

Keragaman Genetik Kantong Semar Berdasarkan Penanda *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)*

Genetic Diversity of Nepenthes Based on Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) Markers

Putri Lukmanasari^{1*)}, Zulkifli¹⁾, Ernita¹⁾, Resti Utari Wahyudi²⁾, Meli Roslianti³⁾

¹⁾Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Riau
Jl. Kaharuddin Nst No. 113, Simpang Tiga, Kec. Bukit Raya, Kota Pekanbaru, Riau 28284

²⁾Program Studi Agribisnis, Institut Teknologi dan Bisnis Indragiri
Jl. Raya Suprpto No. 14, Sekip Hilir, Kec. Rengat, Kabupaten Indragiri Hulu, Riau 29314

³⁾Program Studi Agroteknologi, Institut Teknologi Rokan Hilir
Jl. Lintas Sumatra No.Km 167, Banjar XII, Kec. Tanah Putih, Kabupaten Rokan Hilir, Riau 28953

^{*)}Penulis untuk korespondensi E-mail: putrilukmanasari@agr.uir.ac.id

Diajukan: 03 April 2023 **/Diterima:** 24 Agustus 2024 **/Dipublikasi:** 28 Agustus 2024

ABSTRACT

*Nepenthes is known as the pitcher plant, which is a unique and interesting flora that has been widely developed as an ornamental plant. This type is attractive not for its flowers but for its bags which are diverse in shape and color. Diversity in several species and hybrids of pitcher plants can be determined based on molecular characterization. This research was carried out with the aim of calculating the value of genetic diversity and testing the relationship between Nepenthes in Indonesia on a molecular basis with RAPD primers. The materials used in this research were 41 species and pitcher plant hybrids consisting of 3 individuals obtained from exploration results at the Yagiza Nursery pitcher plant nursery, Insectivorous plants Nursery, Tulungagung Nepenthes Community and Venom Nursery. Molecular DNA analysis was carried out in the genetics and plant breeding laboratory, Department of Agricultural Cultivation, Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University (UGM). In the 3 RAPD primers (OPD 8, OPC 2 and OPC15) which were tested on 41 species and pitcher plant hybrids, there were 85 loci with 1370 DNA bands with a size of 150-1750 bp which also had a polymorphic level of 100%. The total number of specific bands formed was 12 bands. Based on the results of cluster analysis, it shows that the level of diversity ranges from 17-100%, which is divided into two groups, namely groups A and B with a similarity level of 17%. Based on the results of genetic parameter analysis, it shows that the population (*N. eustachya* x *N. ampularia*) has the highest and consistent genetic differences for all parameters ($N_a=0.576\pm0.092$, $N_e=1.162\pm0.035$, and $I=0.136\pm0.027$) with a PLP of 23, 53% with a mean heterozygosity (H) of 0.093 ± 0.019 . Based on the highest similarity coefficient value, it is 0.338, which indicates a distant relationship between *N.veitchii* and *N.adnata*, while the lowest similarity coefficient value is 0.050, which indicates a close relationship between *N.maxima* wavy and *N.maluku*. Based on AMOVA, it shows that the distribution value of genetic diversity between pitcher plant populations is higher (74%) than the value of diversity within populations (26%). Meanwhile, the distribution value of genetic diversity between pitcher plant populations is higher (70%) than the value of diversity within populations (30%).*

Keywords: *Nepenthes*; Molecular; RAPD.

INTISARI

Nepenthes dikenal dengan sebutan nama kantong semar yang merupakan satu flora unik dan menarik yang telah banyak dikembangkan sebagai tanaman hias. Jenis ini memiliki daya tarik bukan pada bunganya melainkan kantongnya yang beranekaragam baik bentuk maupun warnanya. Keragaman pada beberapa spesies dan hybrid kantong semar dapat diketahui berdasarkan karakterisasi molekuler. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menghitung nilai keragaman genetik serta menguji hubungan kekerabatan *Nepenthes* di Indonesia berdasarkan molekuler dengan primer RAPD. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 41 spesies dan hybrid kantong semar yang terdiri dari 3 individu yang diperoleh dari hasil eksplorasi di penangkaran kantong semar *Yagiza Nursery*, *Insectivorous plants Nursery*, Komunitas *Nepenthes* Tulungagung dan *Venom Nursery*. Analisis DNA secara molekuler dilakukan di laboratorium genetika dan pemuliaan tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM). Pada 3 primer RAPD (OPD 8, OPC 2 dan OPC15) yang di uji pada 41 spesies dan hybrid kantong semar terdapat 85 lokus 1370 pita DNA dengan ukuran sebesar 150-1750 bp yang juga memiliki tingkat polimorfik 100%. Total pita spesifik yang terbentuk berjumlah 12 pita. Berdasarkan hasil analisis cluster menunjukkan tingkat keragaman berkisar antara 17-100% yang terbagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok A dan B dengan tingkat kemiripannya 17%. Berdasarkan hasil analisis parameter genetik menunjukkan populasi (*N. eustachya* x *N. ampularia*) memiliki perbedaan genetik tertinggi dan konsisten untuk semua parameter ($N_a=0,576\pm0,092$, $N_e=1,162\pm0,035$, dan $I=0,136\pm0,027$) dengan PLP sebesar 23,53 % dengan rerata heterozigositas (H) sebesar $0,093\pm0,019$. Berdasarkan nilai koefisien similaritas tertinggi adalah 0,338 yang menunjukkan hubungan kekerabatan yang jauh antara *N.veitchii* dengan *N.adnata*, sedangkan nilai koefisien similaritas terendah sebesar 0,050 yang menunjukkan kekerabatan yang dekat antara *N.maxima wavy* dengan *N.maluku*. Berdasarkan AMOVA menunjukkan bahwa nilai distribusi keragaman genetik antar populasi kantong semar lebih tinggi (74%) dibandingkan nilai keragaman dalam populasi (26%). Sedangkan nilai distribusi keragaman genetik antar populasi kantong semar lebih tinggi (70 %) dibandingkan nilai keragaman dalam populasi (30%).

Kata kunci: *Nepenthes*; Molekular; RAPD.

PENDAHULUAN

Nepenthes dikenal dengan sebutan nama kantong semar yang merupakan satu flora unik dan menarik yang telah banyak dikembangkan sebagai tanaman hias. Jenis ini memiliki daya tarik bukan pada bunganya melainkan kantongnya yang beranekaragam baik bentuk maupun warnanya. Sekitar 82 Jenis *Nepenthes* ada di Dunia (Jebb and Cheek, 1997). Menurut Mansur (2006) terdapat 64 jenis *Nepenthes* di Indonesia diantaranya Sumatra dan Borneo. Kurang lebih terdapat 29 jenis kantong semar di Sumatra. Sumatra merupakan salah satu

pusat keragaman kantong semar setelah Borneo. Sedangkan di Borneo terdapat kurang lebih 32 jenis kantong semar. Pemanfaatan kantong semar sebagai tanaman hias sangat populer di Mancanegara, lebih dari 280 kantong semar hybrid telah dihasilkan baik melalui persilangan buatan maupun alami dikarenakan antar jenis kantong semar mudah terjadi persilangan.

Berdasarkan Undang-Undang No 5 Tahun 1990 tentang Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem dan Peraturan Pemerintah No 7 Tahun 1999 tentang

pengawetan jenis tumbuhan dan satwa liar, kantong semar tergolong tumbuhan dilindungi. Kerusakan habitat terus berlangsung maka dalam waktu singkat akan semakin banyak jenis kantong semar yang masuk dalam data CITES atau berada pada kategori terancam punah dari *Redlist-International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN) (Lukmanasari, 2018). Oleh karena itu pengungkapan informasi tentang potensi, morfologi, dan molekuler kantong semar di suatu kawasan penting dan perlu dilakukan sebelum benar-benar punah di alam.

Keragaman genetik penting bagi tanaman untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan disekitar tanaman. Diketahui bahwa untuk Informasi keragaman genetik tanaman pada tingkat individu, spesies dan populasi perlu diketahui sebagai dasar pertimbangan dalam menyusun strategi konservasi, pemuliaan, pengelolaan dan pemanfaatan sumberdaya genetik secara berkelanjutan. Penilaian dilakukan dengan penanda morfologi, biokimia, dan molekuler DNA. Penanda morfologi merupakan penanda yang paling mudah digunakan, namun sangat dipengaruhi oleh lingkungan dan fase hidup tanaman. Sedangkan penanda DNA mampu menyediakan polimorfis pola pita DNA dalam jumlah lebih banyak, konsisten dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan serta tahap perkembangan tanaman. Penanda DNA menganalisis hubungan pada tingkat DNA, sehingga dapat diketahui perubahan yang tidak terlihat dengan penanda lain.

Kombinasi kedua penanda tersebut diharapkan akan menghasilkan data yang lebih akurat dalam mencari besar nilai keragaman dan pola hubungan genetik antar aksesori kantong semar.

Karakteristik plasma nutfah tanaman secara luas memakai penanda molekuler yang dapat memproduksi lebih cepat, efektif dan akurat jika dibandingkan dengan karakteristik berdasarkan ciri-ciri morfologi. Penanda molekuler secara karakterisasi dapat dilakukan pada stadium awal, bahkan dapat dilakukan pada benih. Molekuler secara karakteristik dapat dipakai secara bersama-sama dan saling menutupi dengan karakteristik sesuai dengan ciri-ciri dasar morfologi lainnya. Penanda molekuler bermanfaat dalam menentukan variasi karakter dan organisasi dari keragaman genetik di dalam spesies. Penanda molekuler memiliki kelebihan yang dapat menunjukkan perbedaan genetik tanpa pengaruh lingkungan, serta teknik yang lebih cepat mendapatkan hasil keragaman genetik. Penanda molekuler merupakan penanda yang paling populer digunakan untuk mengetahui tingkat keragaman dan variasi genetik pada tumbuhan. Penanda-penanda yang umum digunakan untuk analisis pada tumbuhan antara lain adalah *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), Mikrosatelit, dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Untuk menganalisis variasi genetik pada

populasi kantong semar dibutuhkan penanda molekuler yaitu RAPD.

Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD) merupakan salah satu penanda molekuler yang digunakan untuk evaluasi hubungan genetik populasi organisme. Teknik RAPD ini modifikasi dari teknologi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang dikembangkan untuk mengamplifikasi genom dengan menggunakan arbitrary primer atau primer acak. *Random Amplification Polymorphic DNA* dapat dipakai dalam mengidentifikasi genotipe tumbuhan ini memiliki kelebihan dalam pelaksanaan serta analisisnya. Jika dibandingkan dengan penanda DNA lainnya seperti *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) dan *simple sequence repeats* (SSR), RAPD merupakan teknik yang lebih mudah untuk dilakukan dan cepat menghasilkan polimorfisme pada pita DNA yang jumlahnya banyak dan juga tidak memerlukan pengetahuan terhadap latar belakang genom yang sedang dianalisis serta dengan mudah mendapatkan primer acak untuk menganalisis genom pada semua

jenis organisme (Probajati et al., 2019). Namun, cara ini kurang sempurna serta mempunyai kelemahan pada konsistensi hasil amplifikasi, akan tetapi kelemahan ini dapat diatasi dengan mengoptimalkan ekstraksi dan kondisi PCR serta pemilihan primer yang lebih tepat. Berdasarkan permasalahan diatas, maka penulis melakukan penelitian dengan judul “Keragaman genetik tanaman Kantong Semar (*Nepenthes* spp.) berdasarkan Penanda *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 41 spesies dan hybrid kantong semar masing-masing terdiri dari 3 individu yang diperoleh dari hasil eksplorasi di empat lokasi pengambilan sampel (Tabel 1 dan 2). Analisis DNA secara molekuler dilakukan di laboratorium genetika dan pemuliaan tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM). Penelitian di laboratorium dimulai dari bulan Juli 2023.

Tabel 1. Daftar spesies kantong semar yang dikarakterisasi dengan penanda RAPD

Kode	Jenis kantong semar	Asal/Penyebaran	Nama Nursery
N29	<i>N. Jacqueline</i>	Sumatra	Komunitas <i>Nepenthes</i> Tulungagung
N34	<i>N. longifolia</i>	Sumatra	<i>Venom Nursery</i>
N36	<i>N. tobaica</i>	Sumatra	<i>Yagiza Nursery</i>
N38	<i>N. adnata</i>	Sumatra	<i>Yagiza Nursery</i>
N40	<i>N. adriani</i>	Sumatra dan Jawa	Komunitas <i>Nepenthes</i> Tulungagung
N15	<i>N. Eustachya</i>	Sumatra	<i>Yagiza Nursery</i>
N28	<i>N. beccariana</i>	Sumatra	<i>Yagiza Nursery</i>
N27	<i>N. sumatrana sibolga</i>	Sumatra	<i>Yagiza Nursery</i>

Kode	Jenis kantong semar	Asal/Penyebaran	Nama Nursery
N16	<i>N. reinwardtiana</i>	Sumatra dan Kalimantan	Komunitas <i>Nepenthes</i> Tulungagung
N4	<i>N. ampullaria</i>	Borneo Sumatra Thailand Semenanjung Malaysia Singapura Kepulauan Maluku dan New Guinea	<i>Venom Nursery</i>
N32	<i>N. rafflesiana</i>	Borneo, Sumatra, semenanjung Malaysia dan Singapura	<i>Insectivorous plants Nursery</i>
N6	<i>N. gracilis</i>	Kalimantan Kamboja Malaysia Singapura Sulawesi Sumatra Thailand	<i>Venom Nursery</i>
N41	<i>N. kampotiana</i>	Selatan Kamboja, Timur Thailand, dan Barat Vietnam.	<i>Insectivorous plants Nursery</i>
N7	<i>N. mirabilis</i>	Kalimantan Kamboja Malaysia Singapura Sulawesi Sumatra Thailand	<i>Venom Nursery</i>
N8	<i>N. globosa</i>	Thailand	<i>Venom Nursery</i>
N5	<i>N. bicalcarata</i>	Kalimantan	<i>Venom Nursery</i>
N17	<i>N. clipeata</i>	Kalimantan Borneo	<i>Yagiza Nursery</i>
N25	<i>N. northiana</i>	Kalimantan	<i>Yagiza Nursery</i>
N26	<i>N. veitchii</i>	Borneo Kalimantan	<i>Yagiza Nursery</i> ⁸
N45	<i>N. hirsuta</i>	Kalimantan	<i>Yagiza Nursery</i>
N44	<i>N. albomarginata</i>	Kalimantan, Semenanjung Malaysia dan Sumatra	<i>Venom Nursery</i>
N42	<i>N. xhookeriana</i>	Kalimantan, Semenanjung Malaysia, Singapura, Sumatra	<i>Yagiza Nursery</i>
N30	<i>N. eymae</i>	Sulawesi	<i>Yagiza Nursery</i>
N48	<i>N. undulatifolia</i>	Sulawesi	<i>Yagiza Nursery</i>
N49	<i>N. danseri</i> atau <i>N. spathulata</i>	Kepulauan Maluku	<i>Yagiza Nursery</i>
N52	<i>N. maxima</i> maluku	Sulawesi, Maluku dan Papua	<i>Yagiza Nursery</i>
N43	<i>N. maxima wavy</i>	Sulawesi, Maluku dan Papua	<i>Yagiza Nursery</i>
N46	<i>N. treubiana</i>	Papua	<i>Yagiza Nursery</i>

Kode	Jenis kantong semar	Asal/Penyebaran	Nama Nursery
N47	<i>N. insignis</i>	Papua	Yagiza Nursery
N35	<i>N. neogueneensis</i>	Papua	Venom Nursery

Tabel 2. Daftar hybrid kantong semar yang dikarakterisasi secara molekuler dengan RAPD

Kode	Jenis kantong semar	Nama Nursery
N12	<i>N.reinwardtina</i> x <i>N. Eustachya</i>	Yagiza Nursery
N9	(<i>N. Eustachya</i> x <i>N. reinwardtiana</i>) x <i>N. clipeata</i>	Yagiza Nursery
N23	<i>N. Eustachya</i> x <i>N.beccariana</i>	Yagiza Nursery
N11	<i>N. Eustachya</i> x <i>N. ampullaria</i>	Venom Nursery
N22	<i>N. ampullaria</i> x <i>N.sumatrana sibolga</i>	Yagiza Nursery
N1	(<i>N. ampullaria</i> x <i>N. globosa</i>) x (<i>N. bicalcarata</i> x <i>N. globosa</i>)	Venom Nursery
N2	<i>N. globosa</i> x <i>N. gracilis</i>	Venom Nursery
N3	(<i>N. Bicalcarata</i> x <i>N. Mirabilis</i>) x (<i>N. bicalcarata</i> x <i>N. Globosa</i>)	Venom Nursery
N51	<i>N. ampullaria</i> x <i>N.reinwardtina</i>	Yagiza Nursery
N10	<i>N.reinwardtina</i> x <i>N. Mirabilis</i>	Komunitas Nepenthes Tulungagung
N21	<i>N.northiana</i> x <i>N.veitchii</i>	Yagiza Nursery

Pengamatan molekuler meliputi tahap-tahap berikut, ekstraksi DNA, kuantifikasi DNA, pengenceran, optimasi suhu dan seleksi primer, amplifikasi DNA (PCR), elektroforesis dan kuantifikasi elektroforesis gel. DNA diekstraksi dari daun segar dan sehat, menggunakan buffer CTAB. Seleksi primer (RAPD) dilakukan terhadap 3 primer (Tabel 3) dengan suhu annealing 37°C. Primer menunjukkan polimorfisme yang digunakan untuk genotyping menggunakan PCR (RAPD). Sedangkan Komposisi bahan PCR primer RAPD (Tabel 4) dan tahapan

reaksi amplifikasi DNA dengan primer RAPD sebanyak 40 Siklus (Tabel 5) dilakukan dengan suhu gradien pada mesin PCR (BOECO). Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis gel menggunakan 1,5 % gel agarose di dalam tangki elektroforesis yang berisi larutan penyangga TBE pH 8 dengan tegangan 400 volt selama 55 menit. Proses pembuatan gel agarose, ditambahkan 4 µl flourosafe DNA stain sebagai pewarna, kemudian didiamkan selama 30 menit. Visualisasi menggunakan sinar UV dan citra direkam dengan kamera digital.

Tabel 3. Primer yang akan digunakan dalam amplifikasi RAPD

No	Kode Primer	Sekuen Primer (5'-3')	Referensi
1	OPC 15	GACGGATGAG	Nongrum, <i>et al.</i> (2012)
2	OPD 8	GTGTGCCCCA	Optimasi penulis
3	OPC 2	GTGAGGCGTC	Optimasi penulis

Tabel 4. Bahan PCR Primer RAPD

No	Bahan	Volume (μ l)
1	PCR Mix (<i>Go Taq Green</i>)	6.25
2	<i>Nuclease free water</i>	2.75
3	Primer	0,5
4	DNA Sampel	3
Total		12.5

Tabel 5. Tahapan reaksi amplifikasi DNA dengan primer RAPD sebanyak 40 Siklus

No	Proses	Suhu Reaksi ($^{\circ}$ C)	Durasi
1	<i>Pre-heating</i>	95	5 menit
2	Denaturasi	95	45 detik
3	<i>Annealing</i>	37	1 menit 45 detik
4	Elongasi	72	45 detik
5	Elongasi akhir	72	7 menit

Analisis data

Analisis kluster seluruh data molekuler menggunakan *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested* (SAHN) dengan metode *Inweight pair group method arithmetic average* (UPGMA) pada program NTSYS-PC versi 2.02. Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram.

Analisis molekuler dilakukan dengan skoring pita DNA berdasarkan ada tidaknya pita DNA pada setiap genotipe. Adanya pita

diberi skor 1 dan tidak adanya pita diberi skor 0. GenAIEx 6.5.03 digunakan untuk menghitung beberapa parameter genetik yaitu persentase lokus polimorfik (PLP), jumlah alel spesifik perpopulasi, analisis varians molekuler (AMOVA), heterozigositas (h), jumlah alel yang diamati (N_a), jumlah alel efektif (N_e) dan indeks Shannon. Perhitungan parameter genetik meliputi persentase polimorfik (PLP).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Genetik Kantong Semar Berdasarkan Penanda RAPD

Tabel 6. Polimorfisme Primer RAPD

Kode Primer	Sekuen	Jumlah lokus teramplifikasi	Ukuran pita (bp)	Jumlah Lokus Polimorfik	% Polimorfisme
OPC 15	GACGGATCAG	28	200-1750	28	100%
OPD 8	GTGTGCCCCA	27	200-1500	27	100%
OPC 2	GTGAGGCGTC	30	150-1750	30	100%

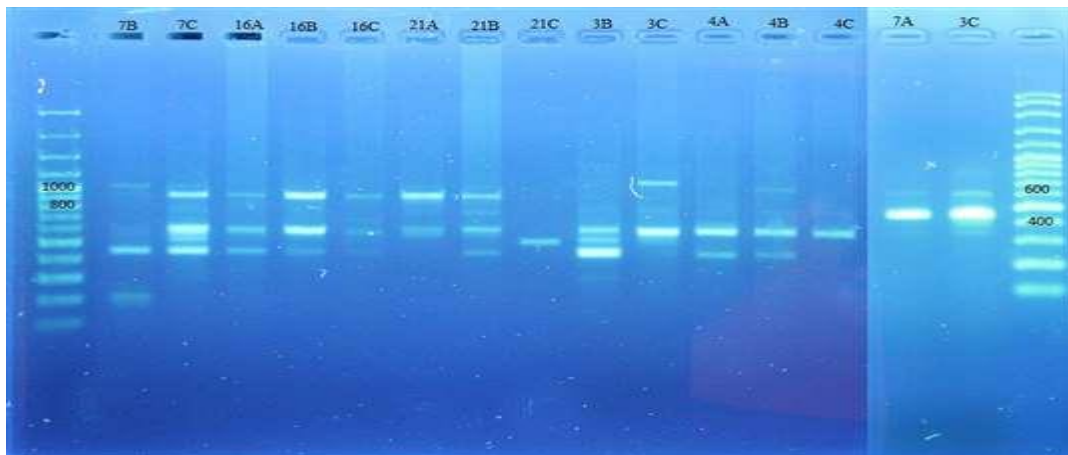
Tabel 7. Pita spesifik yang dihasilkan oleh primer RAPD

Kode Primer	Pita spesifik	
	Ukuran pita (bp)	Genotipe
OPC 15	310	<i>N.clipeata</i>
	410	<i>N.hirsuta</i>
	950	<i>N. jacqueline</i>
	1200	<i>N.hirsuta</i>
OPD 8	510	<i>N.rafflesiana</i>
	850	<i>N.hirsuta</i>
	1300	<i>(N.ampularia x N.sumatrana sibolga)</i>
	1400	<i>N. northiana</i>
OPC 2	610	<i>N.danserii</i>
	1200	<i>N.reindwartiana</i>
	1300	<i>(N.eustahcya x N.reinwardtiana) x N.clipeata</i>
	1400	<i>N.clipeata</i>

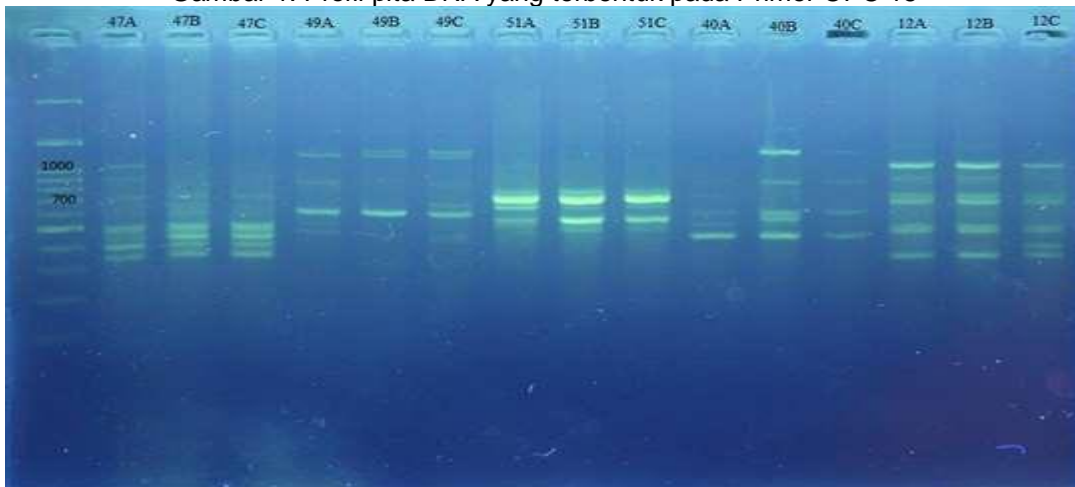
Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan 3 primer RAPD terdapat 85 lokus 1370 pita DNA dengan ukuran sebesar 150-1750 bp yang juga memiliki tingkat polimorfik 100% (Tabel 6). Pada primer RAPD terdapat 27-30 DNA yang terbentuk pada setiap primer dengan ukuran kisaran 150-1750 bp. Pita DNA terbanyak dibentuk oleh primer OPC 2 sebanyak 30 pita DNA antara ukuran 150-1750 bp. Kemudian diikuti oleh primer OPC 15 yang membentuk 28 pita DNA ukuran 200-1750 bp. Hasil amplifikasi setiap primer RAPD menghasilkan 100% pita DNA polimorfik hal ini menunjukkan bahwa tingkat variasi genetik pada tanaman nepenthes Indonesia tergolong tinggi. Variasi genetik yang tinggi dapat menguntungkan individu tersebut di dalam populasi, semakin tinggi variasi genetiknya berarti individu tersebut memiliki daya adaptasi dan bertahan di suatu lingkungan lebih tinggi dibanding populasi dengan variasi genetik rendah. Sebaliknya, jika persentase monomorfik

tinggi menandakan bahwa genotipe homozigot tinggi sehingga dapat mencirikan bahwa variasi genetiknya rendah (Vogt, 2023). Rendahnya variasi genetik ini dapat dimanfaatkan oleh breeder untuk memperoleh sifat yang dominan.

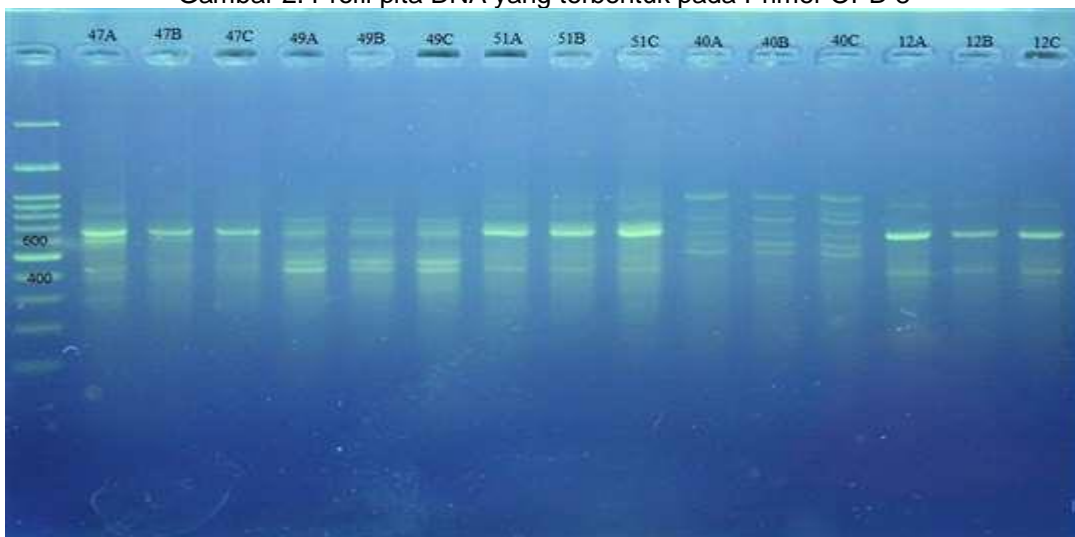
Tabel 7. Menunjukkan pita spesifik yang dihasilkan oleh 3 Primer RAPD pada 41 genotipe nepenthes. Total pita yang terbentuk berjumlah 12 pita spesifik. Pita spesifik adalah pita DNA yang muncul hanya pada satu genotipe dan tidak muncul pada genotipe lainnya, sehingga bisa dikatakan pita tersebut merupakan penciri dari genotipe yang bersangkutan (Kumar *et al*, 2015). Untuk membedakan aksesori satu dengan aksesori lainnya dapat menggunakan profil pita DNA secara menyeluruh dan khas pada setiap aksesori menjadi DNA *fingerprinting* (Wang *et al*, 2019). Profil pita DNA spesifik yang dihasilkan dari amplifikasi DNA tumbuhan dapat digunakan sebagai identitas tumbuhan (Zulfahmi, 2013).



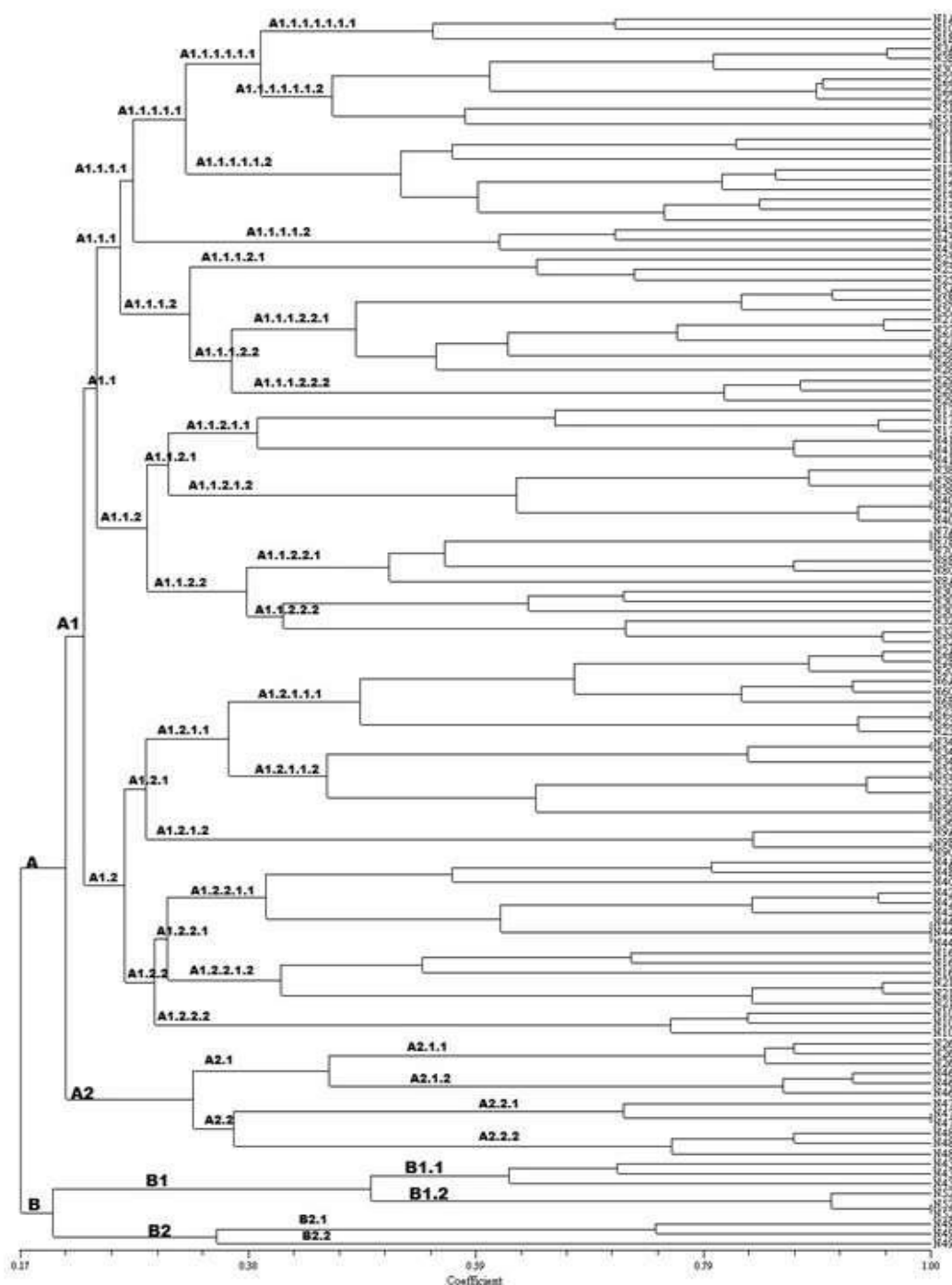
Gambar 1. Profil pita DNA yang terbentuk pada Primer OPC 15



Gambar 2. Profil pita DNA yang terbentuk pada Primer OPD 8



Gambar 3. Profil pita DNA yang terbentuk pada Primer OPC 2



Gambar 4. Dendrogram pengelompokan gabungan antara spesies, tetua dan anakan *Nepenthes* berdasarkan penanda molekuler RAPD.

Tingkat polimorfisme dari 3 primer RAPD dari 41 genotipe yang digunakan disajikan pada gambar 1,2 dan 3. Sejumlah 1370 pita DNA telah dihasilkan dengan jumlah maksimum 30 pita pada OPC 2 dan minimum 28 pita pada OPD 8. Tingkat

polimorfisme 3 primer yang diuji 100% (sangat tinggi). Tingginya tingkat polimorfisme ini disebabkan karena kantong semar termasuk tanaman menyerbuk silang sehingga menghasilkan keturunan yang beragam secara genetik. Menurut Razak et

al., (2019) menunjukkan semakin tinggi tingkat polimorfisme maka tingkat keragaman genetik di antara individu-individu plasma nutfah juga akan semakin tinggi.

Hasil amplifikasi DNA kantong semar terhadap 3 primer RAPD terpilih yaitu OPC 2, OPC 15 dan OPD 8. Hasil penelitian menunjukkan ketiga primer tersebut dapat mengamplifikasi DNA dengan pola pita satu/dua saja dan rata-rata persentase primer polimorfisme sebesar 100%. Tingginya persentase primer polimorfisme ini menjelaskan kemampuan primer untuk mengamplifikasi sekuen target. Sesuai dengan Bora et al., (2018) yang melaporkan polimorfisme dalam populasi tertentu sering disebabkan karena adanya varian genetik yang diwakili oleh jumlah alel pada primer dan frekuensi distribusinya dalam suatu populasi. Sejalan dengan Yamanaka et al., (2019) melaporkan primer-primer polimorfisme dibutuhkan untuk menganalisis keragaman individu dengan munculnya pita yang beragam. Sejalan pula dengan (Kulyan et al., 2023) melaporkan bahwa secara khusus DNA berdasarkan tingkat polimorfisme merupakan alat yang paling kuat dalam memperoleh similaritas genetik antara stok pemuliaan.

Hasil analisis cluster ke 123 aksesi *Nepenthes* berdasarkan penanda molekuler RAPD menunjukkan tingkat keragaman berkisar antara 17-100% yang terbagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok A dan B dengan tingkat kemiripannya 17%. Kelompok A terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok sub A1 dan sub A2 dengan tingkat

kemiripannya 21,2%. Kelompok sub A1 terbagi lagi menjadi sub-sub kelompok yang lebih kecil yaitu kelompok sub-sub A1.1 dan sub-sub A1.2 dengan tingkat kemiripannya 23%. Kelompok sub-sub A1.1 dengan tingkat kemiripannya 24% terdiri dari 21 aksesi yang terdiri dari sub-sub A1.1.1 yang terdiri dari 13 aksesi yaitu N1, N3, N22, N51, N11, N12, N15, N45, N25, N5, N27, N28 dan N29 sedangkan sub-sub A1.1.2 terdiri dari 7 aksesi yaitu N17, N41, N38, N40, N7, N8, N30, dan N32. Kelompok sub-sub A1.2 dengan tingkat kemiripannya 26,5% terdiri dari sub A1.2.1 yang beranggota N2, N6, N23, N34, N35, N36, N9 dan sub A1.2.2 yang beranggota N4, N42, N44, N16, N21 dan N10. Sedangkan pada kelompok sub A2 terbagi lagi menjadi sub-sub kelompok yang lebih kecil yaitu kelompok sub-sub A2.1 dan sub-sub A2.2 dengan tingkat kemiripannya 31%. Kelompok sub-sub A2.1 dengan tingkat kemiripannya 45,5% terdiri dari 2 aksesi yang beranggota N26 dan N46 serta sub A2.2 dengan tingkat kemiripannya 35% yang beranggotakan N47 dan N48. Pada kelompok B terdiri dari dua sub kelompok yaitu sub B1 dan sub B2 dengan tingkat kemiripannya 19,5%. Kelompok sub B1 terdiri dari dua aksesi yaitu N43, N52 dan kelompok sub B2 juga terdiri dari satu aksesi yaitu N49.

Besarnya nilai keragaman genetik antara 0,1-0,4 dikategorikan rendah, nilai 0,5-0,7 dikategorikan sedang sedangkan 0,8-1,0 dikategorikan tinggi (Nei, 1987). Hal ini menunjukkan keragaman genetik populasi kantong semar dalam penelitian ini tergolong

tinggi. Untuk menghasilkan karakteristik tertentu yang tinggi dapat dilakukan dengan menggunakan jarak genetik yang jauh (kesamaan genetik semakin kecil) dari tetua yang digunakan akan berpeluang menghasilkan hibrid dengan tingkat heterosis yang tinggi (Seesang et al., 2014).

Hasil analisis parameter genetik pada empat puluh satu populasi kantong semar (Tabel 8) diperoleh jumlah alel per lokus (N_a) antara 0,106 sampai 0,576 dengan rerata $0,251 \pm 0,010$, jumlah alel efektif (N_e) 1,016 sampai 1,162 dengan rerata $1,051 \pm 0,003$, Shannon information indeks (I) 0 sampai 0,136. Populasi (*N. eustachya* x *N. ampularia*) menunjukkan perbedaan genetik tertinggi dan konsisten untuk semua parameter ($N_a=0,576 \pm 0,092$, $N_e=1,162 \pm 0,035$, dan $I=0,136 \pm 0,027$) dengan PLP sebesar 23,53 % dengan rerata heterozigositas (H) sebesar $0,093 \pm 0,019$. Keragaman merupakan suatu variasi yang terjadi pada suatu populasi tertentu. Nilai keragaman yang terjadi pada setiap populasi dapat diketahui dan dihitung yaitu dengan GenAlex. Nilai keragaman dinyatakan dengan nilai indeks *Diversitas Gen Nei* (h). Keragaman genetik adalah penyimpangan sifat atau karakter dari individu yang terjadi karena perkawinan alami yang tak terkontrol. Keragaman genetik dapat dilihat dari karakter alel dari lokus tertentu yang merupakan ekspresi dari gen tertentu (Pereira et al., 2019).

Wu et al., (2020) melaporkan bahwa jumlah alel efektif merupakan gambaran dari jumlah alel yang terdapat dalam suatu

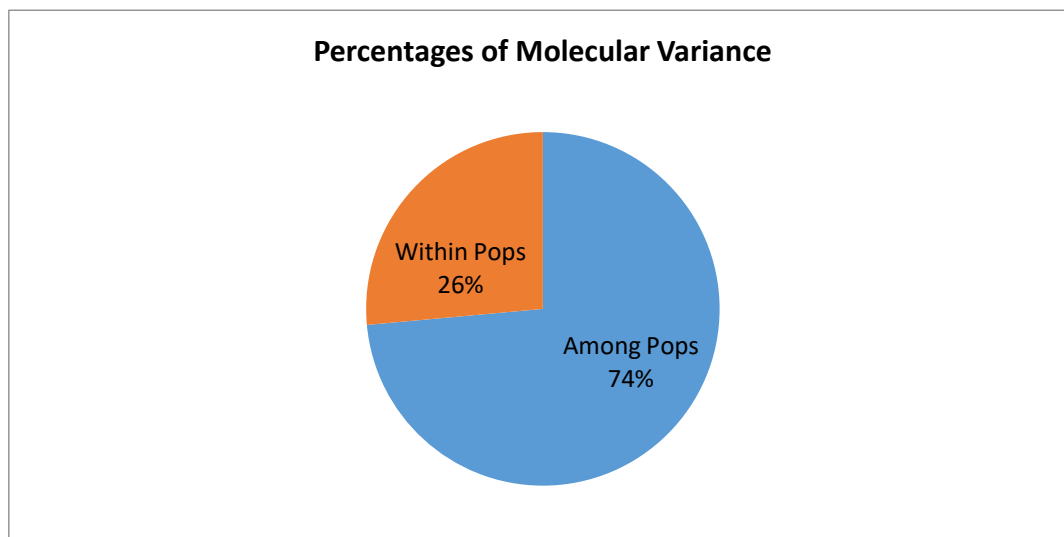
populasi. Ukuran dari jumlah alel efektif yang diperoleh merupakan ukuran dari sebuah N_e . Homozigositas merupakan nilai kebalikan dari nilai resiprok yang merupakan nilai N_e , semakin tinggi nilai N_e maka semakin banyak individu heterozigot. Tingginya nilai N_e progeni menunjukkan banyaknya individu dalam populasi progeni yang heterozigot. Sesuai dengan Nei (1987) bahwa nilai heterozigositas merupakan jumlah penyebaran gen atau alel pada suatu populasi. Nilai heterozigositas pengamatan H_o biasanya lebih rendah dibandingkan dengan H_e . Sejalan dengan Dangi, et.al (2004) yang melaporkan bahwa nilai heterozigositas ini sesuai dengan probabilitas bahwa dua alel yang diambil dari suatu populasi dapat dibedakan dengan marka yang diuji. Secara prinsip, ada keragaman genetik dari individu-individu dalam populasi yang diamati, yang mewariskan sifat dari tetuanya. Banyak faktor menjadi penyebab keragaman tersebut, misalnya perkawinan acak yang menyebabkan probabilitas alel menurun akibat efek inbreeding. Faktor lain, misalnya terjadi mutasi pada lokus berukuran besar, sehingga efek mutan mungkin saja tidak tampak dan sulit dibedakan menggunakan prosedur konvensional.

Tabel 8 . Rata-rata jumlah alel yang diamati (Na), jumlah alel efektif (Ne), heterozigositas (h), indeks Shannon (I), persentase lokus polimorfik (PLP), dan jumlah alel spesifik setiap populasi spesies, tetua berdasarkan RAPD

Populasi	Kode	N	Na	Ne	h	I	PLP
(N.ampularia x N.globosa)x(N.bicalcarataxN.globosa)	N1	3	0.506±0.090	1.128±0.030	0.077±0.017	0.115±0.025	21.18%
(N.globosaxN.gracilis)	N2	3	0.188±0.052	1.021±0.013	0.013±0.008	0.019±0.011	3.53%
(N.bicalcarataxN.mirabilis) x (N.bicalcarata x N.globosa)	N3	3	0.224±0.059	1.044±0.020	0.024±0.011	0.035±0.016	5.88%
N.ampularia	N4	3	0.353±0.078	1.079±0.023	0.049±0.014	0.075±0.020	14.12%
N.bicalcarata	N5	3	0.224±0.059	1.038±0.018	0.022±0.010	0.033±0.015	5.88%
N.gracilis	N6	3	0.282±0.064	1.036±0.015	0.023±0.009	0.036±0.014	7.06%
N.mirabilis	N7	3	0.118±0.035	1.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.00%
N.globosa	N8	3	0.271±0.072	1.081±0.026	0.046±0.014	0.068±0.021	11.76%
(N.eustahcya x N. reinwardtiana) x N.clipeata	N9	3	0.271±0.061	1.044±0.020	0.024±0.011	0.035±0.016	5.88%
(N.reindwartiana x N.mirabilis)	N10	3	0.259±0.065	1.048±0.019	0.029±0.011	0.044±0.016	8.24%
N.eustahcya x N.ampularia	N11	3	0.576±0.092	1.162±0.035	0.093±0.019	0.136±0.027	23.53%
N. reinwardtiana x N.eustahcya	N12	3	0.271±0.066	1.072±0.027	0.038±0.014	0.054±0.020	8.24%
N.eustahcya	N15	3	0.247±0.65	1.060±0.023	0.034±0.013	0.049±0.018	8.24%
N.reindwartiana	N16	3	0.471±0.088	1.135±0.032	0.078±0.018	0.115±0.025	20.00%
N.clipeata	N17	3	0.435±0.081	1.127±0.034	0.068±0.018	0.097±0.025	15.29%
(N.northiana x N.veitchii)	N21	3	0.200±0.055	1.032±0.017	0.019±0.009	0.027±0.014	4.71%
(N.ampularia x N.sumatrana sibolga)	N22	3	0.165±0.050	1.027±0.016	0.015±0.009	0.022±0.012	3.53%
(N.eustahcya x N.beccariana)	N23	3	0.106±0.038	1.005±0.005	0.004±0.004	0.006±0.006	1.18%
N. northiana	N25	3	0.329±0.076	1.080±0.025	0.048±0.014	0.071±0.021	12.94%
N.veitchii	N26	3	0.318±0.067	1.054±0.021	0.031±0.012	0.046±0.017	8.24%
N.sumatrana sibolga	N27	3	0.247±0.062	1.043±0.018	0.026±0.010	0.038±0.015	7.06%
N.beccariana	N28	3	0.224±0.063	1.054±0.021	0.031±0.012	0.046±0.017	8.24%
N. Jacqueline	N29	3	0.247±0.062	1.049±0.021	0.028±0.011	0.041±0.016	7.06%
N.eymae	N30	3	0.400±0.081	1.072±0.019	0.048±0.013	0.075±0.019	15.29%
N.Rafflesiana	N32	3	0.259±0.065	1.060±0.023	0.034±0.013	0.049±0.018	8.24%
N.longifolia	N34	3	0.106±0.041	1.016±0.012	0.009±0.007	0.014±0.010	2.35%
N.neoguenensis	N35	3	0.118±0.039	1.011±0.011	0.006±0.006	0.008±0.008	1.18%
N.tobaica	N36	3	0.106±0.034	1.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.00%
N.adnata	N38	3	0.212±0.053	1.021±0.013	0.013±0.008	0.019±0.011	3.53%
N.adrianii	N40	3	0.106±0.038	1.005±0.005	0.004±0.004	0.006±0.006	1.18%
N.kampotiana	N41	3	0.129±0.044	1.016±0.012	0.009±0.007	0.014±0.010	2.35%
N.xhookeriana	N42	3	0.200±0.055	1.026±0.014	0.016±0.008	0.025±0.012	4.71%
N.maxima wavy	N43	3	0.271±0.070	1.051±0.017	0.034±0.011	0.053±0.017	10.59%
N.albomarginata	N44	3	0.094±0.032	1.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.00%
N.hirsuta	N45	3	0.459±0.086	1.130±0.032	0.074±0.017	0.109±0.025	18.82%
N.treubiana	N46	3	0.259±0.061	1.044±0.020	0.024±0.011	0.035±0.016	5.88%
N.insignis	N47	3	0.271±0.066	1.048±0.019	0.029±0.011	0.044±0.016	8.24%
N.undulatifolia	N48	3	0.188±0.057	1.038±0.018	0.022±0.010	0.033±0.015	5.88%
N.danserii	N49	3	0.200±0.064	1.065±0.024	0.037±0.013	0.054±0.019	9.41%
(N.ampularia x N.reinwardtiana)	N51	3	0.282±0.070	1.064±0.022	0.038±0.013	0.058±0.019	10.59%
N.maxima maluku	N52	3	0.082±0.034	1.005±0.005	0.004±0.004	0.006±0.006	1.18%
Rata-rata		3	0.251±0.010	1.051±0.003	0.030±0.002	0.044±0.003	7.83%

Tabel 11. Hasil AMOVA pada gabungan populasi spesies, tetua dan anakan nepenthes berdasarkan RAPD

Sumber Variasi	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Estimasi Varians	Varians (1%)
Antar populasi	40	829.415	20.735	6.172	74%
Dalam populasi	82	182.000	2.220	2.220	26%
Total		1011.415		8.391	100%



Gambar 8. persentase keragaman pada 41 kelompok populasi berdasarkan Primer RAPD

Berdasarkan data pada Table 9, nilai koefisien similaritas tertinggi adalah 0,338 yang menunjukkan hubungan kekerabatan yang jauh antara *N.veitchii* dengan *N.adnata*, sedangkan nilai koefisien similaritas terendah sebesar 0,050 yang menunjukkan kekerabatan yang dekat antara *N.maxima wavy* dengan *N.maluku*. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin dekat jarak genetik maka akan menunjukkan tingkat kemiripan yang semakin tinggi. Dalam pemuliaan tanaman, tingkat kemiripan yang tinggi akan meningkatkan keberhasilan persilangan. Sebaliknya semakin rendah tingkat kemiripan akan menurunkan kemungkinan keberhasilan persilangan (Havey, 2018).

Keragaman genetik pada kantong semar dapat dilihat dari hasil analisis

terhadap sumber ragam antar populasi dan dalam populasi yang menghasilkan sumber ragam total seluruh populasi yang diamati. Analisis terhadap sumber raga mini dilakukan dengan membaca table AMOVA (*analysis of molecular variance*). AMOVA dianalisis dengan menggunakan program GenAIEX versi 6.502. Pada table 11 menunjukkan bahwa nilai distribusi keragaman genetik antar populasi kantong semar lebih tinggi (74 %) dibandingkan nilai keragaman dalam populasi (26 %). Sedangkan pada table 12 menunjukkan bahwa nilai distribusi keragaman genetik antar populasi kantong semar lebih tinggi (70 %) dibandingkan nilai keragaman dalam populasi (30 %). Hal ini disebabkan karena masing-masing populasi memiliki karakter dan ciri spesifik secara

morfologi dan genetik yang berbeda dengan populasi lainnya.

Hasil analisis AMOVA juga menampilkan nilai keragaman genetik dalam bentuk persentase (Yani *et al.*, 2018), sehingga dapat meningkatkan pemahaman terhadap nilai penduga varians yang teramati, serta memperjelas visualisasinya, ditampilkan juga grafik potongan kue (*pie chart*) yang menunjukkan komposisi persentase varians secara molekuler pada gambar 8 dan 9. Apabila nilai persentase varians antar populasinya yang lebih besar, maka apabila terjadi persilangan tanaman kantong semar melintasi jenisnya (antar populasi), maka kesempatan untuk mendapatkan keragaman semakin besar, tetapi karakter spesifik salah satu tetuanya akan lebih sulit daripada menyilangkan tanaman kantong semar dengan sesama jenisnya (persilangan dalam populasi).

Penggunaan penanda molekuler yang beragam seperti RAPD dalam menentukan variasi genetik mampu memperkuat data taksonomi dan mempermudah klasifikasi intraspesies. Penggunaan jumlah primer dapat mempengaruhi jumlah pita (*band*) atau fragmen yang dihasilkan. Semakin banyak pita (*band*) atau fragmen yang terbentuk, semakin tinggi similaritas yang terbentuk sehingga dapat mempengaruhi proses konstruksi dendrogram (Arifiyanti, 2015). Analisis hasil molekuler ini menunjukkan bahwa penanaman kantong semar dengan berbagai spesies dan hybrid dapat memberikan gambaran hubungan fenetik serta memperkuat hubungan kekerabatan

suatu organisme tanpa terpengaruh factor lingkungan organisme tersebut. Namun karakterisasi molekuler ini juga membutuhkan ketelitian dan kehati-hatian sehingga hasil data yang diperoleh sesuai dengan yang diinginkan peneliti (sesuai hipotesis).

Spesies dengan variasi genetik yang tinggi akan cenderung menghasilkan keturunan yang bervariasi dan tidak menutup kemungkinan diantara keturunannya dapat menjadi spesies yang paling dapat bertahan pada suatu populasi. Sebaliknya spesies dengan variasi genetik yang rendah akan menghasilkan keturunan yang cenderung sama secara genetik sehingga akan lebih rentan terhadap perubahan lingkungan dan kepunahan. Kedua kombinasi karakterisasi berdasarkan morfologis dan molekuler akan memberikan informasi mengenai hubungan kekerabatan diantara aksesi kantong semar yang dapat dimanfaatkan untuk membuat koleksi inti dengan variabilitas maksimum untuk pengembangan spesies kantong semar dimasa depan seperti pembudidayaan kantong semar dan konservasi *ex situ*.

KESIMPULAN

Pada 3 primer RAPD (OPD 8, OPC 2 dan OPC15) yang di uji pada 41 spesies dan hybrid kantong semar terdapat 85 lokus 1370 pita DNA dengan ukuran sebesar 150-1750 bp yang juga memiliki tingkat polimorfik 100%, hal ini menunjukkan bahwa tingkat variasi genetik pada tanaman nepenthes Indonesia tergolong tinggi. Total pita spesifik yang terbentuk berjumlah 12 pita.

Berdasarkan hasil analisis cluster menunjukkan tingkat keragaman berkisar antara 17-100% yang terbagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok A dan B dengan tingkat kemiripannya 17%. Hal ini menunjukkan keragaman genetik populasi kantong semar dalam penelitian ini tergolong tinggi. Berdasarkan hasil analisis parameter genetik diperoleh jumlah alel per lokus (N_a) antara 0,106 sampai 0,576 dengan rerata $0,251 \pm 0,010$, jumlah alel efektif (N_e) 1,016 sampai 1,162 dengan rerata $1,051 \pm 0,003$, Shannon information indeks (I) 0 sampai 0,136. Populasi (*N. eustachya* x *N. ampularia*) menunjukkan perbedaan genetik tertinggi dan konsisten untuk semua parameter ($N_a=0,576 \pm 0,092$, $N_e=1,162 \pm 0,035$, dan $I=0,136 \pm 0,027$) dengan PLP sebesar 23,53 % dengan rerata heterozigositas (H) sebesar $0,093 \pm 0,019$. Berdasarkan nilai koefisien similaritas tertinggi adalah 0,338 yang menunjukkan hubungan kekerabatan yang jauh antara *N. veitchii* dengan *N. adnata*, sedangkan nilai koefisien similaritas terendah sebesar 0,050 yang menunjukkan kekerabatan yang dekat antara *N. maxima wavy* dengan *N. maluku*. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin dekat jarak genetik maka akan menunjukkan tingkat kemiripan yang semakin tinggi. Berdasarkan AMOVA menunjukkan bahwa nilai distribusi keragaman genetik antar populasi kantong semar lebih tinggi (74 %) dibandingkan nilai keragaman dalam populasi (26%). Sedangkan nilai distribusi keragaman genetik antar populasi kantong semar lebih tinggi (70 %) dibandingkan nilai

keragaman dalam populasi (30%). Hal ini disebabkan karena masing-masing populasi memiliki karakter dan ciri spesifik secara morfologi dan genetik yang berbeda dengan populasi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiyanti, R. 2015. Variasi genetik tanaman melon (*Cucumis melo* L) berdasarkan penanda molekuler Inter-Simple sequence repeat. Skripsi. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Bora, L., Singh, A. K., Kumar, A., & Metwal, M. (2018). Morphological and microsatellite marker based polymorphic assesment of genetic diversity and relationship of mango (*Mangifera indica* L.). *Indian Journal of Biotechlogy*, 17, 91-100
- Dangi RK., MD. Lagu, LB. Choudhary, PK. Ranjekar and VS. Gupta. 2004. Assessment of genetik diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR nd RAPD markers. *BMC Plant Biology* 4: 13.
- Doyle, J.J dan J. L. Doyle. 1989. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus* 12 (1) : 13 – 15
- Havey, M. 2018. Onion Breeding. *Plant Breeding Reviews* 42: 39-85.
- Jebb, M.H.P. & M. Cheek. 1997. A Skeletal Revision of *Nepenthes* (Nepenthaceae). *Blumea* 42 (1)
- Kulyan, R.; Samarina, L.; Shkhalakhova, R.; Kuleshov, A.; Ukhatova, Y.; Antonova, O.; Koninskaya, N.; Matskiv, A.; Malyarovskaya, V.; Ryndin, A. In *Del and SCoT Markers for Genetic Diversity Analysis in a Citrus Collection from the Western Caucasus*. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 8276. <https://doi.org/10.3390/ijms24098276>

- Kumar, M., Kim, S. R., Sharma, P. C., & Pareek, A. (2015). *Simple and efficient way to detect small polymorphic bands in plants. Genomics Data, 5, 218–222.* doi:10.1016/j.gdata.2015.06.006
- Lukmanasari, Putri. 2018. *Uji Konsentrasi Propolis Dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kantong Semar (Nepenthes alata) Pada Perbanyakan Secara In-Vitro. Skripsi.* Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.
- Mansur, M. 2006. *Nepenthes, Kantong Semar yang Unik.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetiks.* New York (USA): Columbia University Press. pp 192-107.
- Nongrum I, Shrawan.K, Suman.K.Pramod.T. 2012. *Genetik Variation and gene flow estimation of Nepenthes Khasiana Hook F.A.Threated Insectivorus Plant of India as Recaled by RAPD Markers. J.Crop sia Biotech.15(2):101-105*
- Pereira-Dias, L.; Vilanova, S.; Fita, A.; Prohens, J.; Rodríguez-Burruez. 2019. *A. Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (Capsicum spp.) landraces from the Spanish centre of diversity revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). Hort. Res., 6, 54.*
- Probojati RT, Wahyudi D, Hapsari L. 2019. *Clustering analysis and genome inference of pisang raja local cultivars (Musa spp.) from Java Island by Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD) marker. J TropBiodiversBiotechnol4(2): 42-53.DOI: 10.22146/jtbb.44047*
- Razak, S. A. B., Azman, N. H. E. N., Ismail, S. N., Yusof, M. F. M., Arrifin, M. A. T., Sabdin, Z. H. M., Hassan, M. H. M., Nasir, K. H., Sani, M. A., & Abdullah, N. (2019). *Assessment of diversity and population structure of mango (Mangifera indica L.) germplasm based on microsatellite (SSR) markers. Australian Journal of Crop Science, 13(02), 315-320.*
- Seesang, J., Sripichitt, P. and Sreewongchai, T. (2014). *Heterosis and inheritance of fertility-restorer genes in rice. Sci. Asia. 40: 48-52.* <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2014.40.048>
- Vogt, G. *Environmental Adaptation of Genetically Uniform Organisms with the Help of Epigenetic Mechanisms—An Insightful Perspective on Ecoepigenetics. Epigenomes 2023, 7, 1.* <https://doi.org/10.3390/epigenomes7010001>
- Wang, F., H. Tian, H. Yi, H. Zhao, Y. Huo, M. Kuang, L. Zhang, Y. Lv, M. Ding and J. Zhao. 2019. *Principle and Strategy of DNA Fingerprint Identification of Plant Variety. Mol. Plant Breed. 10.* DOI: 10.5376/ mpb.2019.10.0011.
- Wu, Q., Zang, F., Ma, Y., Zheng, Y., & Zang, D. (2020). *Analysis of genetic diversity and population structure in endangered Populus wulianensis based on 18 newly developed EST-SSR markers. Global Ecology and Conservation, 24, e01329.* doi:10.1016/j.gecco.2020.e01329
- Yamanaka, S., Hosaka, F., Matsumura, M., Makishi, Y. O., Nashima, K., Urasaki, N., Ogata, T., Shoda, M., & Yamamoto, T. (2019). *Genetic diversity and relatedness of mango cultivars assessed by SSR markers. Breeding Science, 69, 332–344*
- Yani, R. H., Khumaida, N., Ardie, S. W., & Syukur, M. (2018). *Analysis of variance, heritability, correlation and selection character of M1V3 generation cassava (Manihot esculenta Crantz) mutants. AGRIVITA Journal of Agricultural Science, 40(1), 74–79.* <http://doi.org/10.17503/agrivita.v40i1.844>
- Zulfahmi.(2013). *“Penanda DNA untuk Analisis Genetik Tanaman”.*Jurnal Agroteknologi 3(2), hlm. 41-52.