

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN DELIMA (*Punica granatum* L.) DAN KERAGAMAN GENETIK BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF EXTRACT POMEGRANATE LEAF (*Punica granatum* L.) AND GENETIC DIVERSITY BASED ON MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA

RIFDAH ANGRINI ZABIR

N012191011



PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2022

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN DELIMA (*Punica granatum* L.) DAN KERAGAMAN GENETIK BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA

Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

RIFDAH ANGGRINI ZABIR

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

LEMBAR PENGESAHAN

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN DELIMA (*Punica granatum L.*) DAN KERAGAMAN GENETIK BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA

Disusun dan diajukan oleh

RIFDAH ANGGRINI ZABIR
NIM N012191011

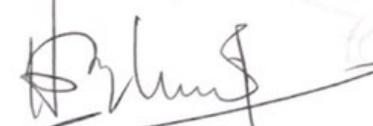
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Magister Farmasi Sains Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

pada tanggal
15 Februari 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
Menyetujui,

Pembimbing Utama

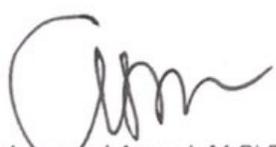
Pembimbing Pendamping

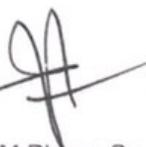

Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003


Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005

Ketua Program Studi Magister
Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi,

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin,


Muhammad Aswad, M.Si, Ph.D, Apt
NIP. 19800101 20031 2 1004


Prof. Saebhan, M.Pharm.Sc., Ph.D, Apt
NIP. 19750925 20012 1 002



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Rifdah Anggrini Zabir
NIM : N012191011
Program studi : Farmasi
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

"Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Delima (*Punica granatum* L.) Dan Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA"

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain bahwa tesis yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri.

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

Makassar, 15 Februari 2022



Yang Menyatakan

Rifdah Anggrini Zabir

PRAKATA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatu.

Segala puji dan syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah swt. atas segala Rahmat dan Hidayah-Nya yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan tesis ini dengan sebaiknya.

Tesis ini dibuat sebagai salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Farmasi Herbal Medisin Fakultas Farmasi di Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis menyadari bahwa selama penyusunan tesis ini terdapat kendala dan hambatan, namun dengan bantuan dari berbagai pihak, sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt dan Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku komisi penasihat yang telah banyak memberi masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.
2. Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt, Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt, dan Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm, Ph.D., Apt , selaku tim komisi p enguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang sangat membantu dalam penyusunan tesis ini.
3. Dekan, Wakil Dekan, Bapak-Ibu dosen, serta seluruh staf karyawan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah mendidik, memberikan sarana dan memotivasi penulis dari awal memasuki bangku kuliah hingga saat ini.

4. Kedua orang tua penulis, Ayahanda Almarhum M. Zabir Messi dan Ibunda Ir. Hasnawati untuk semua doa, dukungan materil dan nonmateril serta kasih sayang tulus yang telah diberikan yang tidak akan mampu penulis balas. Adik penulis, Ghina Ramdhani Zabir dan M. Roid Falih Zabir untuk motivasi serta kepada sanak keluarga yang turut mendoakan.
5. Seluruh laboran laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS, khususnya kepada atas segala bantuan dalam pelaksanaan penelitian tesis ini.
6. Rekan-rekan magister pascasarjana angkatan 2019 yang telah banyak membantu, serta sahabat-sahabat saya Nurul Mukhlisah M, Auliyah Yustikah, Hafilia Firda, Hasriati, Herianti, Wahida Nur, Annisa Muhdar semoga kesuksesan menyertai kita semua.
7. Semua pihak yang terlibat, yang tidak sempat tersebut namanya.

Makassar, 15 Februari 2022

Rifdah Anggrini Zabir

ABSTRAK

Rifdah Anggrini Zabir. “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Delima (*Punica granatum* L.) Dan Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA” (dibimbing oleh Herlina Rante dan Gemini Alam).

Delima (*Punica granatum* L.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat. *P. granatum* mempunyai berbagai khasiat, salah satunya sebagai antibakteri. Adanya efek antibakteri pada *P. granatum* karena mengandung senyawa antibakteri seperti, fenolik, flavonoid, dan tannin. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun *P. granatum* varietas putih, *P. granatum* varietas merah dan *P. granatum* varietas ungu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 serta mengetahui tingkat kekerabatan dan keragaman genetiknya. Ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi menggunakan etil asetat, etanol 96%, 70%, 30% dan air. Hasil menunjukkan ekstrak etanol 96% *P. granatum* dan ekstrak etanol 70% *P. granatum* memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S.aureus* dan bakteri *P. aeruginosa*, sementara ekstrak etil asetat *P. granatum* memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S.aureus* tetapi tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *P. aeruginosa*, sedangkan ekstrak etanol 30% *P.granatum* daerah Gowa dan Kediri tidak memberikan aktivitas penghambatan terhadap *S.aureus* dan *P.aeruginosa*. Analisis RAPD dan dendrogram menunjukkan kisaran koefisien kemiripan *P. granatum* yang bervariasi antara 0,50–0,80 yang berarti sampel *P.granatum* memiliki kemiripan genetik yang paling tinggi sebesar 80%. Terdapat variasi jarak genetik dengan jarak genetik terdekat 0.13 yang mengindikasikan bahwa sampel yang berasal dari daerah Polewali varietas merah dengan daerah Gowa varietas merah memiliki kekerabatan genetik yang lebih dekat dibandingkan sampel dari daerah lain.

Kata kunci: Daun Delima (*Punica granatum* L), Antibakteri, RAPD, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Rifdah Anggrini Zabir. “Antibacterial Activity of Pomegranate Leaf Extract (*Punica granatum* L.) And Its Genetic Diversity Based on Random Amplified Polymorphic DNA Markers” (supervised by Herlina Rante dan Gemini Alam).

Pomegranate (*Punica granatum* L.) is one of the plants used as medicine. *P. granatum* has various properties, one of which is antibacterial. The presence of antibacterial effect on *P. granatum* contains antibacterial compounds such as phenolics, flavonoids, and tannins. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of leaf extracts of white varieties *P. granatum*, red varieties of *P. granatum*, and purple varieties of *P. granatum* against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 and to determine the degree of similarity and their genetic diversity. The extraction used was the maceration method using ethyl acetate, 96, 70, and 30% ethanol. The results showed that 96% ethanol extract of *P. granatum* and 70% ethanol extract of *P. granatum* had inhibitory activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. In contrast, the ethyl acetate extract of *P. granatum* had inhibitory activity against *S. aureus* but did not inhibit *P. aeruginosa*, while 30% ethanol extract of *P. granatum* from Gowa and Kediri did not provide inhibitory activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. RAPD and dendrogram analysis showed that the range of the similarity coefficient of *P. granatum* varied between 0.50 – 0.80, which means that the *P. granatum* sample had the highest genetic similarity of 80%. There is variation in genetic distance with the closest genetic distance of 0.13 which indicates that samples from the Polewali area of the red variety and the Gowa area of the red variety have a closer genetic relationship than samples from other regions.

Keywords: Pomegranate Leaf (*Punica granatum* L), Antibacterial, RAPD, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR ISI

PRAKATA	V
ABSTRAK	VII
ABSTRACT	VIII
DAFTAR ISI	IX
DAFTAR TABEL	XI
DAFTAR GAMBAR	XIV
DAFTAR LAMPIRAN	XVI
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Uraian Tanaman	6
B. Resistensi Antibiotik	13
C. Random Amplified Polymorphic Dna	15
D. Kerangka Teori	20
E. Kerangka Konsep	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Rancangan Penelitian	22

B. Waktu Dan Tempat Penelitian	22
C. Alat Dan Bahan	23
D. Penyiapan Sampel	24
E. Uji Aktivitas Antibakteri	26
F. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
BAB V PENUTUP	81
A. Kesimpulan	81
B. Saran	82
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN	94

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun delima dengan maserasi	Error! Bookmark not defined.
Tabel 2. Nilai Rf ekstrak daun delima Soppeng varietas putih dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	40
Tabel 3. Nilai Rf ekstrak daun delima Polewali varietas merah dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	40
Tabel 4. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas merah dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	41
Tabel 5. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas putih dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	41
Tabel 6. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas putih dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	42
Tabel 7. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas merah dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	42
Tabel 8. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas ungu dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	43
Tabel 9. Nilai Rf ekstrak daun delima Soppeng varietas putih dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	45
Tabel 10. Nilai Rf ekstrak daun delima Polewali varietas merah dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	45
Tabel 11. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas merah dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	46

Tabel 12. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas putih dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	46
Tabel 13. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas putih dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	47
Tabel 14. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas merah dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	47
Tabel 15. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas ungu dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5)	48
Tabel 16. Nilai Rf ekstrak daun delima Soppeng varietas putih dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	50
Tabel 17. Nilai Rf ekstrak daun delima Polewali varietas merah dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	50
Tabel 18. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas merah dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	51
Tabel 19. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas putih dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	51
Tabel 20. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas putih dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	52
Tabel 21. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas merah dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	52
Tabel 22. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas ungu dibawah UV 366 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	53
Tabel 23. Nilai Rf ekstrak daun delima Soppeng varietas putih dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	55

Tabel 24. Nilai Rf ekstrak daun delima Polewali varietas merah dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	55
Tabel 25. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas merah dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	56
Tabel 26. Nilai Rf ekstrak daun delima Gowa varietas putih dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	56
Tabel 27. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas putih dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	57
Tabel 28. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas merah dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	57
Tabel 29. Nilai Rf ekstrak daun delima Kediri varietas ungu dibawah UV 254 nm masing-masing spot KLT densitometri eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	58
Tabel 30. Aktivitas Ekstrak Daun <i>P. granatum</i> terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i>	64
Tabel 31. Primer RAPD dan hasil amplifikasi pada delima	72
Tabel 32. Hasil perhitungan jarak genetik delima	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah Delima Dengan 3 Varietas (Delima Putih, Delima Merah Dan Delima Ungu)	8
Gambar 2. Profil KLT ekstrak daun delima dibawah sinar (A) UV 366 nm (B) UV 254 nm menggunakan eluen n-heksn:etil asetat (4:2,5) (C) H ₂ SO ₄ 10%.	35
Gambar 3. Profil KLT ekstrak daun delima dibawah sinar (A) UV 366 nm (B) UV 254 nm menggunakan eluen etil asetat:methanol:air (9:1:0,5) (C) H ₂ SO ₄ 10%	37
Gambar 4. Kromatogram KLT densitometri ekstrak delima UV 366 nm eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5).	39
Gambar 5. Kromatogram KLT densitometri ekstrak delima 254 nm eluen n-heksan:etil asetat (4:2,5).	44
Gambar 6. Kromatogram KLT densitometri ekstrak delima UV 366 nm eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	49
Gambar 7. Kromatogram KLT densitometri ekstrak delima UV 254 nm eluen etil asetat:metanol:air (9:1:0,5)	54
Gambar 8. Diameter zona hambat (mm) ekstrak daun delima <i>Punica granatum</i> L terhadap bakteri <i>S. aureus</i> .	65
Gambar 9. Diameter zona hambat (mm) ekstrak daun delima <i>Punica granatum</i> L terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i> .	65
Gambar 10. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA dengan primer OPD-20. Baris 1 (Soppeng, delima putih), 2 (Polewali, delima merah), 3 (Gowa, delima merah), 4 (Gowa, delima putih), 5 (Kediri, delima putih), 6 (Kediri, delima merah), 7 (Kediri, delima ungu).	74
Gambar 11. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA dengan primer OPAC-12. Baris 1 (Soppeng, delima putih), 2 (Polewali, delima merah), 3 (Gowa, delima merah), 4 (Gowa, delima putih), 5 (Kediri, delima putih), 6 (Kediri, delima merah), 7 (Kediri, delima ungu)	75
Gambar 12. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA dengan primer OPA-02. Baris 1 (Soppeng, delima putih), 2 (Polewali, delima merah), 3 (Gowa, delima merah), 4 (Gowa, delima putih), 5 (Kediri, delima putih), 6 (Kediri, delima merah), 7 (Kediri, delima ungu).	75
Gambar 13. Dendogram kekerabatan genetik delima pada empat daerah berbeda dengan tiga varietas yang berbeda, 1 (Soppeng, putih), 2 (Polewali, merah), 3 (Gowa, merah), 4	

(Gowa, putih), 5 (Kediri, merah), 6 (Kediri, putih), 7 (Kediri, ungu) berdasarkan penanda molekuler RAPD.

76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja	94
Lampiran 2. Perhitungan bahan-bahan yang digunakan pada penelitian	95
Lampiran 3. Gambar uji aktivitas antibakteri	96
Lampiran 4. Tabel Pengukuran Uji Aktivitas Ekstrak Daun <i>P. granatum</i> terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i> .	98
Lampiran 5. Dokumentasi penelitian	103
Lampiran 6. Analisis TLC Densitometri	105

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Penyakit infeksi di Indonesia masih termasuk dalam sepuluh penyakit terbanyak. Data Riset Kesehatan Dasar (2013) menunjukkan penyakit infeksi di Indonesia dapat dilihat dari beberapa data penyakit infeksi dengan prevalensi seperti Infeksi Saluran Pernapasan (ISPA) 25 %, pneumonia 4,5 %, hepatitis 1,2 %, diare 7,0 %. Peresepan antibiotik di Indonesia yang cukup tinggi dan kurang bijak akan meningkatkan kejadian resistensi. Resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik dapat terjadi karena penggunaan antibiotik yang tidak rasional (Fauziyah et al, 2011). Di beberapa rumah sakit di Indonesia ditemukan adanya resistensi terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*, *Escherchia coli*, *Streptococcus spp*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* (Andaru et al, 2019).

Pemanfaatan tanaman sebagai obat telah banyak dilakukan salah satunya di Indonesia. Peningkatan pola resisten dan efek samping antibiotik telah menjadikan pentingnya tanaman obat untuk digunakan sebagai agen antibakteri (Wasim et al, 2015). *P. granatum* salah satu bahan herbal yang dapat menjadi agen antibakteri baru. Secara tradisional tanaman *P. granatum* sering digunakan sebagai obat gangguan pencernaan, infeksi pernafasan antidiabetic oleh masyarakat di Indonesia.

Menurut penelitian Maria (2010), menyatakan bahwa ekstrak delima yang mengandung 80% metanol dapat menjadi penghambat kuat pada bakteri *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* dan *Yersinia enterocolitica*. Ekstrak *P. granatum* mengandung asam fenolik yang tinggi (Nuamsetti, 2012). Metabolit sekunder seperti tanin, saponin (Kadi, 2011). Penentuan flavonoid dan asam fenolik pada ekstrak *P. granatum* dengan HPLC menunjukkan adanya rutin, luteolin, asam galat, asam ellagat (Amine, 2020).

Aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif dan juga memiliki kemampuan untuk menghambat resistensi obat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Fisseha, 2017). Metabolit sekunder termasuk tanin, terpenoid, alkaloid, flavonoid dan glikosida mengkonfirmasi aktivitas antimikroba in vivo pada ekstrak *P. granatum* (Dahanukar, 2000).

Informasi keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman. Untuk melaksanakan program pemuliaan, maka diperlukan keragaman genetik yang tinggi. Pengetahuan tentang keragaman genetik sangat penting sebagai dasar pengembangan tanaman *P. granatum* untuk mengetahui kekerabatan antar genotip dan keragaman genetik tanaman delima dengan 3 varietas yang berbeda melalui program pemuliaan.

Program pemuliaan pohon dan konservasi sumber daya genetik tanaman *P. granatum* membutuhkan dukungan informasi keragaman genetik yang akurat dan valid. Penanda molekular terbukti mampu

memberikan akurasi dan keandalan yang superior dalam melakukan analisis keragaman genetik tanaman. *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) adalah salah satu penanda DNA yang paling banyak digunakan di bidang kesehatan dan kehutanan. Penanda RAPD didasarkan pada amplifikasi segmen DNA hasil PCR dalam rangkaian primer dan nukleotida secara acak yang kemudian dapat divisualisasikan dengan elektroforesis gel (Nayak, 2003).

Penanda DNA yang sering digunakan untuk analisis keragaman genetik adalah penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Welsh *et al*, 1990). RAPD banyak digunakan untuk menganalisis keanekaragaman karena lebih cepat memberikan hasil, lebih mudah, memerlukan biaya yang lebih murah, dan menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak (Weising *et al.*, 1995).

Di antara penanda molekuler tersebut, RAPD banyak dipilih karena mudah dalam persiapannya, relatif sederhana tetapi memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan penanda molekuler lainnya, tidak membutuhkan pengetahuan mengenai urutan DNA dari organisme target, jumlah DNA yang digunakan dalam reaksi hanya sedikit (\pm 25 nanogram per reaksi), penggunaan peralatan laboratorium yang minimal, non-radioaktif, dan dapat menggunakan primer universal yang sudah ada (Hasnaoui *et al.* 2010).

Kekurangan RAPD adalah tingkat pengulangan yang rendah, tetapi dapat dijaga dengan konsistensi kondisi PCR (Prana, 2003). Penanda

RAPD tidak dapat membedakan individu homozigot dan heterozigot karena bersifat sebagai penanda dominan (William, 1990). Penelitian keragaman genetik menggunakan penanda RAPD telah dilaporkan pada beberapa jenis tanaman (Rimbawanto *et al*, 2005).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti tertarik ingin melakukan penelitian tentang Antibakteri *P. granatum* dengan Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA. Informasi keragaman genetik ini akan sangat bermanfaat baik untuk penyusunan strategi konservasi maupun pengembangan jenis ini di masa mendatang sehingga dapat menjadi obat antibiotik yang baru di masyarakat.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang, maka permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak *P. granatum* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?
2. Bagaimana keragaman genetik dari tanaman *P. granatum* dengan 3 varietas yang berbeda berdasarkan RAPD?

C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *P. granatum* terhadap bakteri bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 9027.
2. Untuk mengetahui keragaman genetik delima dengan 3 varietas dari berbagai daerah berdasarkan RAPD.

D. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat berguna untuk memberikan informasi dan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam ilmu farmasi mengenai delima dengan 3 varietas pada daerah tertentu yang paling efektif digunakan sebagai antibakteri.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA
A. URAIAN TANAMAN

1. Klasifikasi Tanaman

Menurut National Plant Data Centre, Natural Research Conservation Service, United State of Agriculture klasifikasi delima berdasarkan ilmu taksonomi adalah,

- a. Nama Indonesia : Delima
- b. Nama Lain : Delima (Indonesia), Pomegranate (Inggris), Delima (Melayu), Lu'u, Thap Lu'u (Vietnam), Thapthim (Thailand), Granada, Dalima (Pilipina)

c. Klasifikasi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Familia	: <i>Lythraceae (Punicaceae)</i>
Genus	: <i>Punica</i>
Spesies	: <i>Punica granatum L.</i>
Sinonim	: <i>Granatum punicum St.-Lag</i> <i>Punica fl orida Salisb</i>

Punica grandiflora hort. ex Steud

Punica multi fl ora hort. ex Siebold & Voss

Punica nana L.

Punica spinosa Lam

(Lim, 2013)

2. Morfologi Tanaman

P. granatum memiliki tinggi mencapai 1,5 sampai 5 m, dengan dahan kurang beraturan dan berduri serta daun berwarna hijau, delima tumbuh di daerah yang beriklim sedang. *P. granatum* termasuk dalam famili *Punicaceae* dan merupakan famili tumbuhan terkecil yang mencakup 1 genus dan 2 spesies, diantaranya sebagai berikut: *P. granatum* (delima yang dapat dimakan) berasal dari Iran dan daerah Mediterania, dan *P. granatum* *protopunica* (tidak dapat dimakan) adalah endogen Kepulauan Socotra di Samudra Pasifik.

Bunganya memiliki sisi marginal, pendek atau tanpa tangkai, warnanya merah dan berwarna kuning atau putih, tidak berbau, dan berjenis sama. Buahnya berwarna merah muda sampai kuning kehijauan dan jarang pada beberapa spesies berwarna ungu tua, diameternya 5 sampai 20 cm dan beratnya bervariasi dari kurang dari 200 g sampai lebih dari 800 g. Bijinya diproduksi dalam jumlah banyak, berbentuk segitiga (Orhan *et al*, 2014).



Gambar 1. Buah Delima (*P.granatum*) Dengan 3 Varietas (Delima Putih, Delima Merah Dan Delima Ungu) (Irit, 2019).

P.granatum adalah salah satu buah terkenal yang memiliki sejarah panjang di Iran dan Timur Tengah. Tanaman ini kebanyakan mudah untuk tumbuh di pinggiran gurun dengan dua musim yaitu musim panas dan musim dingin. *P.granatum* tumbuh dalam berbagai kondisi iklim dan dapat beradaptasi dengan berbagai jenis tanah. Namun tanaman ini sensitif terhadap tanah yang memiliki penyaluran rendah, pertumbuhannya dan kualitas produknya menurun. Kondisi tanah terbaik untuk membudidayakan buah delima adalah tanah liat berpasir pada musim panas yang panjang.

Produk ini dapat tumbuh hingga ketinggian sekitar 1600 m di atas permukaan laut. Beberapa spesies produk ini tumbuh dengan baik di ketinggian rendah dan beberapa lainnya di ketinggian yang lebih tinggi. Delima rusak pada suhu lebih rendah dari 12° C sehingga delima manis lebih sensitif daripada yang asam (Keziban, 2016).

3. Kandungan Kimia

Metabolit di berbagai bagian buah *P. granatum* dan pohon meliputi berbagai macam gula, asam organik, polifenol, flavonoid, antosianin, asam lemak, alkaloid, vitamin, dan sebagainya. Gula utama termasuk dalam ekstrak *P. granatum* terdiri dari glukosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa, sedangkan vitaminnya adalah vitamin C, B1, B2, dan betakaroten. Selain itu, asam malat, asam fumarat, asam oksalat, asam suksinat, asam sitrat, dan asam tartarat termasuk yang utama asam organik dalam *P. granatum*. Alkaloid yang terdapat pada kulit buah delima antara lain asam ellagic, asam galat, asam klorogenat, asam sinamat, asam hidroksi protocatechuic, hidroksi benzoate asam, asam caffeic, asam ferulic, asam coumaric, asam p-coumaric, dan asam o-coumaric, pelletierine, isopelletierine, methylpelletierine, pseudopelletierine, punicalagin, punicalin, phloridzin, quercetin, dan catchin (Gil, 2000 dan Aviram, 2000).

Flavonoid dari *P. granatum* adalah luteolin, kaempferol, dan narigenin ditemukan dalam bentuk glikosida (Aviram, 2000). Warna buah *P. granatum* adalah diinduksi oleh senyawanya, khususnya antosianin. Antosianin adalah glikosida yang melepaskan molekul glukosa dan cincin glikon (antosianidin) (Ozkan, 2002).

Enam antosianin bertanggung jawab atas warna merah, *P. granatum* yang dapat dimakan berasal dari pelargonidin (warna oranye dan merah), sianidin (warna merah tua), dan delphinidin (warna biru dan ungu) ini adalah 3,5-diglukosida delphinidin, 3-glikosida delphinidin, 3,5-diglucoside

cyanidin, 3-glycoside cyanidin, 3,5-diglucoside pelargonidin, dan 3-glikosida pelargonidin (Graca, 2004). Jenis antosianin bervariasi bergantung pada kultivar yang berbeda (Zamani, 2007). Aktivitas antioksidan buah delima dapat dianggap berasal dari adanya beberapa komponen seperti asam askorbat dan senyawa fenolik, termasuk punicalagin, punicalin, asam galat, asam ellagic, dan antosianin.

Senyawa ini dipengaruhi oleh perkembangan buah seperti aktivitas antioksidan tertinggi diamati pada buah-buahan yang baru terbentuk (20 hari) (Gil, 2000 dan Aviram, 2000). Selanjutnya beberapa asam lemak, diantaranya asam oleat, asam palmitat, asam stearat, asam palmitoleat, asam arakidonat, asam laurat, dan asam kaprilat diidentifikasi dalam varietas yang berbeda dari *P. Granatum*. Penelitian telah menunjukkan bahwa adanya asam lemak tidak jenuh adalah komponen utama lipid dalam kultivar manis buah delima (Melgarejo, 2000). Minyak biji delima termasuk steroid estrogen (g-tokoferol, 17-a-estradiol, stigmasterol, b-estriolsitosterol, dan testosteron) senyawa nonsteroid (coumestrol, coumestrol) (Danny, 2004).

Delima juga memiliki berbagai molekul fitokimia seperti terpenoid (Jayaprakash, 2017). Kulit buah delima memiliki fenol, flavonoid, antosianin, alkaloid, kumarin, dan jumlah tinggi (Radwan, 2020).

4. Manfaat

P. granatum memiliki beberapa manfaat bagi kesehatan. Buah *P. granatum* dapat membantu mencegah atau mengobati berbagai faktor risiko penyakit termasuk tekanan darah tinggi, tinggi kolesterol, stres oksidatif, hiperglikemia, dan aktivitas inflamasi. Hal itu terbukti bahwa komponen buah delima seperti polifenol memiliki potensi antioksidan, anti inflamasi, dan efek antikarsinogenik. Potensi antioksidan *P. granatum* diinduksi melalui ellagitannin dan tanin terhidrosabilitas. Buah *P. granatum* bisa mengurangi stres oksidatif makrofag, radikal bebas, dan peroksidasi lipid. Apalagi ekstrak buah delima mencegah pertumbuhan sel dan menginduksi apoptosis, yang dapat menyebabkan efek antikarsinogenik. Penghambatan promotor beberapa penanda inflamasi dan produksinya diblokir melalui ellagitannins (Aida, 2012)

B. EKSTRAKSI SIMPLISIA

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan, biasanya merupakan bahan yang telah dikeringkan. Bagian tanaman yang digunakan sebagai simplisia adalah akar, rimpang, daun, herba, bunga, pati, minyak, getah, kulit, umbi lapis, dan kayu. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh dan bagian tanaman. Simplisia hewani yaitu simplisia yang dapat berupa hewan utuh,

bagian dari hewan atau zat berguna yang dihasilkan hewan, tetapi bukan berupa zat kimia murni (Wahyuni, 2014).

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif, yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik jika permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas (Mulyati, 2009). Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Faktor-faktor yang berpengaruh dalam operasi ekstraksi yaitu penyiapan bahan sebelum ekstraksi, ukuran partikel, pelarut, metode yang digunakan dalam ekstraksi, waktu, suhu serta proses pemisahan pelarut dari hasil ekstraksi (Kawiji, 2015).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menyari semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Mulyati, 2009).

C. RESISTENSI ANTIBIOTIK

Antibiotik adalah sekelompok senyawa yang bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau menyebabkan kematian bakteri (bakterisidal) (Pratiwi, 2008). Dengan adanya mekanisme kerja antibiotik terhadap bakteri maka bakteri juga mengadakan perlawanan. Sehingga penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat menimbulkan tekanan selektif yang mendorong perkembangbiakan mikroorganisme yang resisten (Yenny *et al*, 2007).

Terapi atau pengobatan terhadap infeksi bakteri patogen dilakukan dengan antibiotik. Sejak ditemukannya, antibiotik telah digunakan secara luas untuk mengurangi angka kematian yang disebabkan oleh penyakit infeksi (Inglis, 2004). Namun dalam perkembangannya, penggunaan antibiotik tidak selalu didasarkan pada hasil kultur bakteri penyebab infeksi. Sehingga meningkatkan pemakaian antibiotik tanpa aturan yang jelas pada akhirnya menyebabkan penggunaan antibiotik yang tidak rasional (Adekunle *et al.*, 2010). Selain itu, tidak terkendalinya penggunaan antibiotik cenderung akan meningkatkan resistensi bakteri yang semula sensitif (Refdanita *et al.*, 2004).

S. aureus merupakan bakteri gram positif patogen yang dapat menyebabkan berbagai penyakit (Flora, 2013). Pada saat sistem imun menurun maka bakteri ini akan masuk ke dalam tubuh, baik melalui mulut, inhalasi, maupun penetrasi kulit. Jika bakteri ini masuk ke dalam peredaran darah dan menyebar ke organ tubuh lainnya maka akan merusak organ-

organ tubuh dan menyebabkan berbagai penyakit (Irianto, 2014). Telah diketahui bahwa *S. aureus* menyebabkan jerawat (Adekunle et al., 2010) dan berpotensi menyebabkan sepsis luka pasca-operasi (Ako-Nai et al., 2005). *S. aureus* juga dapat menyebabkan sejumlah penyakit infeksi pada manusia, antara lain infeksi kulit ringan, bakteremia, penyakit sistemik, meningitis, endocarditis, osteomielitis, serta keracunan makanan (Westh et al., 2004 dan Lee et al., 2003).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa *S. aureus* telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik. Penelitian yang dilakukan oleh Adekunle et al. (2010), isolat *S. aureus* yang berasal dari jerawat telah resistensi terhadap beberapa antibiotik, diantaranya ampicillin, erythromycin, cloxacillin, cotrimoxazole, streptomycin dan penicillin. Penelitian yang dilakukan oleh Beyene (2016), melaporkan bahwa isolat *S. aureus* yang berasal dari susu sapi telah resistensi terhadap antibiotik penicillin, ampicillin, amoxicillin, dan trimethoprim- sulpha methoxazole. Adanya resistensi terhadap antibiotik tersebut menyebabkan pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* semakin sulit karena munculnya strain resistant multidrug (Ako-Nai et al., 2005).

Resistensi antibiotik merupakan permasalahan penting dalam pengobatan (Gootz, 2010). Penggunaan antibiotik dengan justifikasi yang kurang tepat dapat mengakibatkan resistensi obat, meningkatkan morbiditas, mortalitas dan biaya pengobatan (Sujith, 2012). Hal ini bisa

dihindari dengan penggunaan yang bijaksana dan rasional dari antibiotik yang ada (Kumar, 2013).

Resistensi didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Sedangkan multiple drugs resistance didefinisikan sebagai resistensi terhadap dua atau lebih obat maupun klasifikasi obat. Sedangkan cross resistance adalah resistensi suatu obat yang diikuti dengan obat lain yang belum pernah dipaparkan (Tripathi, 2003). Resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi. Bakteri yang mampu bertahan hidup dan berkembang biak, menimbulkan lebih banyak bahaya. Kepekaan bakteri yang ditentukan oleh kadar hambat minimal yang dapat menghentikan perkembangan bakteri.

D. Random Amplified Polymorphic DNA

Penggunaan Random Amplified Polymorphic DNA adalah tehnik analisis DNA yang menjadi sangat populer akhir-akhir ini. Pendekatan metoda ini berkenan dengan analisis buta DNA. Hal ini berdasarkan kenyataan bahwa metoda ini tepat digunakan pada tingkat DNA. Disamping itu pekerjaan ini dapat dilakukan 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. Metode RAPD itu sendiri melibatkan penggunaan teknik polimerisasi DNA (Polymerase Chain Reaction, PCR).

Kunci RAPD bahwa primer yang digunakan dengan urutan acak, primer tidak spesifik untuk gen tertentu atau dengan urutan tertentu dan mengikat DNA komplementernya dari bermacam-macam specimen DNA. Primer yang digunakan tunggal dan menganealing tempat pelekatan primer (priming site) dengan arah yang berlawanan untuk terjadinya amplifikasi.

Primer menentukan daerah genom mana yang akan diamplifikasi melalui PCR. Walaupun factor lain pada metoda ini termasuk waktu denaturasi, waktu extension dapat mempengaruhi banyak hasil, Urutan primer yang digunakan dalam analisis ini panjangnya dapat bervariasi, kadang dipakai sebagai standar universal. Primer 10 mer paling sering digunakan.

Tergantung pada daerah pelekatan primer yang komplemen yang dicampuri pada genom individu tersebut dan panjangnya urutan DNA yang diintervensi, primer mengamplifikasi 0 sampai 30 produk amplifikasi. Beratus-ratus primer RAPD tersedia secara komersial dari Teknologi Operon Inc. Alameda dan beberapa primer digunakan secara bebas. Banyak penanda polimorfisme bisa diidentifikasi. Spesies yang berbeda dapat menunjukkan tingkat polimorfisme yang berbeda, sebanding dengan variasi lokus RAPD dan jumlah lokus yang diamplifikasi.

PCR adalah suatu metode *in vitro* untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sejumlah kecil template kompleks. PCR merupakan suatu teknik sangat kuat dan sensitive yang dapat diaplikasi dalam berbagai bidang seperti biologi molekuler, diagnostic, genetika populasi dan analisis forensic PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5' dari kedua rantai sekuens target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer (primer PCR) untuk memungkinkan DNA template dikopi oleh DNA polymerase.

Untuk mendukung terjadinya annealing primer ini pada template pertama kali diperlukan pemisahan untai DNA yang double stranded melalui pemanasan. Suhu reaksi selanjutnya diturunkan untuk membiarkan terjadinya perpasangan sekuens dan akhirnya reaksi polimerisasi dilakukan oleh DNA polimerase untuk membentuk DNA komplementer. Proses ini dikenal dengan siklus PCR, oleh karena produk terpolimerisasi baru tersebut berasal dari setiap primer dapat berperan sebagai template untuk primer lain, maka setiap siklus dapat melipat gandakan jumlah fragmen DNA yang dihasilkan pada siklus sebelumnya.

Pengulangan siklus denaturasi, annealing primer pada sekuens komplementernya dan pengembangan primer yang terannealing tersebut dengan polymerase DNA mengakibatkan amplifikasi segmen DNA. Hasil

dari PCR ini adalah akumulasi eksponensial fragmen target spesifik lebih dari berjuta kali lipat dalam beberapa jam. Teknik ini juga mampu memperbanyak molekul target tunggal dalam suatu campuran RNA dan DNA kompleks. (Nasir, 2002).

Studi variasi genetik diperlukan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik yang ada pada suatu populasi, sebagai landasan dalam kegiatan pemuliaan pohon dan upaya konservasi suatu jenis tanaman. Saat ini adanya keragaman genetik kebanyakan menggunakan pendekatan ekspresi morfologi berdasarkan sifat-sifat fenotipe tertentu dari suatu pohon yang akan dikonservasi dan dimuliakan.

Di sisi lain disadari bahwa perbedaan fenotipe dari suatu sifat tertentu belum menjamin perbedaan apalagi keunggulan genetik dari pohon tersebut. Pengetahuan tentang jarak genetik dan hubungannya dalam pemuliaan tanaman sangat penting dan memiliki dampak signifikan pada perbaikan tanaman.

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 (Septiningsih *et al.* 2004). RAPD sangat umum digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada

berbagai spesies pohon. Ruas *et al.* (2011) melakukan analisis keragaman genetik pada dua populasi spesies *Schinus terebinthifolius* diTibagi , Brazil.

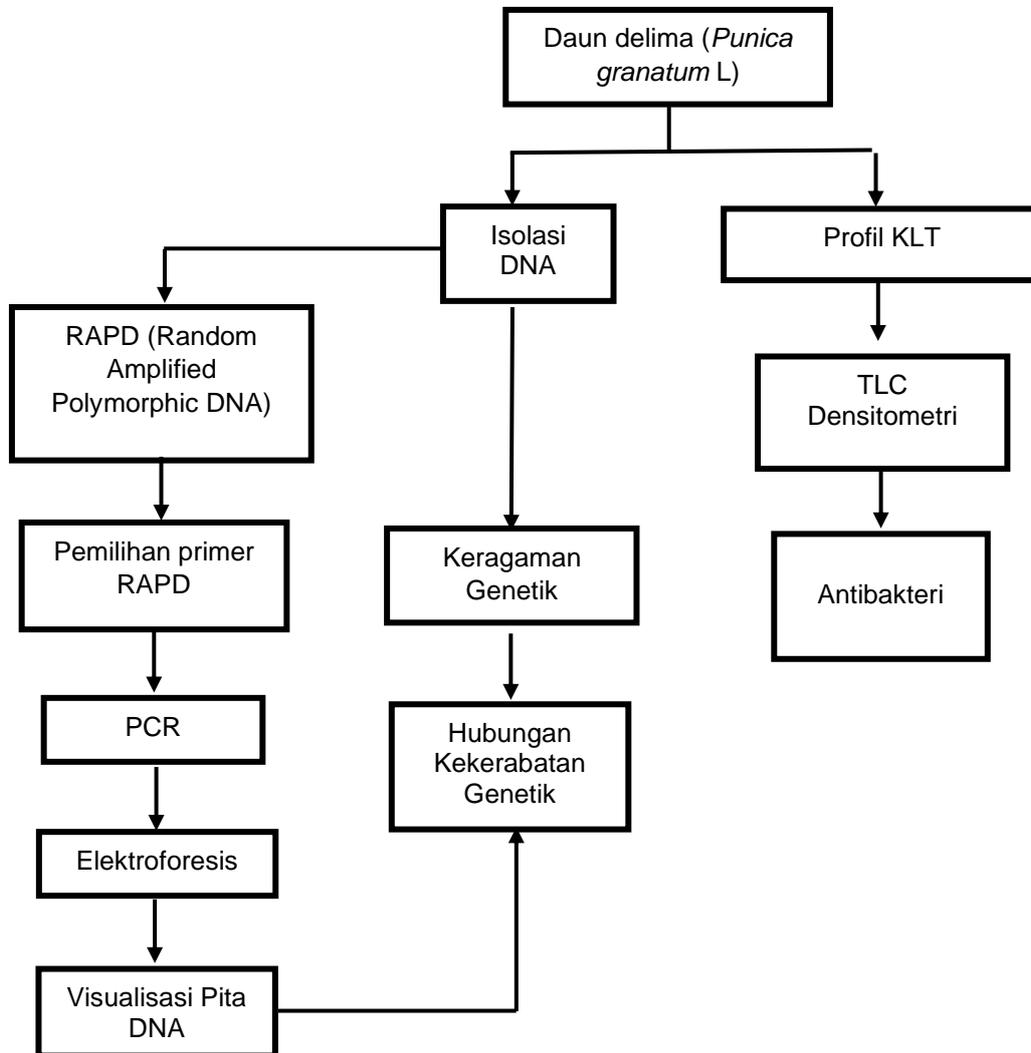
Hasil studinya memperlihatkan keragaman genetik antar populasi dan dalam populasi yaitu masing-masing 13,7% dan 86,3%. RAPD juga digunakan untuk menganalisis keragaman genetik Moringa (*Moringa oleifera* Lam). Sebanyak 16 aksesori Moringa di uji menggunakan 17 lokus RAPD menghasilkan keragaman genetik yang rendah (Silva *et al.* 2012).

Metode 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. Metode 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.

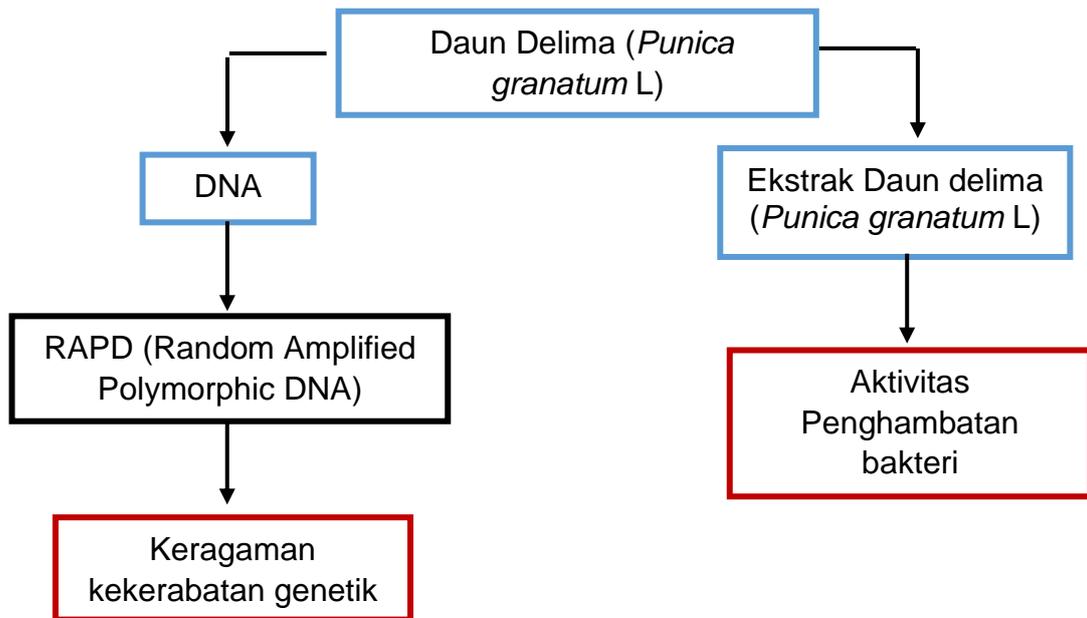
Welsh dan Mc Clelland (1990) menyatakan bahwa larik DNA yang dihasilkan dapat digunakan sebagai penanda molekul karena pola yang dihasilkan memiliki karakteristik tertentu.

Pengidentifikasian polimorfisme DNA digunakan sebagai penanda genetik untuk membedakan populasi tersebut dan menentukan hubungan kekerabatan pada bermacam-macam tanaman dan spesies serangga.

E. Kerangka Teori



F. Kerangka Konsep



Keterangan :

 → Variabel bebas

 → Variabel terikat

 → Variabel antara