatase* (ACP), dan *peroksidase* (PRX).

Tabel 2.1. Perbandingan Antara Penanda DNA RAPD, RFLP, AFLP dan SSR dalam Analisis Genetik Tanaman.

No.	Parameter	RAPD	RFLP	AFLP	SSR
1.	Prinsip	Amplifikasi DNA, Primer acar	Retriksi dengan endonuklease, hybridisasi	Retriksis dengan endonuklease DNA, perlu pasangan primer spesifik dan adaptor	Amplifikasi DNA dan perlu pasangan primer spesifik
2.	Tipe polimorfism terdeteksi	Perubahan basa	Perubahan basa	Perubahan basa	Perbedaan panjang pengulangan basa
3.	Perlu informasi sekuens	Tidak	Tidak	Tidak	Perlu
4.	Metode deteksi radioisotop	Tidak	Ya/tidak	Ya/tidak	Ya/tidak
5.	Reproducible	Rendah	Tinggi	Tinggi	Tinggi
6.	Kebutuhan DNA ( $\mu\text{g}$ )	0.02	10	0.5 – 1.0	0.05
7.	Lokus amplified terdeteksi	Dominan	Kodominan	Dominan	Kodominan
8.	Tingkat kesulitan	Rendah	Sedang	Sedang-Tinggi	Sedang-tinggi
9.	Kemampuan otomatisasi	Sedang	Rendah	Sedang	Tinggi
10.	Biaya per analisis	Rendah	Tinggi	Tinggi	Rendah

Sumber: Azrai, 2005 dan Pandin, 2010

### 2.1. RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

Penanda yang paling akurat adalah pada DNA (Rusnanda, 2003) karena dapat mendeteksi variasi pada setiap fase perkembangan dan tidak dipengaruhi lingkungan serta musim (Made & Marsum, 2004). Penanda DNA menganalisis hubungan pada tingkat DNA, sehingga perubahan yang tidak terlihat dengan penanda lainnya dapat diketahui dengan penanda DNA (Pandin, 2010).

Saat ini telah berkembang teknologi DNA molekuler untuk analisis genetik tanaman, yaitu Random amplified polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction (RAPD-PCR), Restriction Fragment Length Polymorphic (RFLP), amplified Fragment length polymorphic (AFLP) dan simple sequence repeat (SSR). Perbandingan antara penanda DNA tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Menurut Anggreini (2008) penggunaan Random Amplified Polymorphic DNA adalah teknik analisis DNA yang menjadi sangat populer akhir-akhir ini. Pendekatan metoda ini berkenaan dengan analisis buta DNA. Hal ini berdasarkan kenyataan bahwa metoda ini tepat digunakan pada tingkat DNA. Disamping itu pekerjaan ini dapat dilakukan dengan pengetahuan yang sedikit tentang urutan DNA tertentu atau gen dari organisme yang diteliti. Khusus untuk genetik serangga, hal ini merupakan perkembangan yang menggembirakan karena metoda ini dapat memulai dilakukannya analisis genetik pada spesies baru tanpa menunggu dana yang besar, waktu yang lama dan usaha yang lama. Metoda RAPD itu sendiri melibatkan penggunaan teknik polimerisasi DNA (Polymerase Chain Reaction, PCR).

Metoda RAPD merupakan metoda baru untuk mengidentifikasi sejumlah besar polimorfisme DNA pada genom dengan cepat dan efisien. Tipe polimorfisme ini membuat RAPD cocok untuk studi keanekaragaman genetik, hubungan kekerabatan, peta genetik, sidik jari DNA. Sidik jari DNA banyak digunakan untuk kasus paternity dan forensik. Metoda RAPD menggunakan oligonukleotida pendek (biasanya 10 bp) sebagai primer yang akan berikatan dengan bagian (sites) komplemennya. Metoda RAPD digunakan untuk mendeteksi polimorfisme DNA yang digunakan sebagai *genetik marker* dan

menentukan hubungan kekerabatan pada bermacam-macam tanaman dan serangga hama (Anggraini, 2008).

Metode RAPD mampu menampilkan hasil dalam waktu yang relatif singkat. Hasil dapat segera divisualisasi setelah proses amplifikasi DNA. Karakter yang muncul sangat banyak tergantung pada primer yang digunakan. Kelemahan metode ini adalah *reproducibility* yang rendah, namun kelemahan ini dapat diatasi dengan konsistensi kondisi PCR (Prana & Hartati, 2003).

Maka RAPD bersifat lebih sederhana dibandingkan marka lainnya seperti mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeat (SSR)*, *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)* ataupun *Amplified Fragment Length Polymorphic (AFLP)* (Bardakci, 2001). Hal ini dikarenakan teknik RAPD tidak memerlukan informasi awal mengenai urutan DNA genom organism yang diuji maupun tidak memerlukan probe DNA yang spesifik (Williams et al., 1990). Walaupun metode RAPD relatif cepat, murah dan gampang dilaksanakan dibandingkan metode marka DNA lain, konsistensi atau *reproducibility* hasil PCR menjadi perhatian sejak dipublikasikannya teknik ini. Primer RAPD dapat tidak cocok secara sempurna pada urutan penempelan primer, akibatnya amplifikasi pada beberapa siklus mungkin tidak terjadi, sehingga band tetap samar atau bahkan amplifikasi tidak terjadi jika primer tidak berhasil menempel pada DNA cetakan (Lambooy, 1994).

Teknik RAPD didasarkan pada penggunaan primer sekuens Nukleotida yang berubah-ubah untuk mengamplifikasi segmen genomik DNA acak melalui pemanfaatan PCR (Polymerase Chain Reaction) sehingga menunjukkan polimorfisme. Polimorfisme yang teramati dengan menggunakan RAPD diyakini karena adanya perubahan basa tunggal yang mencegah perpasangan primer dan sekuens target, delesi sisi utama, insersi atau delesi yang modifikasi ukuran DNA.



Keuntungan metode ini adalah set oligonukleotida yang sama dapat digunakan untuk berbagai spesies organisme dan setelah amplifikasi selama 2 – 4 jam polimorfisme dapat diamati secara langsung dengan agarose normal gel elektroforesis (Nasir, 2002).

## 2.2. DNA (*Deoxyribonucleic Acid*)

*Deoxyribonucleic Acid* (DNA) merupakan material yang diturunkan dari generasi ke generasi berikutnya. Gen disusun oleh suatu substansi yang disebut dengan DNA (*Deoxyribonucleic Acid*). DNA bersama protein dan molekul *Ribonucleic Acid* (RNA) terdapat dalam inti sel. Ketiganya saling terkait untuk membentuk kromosom yang merupakan komponen penting pada semua makhluk hidup (Muladno, 2002).

DNA tersusun oleh tiga komponen, yaitu molekul gula pentosa (*deoxyribose*), gugus fosfat dan basa nitrogen. Gula pentosa dan gugus fosfat bersifat identik sedangkan basa nitrogen mempunyai susunan dan bentuk yang berbeda dalam satu nukleotida dengan nukleotida lainnya (Muladno, 2002). Menurut Noor (2008), terdapat empat macam basa nitrogen yaitu *Adenin*, *Guanin*, *Timin* dan *Sitosin*. Basa adenin dan guanin digolongkan sebagai basa purin, sedangkan basa timin dan sitosin sebagai basa pirimidin. Struktur molekul DNA terdiri atas dua rangkaian nukleotida yang tersusun secara linier. Kedua rangkaian yang saling berikatan terbentuk seperti tali berpilin sehingga molekul DNA dikatakan *double helix* (heliks ganda).

Sel DNA berperan dengan cara mengendalikan proses pembentukan rantai protein. Dalam sel eukariot pembentukan protein berlangsung didalam sitoplasma, sedangkan kromosom terdapat didalam inti, yang dikelilingi membran inti. Antara DNA kromosom yang ada di dalam anti protein yang dibentuk di

dalam sitoplasma diperlukan penghubung dan peranan ini dipenuhi oleh molekul RNA. RNA dapat ditemukan baik di dalam inti maupun sitoplasma. Proses ini berlaku bagi semua organisme, mulai virus, prokariot, dan eukariot (Yusuf, 2001).

Thenawijaya (1982) dalam Elfianis (2010) menyatakan, DNA berfungsi untuk menyimpan informasi genetik secara lengkap yang diperlukan untuk mencirikan struktur semua protein dan RNA tiap-tiap spesies organisme dan menempatkan biosintesis sel dan komponen jaringan secara teratur, untuk menentukan aktivitas organisme sepanjang siklus hidupnya dan untuk menentukan kekhususan organisme tertentu. DNA berperan dengan cara mengendalikan proses pembentukan rantai protein. Protein merupakan salah satu senyawa penting dalam kehidupan organisasi, protein terdapat diberbagai bentuk seperti enzim, protein pengangkut, protein cadangan antibody dan hormon.

Informasi genetik yang ada dalam DNA akan ditranskrip menjadi RNA *messenger* (mRNA) yang ada di dalam inti sel dibantu oleh enzim transkriptase, selanjutnya mRNA akan keluar dari inti sel menuju ke sitoplasma untuk membawa informasi dari DNA tersebut ke ribosom kemudian ditranlasikan sehingga membentuk protein. Protein yang terbentuk sangat dibutuhkan bagi metabolisme organisme untuk perkembangannya dan akan mempengaruhi karakter organisme tersebut. DNA sebagai unit keturunan terkecil, terdapat di semua makhluk hidup mulai dari mikroorganisme sampai organisme tingkat tinggi seperti manusia, hewan dan tanaman, tidak semua DNA memiliki fungsi genetik dan banyak dari DNA organisme tingkat tinggi yang memiliki DNA non genetik lebih banyak dari pada organisme tingkat rendah. DNA yang terdapat dalam sel berupa DNA mitokondria, DNA kloroplas atau DNA penyusun kromosom, sedangkan DNA yang terdapat dalam inti sel disebut DNA inti. DNA

dapat diperoleh atau diekstrak dari berbagai macam organ seperti daging, darah, sperma, ginjal, jantung, hati dan limpa karena sel terdapat di semua organ tersebut (Muladno, 2002).

Penggunaan DNA untuk analisis atau rekayasa genetik mengharuskan DNA untuk diisolasi dan dimurnikan. Tahapan umum yang dilakukan dalam isolasi DNA adalah lisis sel, pemisahan debris sel, dan penghilangan protein (deproteinasi). Dinding sel (pada sel tanaman) dirusak secara fisik dan enzimatik, sedangkan membran sel dirusak dengan penambahan detergen. Perusakan secara fisik dapat dilakukan pada suhu 40°C untuk menjaga DNA agar tetap utuh. Detergen yang digunakan dapat berupa *sodium dodecyl sulfate* (SDS) atau *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) (Deshmukh *et al.* 2007, Harini *et al.* 2008). Proses isolasi DNA juga dapat menggunakan *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) yang berfungsi mengkelat  $Mg^{2+}$ , senyawa ionik yang dibutuhkan oleh enzim deoksiribonuklease (DNase) (Wilson & Walker 2000).

Dalam ekstraksi DNA terdapat dua tahapan penting yaitu: pertama melisis atau mendegradasi dinding sel, tahapan ini bertujuan untuk mengeluarkan DNA dari dalam sel tanaman; kedua, mengekstraksi DNA, yaitu kegiatan memisahkan DNA dari kontaminan yang ada. Teknik pemecahan dinding sel dapat dilakukan secara fisik yaitu sel dipecahkan secara mekanik dengan cara penggerusan jaringan tanaman sehingga isi sel dipecahkan secara mekanik dengan cara penggerusan jaringan tanaman sehingga isi sel dapat dikeluarkan. Pada tahap ini ditambahkan ke dalamnya  $N_2$  cair atau es kering untuk membuat jaringan tanaman menjadi beku sehingga memudahkan dalam proses penggerusan (Taylor dkk., 1993). Disamping itu menurut Rogers & Bendich (1994) menghancurkan dinding sel dapat juga menggunakan *buffer* panas. Perusakan dinding dilakukan secara



kimiawi dengan menggunakan senyawa-senyawa tersebut seperti *Natrium Dodesil Sulfat (Ethylene Diamnetetra Acetic Acid)* dan lain-lain.

Enzim polifenol oksidase termasuk enzim nuklease yang dapat mendegradasi rantai DNA dan dapat menyebabkan teroksidasinya senyawa polifenol. Senyawa polifenol ditandai dengan warna cokelat pada jaringan tanaman yang akan diekstraksi. Penambahan senyawa seperti  $\beta$ - merkaptotanol dan *polivinilpirolidon* (PVP) perlu dilakukan untuk menghambat enzim polifenol oksidase karena PVP termasuk antioksidan yang dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi dan  $\beta$ - merkaptotanol dapat mereduksi ikatan sulfida dari enzim tersebut (Jones, 1995).

EDTA yang ada di dalam *buffer* ekstraksi berfungsi sebagai pengkelat ion divalen  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  yang dapat menjadi kofaktor bagi enzim nuklease. Adanya EDTA menyebabkan enzim nuklease menjadi tidak aktif (Rogers & Bendich, 1994). Sedangkan menurut Taylor dkk., 1993; Biofeedback, 1991, *buffer* CTAB termasuk detergen kationik yang berfungsi untuk melisis dinding sel jaringan tanaman sehingga dapat menyebabkan isi sel dapat keluar. Selain itu *buffer* CTAB dapat mendenaturasi protein dan melepaskan sebagian besar polisakarida dari DNA, kedua kontaminan tersebut dapat dihilangkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut kloroform.

DNA dapat dipisahkan dari senyawa-senyawa pengotor tersebut melalui ekstraksi kloroform : isoamialkohol (24:1). Ekstraksi dengan pelarut organik tersebut akan menyebabkan terbentuknya dua fase yaitu fase organik yang mengandung pelarut organik dan fase air mengandung asam nukleat. Senyawa-senyawa kontaminan berada diantara dua fase tersebut (Sambrook dkk., 1989).

Penambahan kloroform : isoamialkohol sebaiknya dilakukan pada suhu dibawah titik didih kloroform untuk mencegah terjadinya penguapan kloroform. Titik didih kloroform adalah  $61^{\circ}\text{C}$  (Taylor dkk., 1993). Isoamialkohol berfungsi untuk mengurangi banyaknya busa kloroform yang terjadi pada saat pengocokan berlangsung (Davis dkk., 1994).

Pemisahan kedua fase tersebut akan menentukan ukuran panjang rantai DNA yang diperoleh. Ekstraksi dengan pengocokan yang kuat atau *sentrifuge* berkecepatan tinggi akan menghasilkan DNA yang berukuran kurang dari 10 kb. Sedangkan ekstraksi dengan pengocokan secara perlahan atau *sentrifuge* berkecepatan rendah akan diperoleh rantai DNA yang berukuran 10-30 kb. Sisa pengotor yang masih ada seperti polisakarida dapat dihilangkan dengan mengendapkan DNA dan membiarkan polisakarida tetap larut. Pengendapan DNA dapat dilakukan dalam beberapa cara yaitu mengurangi konsentrasi garam dalam *buffer* ekstraksi menjadi dibawah 0,5 M pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  atau dengan menambahkan isopropanol sebanyak 2/3-1 volume atau penambahan etanol sebesar dua volume (Rogers & Bendich, 1994).

Keberhasilan ekstraksi DNA dapat dilihat dari jumlah DNA yang diperoleh, berat molekul dan kemampuan DNA dalam reaksi enzimatik seperti reaksi retriksi, polimerase ataupun ligase lain-lain. Tujuan dari ekstraksi DNA adalah membuang dan memisahkan DNA dari komponen sel lainnya (polisakarida dan metabolit sekunder) sehingga DNA yang diperoleh dapat dianalisis. Keberadaan polisakarida dan metabolit sekunder dalam sel tanaman sering menyulitkan dalam isolasi asam nukleat (Wilkins & Smarts, 1996).

Struktur polisakarida yang mirip dengan asam nukleat akan menyebabkan polisakarida tersebut akan mengendap bersama dengan asam nukleat. Metabolit

sekunder dan polisakarida juga dapat menghambat kerja enzim. Adanya polisakarida dalam tannaman ditandai dengan kekentalan pada hasil isolasi DNA yang menyebabkan kesulitan dalam reaksi PCR karena adanya penghambatan aktivitas *Taq Polymerase* (Fang dkk., 1992 cit Porebski dkk., 1997).

### 2.3. Reaksi Berantai polimerase (PCR)

PCR merupakan suatu reaksi in-vitro untuk menggandakan sejumlah molekul DNA target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplomen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim *Taq DNA Polimerase* dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu mesin *thermocycler*. Komponen-komponen yang dibutuhkan dalam PCR adalah: a) *Template DNA* adalah molekul DNA untai ganda yang mengandung sekuen target yang akan diamplifikasi. b) *Primer*, susunan primer merupakan salah satu kunci keberhasilan PCR, pasangan *primer* terdiri dari 2 *oligonukleotida* yang mengandung 18-28 nukleotida dan mempunyai 40-60% *GC content*. c) *Enzim Polymerase* adalah enzim yang mengkatalisis polimerisasi DNA. d) *Deoxynucleotide Triphosphate (dNTP)* adalah bahan yang digunakan untuk mensistesis untai DNA komplementer. e) konsentrasi  $Mg^{2+}$  merupakan hal yang sangat penting. Konsentrasi ion ini mempengaruhi beberapa hal antara lain: *annealing primer*, suhu pemisahan untai *template* dan produk PCR, spesifiktas produk, pembentuk primerprimer serta aktivitas dan ketetapan enzim (Sulistyaningsih, 2007). Ada tiga tahapan dalam proses PCR yaitu:

#### a. Denaturasi

Tahap denaturasi merupakan tahap awal reaksi yang berlangsung pada suhu tinggi, yaitu 94°C hingga 96°C. Umumnya tahap ini dilakukan sampai 5 menit untuk memastikan semua utas DNA terpisah. Tahap denaturasi bertujuan



memisahkan utas ganda DNA menjadi utas tunggal dengan memutuskan ikatan hidrogen antar pasang basa. Chakrabarti (2004) menyebutkan bahwa peran energi panas dapat menggantikan fungsi enzim helikase, girase, dan protein pelindung utas tunggal (PPUT) sekaligus pada proses replikasi DNA di dalam sel (*in vivo*)

b. Penempelan primer (*annealing*)

penempelan primer atau *annealing* pada suhu sekitar 42°C-65°C. Suhu penempelan ini bersifat spesifik yang merupakan rata-rata dari nilai  $T_m$  (*melting temperature*) yang dimiliki masing-masing primer, yaitu *forward* (5'-end) dan *reverse* (3'-end). Primer menempel pada bagian DNA cetakan yang memiliki urutan basa komplementer dengan urutan basa primer. Tahap ini di dalam replikasi sel berfungsi sebagai inisiasi sintesis DNA oleh primase untuk membentuk RNA primer pada situs ori (Chakrabarti 2004).

c. Pemanjangan Primer (*Extension*)

Pemanjangan primer atau *primer extension* yang bertujuan memberikan kondisi optimum bagi kerja enzim Taq polimerase dalam memanjangkan primer guna membentuk utas DNA baru. Chakrabarti (2004) menyebutkan bahwa peran Taq polimerase dapat menggantikan fungsi enzim DNA polimerase III, DNA polimerase I, dan ligase di dalam replikasi sel. Amplifikasi DNA dilakukan dengan pengulangan tahapan PCR sebanyak 30 – 40 siklus.

Produk PCR dari individu tanaman yang berbeda akan menghasilkan sekuen yang berbeda pula. Perbedaan ini akan dapat dideteksi dengan gel *agarose*. Konsentrasi gel *agarose* akan menentukan kemampuan pemisahan molekul-molekul DNA. Semakin tinggi konsentrasi gel *agarose*, pori-pori gel akan menjadi semakin rapat sehingga pemisahan molekul menjadi semakin selektif. *Buffer* elektroforesis berfungsi untuk memberikan konduksi elektrik sehingga terjadi

pemisahan molekul-molekul DNA. semakin besar kekuatan ionik dalam *buffer* elektroforesis, akan menyebabkan konduksi elektrik yang terjadi semakin besar sehingga pemisahan DNA semakin baik, akan tetapi menimbulkan panas yang dapat mendenaturasi DNA.

Pada penelitian Julisaniah *et al* (2008) dan Pandin (2009) *agarose* yang digunakan pada konsentrasi 1%. Molekul *agarose* adalah polimer linier dari unit disakarida berulang yang tersusun atas D-galaktopiranosida dan 3,6 anhidro L – galaktosa yang dihubungkan dengan ikatan 1,3 – glikosidik. Menurut Brown 2003, Gel *agarose* dengan tebal 0,5 cm akan memaksa DNA dengan ukuran 5 sampai 60 kb bergerak melewati celah kerangka *agarose* ke arah anoda (karena muatan positif pada gugus fosfatnya). Kecepatan migrasi DNA ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya ukuran molekul DNA, konsentrasi *agarose*, konformasi molekul DNA, voltase yang digunakan, adanya *etium bromide* dan komposisi larutan *buffer*.

### 3. Kabupaten Siak

Kabupaten Siak terdiri dari satuan dataran rendah dan satuan perbukitan. Kabupaten Siak sebagian besar terdiri dari dataran rendah, dengan ketinggian 0-50 m dari permukaan laut, meliputi dataran banjir sungai dan rawa serta terbentuk endapan permukaan. Kemiringan lereng sekitar 0°- 3° atau bisa dikatakan hampir datar. Sedangkan satuan perbukitan mempunyai ketinggian antara 50 – 150 m dari daerah sekitarnya, dengan kemiringan 3°-15°

Wilayah Kabupaten Siak merupakan bagian dari daerah yang tersusun dari batuan sedimen tufa yang berombak sampai bergelombang. Batuan induk didominasi batuan lempung (clay), silika, batu pasir dan batu lapis. Formasi ini terdapat di daerah Minas. Jenis tanah yang dominan adalah tanah tropodulit atau

setara dengan tanah pedzolik merah kuning pada perbukitan dan tropaquepst atau setara dengan tanah alluvial yang sudah mulai berkembang pada bagian daratan rendah, terutama di pinggiran sungai.

Tekstur tanah galuh lempung pasir (sandy clay loam) dan galuh lempung yang makin ke dalam makin tinggi kadar lempungnya. Struktur tanah gembur sampai gumpal menyudut untuk horison A dan gumpal menyudut untuk horison B yang umumnya memiliki sifat permeabilitas yang rendah. Wilayah alluvium merupakan daerah rawa-rawa yang terjadi karena gambut yang mengalami proses sedimentasi dari sungai- sungai didekatnya.

Berdasarkan letak astronomis, seluruh Kabupaten Siak bila dilihat dari iklim matahari, seluruhnya terletak di daerah tropis, sehingga iklim yang berlaku di daerah ini juga iklim tropis dengan suhu udara berkisar antara 25<sup>0</sup>C sampai dengan 37<sup>0</sup>C dan kelembaban udara 88,9% per bulan. Menurut klasifikasi iklim Koppen, Kabupaten Siak dengan curah hujan yang hampir merata di sepanjang tahun. Jumlah hari hujan pada tahun 2013 mencapai 1.449 hari dan curah hujan sebesar 35.108 mm. Pada tahun 2013 rata-rata curah hujan tertinggi terjadi di Kecamatan Minas yakni 403 mm per bulan per tahun. Sementara jumlah hari hujan paling banyak di Kecamatan Lubuk Dalam sejumlah 177 hari.

#### **4. Kabupaten Bengkalis**

Fisiografi wilayah Kabupaten Bengkalis diklasifikasikan sebagai berikut : Cekungan Rawa, daerah ini dijumpai dibagian tengah, berupa cekungan tertutup yang terdiri dari rawa gambut yang berasal dari bahan endapan aluvial. Bentuk wilayah datar sampai cekung (0-3%) dengan drainase tidak bagus.

Bentuk ini mencakup 71% luas kabupaten yang tersebar di Kecamatan Rupert, Rupert Utara, Bengkalis, Bantan, Bukit Batu dan Siak Kecil. Kemudian



dataran, Fisiografi ini berasal dari endapan aluvial mencapai 21% dari luas kabupaten. Bentuk wilayah pada unit fisiografi ini adalah bergelombang sampai berombak (3-18%). Drainase sedang sampai baik. Disamping yang terbentuk dari endapan aluvial, bentuk dataran ini juga berasal dari sabuk meander dan teras laut tua. Unit ini terdapat pada beberapa bagian kecil di Kecamatan : Mandau, Pinggir dan sedikit di Kecamatan Bukit Batu.

Dari uraian di atas menunjukkan wilayah Kabupaten Bengkalis didominasi oleh kelompok kubah gambut dan kelompok marin. Kelompok kubah gambut berkembang dari endapan organik dan semakin tebal jika semakin jauh dari pantai. Gambut yang dipengaruhi oleh air laut mempunyai potensi sulfat masam. Sedang kelompok marin berkembang dari endapan mineral yang dipengaruhi pasang surut air laut dan mempunyai lebar bervariasi antara 0,5 – 5 km.

### III. BAHAN DAN METODE

#### A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di lokasi pengambilan daun segar (Kab. Siak dan Kab. Bengkalis) berikutnya di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau pada bulan September – November 2018.

#### B. Bahan dan Alat

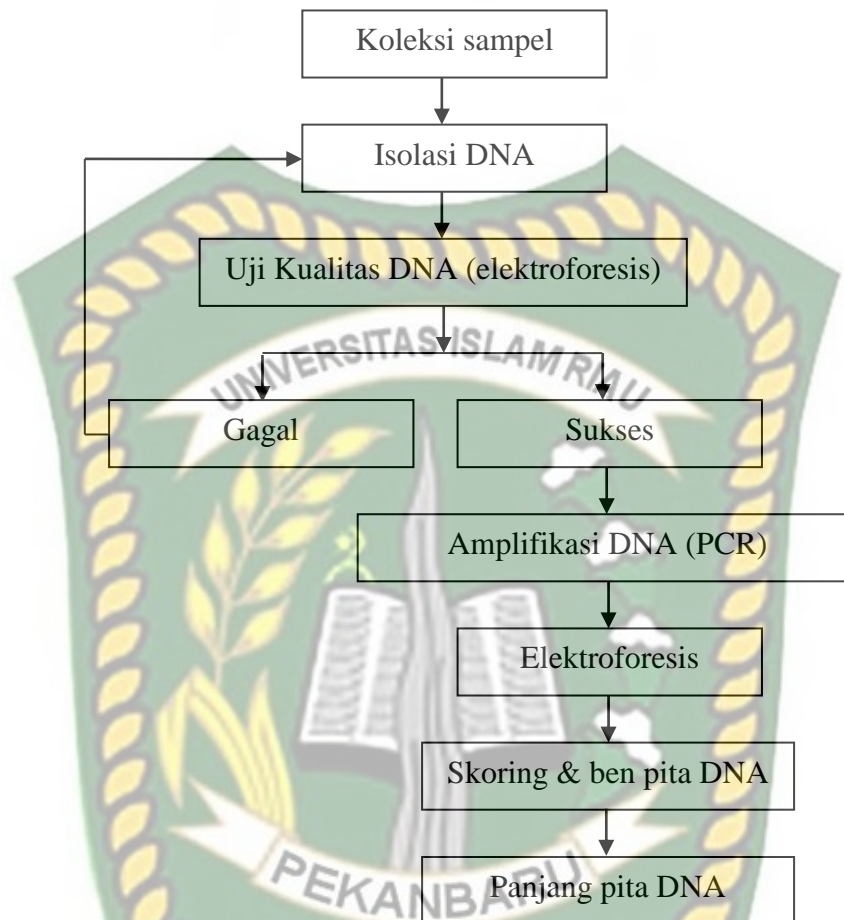
Bahan yang digunakan yaitu : daun muda kapulasan dari 2 kabupaten yang ada di Provinsi Riau yaitu berasal dari Kabupaten Siak dan Bengkalis. Bahan – bahan yang digunakan untuk isolasi DNA adalah daun kapulasan, CTAB, Buffer Tris-HCL, EDTA, NaCl, Etanol 70%, Etanol 90%, Mercapto Etanol, Isopropanol dingin, Kloroform, dan Isoamyl alkohol. Bahan untuk elektroforesis dan PCR adalah Hot Star Taq Plus Master Kit Mix (Qiagen), Primer K02, K06, OPJ-20, P08, Z13, coral load, H<sub>2</sub>O, air steril bebas nuclease, agarose, Buffer TAE 1x, loading Dye, ladder, dan DNA.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : mesin thermal cycler PCR CFX9600 (Bio-rad), Gel doc (Bio-rad), freezer, waterrbath, sentrifuge, mikropipet berbagai ukuran, beaker glass, pemanas elektrik, mortal, pestle, mikrotube, dan camera digital, timbangan.

#### C. Metode Penelitian

Secara umum gambaran prosedur penelitian dapat dilihat pada bagan penelitian. Penelitian ini melalui beberapa tahap yaitu: a) koleksi sampel, b) isolasi DNA, c) uji kualitas, d) seleksi primer, dan e) analisis data.

## D. Bagan Penelitian



c.1. Bagan Alur Penelitian

## E. Pelaksanaan Penelitian

### E.1. Pengambilan Sampel

Sampel daun diambil dari dua Kabupaten yang ada di Provinsi Riau yaitu Kabupaten Siak dan Bengkalis. 5 sampel di Kabupaten Siak dan 5 sampel di Kabupaten Bengkalis (Tabel 3.1.), Sample daun muda segar kemudian dimasukkan kedalam plastik yang berisi silica gel, sampel kemudian disimpan sampai isolasi DNA dilakukan.



Tabel 3.1. Genotype Pulasan

No	Nama Sampel Pulasan	Singkatan
1.	Siak satu	S1
2.	Siak dua	S2
3.	Siak tiga	S3
4.	Siak empat	S4
5.	Siak lima	S5
6.	Bengkalis satu	B1
7.	Bengkalis dua	B2
8.	Bengkalis tiga	B3
9.	Bengkalis empat	B4
10.	Bengkalis lima	B5

### E.2. Isolasi DNA tanaman

Isolasi DNA tanaman dilakukan dengan menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990) dengan modifikasi. Tahapannya adalah sebagai berikut :

#### 1. Ekstraksi

Ambil sampel sebanyak 1g daun segar yang sudah kering masukan kedalam mikrotube ukuran 5 ml lalu tambahkan 500  $\mu$ l buffer kemudian diamkan selama 24 jam. Setelah di diamkan selama 24 jam pindahkan sampel kedalam mortar dan tambahkan 500  $\mu$ l buffer, 100  $\mu$ l mercapto, 100  $\mu$ l PVP lalu digerus sampai menjadi bubur. Kemudian masukan sampel yang telah menjadi bubur kedalam mikrotubes 1,5 ml dan tambahkan lagi buffer sebanyak 500  $\mu$ l.

#### 2. Inkubasi

Selanjutnya pada tahapan inkubasi siapkan waterbath dengan suhu 65<sup>0</sup>C, sambil menunggu waterbath panas, siapkan sterofom lalu bolongkan sterofom dengan ukuran mikrotube kemudian letakan mikrotubes yang berisi sampel pada bolongan di sterofom tersebut, hal ini dilakukan supaya sampel bisa mengambang didalam waterbath, setelah waterbath panas baru masukan sampel nya selama 45

menit. Kemudian setiap 15 menit sekali sampel nya di goyang-goyang agar tidak menggumpal dan dan panas sampel nya merata. Setelah itu diamkan sampel pada suhu ruangan selama  $\pm$  15 menit.

### 3. Isolasi

Setelah tahapan inkubasi selesai lanjut ketahap isolasi langkah pertama yang dilakukan yaitu tambahkan 500  $\mu$ l IAA dan 200  $\mu$ l klorofom lalu di sentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya ambil hasil pemurnian pada bagian paling atas dan pindahkan kedalam mikrotube yang baru lalu tambahkan 200  $\mu$ l PVP dan 100  $\mu$ l mercapto kemudian sentrifuse lagi dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit.

Setelah dapat hasil pemurnian yang kedua pindahkan kedalam mikrotube yang baru dan tambahkan 500  $\mu$ l isopropanol dingin dan 200  $\mu$ l NaCl lalu simpan dalam freezer selama 1 jam. Setelah 1 jam keluarkan sampel dari freezer dan sentrifuse kembali dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit. Setelah itu buang fase cair nya dan ambil bagian pelletnya yang berwarna putih seperti tissue dengan ukuran yang sangat kecil lalu dicuci dengan menambahkan 300  $\mu$ l etanol 96% dan kembali disentrifuse dengan kecepatan dan waktu yang sama seperti sentrifuse sebelumnya.

Selanjutnya buang fase cair dan ambil pellet nya dan cuci kembali dengan menggunakan etanol 70% lalu disentrifuse kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Kemudian buang fase cair dan pellet pada mikrotube di keringkan selama  $\pm$  jam dengan cara menelungkup kan mikrotube yang beralaskan tissue. Setelah  $\pm$  1 jam tambahkan TE 50  $\mu$ l dan simpan didalam freezer minimal 1 jam sampai sampel akan digunakan ke tahap elektroforesis.

#### 4. Elektroforesis

Masuk pada tahapan elektroforesis siapkan agarose, cara membuat agarose yaitu timbang agarose 0,50 g dan siapkan TAE 1x sebanyak 50 ml lalu masukkan kedalam erlemeyer dan panaskan pada hotplate pada suhu 255<sup>0</sup>C dan kecepatan 7, tunggu sampai bening. Lalu tambahkan 2,5 µl etidium bromide, matikan suhu dan kurangi kecepatan menjadi 4. Setelah homogen masukan kedalam cetakan agar dan simpan dalam freezer sampai beku. Kemudian campurkan loading D 4 µl dan sampel DNA 4 µl aduk dengan mikropipet dan masukan kedalam cetakan lubang sumur pada agarose yang sudah membeku.

Pindahkan ketempat elektroforesis dan tambahkan TAE 1x sampai agar tergenangi, lalu di sentrifuse dengan 70 V selama 60 menit. Setelah itu gel diletakkan pada Gel doc (Bio-rad) untuk di dokumentasi dan melihat hasil DNA nya. Setelah itu kita dapat mengetahui kualitas dari sampel DNA tersebut.

#### 5. PCR

Hal pertama yang harus dilakukan pada tahapan PCR yaitu membuat komponen dengan mencampur kan hotstartag 7,5 µl, coraload 1,5 µl, H<sub>2</sub>O 2 µl, DNA 2 µl, primer 2 µl semua nya dikalikan jumlah sampel kemudian di mix. Setelah itu masukan komponen kedalam mikrotube sebanyak 11 µl dan sampel sebanyak 2 µl. Lalu susun kedalam mesin PCR dan atur nama dan tempat penyimpanan pada mesin PCR kemudian proses PCR akan berjalan selama 3 jam.

Selama menunggu proses PCR selesai buat agar dengan menggunakan agarose 0,50 g dan siapkan TAE 1x sebanyak 50 ml, Masukkan kedalam erlemeyer dan panaskan pada hotplate dengan suhu 255<sup>0</sup>C dan kecepatan 7, tunggu sampai bening, Tambahkan 2,5 µl etidium bromide, matikan suhu dan



kurangi kecepatan menjadi 4, Setelah homogen masukan kedalam setakan agar dan simpan dalam freezer sampai beku.

Setelah proses PCR selesai dan agar sudah jadi masukkan leader sebanyak 2 $\mu$ l pada lubang sumur agar yang pertama kemudian masukkan sampel hasil PCR sebanyak 5  $\mu$ l pada lubang sumur berikutnya. Lalu di elektrofoesis selama 60 menit dengan 70 V. Kemudian gel diletakkan di Gel doc (Bio-rad) untuk di dokumentasi dan melihat hasil DNA yang telah di PCR. Lalu hasilnya akan keluar ada atau tidak adanya pita DNA pada sampel tersebut dengan menggunakan primer.

### E.3. Analisis Data

Data yang didapat setelah elektroforesis adalah data berupa pita – pita diskrit dengan ukuran tertentu dari setiap sampel. Pengukuran ukuran DNA genom dilakukan dengan membandingkan berat molekul standar 10000 bp DNA ladder menggunakan *software image lab* versi 2,01 (Bio-rad). Profil pita DNA diterjemahkan kedalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan nilai 1 untuk adanya pita DNA pada satu posisi yang sama dari individu-individu yang dibandingkan, cara skoring dapat dilihat seperti gambar 3.2.

Lokus	Individu									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L1	—			—		—	—	—	—	
L2	—	—	—			—	—		—	
L3		—		—	—		—	—		—

Diterjemahkan  
↓

Lokus	Individu									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0
L2	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0
L3	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1

Gambar 3.2. Skoring Pola Pita

Perbedaan antar pulasan akan ditunjukkan oleh jumlah dan ukuran panjang pitanya. Parameter yang dihitung adalah jarak genetic berdasarkan Percent Similarity. Parameter jarak genetic dan analisis kluster (pengelompokan) dan pembuatan dendogram dihitung dengan menggunakan *software*. dilakukan dengan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA) menggunakan *software* MVSP Version 3.22.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Ekstraksi DNA

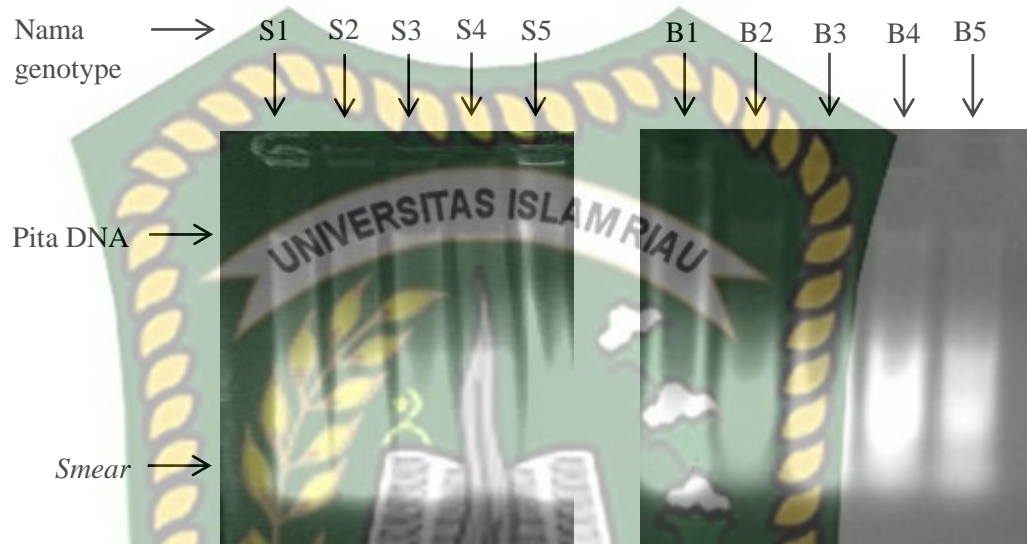
Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimetil Amonium Bromida*). Metode ini memiliki kelebihan dibandingkan metode lain yaitu mudah pelaksanaannya, kemungkinan adanya enzim pendeградasi DNA lebih kecil dibandingkan metode lain (Rogers & Bendich, 1994) dalam Elfianis (2010), metode CTAB ini dapat diaplikasikan pada berbagai jenis jaringan tanaman, seperti daun, benih dan lain-lain. Keberhasilan ekstraksi DNA dipengaruhi oleh jenis tanaman, materi yang digunakan serta kandungan kimia yang terdapat pada jaringan tanaman tersebut (Pharwati, 2009).

Dalam penelitian ini sampel pulasan yang digunakan adalah daun muda segar yang belum terkontaminasi oleh serangga. Menurut Karsinah (1999) dalam Elfianis (2010) daun muda segar menghasilkan DNA lebih banyak dibandingkan dengan sampel dari daun tua. Hal ini karena daun muda tersusun dari sel-sel yang tumbuh aktif, belum banyak mengandung polifenol dan senyawa metabolit sekunder lainnya. Hasil isolasi DNA pulasan dengan metode CTAB dapat dilihat pada gambar 4.1.

Produk amplifikasi yang terlihat pada Gambar 4.1. menunjukkan bahwa produk ekstraksi DNA pulasan yang murni, dimana pita terlihat jelas pada gel *agarose* saat divisualisasikan dan didokumentasikan, meskipun pada beberapa sampel masih terlihat DNA yang dihasilkan belum murni yaitu dicirikan dengan adanya pita-pita *smear* yang mengindikasikan adanya kontaminan. senyawa pengkontaminasi kemurnian DNA antara lain karbohidrat, protein dan senyawa metabolik sekunder. Meskipun demikian kualitas DNA yang dihasilkan tersebut



dapat digunakan untuk analisis RAPD karena analisis RAPD tidak memerlukan tingkat kemurnian DNA sampel yang tinggi (toleran terhadap kemurnian DNA) (Sobir *et al.* , 2005).



Gambar 4.1. Hasil ekstraksi Pita DNA 10 sampel pulasan asal Siak dan Bengkalis menggunakan metode CTAB.

Hasil ekstraksi daun muda pulasan dengan metode Doyle dan Doyle (1990) tidak langsung dapat memperoleh pita DNAny. Kemudian dilakukan modifikasi dalam teknik ekstraksi. Dari beberapa kali optimasi teknik ekstraksi, maka pita-pita DNA pulasan berhasil divisualisasi. Teknik visualisasi menggunakan gel doc yang sebelumnya di sentrifuse pada kecepatan 6000 rpm selam 10 menit. Jika hasil visualisasi pada mesin Gel doc, pada sampel ekstraksi yang menggunakan media agarose, terlihat berupa pita – pita, maka dapat diindikasi bahwa proses ekstraksi yang dilakukan berhasil (ditemukan DNA sampel yang diamati).

## B. Variabilitas Genetic Pulasan

Primer RAPD memiliki panjang primer 10 bp yang dapat menempel secara acak pada sekuen target homolognya dalam genom. Primer RAPD dapat

mengamplifikasi DNA genom secara acak, tidak spesifik pada gen tertentu sehingga mampu menggambarkan kondisi genom antar sampel secara menyeluruh. Selain itu, pemilihan teknik RAPD karena mudah dilakukan, relative cepat, serta secara ekonomi hanya menggunakan bahan dalam jumlah mikro (Isabel dkk., 1993).

Pada penelitian ini ukuran pita DNA yang dihasilkan berkisar dari 150 bp – 1500 bp. Jumlah total lokus yang dihasilkan adalah 26 lokus. Jumlah lokus tertinggi dihasilkan pada primer OPJ – 20 dan primer P – 08 yaitu masing – masing nya 9 lokus dan jumlah lokus terendah dihasilkan oleh primer K – 02 yaitu 2 lokus. Jumlah total pita yang dihasilkan dalam penelitian ini yaitu 120 pita. Jumlah pita paling banyak dihasilkan oleh primer OPJ – 20 yaitu sebanyak 42 pita, sedangkan jumlah pita paling sedikit diperoleh oleh primer K – 06 yaitu sebanyak 12 pita.

Jumlah lokus dan jumlah pita hasil amplifikasi dari lima primer dapat dilihat pada Tabel 4.1. Variasi jumlah lokus dan pita yang dihasilkan tergantung pada jenis primer yang digunakan dan sampel DNA yang dianalisis.

Tabel 4.1. Analisis RAPD dari Sepuluh Genotipe Pulasan menggunakan sampel daun muda pulasan asal Kab. Siak dan Kab. Bengkalis.

Primer	Urutan Basa	Ukuran Pita (bp)	Jumlah Lokus	Jumlah Pita
K – 02	5'-GTCTCCGCAA-3'	255 – 675	2	14
K – 06	5'-CACCTTTCCC-3'	450 – 1000	4	12
OPJ – 20	5'-AAGCGGCCTC-3'	300 – 1500	9	42
P – 08	5'-ACATCGCCCA-3'	150 – 1000	9	35
Z – 13	5'-GACTAAGCCC-3'	300 – 900	4	20
Total	-	-	26	120

Dilihat dari jumlah pita, primer OPJ – 20 menghasilkan jumlah pita yang lebih panjang diikuti oleh primer P – 08 dibandingkan dengan panjang pita yang

dihasilkan oleh primer K – 02 dan primer K – 06. Panjang pita untuk setiap genotype pulasan pada masing – masing primer dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Ukuran Pita (bp) Hasil Amplifikasi masing – masing primer terhadap 10 genotype pulasan Kab. Siak dan Kab. Bengkalis.

Sampel pulasan	Ukuran pita pada masing-masing primer (bp)				
	K-02	K-06	OPJ-20	P-08	Z-13
S1	750	600	1100	-	900
	300		1000		560
			755		555
			745		400
			600		
			400		
			350		
S2	750	600	1050	760	895
	300		1000	700	555
			755	650	350
			745	480	
			600	530	
			400	260	
			350	150	
S3	-	-	1075	-	-
			1000		
			755		
S4	750	-	1075	400	-
	300		1000		
			755		
S5	750	1000	-	1000	800
	300	575		760	555
		450		700	550
				650	
				400	
				250	
				150	
B1	750	625	1500	995	750
	300	500	1000	950	500
			780	500	350
			740	300	
			350	250	
			300		
B2	750	625	1500	995	760
	300	500	1000	950	550
			780	500	500
			740	300	300
			350	250	
B3	-	-	995	-	-
			740		
B4	650	-	995	500	-
			740		
B5	650	600	1000	995	750
	255	500	900	950	500
			780	500	
			740	300	
			350	250	
			300		



Pita DNA merupakan hasil berpasangnya nukleotida primer dengan nukleotida genom tanaman. Oleh karena itu, semakin banyak primer yang digunakan akan semakin terwakili bagian – bagian genom tanaman. Jumlah pita yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat tergantung pada primer mengenal homolognya pada cetakan DNA yang akan digunakan (Tingey *et al.*, 1994) dalam (Karsinah dkk., 2001).

Genotype pulasan Siak S1 dapat disimpulkan bahwa jumlah lokus yang paling panjang terdapat pada primer OPJ – 20 yaitu 1100 bp. Sedangkan pada primer P – 08 pada sampel pulasan Siak S1 tidak dapat mendeteksi pita DNA pulasan tersebut. Akan tetapi keempat primer lainnya masih bisa mendeteksi pita DNA pulasan sampel Siak S1. Hasil analisis pada primer K – 02 di sampel Siak S1 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp dan 675 bp. Kemudian pada primer K – 06 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 600 bp. Dan pada primer Z – 13 menghasilkan empat lokus dengan panjang pita mulai dari 400 bp, 555 bp, 560 bp sampai 900 bp.

Hasil analisis pada genotype pulasan siak S2 dapat disimpulkan bahwa lokus yang paling panjang masih terdapat pada primer OPJ – 20 dengan panjang pita 1050 bp dan menghasilkan tujuh lokus, selain primer OPJ – 20 yang menghasilkan tujuh lokus pada primer P – 08 juga menghasilkan tujuh lokus dengan panjang pita tertinggi yaitu 760 bp. Primer K – 02 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita mulai dari 300 bp sampai 675 bp, pada primer K – 06 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 600 bp. Primer Z – 13 menghasilkan sebanyak tiga lokus dengan panjang pita mulai dari 350 bp, 555 bp dan 895 bp. Lima primer tersebut dapat digunakan untuk mengukur panjang pita DNA

genotype pulasan Siak S2 karena dapat mendeteksi panjang pita DNA genotype pulasan Siak S2.

Analisis pada genotype pulasan Siak S3 dapat disimpulkan bahwa panjang pita DNA yang tertinggi masih pada primer OPJ – 20 dengan panjang pita 1075 bp dan menghasilkan tiga lokus. Empat primer lainnya (K – 02, K – 06, P – 08 dan Z – 13) tidak dapat mendeteksi panjang pita DNA pulasan sampel Siak S3.

Genotype pulasan siak S4 menghasilkan panjang pita DNA yang tertinggi tetap dihasilkan oleh primer OPJ – 20 dengan panjang pita tertinggi yaitu 1075 bp. Pada primer K – 02 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita mulai dari 300 bp dan 675 bp. Pada primer P – 08 menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 400 bp, sedangkan pada primer K – 06 dan primer Z – 13 tidak dapat mendeteksi panjang pita DNA pulasan genotype Siak S4.

Panjang pita DNA Pada genotype pulasan Siak S5 menghasilkan pita tertinggi terdapat pada primer K – 06 dan primer P – 08 yang sama – sama memiliki panjang pita dengan panjang pita yaitu sepanjang 1000 bp, tetapi memiliki jumlah lokus yang berbeda yaitu pada primer P – 08 memiliki 7 lokus dan primer K – 06 hanya memiliki 3 lokus. Primer K – 06 menghasilkan tiga lokus sedangkan pada primer P – 08 menghasilkan tujuh lokus. Kemudian primer K – 02 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp dan 675 bp, pada primer P – 08 dan Z – 13 menghasilkan masing – masing tiga lokus dengan panjang pita mulai dari 550 bp, 555 bp sampai 800 bp. Sedangkan pada primer OPJ – 20 yang sebelumnya dapat mendeteksi panjang pita DNA sampel Siak S1, S2, S3 dan S4 dan menghasilkan panjang pita DNA tertinggi sangat berbeda pada sampel pulasan Siak S5 karna primer OPJ – 20 tidak dapat mendeteksi panjang pita DNA pulasan Siak S5.

Hasil analisis genotype pulasan asal Bengkalis B1 dapat disimpulkan bahwa panjang pita DNA yang panjang dihasilkan oleh primer OPJ – 20 dengan panjang pita DNA yaitu 1500 bp, pada primer K – 02 menghasilkan panjang pita DNA yaitu 650 bp. Primer K – 06 menghasilkan panjang pita DNA tertinggi yaitu 625 bp, kemudian pada primer P – 08 menghasilkan panjang pita DNA yaitu 995 bp, sedangkan primer Z – 13 menghasilkan panjang pita DNA yaitu 750 bp. Analisis kelima primer tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi panjang pita DNA pulasan sampel Bengkalis B1.

Genotype pulasan asal Bengkalis B2 menghasilkan panjang pita DNA tertinggi yaitu masih dihasilkan oleh primer OPJ – 20 dengan panjang pita 1500 bp, pada primer K – 02 menghasilkan panjang pita DNA yaitu 650 bp, kemudian pada primer K – 06 menghasilkan panjang pita DNA yaitu 625 bp. Primer P – 08 menghasilkan panjang pita DNA yaitu 995 bp, pada primer Z – 13 menghasilkan panjang pita yaitu 760 bp. Kelima primer tersebut juga dapat digunakan untuk mendeteksi panjang pita DNA genotype pulasan asal Bengkalis B2.

Analisis genotype pulasan asal Bengkalis B3 dapat disimpulkan bahwa panjang pita DNA yang tertinggi terdapat pada primer OPJ – 20 dengan panjang pita DNA 995 bp dan hanya primer OPJ – 20 yang dapat mendeteksi panjang pita DNA pulasan asal Bengkalis B3. Primer K – 02, K – 06, P – 08 dan Z – 13 tidak dapat mendeteksi panjang pita DNA pulasan asal Bengkalis B3, jadi hanya primer OPJ – 20 yang dapat digunakan untuk mengukur panjang pita DNA genotype pulasan asal Bengkalis B3.

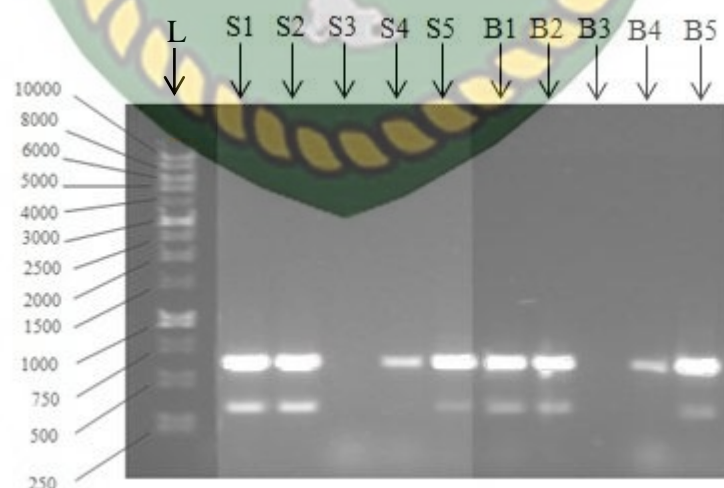
Panjang pita pada genotype pulasan asal Bengkalis B4 menghasilkan panjang pita DNA tertinggi masih pada primer OPJ – 20 dengan panjang pita DNA 995 bp. Primer K – 02 menghasilkan panjang pita DNA 650 bp. Analisis



pada primer P – 08 menghasilkan panjang pita DNA yang tertinggi yaitu 500 bp, sedangkan pada primer K – 06 dan primer P – 08 tidak dapat mendeteksi panjang pita DNA pulasan Bengkulu B4. Hasil analisis ini dapat menyimpulkan bahwa hanya primer K – 02, OPJ – 20, dan P – 08 yang dapat digunakan untuk mengukur panjang pita DNA pulasan asal Bengkulu B5.

Panjang pita yang dihasilkan oleh genotype pulasan asal Bengkulu B5 menghasilkan bahwa panjang pita DNA tertinggi masih tetap berada pada primer OPJ – 20 dengan panjang pita tertinggi 1000 bp. Primer K – 02 dapat menghasilkan panjang pita DNA yaitu 650 bp. Analisis pada primer K – 06 yaitu panjang pita DNA 600 bp. Primer P – 08 menghasilkan panjang pita yaitu 995 bp, sedangkan pada primer Z – 13 dapat menghasilkan panjang pita DNA yaitu 750 bp. Jadi kelima primer tersebut dapat digunakan untuk mengukur panjang pita DNA pulasan asal Bengkulu B5.

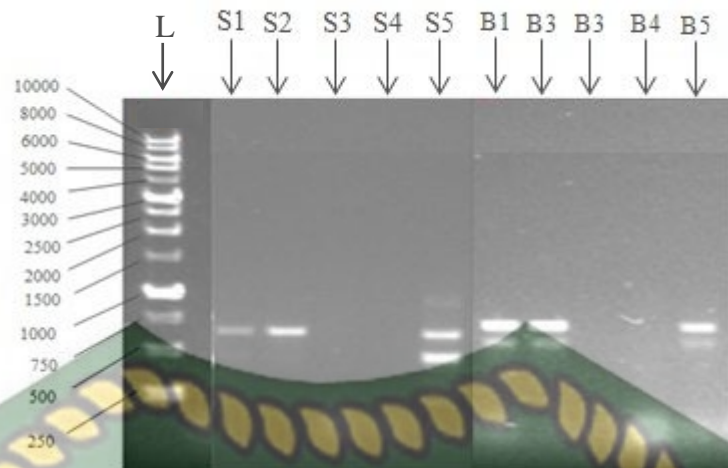
Hasil amplifikasi pulasan pada masing-masing primer yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.2 – 4.6.



Gambar 4.2. Pola pita 10 genotype pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkulu (B1, B2, B3, B4, B5) pada primer K-02.

Pada primer K – 02 dapat dilihat bahwa rata-rata panjang pita DNA berkisar antara 250 bp – 750 bp dan menghasilkan pita DNA sebanyak 14 lokus. Pada primer K – 02 sampel siak S1 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp - 750 bp. Pulasan asal Siak S2 juga menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp – 750 bp, kemudian pada genotype pulasan asal Siak S3 tidak ada menghasilkan pita DNA sama sekali dapat disimpulkan bahwa primer K – 02 tidak dapat mendeteksi sampel tersebut, selanjutnya pada genotype Siak S4 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 300 bp, dan pada sampel S5 menghasilkan dua lokus tetapi lokus dengan panjang pita 300 bp – 750 bp. Panjang pita masing-masing sampel dapat dilihat pada tabel 4.2.

Kemudian pada genotype Bengkalis B1 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp – 750 bp, lalu pada genotype B2 juga menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp – 750 bp, untuk genotype S3 tidak menghasilkan pita DNA sama sekali, selanjutnya pada genotype B4 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 650 bp, dan pada genotype B5 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 255 bp – 650 bp. Jadi secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa penggunaan primer K – 02 pada genotype Siak dan Bengkalis menghasilkan jumlah lokus yang tidak jauh berbeda antara sampel Siak dan Bengkalis. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa primer K – 02 dapat memvisualisasi delapan genotype pulasan asal Siak dan Bengkalis dengan panjang pita relatif sama. Namun ada dua genotype satu genotype asal Siak S3 dan satu genotype asal Bengkalis B3 tidak dapat divisualisasi oleh primer K – 02 .

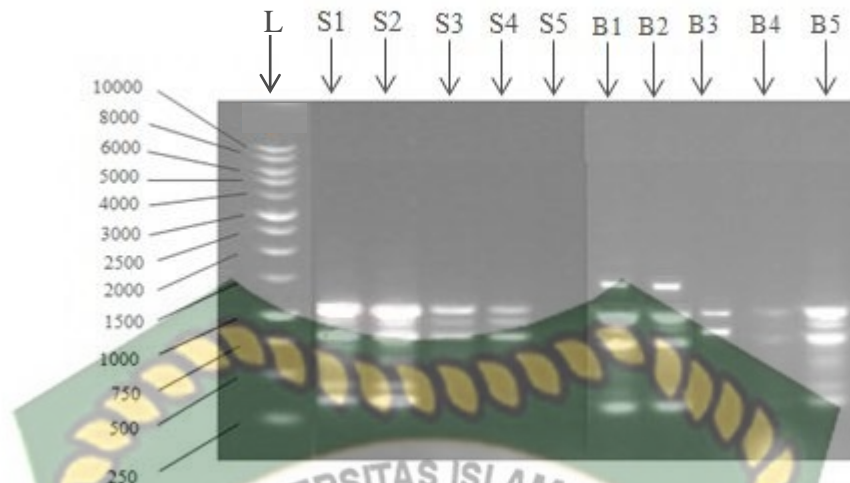


Gambar 4.3. Pola pita pulasan genotype Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) pada primer K-06.

Pada primer K – 06 dapat dilihat bahwa panjang pita DNA berkisar antara 200 bp – 1000 bp dan menghasilkan pita DNA sebanyak 10 lokus. Pada genotype Siak S1 dan genotype Siak S2 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 600 bp, kemudian pada genotype S3 dan S4 tidak menghasilkan lokus sama sekali, pada genotype S5 menghasilkan tiga lokus dimana genotype Siak S5 memiliki panjang pita DNA yang paling panjang diantara pita DNA asal Siak lainnya, panjang pita yang bisa divisualisasi adalah sepanjang 400 bp – 1000 bp.

Selanjutnya genotype Bengkalis B1 dan B2 menghasilkan dua lokus dengan panjang pita 300 bp – 625 bp, kemudian pada genotype B3 dan B4 tidak menghasilkan pita DNA sama sekali, dan pada genotype B5 menghasilkan dua lokus DNA dengan panjang pita 500 bp – 600 bp. Jadi secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa penggunaan primer K – 06 pada sampel Siak dan Bengkalis ada sedikit perbedaan pada jumlah lokus yang dihasilkan oleh setiap genotype. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa primer K – 06 dapat memvisualisasi enam karakter genotype pulasan asal Siak (S1,S2,S5) dan Bengkalis (B1,B2,B5). Namun primer K – 06 juga tidak dapat mendeteksi empat karakter genotype pulasan asal Siak dan Bengkalis.





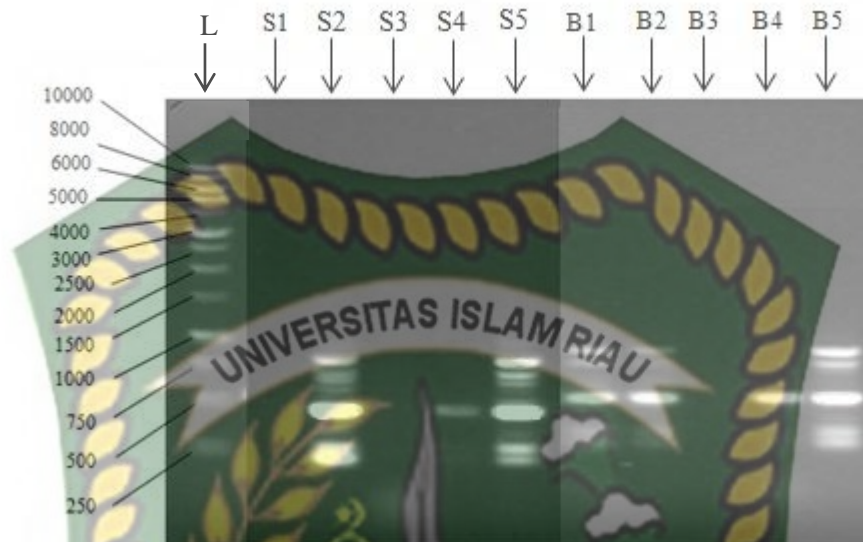
Gambar 4.4. Pola pita pulasan genotype Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) pada primer OPJ – 20 .

Pada primer OPJ – 20 dapat dilihat bahwa panjang pita DNA berkisar antara 300 bp – 1500 bp, dan menghasilkan pita DNA sebanyak 42 lokus. Pada genotype Siak S1 dan S2 masing-masing menghasilkan tujuh lokus dengan panjang pita mulai dari 300 bp – 1100 bp, pada genotype Siak S3 dan S4 hanya menghasilkan tiga lokus dengan panjang pita 755 bp – 1075 bp, pada sampel S5 tidak menghasilkan pita DNA sama sekali.

Pada genotype Bengkalis B1 dan B2 menghasilkan enam lokus dengan panjang pita mulai dari 300 bp – 1500 bp, pada sampel B3 dan B4 sama-sama menghasilkan dua lokus dengan masing-masing panjang pita 740 bp – 995 bp, kemudian pada genotype B5 menghasilkan enam lokus dengan panjang pita mulai dari 300 bp – 1000 bp.

Jadi pada penggunaan primer OPJ – 20 pada genotype pulasan Siak dan Bengkalis dapat disimpulkan bahwa hampir semua sampel pulasan dapat menghasilkan pita DNA dan primer OPJ – 20 juga dapat menghasilkan banyak lokus di setiap sampel dan menghasilkan panjang pita tertinggi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa primer OPJ – 20 dapat memvisualisasi sembilan genotype

pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4) dan Bengkalis (B1,B2,B3,B4,B5). Dan tidak dapat memvisualisasi genotype asal Siak S5.

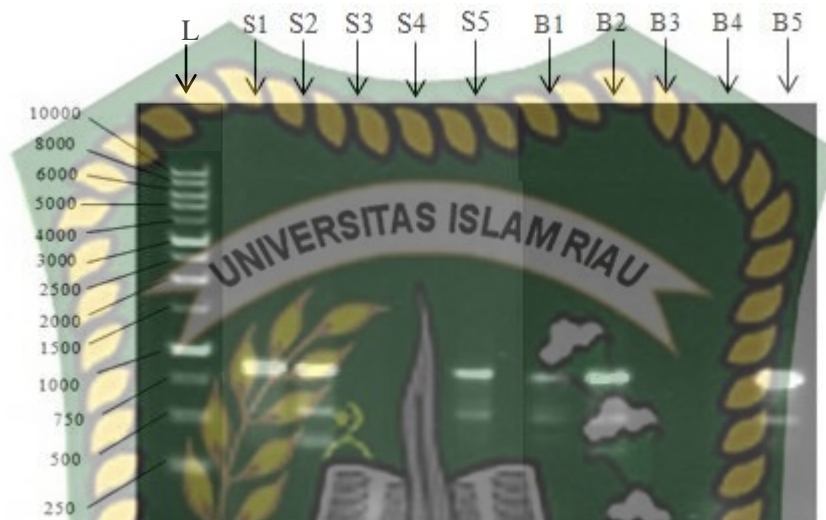


Gambar 4.5. Pola pita pulasan genotype Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) pada primer P-08.

Pada primer P-08 dapat dilihat bahwa panjang pita DNA berkisar antara 150 bp – 1000 bp, dan menghasilkan pita DNA sebanyak 31 lokus. Pada genotype Siak S1 tidak dapat menghasilkan pita DNA sama sekali, pada genotype S2 menghasilkan tujuh lokus dengan panjang pita mulai dari 150bp-760bp, kemudian pada genotype S3 tidak dapat menghasilkan pita DNA sama sekali, lalu pada genotype S4 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita yaitu 400bp, dan genotype S5 menghasilkan tujuh lokus pita DNA dengan panjang pita mulai dari 150bp-1000bp.

Pada genotype Bengkalis B1 dan B2 menghasilkan masing-masing lima lokus dengan panjang pita mulai dari 250bp-995bp, pada genotype B3 tidak dapat menghasilkan pita DNA sama sekali, selanjutnya pada genotype B4 hanya menghasilkan satu lokus dengan panjang pita 500bp, dan pada genotype B5 menghasilkan lima lokus pita DNA dengan panjang pita mulai dari 250bp-995bp.

Jadi secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa penggunaan primer P-08 pada sampel pulasan Siak dan Bengkalis menghasilkan cukup banyak lokus pita DNA meski pun ada tiga sampel pulasan yang tidak dapat di deteksi oleh primer P-08.



Gambar 4.6. Pola pita pulasan genotype Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) pada primer Z-13.

Pada primer Z-13 dapat dilihat bahwa panjang pita DNA berkisar antara 300 bp – 900 bp, dan menghasilkan pita DNA sebanyak 19 lokus. Pada genotype pulasan Siak S1 menghasilkan empat lokus pita DNA dengan panjang pita mulai dari 400bp-900bp, kemudian pada genotype S2 menghasilkan tiga lokus dengan panjang pita mulai dari 350bp-895bp, pada genotype S3 dan S4 tidak dapat menghasilkan pita DNA sama sekali, dan pada genotype S5 menghasilkan tiga lokus pita DNA dengan panjang pita mulai dari 550bp-800bp.

Pada genotype pulasan Bengkalis B1 menghasilkan tiga lokus pita DNA dengan panjang pita mulai dari 350bp-750bp, pada genotype B2 menghasilkan empat lokus dengan panjang pita 300bp-760bp, kemudian pada genotype B3 dan B4 tidak dapat menghasilkan pita DNA sama sekali, dan pada genotype B5 menghasilkan dua lokus pita DNA dengan panjang pita 500bp-750bp. Jadi dapat disimpulkan bahwa primer Z-13 pada sampel pulasan Siak dan Bengkalis



menghasilkan jumlah lokus yang hampir sama banyak disetiap sampel pulasan, tetapi ada juga beberapa sampel pulasan yang tidak terdeteksi oleh primer Z-13. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa primer Z-13 dapat memvisualisasi enam genotype pulasan Siak (S1,S2,S5) dan Bengkalis (B1, B2, B5).

Hasil dendogram UPGMA yang disajikan pada masing-masing primer dapat dilihat pada (gambar 4.7. – 4.11.) dibawah ini.



Gambar 4.7. Dendogram sepuluh genotype pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) menggunakan primer K-02 yang dihasilkan dari analisis MVSP versi 3.22.

Dendogram UPGMA yang disajikan pada gambar 4.7. yang menggunakan primer k-02 terlihat bahwa populasi membentuk dua kelompok, kelompok pertama terdiri dari dua genotipe yaitu genotype Bengkalis B3 dan genotype Siak S3, dimana keduanya tidak dapat divisualisasi oleh primer K-02. Kelompok kedua dispisahkan pada dua kelompok besar, kelompok pertamanya terdapat satu genotype saja yaitu genotype Bengkalis B4. Kelompok kedua terdiri dari genotype Bengkalis (B2, B1) dan genotype Siak ( S5, S4, S2, S1).

Genotype Bengkalis B4 memiliki kemiripan hanya 80% dengan genotype lainnya yang berada pad kelompok kedua. Genotype-genotipe pada kelompok dua

memiliki kemiripan genetic sebesar 98%. Empat genotype diantaranya berasal dari Siak (S5, S4, S2, S1) memiliki tingkat kemiripan hingga 100%. Begitu juga dengan genotype Bengkalis (B5 dan B2) yang memiliki kemiripan hingga 100%.

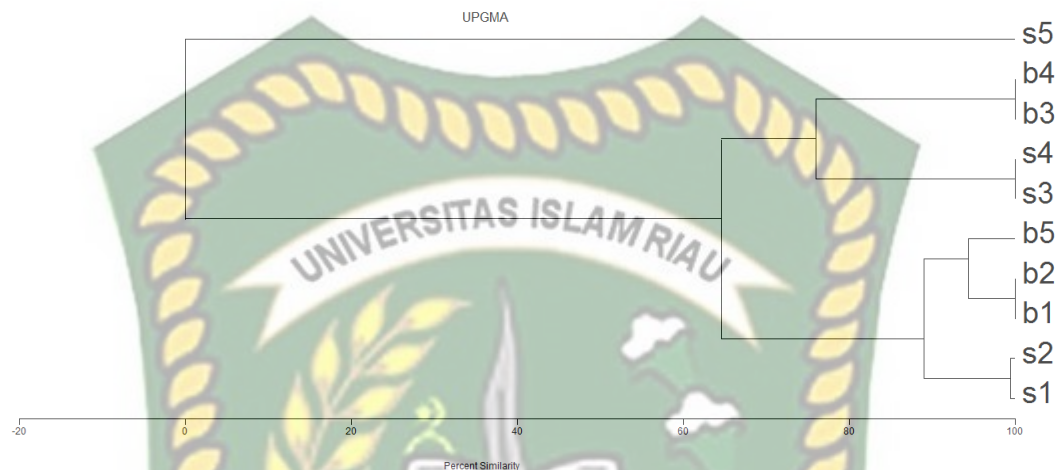


Gambar 4.8. Dendrogram sepuluh genotype pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) menggunakan primer K-06 yang dihasilkan dari analisis MVSP versi 3.22.

Dendrogram UPGMA selanjutnya yang disajikan pada gambar 4.8. yang menggunakan primer k-06 terlihat bahwa populasi membentuk dua kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari sampel pulasan asal Bengkalis B4, B3 dan genotype Siak S4, S3, dimana keempat genotype ini tidak dapat terdeteksi oleh primer K-06 dapat dilihat pada (gambar 4.3). Kelompok kedua dipisahkan oleh tiga kelompok besar, kelompok pertama terdiri dari genotype asal Bengkalis yaitu B5, B2, B1 yang memiliki hingga 98%, dimana genotype Bengkalis B2 dan B1 memiliki kemiripan hingga 100%.

Kelompok kedua terdapat genotype pulasan asal Siak yaitu S5 yang memiliki kemiripan hingga 72% dengan kelompok genotype Bengkalis B5, B2, dan B1. Pada kelompok ketiga terdapat genotype Siak S2 dan S1 yang memiliki kemiripan hingga 65% dengan kelompok genotype asal Bengkalis (B5, B2, B1)

dan kelompok genotype Siak S5. Dimana genotype Siak S1 dan S2 yang memiliki kemiripan hingga 100%.



Gambar 4.9. Dendrogram sepuluh genotype pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) menggunakan primer OPJ-20 yang dihasilkan dari analisis MVSP versi 3.22.

Dendrogram UPGMA selanjutnya yang disajikan pada gambar 4.9. yang menggunakan primer OPJ-20 terlihat bahwa ada satu kelompok terpisah yaitu genotype Siak S5 dimana pita DNA nya tidak terdeteksi oleh primer OPJ-20 dapat dilihat pada gambar (4.4). Berdasarkan dendrogram diatas terdapat pita DNA yang dapat divisualisai oleh primer OPJ-20 dimana terdapat dua kelompok besar, semua genotype memiliki kemiripan hingga 65%. Kelompok pertama memiliki kemiripan hingga 75% yang terdiri dari dua kelompok genotype yaitu genotype Bengkalis yaitu B4, B3 dan genotype Siak S4, S3. Dimana pada kelompok genotype Bengkalis yaitu B4 dan B3 memiliki kemiripan hingga 100%, begitu juga pada kelompok genotype S4 dan S3 yang memiliki kemiripan 100%. Dan perbedaan pada kedua kelompok ini hanya 25%.



Kelompok kedua memiliki kemiripan hingga 90%, yang dipisahkan oleh kelompok genotype asal Bengkalis yaitu B5 yang memiliki kemiripan hingga 95% dengan genotype Bengkalis B2 dan B1 dengan kelompok genotype asal Siak yaitu S2 dan S1, dimana genotype asal Siak S2 dan S1 memiliki kemiripan hingga 99%.



Gambar 4.10. Dendrogram sepuluh genotype pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) menggunakan primer P-08 yang dihasilkan dari analisis MVSP versi 3.22.

Dendrogram UPGMA selanjutnya yang disajikan pada gambar 4.10. yang menggunakan primer P-08 terlihat bahwa genotype pulasan Bengkalis B3 dan genotype Siak S3 dan S1 tidak dapat menghasilkan pita DNA sama sekali. Kemudian berdasarkan dendrogram diatas di atas terdapat pita DNA yang dapat divisualisasikan oleh primer P-08 dimana terdapat dua kelompok besar dengan hasil kekerabatan genotype pulasan asal Siak dan genotype Bengkalis hanya mencapai 25%. Kelompok pertama terdiri dari genotype asal Bengkalis B4 dan genotype Siak S4 yang memiliki kemiripan hingga 89%.

Kemudian kelompok kedua yaitu terdiri dari genotype asal bengkalis B5, B2 dan B1 dengan genotype asal Siak S5 dan S2 yang memiliki kemiripan hingga 80%. Dimana kelompok genotype asal Bengkalis B5, B2 dan B1 memiliki

kemiripan hingga 100%. Dan kelompok genotype asal Siak yaitu S5 dan S2 memiliki kemiripan hingga 91%.



Gambar 4.11. Dendrogram sepuluh genotype pulasan asal Siak (S1, S2, S3, S4, S5) dan Bengkalis (B1, B2, B3, B4, B5) menggunakan primer Z-13 yang dihasilkan dari analisis MVSP versi 3.22.

Dendrogram UPGMA selanjutnya yang disajikan pada gambar 4.11. yang menggunakan primer Z-13 terlihat bahwa populasi membentuk dua kelompok besar, kelompok pertama terdiri dari genotype asal Bengkalis yaitu B4, B3 dan genotype asal Siak S4, S3 dimana keempat genotype ini tidak dapat divisualisasi oleh primer Z-13. Kelompok kedua dipisahkan oleh dua kelompok, kelompok yang pertama terdiri dari genotype asal Bengkalis yaitu B5 yang memiliki kemiripan hingga 79% dengan kelompok kedua.

Kelompok kedua terdiri dari genotype asal Siak S5 yang memiliki kemiripan hingga 91% dengan genotype asal Bengkalis B1 dan genotype asal Siak S2, dimana genotype Bengkalis B1 memiliki kemiripan hingga 93%. Ketiga genotype tersebut memiliki kemiripan hingga 88% dengan kelompok genotype yang terdiri dari genotype asal Bengkalis yaitu B2 dan genotype asal Siak yaitu

S1. Dimana genotype asal Bengkalis B2 memiliki kemiripan hingga 92% dengan genotype asal Siak S1.

Adanya primer yang tidak menghasilkan pita mengindikasikan bahwa primer-primer tersebut tidak mempunyai homologi dengan DNA cetakan, karena terbentuknya fragmen pita DNA tergantung pada sekuen primer dan genotipe dari DNA cetakan (Klein-Lankhorst dkk., 1991). Selain itu tidak teramplifikasinya DNA tersebut bisa jadi disebabkan karena kemungkinan masih terdapat senyawa sekunder dan polisakarida sehingga menghambat kerja enzim dalam proses PCR.

Perbedaan jumlah pita DNA yang dihasilkan dari setiap primer menggambarkan kekompleksan genom tanaman yang diamati. Karena pita DNA merupakan hasil berpasangannya nukleotida primer dengan nukleotida genom tanaman, maka semakin banyak primer akan semakin terwakili bagian-bagian genom, sehingga semakin tergambar keadaan genom tanaman sesungguhnya. Sebaran situs penempelan primer pada DNA genom, jumlah fragmen yang diamplifikasi, serta kemurnian dan konsentrasi DNA genom dalam reaksi mempengaruhi intensitas pita DNA hasil amplifikasi (Grattapaglia dkk., 1992).



### C. Deskripsi genotype pulasan

Tabel 4.3. deskripsi 10 genotype pulasan di Kab. Siak dan Kab. Bengkalis

Nama sampel	Lokasi		Karakter Pohon		
	Asal	Jenis tanah	Tinggi pohon (m)	Bentuk kanopi	Pola percabangan
Siak 1	Sungai Apit	Gambut	8	Lingkaran	Jarang
Siak 2	Sungai apit	Gambut	3	Setengah Lingkaran	Jarang
Siak 3	Sungai apit	Mineral bergambut	10	Oval	Padat
Siak 4	Sungai apit	Mineral bergambut	11	Lingkaran	Padat terkulai
Siak 5	Sabak auh	Mineral bergambut	10	Oblong	Jarang
Bengkalis 1	Simpang ayam	Mineral bergambut	6	Oblong	Jarang terkulai
Bengkalis 2	Ketam putih	Gambut berpasir	5	Oblong	Jarang terkulai
Bengkalis 3	Ketam putih	Mineral bergambut	5	Oval	Jarang terkulai
Bengkalis 4	Simpang Ayam	Gambut	4	Setengah lingkaran	Menyebar
Bengkalis 5	Ketam putih	Gambut	5	Oval	Padat

Genotype pulasan Kab. Siak dan Bengkalis terdapat dipekarangan rumah penduduk, ada yang tumbuh sendiri nya da nada yang ditanam oleh masyarakat setempat. Jenis tanah di Kab. Siak dan Bengkalis umum nya adalah tanah gambut, akan tetapi pada bagian atas terdapat tanah mineral melapisi dan gambut ini dikategorikan mineral bergambut.

Bentuk kanopi tanaman pulasan sangat beragam, hal ini terjadi karena dipengaruhi oleh lingkungan. Tanaman yang mendapat pencahayaan penuh yaitu terdapat pada genotype Siak 3, Siak 4 dan Bengkalis 5. Kebanyakan diantara nya ternaungi atau tumbuh bersama – sama dengan tanaman lainnya yang berukuran sama atau bahkan lebih tinggi dari pulasan. Cabang kanopi tumbuh dengan percabangan yang tidak beraturan.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa secara keseluruhan, penanda RAPD yang paling baik adalah primer OPJ – 20 karena dapat menghasilkan pita DNA genotype pulasan asal kabupaten Siak dan Bengkalis.

Keragaman genetic tanaman pulasan di Kabupaten Siak dan Bengkalis menghasilkan ukuran pita yang beragam yaitu mulai dari 150 bp – 1500 bp. Jumlah lokus pada genotype pulasan Kabupaten Siak dan Bengkalis juga menghasilkan jumlah lokus yang beragam yaitu 2 – 9 lokus dengan total 26 lokus. Hasil analisis keragaman genetic pulasan pada jumlah pita juga menghasilkan jumlah pita yang beragam yaitu 12 – 42 pita dengan total 120 pita.

Persentase hubungan kekerabatan antar populasi dan dalam populasi pulasan asal kabupaten Siak dan Bengkalis yaitu, pada primer K – 02 menghasilkan persentase hubungan kekerabatan 80%. Primer K – 08 hanya menghasilkan 65% hubungan kekerabatan antar genetic pulasan asal kabupaten Siak dan Bengkalis. Hasil analisis primer OPJ – 20 juga menghasilkan 65% hubungan kekerabatan antar genotype pulasan di kabupaten Siak dan Bengkalis. Analisis pada primer P – 08 genotype pulasan asal kabupaten Siak dan kabupaten Bengkalis hanya memiliki hubungan kekerabatan 25%. Primer Z – 13 menghasilkan hubungan kekerabatan sebesar 78% pada genotype asal kabupaten Siak dengan genotype asal Bengkalis. Dalam populasi antar Siak dan Bengkalis menghasilkan hubungan kekerabatan 70 – 100% pada genotype Siak, sedangkan pada genotype Bengkalis menghasilkan 80 – 100% hubungan kekerabatan.

## B. Saran

Perlu menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak lagi. Memerlukan analisis RAPD pada tanaman pulasan dengan menggunakan lebih banyak primer yang berbeda. Analisis dilakukan dengan kualitas DNA yang lebih murni.



Dokumen ini adalah Arsip Miik :

Perpustakaan Universitas Islam Riau



## Daftar Pustaka

- Abbas, B., M.H. Bintoro., Sudarsono., M. Surahman dan H. Ehara. 2009. Hirarki dan diferensiasi genetik tanaman sagu di Indonesia berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal Zuriat*, 20 (1): 1-9
- Adam, R. P., C. Hsieh, J. Murata, and R. N. Pandey. 2002. Systematics of *Juniperus* from eastern Asia based on Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochem. Sys. Ecol.*, 30: 231 – 241.
- Aman R. 1992. *Buah-Buahan Nadir Semenanjung Malaysia*. Kuala Lumpur (MY): Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Bardekci, F. 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turk. J. Biol.*, 25: 185 – 196.
- Biofeedback. 1991. A Simple Technique for Removing Plant Polysaccharide Contaminants from DNA. *Biotechniques*, 10: 162 – 166.
- [BK-Kehati] Balai Kliring Keanekaragaman Hayati Indonesia. 2013. Tenggarang.[Internet]. [diunduh pada 24 November 2013]. Tersedia pada:<http://www.bk.menlh.go.id/>.
- Clyde MM, Chew PC, Normah MN, Rao VR, Salma, I. 2005. Genetic diversity of *Nephelium rambouian-ake* Leenh. assessed using RAPD and ISSR markers. *Acta Hort.* 665:171-182
- Doyle, J.J., J.L. Doyle. 1990. Isolation of Plant DNA From Fresh Tissue. *Focus* 12: 13-15
- Dwiatmini, K., N. A. Mattjik, H. Aswidinoor, dan N.I.T. Matius. 2003. Anailis pengelompokan dan hubungan kekerabatan spesies Anggrek *Phalaenopsis* berdasarkan kunci determinasi fenotik dan marka molekuler RAPD. *J. Hort.*, 13(1): 16 – 27.
- Ediwirman dan Ellina Mansya. 2011. Karakterisasi Kapulasan (*Nephelium Mutabile*) Berbasis PCR\_RAPD di Sumatera Barat. *Balitbu Sukarami Sumatera Barat. Jur. Embrio* (4) (1) (66 -73).
- Elfiatnis, Rita. 2014. Kekerabatan Genetik Antar Jenis Kantong Semar (*Nepenthes* Spp.) Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Skripsi. Fakultas Pertanian Dan Peternakan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

- FAO. 2014. World Information Sharing Mechanism on the Implementation of the Global Plan of Action for the Conservation and the Sustainable Use of PGRFA. <http://www.pgrfa.org>. [5 February 2014].
- Finkelday, R. 2000. An Introduction of Forest Genetic and Tree Breeding. Universitas Goettingen. 241 p.
- Grattapaglia, D., J. Chaparro, P. Wilcox, S. McCord, D. Werner, H. Amerson, S. McKeand, F. Bridgwater, R. Whetten, D. O'Malley and R. Sederoff. 1992. Mapping in woody plants with RAPD markers: Application to breeding in forestry and horticulture, hlm. 37-40. Di dalam : *Application of RAPD Technology to Plant Breeding*. Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA. Minneapolis, 1 November 1992.
- Hadiati, S, Yulianti, S & Sukartini 2009,'Pengelompokan dan jarak genetik plasma nutfah nenas berdasarkan karakter morfologi', *J.Hort.*, vol.19, no.3, hlm. 264-74.
- Handoyo, Desen. 2012. Keragaman Genetic Tanaman Jambu Bol (*Syzygium Malaccense* (L.) Merr. & Perry) Menggunakan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Fakultas Pertanian Dan Peternakan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.
- Hardiati, S., dan D. Sukmadjaja. 2002. Keragaman pola pita beberapa aksesori nenas berdasarkan analisis isozim. *J. Bioteknologi Pertanian*, 7(2): 82 – 70.
- <http://balitbu.litbang.pertanian.go.id/index.php/hasil-penelitian-mainmenu46/teknologi-mainmenu-78/114-inovasi-teknologi/672-kapulasan-si-gundul-kaya-manfaat>. Diakses pada tanggal 20 januari 2018.
- Hu, J. and G. F. Quiros. 1991. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD marker. *Plant Cell Reports*, 10: 505 – 511.
- Innis, M.A., D.H. Gelfand and J.J. Snisky. 1990. Opitation PCR. In Innis, M.A. David H; A Guide to methods and applications akademik press ankoperatif academic press INC. United State of Amerika. 482
- Iskandar Ishaq, Basuno, dan Nandang Sunandar. 2014. Pendugaan Daya Hasil Berdasarkan KarakterMorfologis Bunga Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) DanKapulasan (*Nephelium mutabile* Blume). *Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Provinsi Jawa Barat*.
- Jena, S. N., and A. B. Das. 2006. Inter-population variation of chromosome and RAPD markers of *Suaeda nudiflora* (Willd.) Moq. Mangrove species in India. *African J. Agric. Res.*, 1: 137 – 142.

- Jones, S.B and A. E. Lucsinger. 1989. Plant Systematics. 2<sup>nd</sup> Edition. Mc Graw Hill, Inc. New York. Hal. 428-477.
- Julisaniah, N. I., L. Sulistyowati., A. N. Sugiharto. 2008. Analisis Kekerbatan Mentimun (*Cucumis Sativum* L) menggunakan metode RAPD-PCR dan isozom. *Biodiversitas*, 9(2): 8-12.
- Kusumo, Surahmat, Khasanah, Maharani, Moeljopawiro, Sugiono. 2002. *Panduan Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Talas*. Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Komisi Nasional Plasma Nutfah.
- Kuswandi1, Sobir, dan Suwarno, WB. 2014. Keragaman Genetik Plasma Nutfah Rambutandi Indonesia Berdasarkan Karakter Morfologi (*Genetic Variation of Rambutan Germplasm in Indonesia Based on Morphological Characters*). Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. *NutfJa.h H Roarmt. b2u4t(a4n) :d2i8 I9n-d2o9n*
- Lamboy, W.F. 1994. Computing Genetic Similarity Coefficients from RAPD Data: The Effects of PCR Artifacts. *Genome Res.*, 1994 4: 31 – 37.
- Lim TK. 2013. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants: Volume 6, Fruits*. Canberra (AU): Springer Netherlands.
- Ling, L. T., K.R. Ammu, S. Thavamanithevi, M.C.H. wee dan D.P. Uma. 2010. Assessment of Antioxidant Capacity and Cytotoxicity of Selected Malaysian Plants. *J. Molecules*. 15 : 2139-2151; doi:10.3390/molecules/15042139.
- Made, I.J.M dan Marsum, D. 2004. “Hubungan Pemuliaan Tanaman Secara Konvensional”. In Lokakarya Teknik Dasar Molekuler untuk Pemuliaan Tanaman. Bogor.
- Muladno. 2002. Seputar teknologi rekayasa genetika. Pustaka Wirausaha Muda dan USESE Fondation. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nasir, M. 2002. Bioteknologi: Potensi dan keberhasilannya dalam Bidang Pertanian Pertanian. Jakarta: Rajawali Press.
- Noor, R. R. 2008. Genetik Ternak. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Oktavianti, Ria. 2013. *Keragaman Lima Kultivar Pisang (Musa spp) Berdasarkan Penanda Morfologi dan RAPD*. Skripsi. Fakultas Pertanian dan Peternakan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.



- Pandey, RN., Adam, and L. E. Flounornoy. 1998. Inhibition of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) by plant polysaccharides. *Plant Molec. Biol. Reporter*, 14:15 – 22.
- Pandin, D. S. 2010. Penanda DNA untuk Pemuliaan Kelapa (*Cocos nucifera* L). *Perspektif*, 9(1): 21-23.
- Porebski S, Bailey LG, Baum BR. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharides and polyphenol component. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15, 8-15.
- Prana. T.K, dan N. S. Hartati. 2003. Identifikasi sidik jari DNA talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan Teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA): Skrining Primer dan Optimalisasi Kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia* 5(2): hal. 107-112.
- Pratamaningtyas, S. 1997. Optimasi Kondisi Polymerase Chain Reaction Untuk Analisis Random Amplified Polymorphic DNA's Pada Genom Tebu. *Tesis*. Malang: Program Pascasarjana Universitas Brawijaya.
- Qian W. G. S. and Hong D. Y. 2001. Genetic Variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulate* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor. App. Genet.*, 102: 440 – 449.
- Rahayu, S.E., dan A. Hartana 2002. Biosistematika Cucumis (Cucubitaceae) di Jawa. *Floribunda* 2: 34 – 43.
- Rogers, S.O and A.J. Bendich. 1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. *Plant Mol. Biol. Manual*, 01: 1-8
- Rosidin, Ade. 2014. Analisis Populasi Genetic Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia* Jack) Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Fakultas Pertanian Dan Peternakan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.
- Rosmaina. 2003. The Study of Genetic Diversity and Relationship on *Musa* spp By Mean Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD). *Skripsi*. Departemen of agronomi faculty of agriculture. Bogor Agriculture University.
- Rosmaina dan Zulfhmi. 2011. Eksplorasi dan Karakterisasi Kantong Semar (*Nepentes* sp.) Di Kampus Uin Suska Riau. *Jurnal Agroteknologi*, 2(1): 51-56

- Rusnanda, D.S. 2003. "Analisis Keragaman Genetik *Maranta anandinaceae* L. Berdasarkan penanda molekuler RAPD". *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 5(5): 209-218.
- Sambrook, J., E.F. Fritsh, and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. Hal. 568-500.
- Sobir, D. G dan I. Septimayani. 2005. Analisis Keragaman Genetic Enam Belas Aksesi Blewah (*Cucumis melo* L) dengan Metode Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Gakuryoku*, XI (2): 177-180.
- Soemantri, H. I, T. J. Santoso, Minantyorini, A. D. Ambarwati, Sisharmini, dan A. Aprina. 2002. Karakterisasi molekuler plasma nutfah tanaman pangan. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*.
- Sukartini. 2001. Analisis Jarak Genetik dan Hubungan Kekerabatan Pisang (*Musa spp*) menggunakan Penanda Morfologis dan Random Amplified Polymorphic DNA. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Sulistyaningsih. 2007. Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi. *Biomedis*, 1(1)
- Sumarno. 2002. Penggunaan bioteknologi dalam pemanfaatan dan pelestarian plasma nutfah tumbuhan untuk perakitan varietas unggul. Seminar Nasional Pemanfaatan dan Pelestarian Plasma Nutfah. Kerjasama Pusat Penelitian Bioteknologi IPB dan KNPB. Deptan.
- Taylor, P.D., Fahrig, L, Henein, K. And Merriam, G. 1993. Connectivity is a vital Element of Landscape Structure. *Oikos*, 68: 571-573.
- Thenawijaya, M. 1982. *Dasar – Dasar Biokimia Jilid 3*. Erlangga. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- UU No 12 Tahun 1992. Undang Undang Nomor 12 Tahun 1992 tentang Sistem Budidaya Tanaman. 50 hlm.
- Wardani. N. M. R. 1999. Perbandingan Penanda Morfologi dan Isozom untuk Pemilihan Tetua Tanaman Tebu yang Berpotensi Produksi Tinggi. *Tesis*. Malang: Pascasarjana Universitas Brawijaya.
- Welsh. J. And McClelland, M. 1990. Fingerprinting Genome Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acid Research*, 18: 7213-7218.

- Williams, J. G. K., A.R. Kubelik., K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrari Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acid Research*, 18(22): 6531-6535.
- Wilkins, T. A dan Smart, L.B. 1996. Isolation of RNA. *In* : Rreig, P. A. (Ed). A laboratory Guide to RNA. Isolation, Analysis and Synthesis. New York : Wiley – liss.
- Yunus, M. 2004. Marka Molekuler untuk Perbaikan Tanaman. *In* Lokakarya Teknik Dasar Molekuler untuk Pemuliaan Tanaman. Bogor.
- Yusuf, M. 2001. *Genetika I Struktur dan Ekpresi Gen*. Sangung Seto. Jakarta.
- Zulfahmi. 2011. Keragaman dan Diferensiasi Genetik Pasak Bumi (*Euricoma longifolia*, Jack) di Provinsi Riau berdasarkan penanda RAPD. *Laporan penelitian LPP*. UIN Suska Riau.
- Zulfahmi. 2013. Penanda Dna Untuk Analisis Genetik Tanaman. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, Kampus Panam. *Jurnal Agroteknologi*. Vol. 3 No. 2, Februari 2013:41-52