

**SKRIPSI**

**SELEKSI MARKA MOLEKULER SSR  
(*Simple Sequence Repeat*) PADA BEBERAPA JENIS  
BAMBU DI ASDG BPTH WILAYAH II KABUPATEN  
GOWA**

**ANNISA NURISLAMI**

**M011171035**



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN**

**FAKULTAS KEHUTANAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

## LEMBAR PENGESAHAN

### SELEKSI MARKA MOLEKULER SSR (*Simple Sequence Repeat*) PADA BEBERAPA JENIS BAMBU DI ASDG BPTH WILAYAH II KABUPATEN GOWA

ANNISA NURISLAMI

M011171035

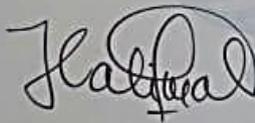
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kehutanan Fakultas  
Kehutanan Universitas Hasanuddin

pada tanggal 16 April 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping



Dr. Siti Halimah Larekang, S.P., M.P

NIP. 19820209 201504 2 002



Gusmiaty, S.P., M.P

NIP. 19791120 200912 2 002



Ketua Program Studi,



Dr. Forest. Muhammad Alif K.S., S.Hut., M.Si

NIP. 19790831 200812 1 002

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Annisa Nurislami  
NIM : M011171035  
Program Studi : Kehutanan  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Seleksi Marka Molekuler SSR (*Simple Sequence Repeat*) pada Beberapa Jenis  
Bambu di ASDG BPTH Wilayah II Kab. Gowa

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan  
tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil  
karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau  
keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima  
sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 20 April 2021

Yang menyatakan



Annisa Nurislami

## **ABSTRAK**

### **Annisa Nurislami (M011171035). Seleksi Marka Molekuler SSR (*Simple Sequence Repeat*) pada Beberapa Jenis Bambu di ASDG BPTH Wilayah II Kabupaten Gowa**

Bambu merupakan salah satu jenis rumput-rumputan yang termasuk ke dalam famili Poaceae dan salah satu dari komoditas hasil hutan bukan kayu. Potensi bambu yang mempunyai kualitas genetik yang baik belum banyak dijadikan dasar untuk mengembangkan jenis ini. Permasalahan yang dihadapi adalah masih kurangnya informasi akan potensi tersebut sehingga perlu dilakukan pengembangan informasi genetik melalui seleksi marka molekuler dengan menggunakan penanda mikrosatelit atau SSR (*Simple Sequence Repeat*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan persentase amplifikasi marka mikrosatelit pada koleksi bambu di ASDG BPTH Wilayah II Kabupaten Gowa. Metode penelitian yang digunakan uji kualitas dan seleksi hasil amplifikasi marka SSR. Hasil seleksi primer yang telah dilakukan pada 17 pasang primer SSR yang dikembangkan dari bambu menunjukkan tiga primer yang dapat teramplifikasi yaitu primer DLUGMS03, DLUGMS23, dan DLUGMS61.

**Kata Kunci : Bambu, Marka Molekuler, SSR dan Seleksi Primer**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas berkat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul "Seleksi Marka Molekuler SSR (Simple Sequence Repeat) pada Beberapa Jenis Bambu di ASDG BPTH Wilayah II Kabupaten Gowa". Shalawat dan salam juga penulis panjatkan kepada Baginda Rasulullah SAW yang menjadi suri tauladan bagi seluruh umatnya.

Penghargaan dan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada Ayahanda tercinta **Serma Muhammad Hamsa** dan Ibunda yang kusayangi **Ira Surianti** karena telah membesarkan penulis dan selalu melindungi serta menyayangi penulis dimanapun penulis berada. Terima kasih juga untuk adik-adikku tercinta **Akhyar Resky Nur Sahrian** dan **Aisyah Ayudia Azzahra** atas dukungan yang selama ini diberikan kepada kakak. Terima kasih penulis ucapkan untuk **Keluarga Besar** yang selalu mendoakan penulis agar tetap sehat dan tidak lupa dengan Sang Maha Pencipta.

Terselesainya skripsi ini tidak terlepas dari bantuan banyak pihak, sehingga pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat penulis menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya bagi semua pihak yang telah memberikan bantuan moril maupun materil baik langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai, terutama kepada yang saya hormati:

1. Ibu **Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P** dan Ibu **Gusmiaty, S.P., M.P** selaku dosen pembimbing yang selalu bijaksana memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat selama penentuan judul penelitian sampai ke tahap penyusunan skripsi ini.
2. Bapak **Ir. Budirman Bachtiar., M.P** dan Bapak **Iswanto, S.Hut., M.Si.**, selaku penguji yang telah memberikan masukan dan saran-saran guna penyempurnaan skripsi ini.
3. Bapak **Prof. Dr. Ir. H. Muh. Restu, M.P.** selaku kepala Lab. Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon yang tidak henti-hentinya memberi semangat dan

memberikan motivasi kepada para mahasiswa Lab. Biotek untuk mempercepat penyelesaian studi.

4. **Bapak/Ibu dosen dan staff** di lingkungan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin yang telah membantu dan telah mentransfer ilmunya selama penulis menempuh pendidikan S1.
5. Bapak **Dr. Baharuddin.,MP** selaku dosen pembimbing akademik penulis selama penulis menempuh pendidikan sampai selesai.
6. Ibu **Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.**, Kak **Fitriani, S.Hut.**, Kak **Iswanto, S.Hut.,M.Si.**, Kak **Yusniar, S.Hut.**, Pak **Fadli, S.Hut.**, Kak **Aminah, S.P.**, yang telah bersedia membantu penulis selama melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon hingga skripsi ini selesai.
7. Teman-teman seperjuangan selama penelitian **Atisa Muslimin, Resky Amelia, Kiki Sulo, Iser, Zulfadilah, Nasrah, Devi Nurvaulasari, Musdalifah, S.Hut., Riskayana, Nurul Musdalifah, Sri Ayu, Nurul Andika, Marwah, Imelda, Sulas**, Kak **Yusril**, Kak **Jusri** dan teman-teman lab. Bioteknologi lainnya terima kasih atas dukungan, kebersamaan dan motivasi hingga skripsi ini selesai.
8. Terima kasih untuk support systemku **Miracle sp.** atas dukungan, doa yang selama ini diberikan kepada penulis dan selalu ada disaat suka maupun duka.
9. Terima kasih untuk **Atisa, Sindi** dan **Resky** atas support yang selalu diberikan kepada penulis.
10. Terima kasih untuk Kak **Yusrawati S.Pt.**, **Yusnaeni Darwis** dan **Ardini Kamal** yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi.
11. Terima kasih untuk Saudaraku **FRAXINUS angkatan 2017**, terima kasih atas kerjasamanya dan semangat yang kalian berikan kepada penulis dalam menyelesaikan kuliah di Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini, masih banyak terdapat kekurangan yang perlu diperbaiki, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam

penulisan skripsi ini semoga segala amal dan kebbaikannya mendapatkan balasan yang berlimpah dari Allah SWT.

Makassar, 05 Maret 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN .....	iii
ABSTRAK .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan dan Kegunaan .....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1. Bambu( <i>Bambusa sp.</i> ).....	3
2.1.1 Klasifikasi .....	3
2.1.2 Habitat dan Sebaran .....	4
2.2. Morfologi .....	5
2.2.1. Akar .....	5
2.2.2. Batang .....	5
2.2.3. Daun .....	5
2.3. Penanda Molekuler berdasarkan SSR.....	6
2.4. Uji Kualitas DNA .....	7
2.5. Seleksi Primer .....	9
2.5.1. Panjang Primer.....	10
2.5.2. Primer Annealing Temperature (Ta).....	10
III. METODE PENELITIAN.....	11
3.1. Waktu dan Tempat .....	11
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	11
3.3. Prosedur Penelitian .....	11
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	11
3.3.2 Isolasi DNA .....	12
3.3.3 Uji Kualitas DNA .....	12
3.3.4 Seleksi Primer .....	13
3.3.5 Elektroforesis .....	15
3.4. Analisis Data.....	15

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
4.1. Hasil .....	16
4.1.1 Uji Kualitas DNA .....	16
4.1.2 Seleksi Primer .....	17
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
5.1. Kesimpulan .....	23
5.2. Saran .....	23
DAFTAR PUSTAKA .....	24
LAMPIRAN.....	28

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1.	Nama Primer dan Sequen SSR yang digunakan untuk amplifikasi DNA Bambu.....	14
Tabel 2.	Nama Primer, Gradien Suhu dan Hasil Amplifikasi DNA Bambu .....	17

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1.	Hasil pengecekan kualitas DNA sampel Bambu .....	16
Gambar 2.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer DLUGMS03.20	
Gambar 3.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer DLUGMS23.20	
Gambar 4.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer DLUGMS61.21	

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1.	Dokumentasi Alat yang digunakan .....	29
Lampiran 2.	Dokumentasi Bahan yang digunakan .....	31
Lampiran 3	Dokumentasi Proses Penelitian di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon .....	33
Lampiran 4.	Hasil Elektroforesis Keseluruhan Primer .....	34
Lampiran 5.	Annealing Temperatur DNA Bambu Saat di PCR.....	39

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Tanaman rumpun bambu telah lama digunakan dalam kehidupan sehari-hari oleh masyarakat Indonesia. Sejak dahulu, bambu dianggap masyarakat sebagai tanaman serbaguna diantaranya dikonsumsi sebagai sayur, alat rumah tangga, alat musik, hingga bahan bangunan (Akmal, 2011). Menurut Widjaja (2001) bambu di dunia diperkirakan ada 1200-1300 jenis. Berdasarkan data di lapangan dan di laboratorium, bambu di Indonesia diketahui terdiri atas 143 jenis (Hingmadi, 2012).

Potensi Bambu di Indonesia sangat menjanjikan untuk dimanfaatkan dengan baik, karena mempunyai daur hidup yang relatif cepat, dengan waktu panen hanya 3-4 tahun, dapat dijadikan sebagai substitusi bahan baku kayu komersial. Kayu komersial semakin tahun produksinya semakin menurun dan harganya yang relatif mahal, sedangkan bambu memiliki keunggulan dibanding kayu karena bambu mudah dikembangkan, ulet elastisitas yang tinggi, mudah terbentuk dan harganya relatif murah (Effendi, 2015).

Potensi bambu yang mempunyai kualitas genetik yang baik belum banyak dijadikan dasar untuk mengembangkan jenis ini. Permasalahan yang dihadapi adalah masih kurangnya informasi potensi genetik tanaman tersebut. Keragaman genetik dapat diukur dengan pendekatan secara morfologi maupun molekuler.

Marka molekuler adalah DNA yang teridentifikasi, ditemukan pada lokasi tertentu pada genom, diwariskan dari generasi ke generasi berikutnya dengan mengikuti hukum pewarisan sifat. Beberapa penanda molekuler yang dikenal yaitu *restriction fragment length polymorphisms* (RFLP), *simple sequence repeat* (SSR), *amplified fragment length polymorphism* (AFLP), dan *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) (Olivia dkk, 2012).

Mikrosatelit atau SSR merupakan salah satu marka yang telah dikembangkan pada komoditas tanaman pangan dan perkebunan, marka molekuler ini telah dibuktikan memiliki keefektifan yang baik untuk proses pengorganisasian materi genetik berdasarkan jarak genetik serta pemetaan gen.

SSR memiliki keunggulan diantaranya yaitu terdiri dari satu penanda DNA yang mempunyai sekuen sederhana, terdiri dari satu sampai enam basa yang diulang, dan banyak dijumpai pada genom dengan jumlah sampel yang banyak (Fariza, 2014). Selain itu, SSR mampu membedakan jenis dan individu yang berkerabat secara genetik (Brondani, dkk, 1998; Burke dan Long, 2012).

Keberhasilan aplikasi DNA genom dengan menggunakan mikrosatelit sangat ditentukan oleh urutan basa primer yang digunakan serta kualitasnya atau kandungan primer dalam setiap reaksi. Penelitian sebelumnya pada eboni (*Diospyros celebica bakh*) menggunakan seleksi 17 marka mikrosatelit dan yang bisa digunakan untuk mengamplifikasi dan menganalisis DNA hanya tiga marka (Larekeng, 2016). Implikasi SSR untuk jenis-jenis tertentu seperti bambu masih terbatas sehingga rekomendasi marka primer yang dapat digunakan belum didapatkan.

Metode seleksi primer sangat penting dilakukan untuk pengembangan penanda mikrosatelit pada tanaman bambu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak primer mikrosatelit yang dapat teramplifikasi pada koleksi sampel DNA bambu di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

## **I.2 Tujuan dan Kegunaan**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan persentase amplifikasi marka mikrosatelit pada koleksi bambu di ASDG BPTH Wilayah II Kabupaten Gowa. Penelitian ini berguna untuk memberikan informasi marka mikrosatelit yang dapat menjadi rekomendasi untuk analisis keragaman genetik jenis bambu.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bambu (*Bambusa sp.*)

#### 2.1.1 Klasifikasi

Bambu adalah jenis tumbuhan rumput-rumputan dengan sistem klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monokotil
Ordo	: Graminae
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Bambusa</i>
Spesies	: <i>Bambusa sp.</i>

Bambu merupakan salah satu jenis rumput-rumputan yang termasuk ke dalam famili Poaceae dan salah satu dari komoditas hasil hutan bukan kayu. Arsad (2013), mengemukakan bahwa bambu sangat potensial sebagai bahan substitusi kayu karena rumpunan bambu dapat terus berproduksi selama pemanenannya terkendali dan terencana. Bambu memiliki beberapa keunggulan dibanding kayu yaitu memiliki rasio penyusutan yang kecil, dapat dilengkungkan atau memiliki elastisitas dan nilai dekoratif yang tinggi.

Sulastiningsih, dkk (2005), tanaman bambu memiliki kemampuan cepat tumbuh dan mempunyai daur yang relatif pendek yaitu 3 – 4 tahun sudah bisa dipanen. Bambu sebagai salah satu bahan baku yang mudah dibelah, dibentuk dan mudah pengerjaannya, disamping itu harganya relatif murah dibandingkan bahan baku kayu. Bambu termasuk tumbuhan yang mengandung lignoselulosa dan bisa dimanfaatkan untuk banyak keperluan. Selain itu bambu bisa dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan *wood pellet* atau biopellet. Teknologi ini mulai dikembangkan di Swedia pada tahun 80 –an sedangkan di Indonesia teknologi ini baru dikembangkan (Windarwati, 2011).

Menurut Sulastiningsih, dkk (2005), masalah yang timbul dalam pemanfaatan bambu sebagai bahan pertukangan adalah keterbatasan bentuk dan dimensinya serta mudah terserang organisme perusak bambu. Perlu dilakukan laminasi dan teknologi pengawetan.

### **2.1.2 Habitat dan Sebaran**

Bambu tumbuh di sepanjang Asia Timur mulai dari 50 derajat Lintang Utara di Sakhalin hingga ke Australia bagian utara dan di bagian barat India hingga ke Himalaya. Jenis bambu terbagi menjadi lebih dari 10 genus dan 1.450 spesies. Bambu dapat tumbuh di berbagai iklim dunia, mulai dari iklim dingin pegunungan hingga wilayah tropis yang panas. Bambu juga didapati tumbuh di sub Sahara Afrika dan di Amerika, tepatnya dari pertengahan Atlantik Amerika Utara hingga ke Selatan Argentina dan Chile pada posisi 47 derajat Lintang Selatan. Sedangkan bambu asli tidak ada yang tumbuh di wilayah benua Eropa (Gratani, 2008).

Bambu di Indonesia pada habitat alam tumbuh secara berkelompok karena perkembangbiakannya melalui tunas. Menurut Husnil (2009), tanaman Bambu mampu menggunakan ruang tumbuh secara maksimal. Produktivitas biomassa bambu per satuan luas lebih tinggi dibanding dengan sebagian besar jenis tanaman lainnya, sehingga banyak negara yang memilih bambu sebagai sumber energi baru yang terbarukan. Masyarakat Indonesia tidak terlepas dari bambu karena sifatnya yang ulet, lurus, rata, mudah diolah, mudah dibentuk dan dikerjakan serta ringan. Bambu relatif lebih murah, sehingga banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan rumah, perabotan rumah tangga, alat angkut, kerajinan, produk-produk yang menggunakan teknologi tinggi seperti papan bambu laminasi, pulp dan kertas serta masih banyak lagi.

Bambu hampir tumbuh diseluruh kawasan nusantara, beberapa wilayah bahkan memiliki bambu-bambu endemik yang hanya tumbuh di daerah tersebut, misalnya bambu endemik Jawa, Bali, Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara, Maluku dan Papua. Tanaman bambu ditemukan di daerah tropik Benua Asia yang merupakan daerah penyebaran alami terbesar, seperti di wilayah Afrika, dan Amerika. Pengetahuan tentang kondisi tempat tumbuh, pertumbuhan dan ciri morfologi masing-masing bambu juga penting, karena perbedaan tempat

tumbuh akan mempengaruhi sifat dan kualitas dari bambu tersebut (Manuhuwa, 2008).

## **2.2 Morfologi**

### **2.2.1 Akar**

Akar dari tanaman bambu ini terdapat di bagian bawah permukaan tanah dan membentuk sistem percabangan. Bagian dari pangkal akar rimpang bambu ini lebih sempit dari pada bagian ujung tanaman ini. Setiap ruas memiliki kuncup serta akar. Kuncup pada akar rimpang ini juga akan berkembang menjadi sebuah rebung yang kemudian memanjat serta akhirnya bisa menghasilkan buluh.

### **2.2.2 Batang**

Batang-batang bambu ini muncul dari akar-akar rimpang, ketika sudah tua maka batang bambu ini mengeras dan biasanya akan berongga. Batang tanaman ini memiliki bentuk yang slinder memanjang serta berbagi dalam beberapa ruas. Tinggi dari tanaman bambu ini sekitar 0.3 meter sampai 30 meter, dan memiliki diameter batangnya kira-kira sekitar 0.25 sampai 25 cm dengan ketebalan dinding sampai sekitar 25 mm. Batang dari bambu ini diselimuti oleh beberapa daun yang disebut dengan pelepah batang serta biasanya akan gugur ketika sudah terlihat tua. Pada bagian ujung dari pelepah batang, terdapat sebuah perpanjangan tambahan yang terlihat berbentuk segitiga serta disebut subang.

### **2.2.3 Daun**

Daun tanaman bambu ini yaitu daun lengkap karena mempunyai beberapa bagian seperti pelepah daun, tangkai daun serta helaian daun. Bangun daun tanaman ini berbentuk lanset, ujung pada daunnya meruncing, pangkal daun terlihat tumpul, tepi daun merata, serta daging daun terlihat seperti kertas.

Pertulangan tanaman daun bambu ini sejajar, yaitu mempunyai satu tulang yang ada di tengah yang besar sedangkan beberapa tulang lainnya lebih kecil serta tampak sejajar dengan sebuah ibu tulang daun. Permukaan dari daun bagian atas terlihat berbulu, sedangkan pada permukaan daun pada bagian bawah berbulu kasar. Bagian atas dari daun mempunyai warna hijau cerah sedangkan untuk permukaan bagian bawahnya berwarna hijau gelap.

### **2.3 Penanda Molekuler berdasarkan SSR**

Menurut Semagn, dkk (2006), definisi marka (penanda) molekuler adalah sekuen DNA yang dapat diidentifikasi, dan terdapat pada lokasi tertentu pada genom, dan dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Ibaratnya sebuah barcode, keberadaan marka molekuler tersebut secara prinsip memiliki perbedaan, sehingga untuk memilih dan pengaplikasian harus dengan hati-hati. Definisikan marka genetik merupakan gen yang terekspresi dan membentuk fenotip, biasanya mudah dibedakan, digunakan untuk identifikasi individu atau sel yang membawanya, atau sebagai probe untuk menandai inti, kromosom, atau lokus.

Marka molekuler SSR adalah salah satu marka yang telah dikembangkan pada komoditas tanaman pangan dan perkebunan, marka molekuler ini telah dibuktikan memiliki keefektifan yang baik untuk proses pengorganisasian materi genetik berdasarkan jarak genetik serta pemetaan gen. Saat ini SSR merupakan marka yang banyak dipilih oleh peneliti genetika molekuler karena sifatnya sangat polimorfik bahkan untuk spesies maupun galur yang memiliki hubungan kekerabatan yang dekat; membutuhkan DNA dalam jumlah kecil; dan dapat dilakukan secara otomatis.

Marka mikrosatelit mempunyai sifat seperti halnya marka RFLP. Mikrosatelit adalah motif sederhana urutan basa nitrogen yang terdapat pada kromosom suatu organisme. Urutan itu berulang-ulang sebagai motif yang unik. Para ilmuwan memanfaatkannya dengan memetakan urutan tersebut pada kromosom suatu organisme, sehingga penggunaan marka mikrosatelit memiliki kemampuan mendeteksi suatu populasi segregasi seakurat RFLP (Zane, dkk., 2002). Penggunaan marka mikrosatelit relatif mudah karena menggunakan teknik PCR, terdistribusi pada seluruh kromosom sehingga diharapkan semakin tinggi kemungkinan untuk mendapatkan marka yang terpaut dengan suatu sifat tertentu yang menjadi sekuen target. Pembukaan peta keterpautan mikrosatelit didalam 11 merakit varietas baru juga dapat menghemat waktu, tenaga, dan dana (Jannati, dkk., 2009).

Analisis variasi genetik menggunakan penanda mikrosatelit adalah analog dengan metode lama yakni elektroforesis protein. Sejumlah mikrosatelit

diaplikasikan untuk mendeteksi sejumlah alternatif alel pada lokus genetik spesifik. Alel-alel individu mencerminkan frekuensi yang berbeda antar populasi yang berbeda (Bradley, dkk, 1998 ; Cintamulya, 2013).

Mikrosatelit sebagai penanda DNA digunakan dalam melihat variasi genetik varian jati arboretum yang digunakan sebagai dasar dalam seleksi tetua. Hasil seleksi variasi jati digunakan untuk program *breeding* terkait sifat-sifat tertentu dengan tujuan peningkatan produksi dan kualitas kayu jati (Cintamulya, 2013).

## **2.4 Uji Kualitas DNA**

Uji kualitas DNA merupakan metode standar yang digunakan untuk identifikasi, pemisahan dan purifikasi fragmen DNA menggunakan elektroforesis gel agarosa. Kelebihan elektroforesis horizontal menggunakan gel agarosa dengan menggunakan pembanding lambda DNA yaitu penentuan jumlah kuantitas DNA total yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh kontaminan DNA. DNA yang dihitung yaitu DNA pada bagian atas sumur. Dibandingkan dengan alat pengujian lain seperti spektrofotometer, alat tersebut menghitung kuantitas DNA secara keseluruhan termasuk DNA yang rusak dan patah. Tingkat kemurnian DNA nya tidak nampak pada elektroforesis horizontal, namun kualitas DNA nya dapat dilihat pada hasil pendaran cahaya yang menampakkan ada atau tidaknya kontaminasi pada DNA, hal ini dapat dilihat dengan munculnya latar belakang yang *smear* disepanjang jalur pergerakan pita genom DNA. DNA dengan kualitas baik adalah DNA yang bersih dan tidak mengalami kontaminasi dari komponen-komponen lain dari sel. Menurut Utami (2012), kualitas DNA yang baik dapat dilihat dengan tingginya intensitas pita yang dihasilkan dan rendahnya intensitas *smear*.

Menurut Fatchiyah (2011), kontaminan DNA yang biasanya ditemukan yaitu adanya polisakarida yang dapat mengganggu proses lanjutan seperti PCR, terjadi hambatan aktifitas *Taq polimerasi* atau kontaminan lainnya yaitu polifenol yang dalam bentuk teroksidasi akan mengikat DNA secara kovalen. Komponen-komponen yang terkait selama proses ekstraksi dijaga kondisinya agar tetap dingin. Sebagai bahan dasar untuk proses PCR, maka DNA yang digunakan harus bersih dari kontaminan (mempunyai kemurnian tinggi).

Proses pengambilan dan penyimpanan sampel yang kurang baik dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi. Kesalahan teknik pengambilan supernatant akan terkontaminasi oleh lisis buffer serta proses digesti DNA yang mungkin tidak sempurna karena selama inkubasi, sampel tersebut tidak digoyang (*shaking*) sehingga pada saat pengambilan fenol, sebagian protein tidak ikut terikat dan tetap berikatan dengan DNA dalam sampel. Konsentrasi DNA yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menyebabkan proses amplifikasi DNA tidak berjalan dengan baik. Konsentrasi yang memerlukan pengenceran DNA dan jika terlalu rendah, dilakukan ekstraksi ulang. Konsentrasi DNA yang telah diperoleh diseragamkan dengan melakukan pengenceran, pengenceran DNA dilakukan agar pada tahap PCR primer dapat menempel pada pita DNA sehingga dapat teramplifikasi baik.

Kualitas DNA juga merupakan komponen yang cukup berpengaruh dalam amplifikasi DNA pada proses PCR, DNA dengan kualitas yang baik merupakan DNA yang tidak mengalami kontaminasi dari komponen-komponen lain dari sel. Menurut Tenri dkk, (2011), bahwa DNA yang memiliki kualitas baik ialah DNA yang bersih dan tidak terkontaminasi seperti yang dijelaskan diatas bahwa, kontaminasi oleh fenol dan bahan organik lainnya dapat dilihat dengan munculnya latar belakang yang smear disepanjang jalur pergerakan pita genom DNA. Restu (2012), mengungkapkan bahwa setiap jenis tanaman memiliki kandungan senyawa sekunder yang berbeda-beda sehingga membutuhkan ekstraksi yang optimum. Teknik ekstraksi yang tepat sangat menentukan kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan.

## **2.5 Seleksi Primer**

Oligonukleotida (primer) adalah molekul nukleotida berukuran pendek sekitar 10-30 basa nukleotida yang diperlukan dalam mengawali proses sintesis DNA. Urutan basa nukleotida pada primer ditentukan agar dapat menempel. Kegiatan seleksi primer dilakukan untuk mencari primer ditentukan agar dapat menempel. Kegiatan seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda polimorfik lokus yang diperoleh (Yuwono, 2008).

Kegiatan seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda polimorfik, baik dari jelasnya pita polimorfik yang

dihasilkan maupun jumlah polimorfik lokus yang diperoleh. Optimalisasi primer dengan cara membuat beberapa reaksi PCR terhadap semua primer yang ada pada beberapa kondisi yang berbeda dengan menggunakan beberapa sampel DNA yang sama sehingga dapat diketahui kondisi optimum serta tingkat polimorfik, pita-pita yang dihasilkan jelas, reproduksibilitas baik, hasil amplifikasi pita DNA relatif stabil, dan mudah dibaca (Hartati, dkk, 2007).

Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya, akibatnya dapat teramplifikasi banyak daerah tidak spesifik dalam genom tersebut. Suhu penempelan (*annealing*) ini ditentukan berdasarkan primer yang digunakan yang dipengaruhi oleh panjang dan komposisi primer (Suryanto, 2003).

Keberhasilan amplifikasi DNA genom menggunakan teknik SSR selain ditentukan oleh urutan basa primer yang digunakan serta kuantitasnya (kandungan primer dalam setiap reaksi), ditentukan pula oleh kesesuaian kondisi PCR yang meliputi suhu annealing primer dan ekstensi (Prana dan Hartati, 2003).

Penelitian Nurutami (2018) tentang seleksi primer mikrosatelit pada enam provenansi Mahoni (*Swietenia macrophylla*), menunjukkan 1 primer yang dapat teramplifikasi 8 sampel dari 12 sampel yang diuji yaitu primer Sm46, sedangkan terdapat 3 primer yang tidak berhasil teramplifikasi yaitu primer Sm18, Sm43 dan Sm51.

### **2.5.1 Panjang Primer**

Desain primer yang diperlukan untuk PCR adalah sepasang primer yang dikenal dengan forward primer dan reverse primer. Primer yang diperoleh merupakan rangkaian basa nukleotida yang unik dan diusahakan memiliki ukuran pendek untuk meminimalkan biaya. Panjang primer berkisar 18-30 basa, didasarkan pada pertimbangan kombinasi acak yang ditemukan pada satu urutan genom. Probabilitas menemukan 1 basa A, G, C atau T pada satu basa adalah  $\hat{A}^{1/4}$

(4-1), probabilitas menemukan dua basa sequence (AG, AC, CG, dll) adalah  $1/16$  (4-2), probabilitas menemukan 4 basa sequence (ACGT, CGAT, dll) adalah  $1/256$  (4-4). Sehingga 17 basa primer secara statistik akan ditemukan sekali dalam setiap 417 basa sequence, atau sekitar 17 miliar basa sequence. Primer dengan panjang lebih dari 30 basa tidak disarankan, karena tidak menunjukkan spesifisitas yang lebih tinggi. Selain itu, primer yang panjang dapat berakibat terhibridasi dengan primer lain sehingga tidak membentuk polimerisasi DNA (Sasmito dkk, 2014)

Panjang primer yang digunakan pada penelitian berbeda-beda, namun tetap meminimalkan ukuran primer. Kampke dkk dan Jain Shing Wu dkk menggunakan panjang primer 16-28 basa. Sementara dalam teorinya, Burpo menggunakan batas 18-22 basa. Penelitian lain, tidak menggunakan panjang primer sebagai batasan langsung, melainkan menggunakan selisih panjang forward primer dan reverse primer (Sasmito dkk, 2014).

### **2.5.2 Primer Annealing Temperature ( $T_a$ )**

Primer *Annealing Temperature* ( $T_a$ ) merupakan suhu yang diperkirakan agar primer dapat berkaitan dengan *template* (DNA) secara stabil. Suhu *annealing* yang tinggi akan menyulitkan terjadinya ikatan primer sehingga menghasilkan produk PCR yang kurang efisien. Sebaliknya, suhu aneling yang terlalu rendah menyebabkan terjadinya penempelan primer pada DNA di tempat yang tidak spesifik. Nilai suhu *annealing* yang sebanding dengan suhu leleh menyebabkan suhu aneling tidak dimasukkan dalam perhitungan keoptimalan desain primer (Sasmito dkk, 2014).