

**SKRIPSI**

**SELEKSI PRIMER UNTUK ANALISIS KERAGAMAN  
GENETIK JENIS PINUS ROMBENG BERDASARKAN  
PENANDA MOLEKULER RAPD**

**Disusun dan diajukan oleh**

**KIKI SULO**

**M011171042**



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN  
FAKULTAS KEHUTANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2021**

## LEMBAR PENGESAHAN

### SELEKSI PRIMER UNTUK ANALISIS KERAGAMAN GENETIK JENIS PINUS ROMBENG BERDASARKAN PENANDA MOLEKULER RAPD

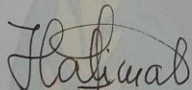
Disusun dan diajukan oleh

**KIKI SULO**  
**M011171042**

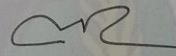
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kehutanan Fakultas  
Kehutanan Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 27 Juli 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

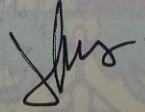
**Pembimbing Utama**

  
**Dr. Siti Halimah Larekeng, SP., MP**  
NIP. 19820209 201504 2 002

**Pembimbing Pendamping**

  
**Mukrimin, S.Hut, M.P., Ph.D**  
NIP. 19680410 199512 2 001

**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 : Kiki Sulo  
Nim : M011170142  
Program Studi : Kehutanan  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul  
“ Seleksi Primer Untuk Analisis Keragaman Genetik Jenis Pinus Rombeng  
Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD ”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar - benar merupakan hasil karya 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, 27 Juli 2021

Yang Menyatakan



Kiki Sulo

## ABSTRAK

**KIKI SULO (M011171042). Seleksi Primer untuk Analisis Keragaman Genetik Jenis Pinus Rombeng Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD. Di bawah bimbingan Siti Halimah Larekeng dan Mukrimin.**

Pinus merupakan genus dari tanaman konifer yang memiliki berbagai macam jenis. Penanaman pinus semakin ditingkatkan dimasa kini dan masa mendatang karena pinus merupakan tanaman yang memiliki banyak bagian yang dapat dimanfaatkan, namun apabila terjadi eksploitasi secara terus menerus maka tegakan pinus akan punah, maka dari itu dilakukan pemuliaan tanaman. Salah satu upaya yang terus dilakukan dalam mendukung keberhasilan program pemuliaan tanaman adalah menganalisis keragaman genetik. Salah satu metode analisis keragaman yang banyak digunakan adalah dengan RAPD. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi primer RAPD yang *polimorfik* untuk dijadikan rujukan dalam analisis keragaman genetik jenis Pinus Rombeng (*Pinus sp*) berdasarkan penanda molekuler RAPD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 22 primer RAPD dilakukan seleksi primer menunjukkan sembilan primer yang teramplifikasi polimorfik dan menghasilkan pita yang jelas yaitu primer OPAD 11, OPA 05, OPA 15, OPAE 11, OPAC 12, OPK 20, OPQ 07, OPD 20, dan M 29 yang akan digunakan untuk analisis lanjutan keragaman genetik Pinus Rombeng (*Pinus sp*).

**Kata Kunci : Pinus, Seleksi Primer, Keragaman Genetik, Penanda RAPD**

## KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas anugerah, kasih, dan rahmat-Nya yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Seleksi Primer Untuk Analisis Keragaman Genetik Jenis Pinus Rombeng Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD”. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kehutanan pada Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan yang disebabkan oleh keterbatasan penulis. Namun dengan adanya arahan dan bimbingan dari berbagai pihak berupa pengetahuan, dorongan moril dan bantuan materil, maka penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karenanya, pada kesempatan ini secara khusus dan penuh kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng, SP.,MP** dan Bapak **Mukrimin, S.Hut, M.P.,Ph.D** selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing serta memberi arahan dalam penyusunan skripsi ini.

Penghargaan yang tulus dan ucapan banyak terimakasih dengan penuh keiklasan juga penulis ucapkan kepada :

1. Ibu **Gusmiaty, S.P, M.P.** dan Bapak **Emban Ibnurusyid Mas’ud, S.Hut, MP.** selaku penguji yang telah memberikan masukan dan saran – saran serta koreksi guna penyempurnaan skripsi ini.
2. Kak **Iswanto, S.Hut, M.Hut,** Kak **Harlina, S.Si.,** dan **Kak Fitriani, S.Hut.,** yang telah bersedia membantu penulis selama melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon serta seluruh teman – teman **Bioteknologi** yang mendukung serta memberi motivasi bagi penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. Seluruh dosen Pengajar dan Staf Administrasi Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

4. **Atisa Muslimin, Iser Purwanti Ayu, Musdalifah S.Hut, Annisa Nurislami S.Hut, Patta Nani Sallata, Rindiani, Angelia Marcelin Pagewang, dan Stefani Ambalinggi** selaku orang-orang yang mendukung penulis dalam penyusunan skripsi.
5. **GAMARA UNHAS** (Keluarga Mahasiswa Toraja Universitas Hasanuddin) yang selama ini menjadi wadah atau tempat belajar di luar bangku kuliah. Terima kasih untuk kebersamaannya, serta segala ilmu, kesempatan dan pengalaman berharganya
6. **PDRMK** (Persekutuan Doa Rimbawan Mahasiswa Kehutanan) menjadi tempat belajar bertumbuh dalam Kristus serta selalu mendoakan dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai.
7. **FRAXINUS** angkatan 2017 saya ucapkan banyak terima kasih untuk segala dukungan dan kebersamaan selama masa perkuliahan hingga akhir semester.

Rasa hormat dan ucapan banyak terimakasih yang sedalam – dalamnya penulis ungkapkan dan persembahkan kepada kedua orang tua tercinta penulis, Ayahanda **Daniel Tandi** dan Ibunda **Bertha** serta kepada adik saya **Pebriani Tasik** yang senantiasa mendoakan, mendukung, serta memberikan motivasi, perhatian, nasehat, serta kasih sayang yang luar biasa kepada penulis. Semoga kelak penulis dapat membahagiakan dan membanggakan keluarga.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini, masih banyak kekurangan yang perlu diperbaiki, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak – pihak yang membutuhkan dan khususnya kepada penulis sendiri.

Makassar, 27 Juli 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan .....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Tanaman Konifer .....	4
2.2 Seleksi Primer .....	6
2.3 Keragaman Genetik.....	6
2.4 Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD).....	9
III. METODE PENELITIAN .....	12
3.1 Waktu dan Tempat .....	12
3.2 Alat dan Bahan .....	12
3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.3.1 Seleksi Primer .....	12
3.3.2 Elektroforesis .....	14
3.4 Analisis Data.....	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	15
4.1 Seleksi Primer RAPD .....	15

V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	23
5.1 Kesimpulan .....	23
5.2 Saran .....	23
DAFTAR PUSTAKA .....	24
LAMPIRAN .....	27



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1.	Nama Primer dan Sekuen Primer RAPD.....	13
Tabel 2.	Primer RAPD dan Hasil Amplifikasi pada Pinus Rombeng .....	15
Tabel 3.	Primer Pita Jelas dan Polimorfik pada Pinus Rombeng .....	18
Tabel 4.	Primer Pita Kurang Jelas dan Polimorfik .....	19
Tabel 5.	Primer Polimorfik dan Suhu <i>Annealing</i> pada Pinus Rombeng .....	21

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada primer OPK 20 yang menghasilkan pita jelas dan polimorfik .....	17
Gambar 2.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada primer OPC 11 yang menghasilkan pita kurang jelas dan polimorfik .....	18
Gambar 3.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada primer OPG 19 yang menghasilkan pita tebal dan <i>smear</i> .....	19
Gambar 4.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada primer OPG 09 yang tidak teramplifikasi.....	20

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1.	Dokumentasi alat yang digunakan .....	28
Lampiran 2.	Dokumentasi bahan yang digunakan .....	30
Lampiran 3.	Dokumentasi penelitian molekuler di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon.....	32
Lampiran 4.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pita jelas dan polimorfik...	33
Lampiran 5.	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pita kurang jelas dan polimorfik .....	36

# I. PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Pinus merupakan tumbuhan konifer yang menjadi komoditas utama bagi bahan baku industri *pulp* dan kertas, serta penghasil *gondorukem* dan *terpentin*. Pinus dengan berbagai macam jenisnya dapat tumbuh di berbagai belahan bumi (Widyodaru, 2017), salah satu pinus yang tumbuh di Indonesia adalah Pinus Rombeng (*Pinus* sp) merupakan salah satu pinus yang baru-baru ditemukan di Kabupaten Bantaeng tetapi belum diketahui spesiesnya, namun memiliki nama lokal yaitu Pinus Rombeng. Pinus ini termasuk jenis pinus eksotik yang perlu dilakukan pemuliaan pohon.

Keragaman genetik merupakan syarat yang mutlak dalam melakukan pemuliaan pohon (Effendy *et al.*, 2018). Keragaman genetik dapat menghasilkan genotip yang sangat baik melalui seleksi. Pemilihan primer untuk analisis keragaman genetik sangat berpengaruh terhadap *polymorfisme* pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri akibatnya, pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda baik dari ukuran pasang basa maupun jumlah pita DNA. Primer tersebut merupakan primer yang dapat menghasilkan pita-pita polimorfik, jelas, reproduksibilitas baik, hasil amplifikasi pita DNA relatif stabil dan mudah dibaca (Gusmiaty *et al.*, 2017).

Intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi cetakan DNA yang mengandung senyawa-senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik, serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil, sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas (Gusmiaty *et al.*, 2021). Penanda molekuler digunakan untuk menyusun kekerabatan dari beberapa individu dalam spesies maupun kekerabatan antar spesies.

Penanda molekuler terbukti mampu memberikan akurasi dan keandalan yang superior dalam melakukan analisis keragaman genetik tanaman. Perkembangan berbagai jenis penanda molekuler diantaranya adalah isoenzim, *restriction*

*fragment length polymorphisms* (RFLP), *simple sequence repeat* (SSR), *amplified fragment length polymorphism* (AFLP), dan *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Metode yang banyak digunakan adalah RAPD, karena penanda genetik ini mampu mengidentifikasi keragaman pada tingkat interspesies maupun intraspesies (Fitriani, 2019). Teknik RAPD dapat diterapkan pada hampir semua jenis tanaman, dimana diperlukan DNA yang murni. Penanda molekuler RAPD digunakan untuk menyeleksi secara acak untuk mendeteksi polimorfisme *fragment DNA*.

Seleksi primer dilakukan untuk menentukan primer yang polimorfik serta menghasilkan pita yang jelas, melalui suhu *annealing* yang dihasilkan dari setiap primer. Seleksi primer dilakukan dengan membuat beberapa reaksi PCR terhadap beberapa primer dan memilih sampel DNA secara acak pada kondisi yang sama, sehingga dapat ditentukan kondisi optimum serta tingkat variasi pita yang dihasilkan dari setiap primer (Rahman, 2019). Seleksi primer berfungsi untuk melihat pada suhu beberapa sampel tersebut dapat teramplifikasi.

Penelitian sebelumnya tentang seleksi primer menggunakan primer RAPD telah dilakukan pada beberapa jenis tanaman yaitu Bitti (*Vitex coffassus*) (Gusmiaty *et al.*, 2012), Kemiri (*Aleurites mollucana*) (Gusmiaty *et al.*, 2021), Pinus merkusii (Gusmiaty *et al.*, 2017), Kayu merah (*Pterocarpus indicus*) willd (Sulistiyawati dan Widyatmoko, 2017), dan Kulim (*Scorodocarpus Borneensis*) (Frianto *et al.*, 2018). Penelitian seleksi primer Pinus Rombeng perlu dilakukan agar diperoleh informasi primer rujukan yang akan digunakan untuk menganalisis keragaman genetik jenis Pinus Rombeng (*Pinus* sp) berdasarkan penanda molekuler.

## **1.2 Tujuan dan Kegunaan**

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi primer RAPD yang *polimorfik* untuk dijadikan rujukan dalam analisis keragaman genetik jenis Pinus Rombeng (*Pinus* sp) berdasarkan penanda molekuler RAPD. Adapun kegunaan

penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dasar mengenai analisis lanjutan keragaman genetik jenis Pinus Rombeng (*Pinus* sp).

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Konifer

Tanaman konifer merupakan jenis tanaman yang banyak dibudidayakan sebagai tanaman hutan di dunia. Tercatat, pada tahun 1993 didapatkan informasi bahwa dari 25.250 juta hektar (ha) luas tanaman dunia, sekitar 75% atau 18.950 juta hektar (ha) diantaranya adalah merupakan tanaman konifer (ARICI, 2019). Pinus merupakan salah satu jenis tanaman konifer yang menjadi andalan dalam pembangunan hutan tanaman.

Pinus merupakan genus dari tanaman konifer yang memiliki berbagai macam jenis. Di Indonesia, jenis pinus yang banyak dijumpai adalah *Pinus merkusii* Jungh dan de Vries yang berasal dari daerah Sipirok, Tapanuli Selatan, Sumatera Utara yang kemudian dikembangkan ke daerah lain melalui penanaman, salah satunya ke Pulau Jawa. *Pinus merkusii* Jungh dan de Vries banyak ditanam di daerah-daerah di Indonesia karena *Pinus merkusii* merupakan primadona (60%) dalam penyelamatan hutan, tanah dan air khususnya kegiatan reboisasi dan penghijauan oleh Kementerian Kehutanan yang telah dilaksanakan sejak era tahun 60-an (Pusat Penelitian Biologi-LIPI, 2015).

Penamaan pinus semakin ditingkatkan dimasa kini dan masa mendatang, karena pinus merupakan tanaman yang memiliki banyak keunggulan dan hampir semua bagian tanamannya dapat dimanfaatkan, mulai dari batang yang dimanfaatkan di bidang industri seperti bahan konstruksi, korek api, *pulp*, dan kertas serat panjang. Kulit pinus dapat dijadikan sebagai bahan bakar dan abunya sebagai campuran dalam pembuatan produk karena memiliki kandungan kalium yang tinggi. Getah pinus mengandung *gondorukem* dan *terpentin* (Saputra, 2019).

*Terpentin* merupakan golongan minyak atsiri yang terdiri dari komponen utama alpha pinen yang merupakan senyawa yang dapat memberikan aroma yang khas pada tumbuhan. Minyak atsiri berperan sebagai antiseptik/anti bakteri, anti jamur, perangsang selera makanan, deodoran, ekspektoran, dan insektisida. *Gondorukem* merupakan olahan dari getah pinus yang kebutuhannya sangat di

butuhkan oleh pasar dunia. Di Indonesia, produksi *gondorukem* masih kurang memenuhi kebutuhan pasar dunia dibandingkan dengan Cina (Widyodaru, 2017).

Perkembangbiakan pinus secara alami membutuhkan waktu yang sangat lama. Pada *Pinus merkusii*, perbanyakan, seleksi, maupun perbaikan genetik secara konvensional berjalan sangat lambat dikarenakan *Pinus merkusii* ini memiliki siklus hidup yang panjang, yaitu sekitar 20-50 tahun. Selain itu, waktu yang diperlukan untuk pembentukan biji mulai dari terjadinya penyerbukan hingga biji matang dengan embrio yang siap berkecambah adalah sekitar dua tahun (Widyodaru, 2017).

Pinus merupakan tumbuhan *Gymnospermae* atau berbiji terbuka yang memiliki tajuk pohon berbentuk cemara atau kerucut dan daun berbentuk jarum. Pinus termasuk jenis yang cepat tumbuh dan dapat tumbuh baik pada tanah yang kurang subur serta tidak memerlukan tempat tumbuh dengan persyaratan khusus. Hampir semua bagian pohon dapat dimanfaatkan, antara lain bagian batangnya dapat disadap untuk diambil getahnya. Getah tersebut diproses lebih lanjut menjadi *gondorukem* dan *terpentin*. *Gondorukem* dapat digunakan sebagai bahan untuk membuat sabun, resin dan cat. *Terpentin* digunakan untuk bahan industri parfum, obat-obatan dan desinfektan. Hasil kayunya bermanfaat untuk konstruksi, *furniture*, batang korek api, *pulp* dan kertas serat panjang. Bahan kulitnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar dan abunya digunakan untuk campuran pupuk karena mengandung kalium (Gusmiaty *et al.*, 2017).

Eksplorasi secara terus menerus tanpa diimbangi dengan penanaman dan pengembangan tanaman akan menyebabkan potensi tegakan pinus di alam akan terus terdegradasi dan pada akhirnya akan punah. Bertolak dari permasalahan tersebut pengembangan tanaman pinus perlu dilakukan. Salah satu upaya yang terus dilakukan untuk meningkatkan potensi hasil adalah pemuliaan tanaman (Gusmiaty *et al.*, 2017).

Keragaman genetik diperlukan untuk mengetahui besarnya variasi genetik yang ada. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk adaptasi ekologi dalam jangka pendek dan evolusi jangka



panjang, sehingga dapat berguna dalam menyusun strategi pemuliaan pohon (Rimbawanto, 2006).

## **2.2 Seleksi Primer**

Seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda pita, baik dari jelasnya pita yang dihasilkan maupun jumlah lokus (primer) yang diperoleh (Gusmiaty *et al.*, 2021). Informasi tentang variasi genetik dan gen aksi yang diekspresikan dalam populasi primer diperlukan untuk menentukan metode seleksi pemuliaan yang tepat (Larekeng, 2020).

*Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) adalah bahan yang diwariskan dan merupakan unsur pokok kromosom yang disebut nuklein atau bahan yang ada hubungannya dengan nukleus. DNA merupakan material dasar dari hereditas dan makromolekul biologi untuk penyimpanan informasi genetik (Juniarti *et al.*, 2013).

Keragaman genetik suatu populasi dapat diukur dengan alat berupa penanda genetik (*genetic marker*). Karakter genetik yang dapat diamati menggunakan penanda genetik pada tingkat morfologi dan molekuler. Penanda molekuler didasarkan pada variasi asam nukleat dimana pengamatannya langsung pada bagian DNA. Penanda biokimia didasarkan pada variasi protein atau enzim yang merupakan hasil ekspresi dari DNA. Kedua penanda ini memerlukan sampel jaringan tanaman untuk kemudian dilakukan ekstraksi bagian DNA atau protein enzim (Haines *et al.*, 2019).

## **2.3 Keragaman Genetik**

Keanekaragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini mungkin dapat mempengaruhi *fenotipe* suatu organisme yang dapat dilihat secara langsung atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu. Secara umum, keanekaragaman genetik dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain. Keragaman dalam populasi tanaman mempunyai arti yang sangat penting untuk pengembangan sumber genetik yang diperlukan dalam

pemuliaan tanaman. Tingkat keragaman individu dalam populasi menggambarkan status keberadaan spesies tersebut di alam (Sembiring *et al.*, 2015).

Keragaman dalam populasi tanaman mempunyai arti yang sangat penting untuk pengembangan sumber genetik yang diperlukan dalam pemuliaan tanaman. Tingkat keragaman individu dalam populasi menggambarkan status keberadaan spesies tersebut di alam. Populasi dengan keragaman genetik yang tinggi mempunyai peluang hidup yang lebih baik karena mempunyai kemampuan yang lebih baik untuk beradaptasi dengan lingkungannya. Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu faktor penting untuk merakit varietas unggul baru. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan memanfaatkan plasma nutfah yang tersedia di alam dan dapat pula dengan melakukan persilangan. Sifat-sifat tertentu sering tidak ditemukan pada sumber gen yang ada sehingga teknologi lainnya perlu diterapkan (Sembiring *et al.*, 2015).

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. Penilaian keragaman genetik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia dan molekuler DNA (Zulfahmi, 2013).

Keragaman genetik adalah suatu tingkatan biodiversitas yang mengacu pada jumlah total variasi genetik dalam keseluruhan spesies yang terdapat pada sebagian atau seluruh permukaan bumi yang dapat didiami. Informasi keragaman genetik diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk kegiatan konservasi. Keragaman genetik yang luas diperlukan dalam kegiatan seleksi untuk merakit tanaman unggul (Ardiyani *et al.*, 2014).

Keragaman genetik merupakan faktor yang sangat berpengaruh dalam menyusun strategi pemuliaan pohon. Karakter genetik suatu jenis pohon baik yang terdapat dalam satu tempat tumbuh maupun yang berbeda provenansi dapat berbeda, hal ini disebabkan karena perbedaan genetik. Hal ini akan menunjukkan sifat dan kekhasan suatu tegakan. Tegakan atau provenansi yang memiliki

karakter genetik yang baik dapat menjadi sumber yang tepat untuk kegiatan pemuliaan pohon (Langga *et al.*, 2012).

Keragaman genetik dapat diamati dengan pengamatan karakter genetik, sifat yang diamati adalah DNA yang sulit dipengaruhi lingkungan. Oleh karena itu, untuk mengetahui tingkat variasi antar provenansi dan dalam provenansi dapat dilakukan dengan melihat karakter genetik. Selain itu, keragaman genetik sangat penting dalam upaya menyediakan informasi bagi kegiatan pengembangan dan peningkatan hasil produksi serta upaya konservasi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mempersingkat waktu pemuliaan adalah menganalisis secara molekuler (Langga *et al.*, 2012).

Pendekatan genetik molekuler menggunakan DNA penanda telah berhasil menetapkan penanda molekuler itu mampu mendeteksi gen dan sifat tertentu. Kemampuan untuk membedakan suatu genotipe individu dalam spesies atau beberapa genotipe yang benar sangat dibutuhkan dalam pemuliaan program. Penanda molekuler digunakan untuk menyusun hubungan di beberapa individu dalam spesies juga antar spesies (Makmur *et al.*, 2020).

Hasil penelitian untuk keragaman genetik menggunakan penanda genetik molekuler telah banyak dilakukan, seperti keragaman genetik anakan *Shorea leprosula* menggunakan 4 penanda mikrosatelit menghasilkan tingkat keragaman genetik yang cukup tinggi dari masing-masing populasi berdasarkan nilai keragaman genetik yang teramati dengan menggunakan program GenA1Ex 6.4 (Sulistiyawati & Widyatmoko, 2017).

Analisis keragaman genetik dan kekerabatan antar spesies maupun antar genotipe mempunyai andil besar dalam mendukung keberhasilan program pemuliaan tanaman karena dapat mengelompokkan plasma nutfah berdasarkan kesamaan genetiknya dan dapat digunakan untuk menentukan tetua persilangan (Izzah & Reflinur, 2019).

Penanda genetik merupakan urutan DNA yang dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Urutan basa nukleotida yang beragam antar spesies dapat digunakan sebagai penanda spesifik yang memberikan pengetahuan mengenai hubungan filogenetik untuk mengatasi keraguan dalam sistematika.

Penanda genetik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) merupakan amplifikasi genom DNA berdasarkan teknik PCR. Analisis ini menggunakan primer tunggal dengan panjang urutan basa nukleotida sebanyak 10 basa. Analisis RAPD digunakan untuk melihat keragaman genetik berdasarkan tingkat *polimorfisme*. Ruas penempelan dengan perbedaan panjang fragmen DNA diasumsikan mengikuti pola pewarisan Mendel (Chauhan dan Rajiv, 2010).

## **2.4 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)**

Salah satu metode analisa keragaman yang banyak digunakan adalah dengan RAPD. RAPD merupakan salah satu marka molekuler berbasis PCR yang banyak digunakan dalam mengidentifikasi keragaman pada tingkat interspesies maupun antarspesies (Pharmawati, 2001). Teknik RAPD memiliki keunggulan diantaranya adalah murah dan relatif mudah dilakukan karena hanya memerlukan sejumlah kecil DNA.

Penggunaan penanda RAPD memungkinkan untuk mendeteksi polimorfisme fragmen DNA yang diseleksi dengan menggunakan satu primer bersifat acak. Alel pada penanda RAPD yaitu pita atau dominan *marker* (penanda). Pola pita DNA hasil RAPD dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu komponen reaksi PCR (konsentrasi DNA *template*, konsentrasi enzim *polymerase*, konsentrasi primer, dan jumlah siklus termal), suhu siklus PCR (*denaturation* dan *annealing*) (Fitriani, 2019).

Pendekatan marka genetik untuk mempelajari variasi genetik suatu spesies sangat diperlukan karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan bersifat stabil. Marka RAPD merupakan salah satu marka berbasis PCR dan data molekuler yang diperoleh mampu digunakan sebagai penanda DNA *fingerprinting*. Identifikasi dengan penggunaan marka molekuler dapat dilakukan pada fase awal pertumbuhan tanpa merusak spesies karena hanya membutuhkan sedikit sampel. RAPD sangat umum digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada berbagai spesies pohon (Gusmiaty *et al.*, 2017).

RAPD merupakan salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mendeteksi keragaman genetika pada tingkat pada daerah penyandi maupun

bukan daerah penyandi protein dengan cara mendeteksi sekuens polimorfik dalam rantai nukleotida. RAPD dapat mendeteksi keragaman DNA dari suatu populasi tanaman berdasarkan pada penggandaan DNA PCR (Lengkong, 2005).

RAPD adalah salah satu pendekatan berbasis DNA yang paling populer. Uji RAPD dan teknik terkait telah terbukti mendeteksi efek pada DNA. Keunggulan dari teknik analisis menggunakan penanda RAPD diantaranya adalah kuantitas DNA yang dibutuhkan sedikit, lebih menghemat biaya, mudah dipelajari dan primer yang digunakan sudah banyak dikomersialisasikan sehingga mudah diperoleh. Kelemahannya adalah tingkat reproduktibilitas pola marka dari laboratorium ke laboratorium yang berbeda, dan antara hasil percobaan dalam laboratorium itu sendiri yang sama, sangat sensitif terhadap variasi dalam konsentrasi DNA, dan memerlukan konsentrasi primer dan kondisi siklus suhu yang optimal pada saat pengujian (Wolfman, 2013).

RAPD merupakan salah satu penanda yang cukup mudah, efektif, dan ekonomis dimana tujuannya itu untuk melihat variasi somaklonal. Dengan menggunakan penanda RAPD dapat membedakan antara klon, keberadaan mutasi gen, serta jumlah kromosom (Andis, 2018).

RAPD merupakan salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik pada tingkat DNA. Sudah banyak penelitian yang mengaplikasikan metode RAPD ini, sehingga informasi penelitian ini dapat dijadikan dasar pertimbangan dalam pemilihan materi genetik (Martono *et al.*, 2018). Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu dari beberapa teknik pembuatan penanda berbasis DNA dengan melibatkan penggunaan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Teknik PCR-RAPD dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan genotip normal dan abnormal, berdasarkan perbedaan pada pita DNA yang dapat teramplifikasi dengan random primer. Pita DNA yang berbeda akan dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan urutan basa DNA antara genotip normal dan abnormal (Sembiring *et al.*, 2015).

Teknik RAPD tidak membutuhkan informasi awal tentang urutan basa suatu spesies tetapi yang diperlukan adalah DNA yang relatif murni dalam jumlah yang

relatif kecil jika dibandingkan RFLP. RAPD dapat diterapkan hampir pada semua jenis tanaman. DNA sebagai pembawa informasi genetik terdapat pada semua makhluk hidup didalam sel khususnya. DNA dapat diperoleh dari suatu makhluk hidup dengan suatu proses ekstraksi yang memudahkan untuk mengidentifikasi DNA yang disebut proses isolasi DNA (Langga *et al.*, 2012).