

# **SKRIPSI**

## **KERAGAMAN MORFOLOGI DAN POTENSI MARKA GENETIK RAPD UNTUK MEMBEDAKAN TANAMAN OBAT FAMILI ZINGIBERACEAE DI DESA KAMBUNO, KABUPATEN BULUKUMBA**

**Disusun dan Diajukan Oleh:**

**SOFI SORAYA MULANDANI RAHMAT**

**M011191241**



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN**

**FAKULTAS KEHUTANAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**KERAGAMAN MORFOLOGI DAN POTENSI MARKA GENETIK RAPD  
UNTUK MEMBEDAKAN TANAMAN OBAT FAMILI ZINGIBERACEAE  
DI DESA KAMBUNO, KABUPATEN BULUKUMBA**

**Disusun dan Diajukan Oleh:**

**SOFI SORAYA MULANDANI RAHMAT**

**M011191241**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi program sarjana Program Studi Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin pada tanggal 6 Februari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

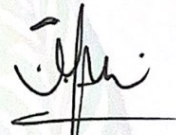
Menyetujui,

**Pembimbing Utama**

**Pembimbing Pendamping**



**Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.**  
NIP. 198202092015042002



**Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P.**  
NIP. 196804101995122001

Mengetahui,  
**Ketua Program Studi Kehutanan**



**Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P.**  
NIP. 196804101995122001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sofi Soraya Mulandani Rahmat

NIM : M011191241

Program Studi : Kehutanan

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

“Keragaman Morfologi dan Potensi Marka Genetik RAPD untuk Membedakan Tanaman Obat Famili Zingiberaceae di Desa Kambuno, Kabupaten Bulukumba”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan 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, 6 Februari 2024

Yang Menyatakan



Sofi Soraya Mulandani Rahmat

## ABSTRAK

### **Sofi Soraya Mulandani Rahmat (M011191241). Keragaman Morfologi dan Potensi Marka Genetik RAPD untuk Membedakan Tanaman Obat Famili Zingiberaceae di Desa Kambuno, Kabupaten Bulukumba di bawah bimbingan Siti Halimah Larekeng dan Sitti Nuraeni.**

Pemanfaatan tanaman obat terlebih pada tanaman famili zingiberaceae masih banyak diterapkan hingga saat ini, salah satunya di Desa Kambuno, dikarenakan tanaman ini merupakan tanaman yang kaya akan khasiatnya. Tanaman famili zingiberaceae dapat dikenali dengan mengamati morfologi dari organ-organ tanaman. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi keragaman morfologi dan potensi marka molekuler untuk membedakan tanaman obat famili zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno. Kegiatan ini dilaksanakan mulai pada bulan Oktober 2022 hingga September 2023 di 2 (dua) tempat yaitu di Desa Kambuno dan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Data morfologi dianalisis dengan mengidentifikasi organ tanaman dan dijelaskan secara deskriptif dan data potensi marka molekuler dianalisis dengan memperhatikan tingkatan *base pair* pita DNA yang muncul dan dijelaskan secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa morfologi tanaman famili zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno umumnya memiliki morfologi yang sama namun tetap memiliki keunikan masing-masing dan marka molekuler dapat membedakan spesies famili zingiberaceae dengan mengelompokkan karakter-karakter yang dimiliki masing-masing spesies.

**Kata Kunci:** Desa Kambuno, Famili Zingiberaceae, Morfologi, Pita DNA, dan Tanaman Obat

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas seluruh limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Keragaman Morfologi dan Potensi Marka Genetik RAPD untuk Membedakan Tanaman Obat Famili Zingiberaceae di Desa Kambuno, Kabupaten Bulukumba**”. Tidak lupa penulis memanjatkan shalawat serta salam kepada baginda Nabi besar Muhammad SAW yang telah menjadi panutan bagi seluruh umat muslim.

Penghargaan dan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta yaitu Mama dan Papa tersayang **Hartati Dunda S.T.M.Pd** dan **Rahmat Kadir S.T** yang telah membesarkan penulis dengan penuh cinta dan kasih sayang serta senantiasa dengan tulus mendoakan dimanapun penulis berada, saudariku **Nursaraswati Rahmat** yang menjadi teman dalam segala hal dan senantiasa menghibur dan membantu penulis, serta **Keluarga Besar** yang selalu memotivasi dan mendoakan penulis.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Kehutanan Universitas Hasanuddin. Selama penulisan skripsi ini penulis mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak yang telah membimbing, mendukung dan membantu penulis. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu **Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P**, bapak **Ir. Nasri S.Hut, M.Hut** dan ibu **Dr. Ir Sitti Nuraeni, M.P** selaku dosen pembimbing atas segala bantuannya dalam memberikan saran, mengarahkan dan membantu penulis hingga selesainya skripsi ini.
2. Bapak **Iswanto, S.Hut., M.Si** dan Bapak **Andi Siady Hamzah, S.Hut., M.Si** selaku dosen penguji yang telah memberikan koreksi, saran, masukkan dalam penyusunan skripsi.
3. Bapak/ibu **Dosen Fakultas Kehutanan** yang telah memberikan ilmu serta **Staf Fakultas Kehutanan** yang selalu melayani pengurusan administrasi selama berada di lingkungan Fakultas Kehutanan.
4. Kak **Atisa Muslimin, S.Hut., M.Hut.**, Kak **Yusril Suryamsyah, S.Hut**, Kak **Syamsumarlin, S.Hut** Dan **Riska** yang telah membantu penulis selama pengambilan sampel dan pelaksanaan praktikum di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon.

5. Teman-teman “Corvus X UNHAS” **Arum Kusumawardani, Grace Mylinda Juniarty, Kristia Elisabeth, Brigita Geby Matte, Nurul Muchlisah Basri, S.Hut., Lalu Kharisma Nandahakiki S.Hut, Aldin Al Rasyid Laora S.Hut, Lucky Valentino dan Ahmad Zamzam Hidayatullah S.Hut** yang telah menemani penulis dari masa SMK hingga sekarang.
6. Teman-teman “Garcinia 7” **Arum Kusumawardani, Theresia Elisabet A.Md.Ak, Rambu Noventis Lamba Awang dan Anastasya Duru, S.Hut** yang telah mendengarkan keluh kesah dan selalu memberikan nasehat kepada penulis.
7. Teman-teman “QePeT Team” **Arum Kusumawardani, Theresia Elisabet A.Md.Ak, Lucky Valentino dan Refly** yang selalu menemani dan bermain bersama penulis.
8. Teman-teman “Huhuy” **Sukmawati AH, S.Hut dan Arif Latin** yang telah memberikan dukungan dan masukan positif kepada penulis.
9. **Andi Muh Zainul Zakariah** yang selalu mendengarkan cerita dan keluh kesah serta selalu memberikan bantuan, semangat dan dukungan pada penulis
10. Teman-teman, senior-senior serta adik-adik **Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon** yang telah memberikan ilmu, dukungan dan masukan kepada penulis.
11. Teman-teman mahasiswa/i Fakultas Kehutanan, khususnya Keluarga Besar **OLYMPUS19** yang telah kebersamai penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, sehingga penulis menerima segala saran dan kritikan dari pembaca yang sifatnya membangun. Akhir kata, semoga hasil penelitian ini dapat memberi manfaat dan pengetahuan bagi kita semua.

Makassar, Februari 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan.....	2
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Famili Zingiberaceae .....	3
2.2 Morfologi Tanaman Famili Zingiberaceae .....	4
2.3 Marka Molekuler.....	5
2.4 RAPD ( <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> ) .....	6
2.5 Seleksi Primer.....	6
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>8</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	8
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	8
3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian .....	9
3.4 Analisis Data .....	14
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>15</b>
4.1 Morfologi Tanaman Famili Zingiberaceae.....	15
4.2 Uji Kualitas .....	27
4.3 Uji Kuantitas.....	28
4.4 Seleksi Primer.....	29
4.5 Amplifikasi Primer pada Tanaman Obat Famili Zingiberaceae .....	35
<b>V. PENUTUP</b> .....	<b>48</b>
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran.....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>54</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nama Primer RAPD yang Digunakan .....	12
Tabel 2. Penampakan Morfologi Tanaman Kunyit Kuning.....	16
Tabel 3. Penampakan Morfologi Tanaman Kunyit Hitam.....	18
Tabel 4. Penampakan Morfologi Tanaman Kunyit Putih .....	20
Tabel 5. Penampakan Morfologi Tanaman Lengkuas .....	22
Tabel 6. Penampakan Morfologi Tanaman Jahe Merah .....	24
Tabel 7. Penampakan Morfologi Tanaman Temulawak.....	26
Tabel 8. Hasil Uji Kuantitas .....	28
Tabel 9. Nama Primer RAPD dan Hasil Amplifikasi DNA Famili Zingiberaceae .....	29
Tabel 10. Pita-Pita DNA pada Primer OPK20.....	36
Tabel 11. Pita-Pita DNA pada Primer OPA02.....	38
Tabel 12. Pita-Pita DNA pada Prime OPA15 .....	40
Tabel 13. Pita-Pita DNA pada Primer OPAE11 .....	42
Tabel 14. Pita-Pita DNA pada Primer OPC11 .....	44
Tabel 15. Jumlah Pita yang Dihasilkan Keseluruhan Primer .....	45



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Peta Titik Sampel Penelitian .....	8
Gambar 2. Hasil uji kualitas DNA .....	27
Gambar 3. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR Primer OPK20 untuk Seleksi Primer .....	30
Gambar 4. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR Primer OPA02 untuk Seleksi Primer .....	31
Gambar 5. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR Primer OPA15 untuk Seleksi Primer .....	32
Gambar 6. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR Primer OPAE11 untuk Seleksi Primer .....	33
Gambar 7. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR Primer OPC11 untuk Seleksi Primer .....	34
Gambar 8. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR PrimerOPK20 untuk Potensi Marka Molekuler sebagai Pembeda Tanaman.....	35
Gambar 9. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR PrimerOPA02 Potensi Marka Molekuler sebagai Pembeda Tanaman .....	37
Gambar 10. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR PrimerOPA15 untuk Potensi Marka Molekuler sebagai Pembeda Tanaman.....	39
Gambar 11. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR PrimerOPAE11 untuk Potensi Marka Molekuler sebagai Pembeda Tanaman.....	41
Gambar 12. Elektroforegram Hasil Amplifikasi PCR PrimerOPC11 untuk Potensi Marka Molekuler sebagai Pembeda Tanaman.....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Pelaksanaan Penelitian.....	54
Lampiran 2. Tabel Morfologi Sampel Penelitian .....	57
Lampiran 3. Titik Sampel Penelitian.....	63

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Famili Zingiberaceae merupakan salah satu famili yang memiliki banyak manfaat salah satunya ialah sebagai tanaman obat karena kaya akan khasiat. Di sepanjang daerah tropis dan subtropis, famili zingiberaceae terdiri atas 47 genus dan 1.400 spesies (Washikah, 2016). Zingiberaceae termasuk salah satu suku dari ordo Zingiberales yang semua anggotanya berupa herba perenial. Anggota suku ini mempunyai ciri khas pada rhizomnya yang mengandung minyak menguap atau berbau aromatik (Rahmawati *et al.*, 2021).

Pemanfaatan tanaman obat terlebih pada tanaman famili zingiberaceae yang masih banyak digunakan hingga saat ini salah satunya berada di Desa Kambuno. Desa Kambuno merupakan desa yang terletak di Kecamatan Bulukumpa, Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan. Desa ini mempunyai luas wilayah yaitu 7,22 km<sup>2</sup> dengan jumlah penduduk sebanyak 2.315 jiwa (BPS, 2022). Keadaan tanah yang subur pada desa tersebut memiliki potensi sumberdaya alam mulai dari potensi lahan, wisata alam, serta keanekaragaman hayati baik hewan dan tumbuhan termasuk tanaman obat.

Tanaman famili zingiberaceae dapat dikenali dengan mengamati morfologinya. Salah satu cara mengidentifikasi tanaman famili zingiberaceae adalah dengan mengamati karakter morfologi daun, batang, rimpang dan bunga dari tanaman. Morfologi adalah ilmu yang mempelajari tentang bentuk luar tumbuhan yang meliputi organ vegetatif (akar, batang, daun) dan organ generatif (bunga, buah dan biji) tumbuhan (Syamswisna, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Herliani & Theodora (2020) menjelaskan bahwa morfologi tumbuhan mempelajari tentang keanekaragaman tumbuhan (*Fitografi*) dan aspek-aspeknya berupa habitat tumbuhan, kebiasaan hidup, asal geografi atau daerah penyebarannya dari suatu benua, negara atau kota tertentu dan manfaat/kegunaan tumbuhan tersebut.

Identifikasi dengan melakukan pendekatan morfologi ternyata sangat terbatas dikarenakan karakter morfologi dapat berubah-ubah karena dipengaruhi oleh berbagai faktor, oleh karena keterbatasan itu mendorong perkembangan penanda lain yaitu penanda molekuler. Menurut Naipospos *et al.*, (2014)

Identifikasi melalui pendekatan morfologi mudah berubah, karena karakter morfologi dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga diperlukan analisis molekuler untuk mengetahui perubahan genetik. Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom (Zulfahmi, 2013).

Informasi mengenai keragaman morfologi dan marka molekuler yang mampu membedakan tanaman menjadi salah satu syarat dalam pelestarian pemanfaatan tanaman obat terkhususnya tanaman famili zingiberaceae di Desa Kambuno dan harapannya akan menggambarkan kualitas dan kuantitas tanaman-tanaman tersebut. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan survei identifikasi morfologi dan potensi marka genetik untuk membedakan tanaman obat famili zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno, Kecamatan Bulukumpa, Kabupaten Bulukumba.

## **1.2 Tujuan dan Kegunaan**

### **1.2.1 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Memperoleh informasi mengenai keragaman morfologi dari tanaman obat Famili zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno, Kecamatan Bulukumpa, Kabupaten Bulukumba.
2. Memperoleh informasi mengenai potensi marka genetik RAPD untuk membedakan tanaman obat Famili zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno, Kecamatan Bulukumpa, Kabupaten Bulukumba.

### **1.2.2 Kegunaan**

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk

1. Memberikan informasi mengenai keragaman morfologi tanaman obat Famili zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno, Kecamatan Bulukumpa, Kabupaten Bulukumba.
2. Memberikan informasi mengenai potensi marka genetik untuk membedakan tanaman Famili Zingiberaceae yang ada di Desa Kambuno, Kecamatan Bulukumpa, Kabupaten Bulukumba.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Famili Zingiberaceae

Famili Zingiberaceae disebut juga suku temu-temuan namun masyarakat Indonesia lebih mengenalnya dengan suku jahe-jahean. Nama Zingiber berasal dari bahasa sansekerta yaitu “*Singaberi*”. Kata “*Singaberi*” dalam bahasa sansekerta berasal dari bahasa Arab “*Zanjabil*” yang berarti jahe atau bahasa Yunani “*Zingiberi*” yang berarti tanduk (Washikah, 2016). Famili ini biasanya digunakan oleh etnis-etnis di Indonesia sebagai bumbu masak maupun bahan obat karena khasiat yang dimilikinya (Kuntorini, 2005; Auliani *et al.*, 2014) dan lebih khususnya Putra *et al.*, (2013) menjelaskan bahwa tanaman zingiberaceae dapat dijadikan alternatif sebagai elemen dalam desain lanskap.

Tumbuhan dari suku Zingiberaceae sangat sering dijumpai di kawasan Indonesia, hal ini dikarenakan Indonesia beriklim tropis yang sangat sesuai untuk tumbuhnya berbagai jenis tumbuhan, salah satunya adalah tumbuhan dari famili Zingiberaceae. Famili jahe-jahean atau famili Zingiberaceae memiliki anggota lebih dari 1.200 spesies. Beberapa contoh tanaman famili zingiberaceae adalah tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), kunyit (*Curcuma domestica*), kencur (*Kaempferia galanga*), lempuyang (*Zingiber aromaticum*), temu giring (*Curcuma heyneana*) lengkuas (*Lenguas galaga*) (Washikah, 2016) dan kunyit hitam (*Curcuma caesia*) (Udayani, 2022). Menurut Lianah (2020) beberapa contoh tanaman famili zingiberaceae adalah kencur (*Kaempferia galanga*), kunyit (*Curcuma longa*), kunyit Putih (*Kaempferia rotunda*), Jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), lengkuas merah (*Alpinia purpurata*).

Famili zingiberaceae banyak digunakan oleh etnis-etnis di Indonesia berdasarkan pengetahuan turun-temurun, informasi dari tetangga atau media massa (Arum *et al.*, 2012). Menurut Hartanto *et al.*, (2014) famili Zingiberaceae secara tradisional mampu menyembuhkan berbagai penyakit terutama penyakit yang berhubungan dengan masalah kehamilan dan keturunan serta mengobati muntah pada anak-anak. Menurut Mutaqin *et al.*, (2017) beberapa penyakit yang

dapat disembuhkan oleh famili Zingiberaceae adalah panas dalam, obat luka luar dan maag.

## 2.2 Morfologi Tanaman Famili Zingiberaceae

Morfologi tumbuhan berasal dari kata '*Morphe*' yang berarti bentuk, '*logos*' yang berarti ilmu dan tumbuhan yang berarti makhluk hidup yang memiliki klorofil/semua flora jadi morfologi tumbuhan adalah ilmu yang mempelajari bentuk dan susunan tubuh tumbuhan (Herliani & Theodora, 2020). Morfologi penting untuk dipelajari agar kesalahan dalam identifikasi tanaman dan kesalahan dalam pemanfaatannya dapat dikurangi atau dihindari. Morfologi dari tanaman famili zingiberaceae terdiri atas daun, batang, rimpang, akar dan bunga.

Menurut Hasnunidah & Wiono (2019) daun merupakan salah satu organ tumbuhan yang dapat ditemukan pada batang. Bentuk daun biasanya tipis melebar dan berwarna hijau, meskipun pada beberapa tumbuhan daunnya tidak berwarna hijau karena warna daun tergantung dari zat warna terbanyak yang terkandung di dalamnya. Akar merupakan organ yang berperan dalam menyerap air dan mineral dan umumnya tumbuh mengarah ke dalam tanah. Beberapa tumbuhan mengalami pembengkakan pada akarnya karena berfungsi sebagai tempat penyimpanan makanan cadangan bagi tumbuhan. Batang merupakan salah satu organ yang bertanggung jawab dalam mengangkut zat-zat hara yang akan digunakan untuk kehidupan tumbuhan, berdasarkan tempat dan kedudukannya batang seperti sumbu dalam tubuh tumbuhan (Herliani & Theodora, 2020). Rimpang adalah organ tumbuhan yang merupakan metamorfosis batang, akar, atau daun yang mengalami pembengkakan dan menjadi tempat penimbunan zat-zat makanan cadangan. Bunga adalah salah satu organ yang memiliki peran penting dalam perbanyakan atau perkembangbiakan. Dalam Windarsih *et al.*, (2021) terdapat tabel karakteristik untuk identifikasi morfologi famili zingiberaceae yang terdiri dari identifikasi karakter daun, identifikasi karakter batang, identifikasi karakter rimpang serta identifikasi karakter bunga.

Famili ini memiliki ciri-ciri diantaranya berperawakan herba memiliki rimpang yang berada di bawah permukaan tanah, batang semu, tipe daun lengkap dan daun tunggal. Organ bunga/perbungaan memiliki bentuk yang khas dan warna yang unik yang dapat membedakan antar genus dan spesies dari famili ini,

rimpang famili ini memiliki bentuk morfologi yang berbeda, warna rimpang yang berbeda (Hartanto *et al.*, 2014) serta memiliki rimpang yang berbau khas (Auliani *et al.*, 2014).

### **2.3 Marka Molekuler**

Penanda molekuler adalah suatu fragmen yang spesifik (protein atau DNA) yang dapat diidentifikasi dan ditemukan dalam lokasi yang spesifik dalam genom tanaman, dan digunakan untuk menandai posisi gen tertentu serta karakteristik tertentu yang diwariskan. Dalam suatu persilangan, sifat-sifat tertentu biasanya tetap terpaut (*linked*) pada suatu penanda molekuler, sehingga seleksi individu dapat dilakukan dengan mendeteksi keberadaan penanda molekuler tersebut, dimana karakteristik tertentu terpaut. Dengan pengertian tersebut, maka penanda molekuler digunakan untuk melakukan deteksi untuk membedakan sekuen spesifik diantara individu- individu tanaman, sehingga polimorfisme dalam suatu populasi tanaman dapat diidentifikasi. Penanda molekuler yang baik harus memenuhi beberapa persyaratan sebagai berikut : mempunyai tingkat polimorfisme yang tinggi; bersifat codominant (dapat membedakan antara homozygot dan heterozygot); terdapat 2 secara random sepanjang genom; reproducible (hasil relatif sama jika diulang); mudah, cepat dan murah dalam deteksi; tingkat resolusi yang tinggi dengan jumlah sampel yang besar; serta non-destruktif. (Dwiyani, 2016).

Menurut Zulfahmi (2013) Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. Penanda molekuler ini memiliki keuntungan yaitu stabil dan dapat dideteksi dalam semua jaringan tanaman, serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan. Penanda molekuler terbagi menjadi 2 (dua) yaitu penanda DNA tanpa PCR yang terdiri dari *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) dan penanda DNA berbasis PCR yang terdiri dari *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), Mikrosatelit, *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences* (CAPS), *Sequence Characterized Amplified Region* (SCAR), *Single-Strand Conformation Polymorphism* (SSCP) dan DNA Barkoding (DNA *Barcoding*).

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

RAPD adalah kependekan dari *Random Amplified Polymorphic DNA* yang berarti Amplifikasi Acak Polimorfisme DNA. RAPD merupakan salah satu dari beberapa teknik pembuatan penanda berbasis DNA dengan melibatkan penggunaan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Sembiring *et al.*, 2015). Teknik RAPD merupakan teknik penanda molekuler pengembangan dari teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk mengetahui hubungan kekerabatan suatu spesies maupun kekerabatan atau keragaman genetik antar spesies (Kumar & Gurusubramanian, 2011; Murtiyaningsih, 2017).

RAPD merupakan teknik pengujian polimorfisme DNA berdasarkan pada amplifikasi dari segmen-segmen DNA acak menggunakan primer tunggal yang sekuen nukleotidanya ditentukan secara acak (Murtiyaningsih, 2017). Metode ini pertama kali dikembangkan pada tahun 1990 oleh J. Williams dengan menggunakan primer tunggal/sekuen nukleotida pendek yang susunan biasanya dibuat secara acak (Widyastuti, 2010). Identifikasi dengan penggunaan marka molekuler dapat dilakukan pada fase awal pertumbuhan tanpa merusak spesies karena hanya membutuhkan sedikit sampel (Septiningsih *et al.*, 2004; Gusmiaty *et al.*, 2016).

RAPD merupakan marka molekuler yang lebih cepat, lebih murah, dan lebih mudah dibandingkan primer lainnya dalam mempelajari keragaman genetik, hubungan kekerabatan antar genotipe dan identifikasi varietas (Randriani *et al.*, 2012). Menurut Widyastuti (2010) yang menjelaskan bahwa RAPD memiliki keunggulan dibandingkan jenis penanda lain yaitu tidak dipengaruhi umur tanaman, mudah dilakukan, biaya relatif murah dan hasil yang cepat diperoleh.

## **2.5 Seleksi Primer**

Primer adalah nukleotida pendek yang terdiri atas sekitar 12-20 basa yang diperlukan sebagai titik pelekatan enzim polimerase DNA pada proses pembentukan atau proses pemanjangan DNA (Riupassa, 2009). Secara umum, primer yang ideal memiliki panjang antara 18 sampai 30 nukleotida. Panjang ini diharapkan cukup untuk dapat mengikat DNA template pada suhu *annealing* dan mendapatkan sekuen yang spesifik (Borah, 2011). Jika primer terlalu pendek



kemungkinan terjadinya *mispriming* (penempelan primer di tempat lain yang tidak diinginkan) tinggi, ini akan menyebabkan berkurangnya spesifisitas dari primer tersebut yang nantinya akan berpengaruh pada efektifitas dan efisiensi proses PCR. Sedangkan untuk panjang primer lebih dari 30 basa tidak akan meningkatkan spesifisitas primer secara bermakna dan ini akan menyebabkan lebih mahal (Handoyo & Rudiretna, 2001).

Primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi (Handoyo & Rudiretna, 2001). Primer yang baik merupakan primer yang memenuhi kriteria parameter primer. Parameter tersebut antara lain: Panjang primer, dimana secara umum panjang optimal primer PCR yang diterima adalah 18-22 bp. Panjangnya cukup panjang untuk spesifisitas yang memadai, dan cukup pendek untuk primer mengikat dengan mudah ke template pada suhu *annealing*. *Melting temperature* ( $T_m$ ), dimana Primer dengan  $T_m$  yang terlalu tinggi dapat menghasilkan produk PCR yang rendah, sedangkan  $T_m$  yang terlalu rendah memiliki kecenderungan menempel ditempat lain dan menghasilkan produk yang tidak spesifik. Kandungan Guanin (G) dan Sitosin (C), dimana Kandungan guanin dan sitosin dalam primer harus 40-60% (Borah, 2011), karena primer dengan % (G+C) rendah diperkirakan tidak akan mampu berkompetisi untuk menempel secara efektif pada tempat yang dituju dengan demikian akan menurunkan efisiensi proses PCR (Handoyo & Rudiretna, 2001).

Seleksi primer merupakan tahapan yang sangat penting dalam pengembangan marka molekuler untuk sifat tertentu (Herison *et al.*, 2020). Seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda pita, baik dari jelasnya pita yang dihasilkan maupun jumlah lokus yang diperoleh. Seleksi primer dilakukan dengan cara membuat beberapa reaksi PCR terhadap beberapa primer yang berbeda pada kondisi yang sama dan menggunakan sampel DNA yang sama, sehingga dapat diketahui kondisi optimum serta tingkat variasi pita yang dihasilkan setiap primer (Gusmiaty *et al.*, 2012).