J. Agron. Indonesia 37 (2) : 167– 173 (2009)

Identifikasi Beberapa Aksesi Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Melalui Analisis RAPD dan Morfologi

The Identification of Some Accessions of Jatropha curcas L.Using Morphological and RAPD Analysis

Susantidiana[1*], Andi Wijaya[2], Benyamin Lakitan[2] dan Memen Surahman[3]

[1] Ilmu Pertanian Program Pascasarjana Universitas Sriwijaya, Indonesia
[2] Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Indonesia
[3] Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Indonesia

Diterima 2 April 2009/Disetujui 1 Juli 2009

ABSTRACT

The objective of this research was to study and cluster of Jatropha germplasm belonging to University of Sriwijaya. This research was conducted from September 2007 until July 2008. The research used 14 accessions of Jatropha taken from some regions in Indonesia, namely: Komering, Palembang, Yogyakarta, Indralaya, ATP2, Pontianak, Lahat, Pagaralam, Curup, Lampung, Medan Aceh Besar, Pidi and Gorontalo. Accessions of Jatropha curcas L. were planted at Agro Techno Park (ATP) Bakung village, Indralaya Utara district Ogan Ilir, South Sumatera using Randomized Complete Block Design. RAPD analysis using 20 primers was done at RGCI (Research Group on Crop Improvement), Bogor Agricultural University. Dendrogram based on RAPD analysis produced five groups that were: the first group was Komering, Lahat, Pidi, Indralaya, Aceh Besar, Pontianak and Curup. The second group was Palembang and ATP2. The third group was Pagaralam, Gorontalo, and Medan. Lampung was included in to fourth group. The fifth group was Yogyakarta. Dendrogram from morphological marker had also five groups. First group was: Komering, Indralaya, Pontianak. Lahat, and Pagaralam. Second group was: Palembang, Lampung, Pidi, Medan, and ATP2. Third group was: Curup. Fourth group was: Yogyakarta and Gorontalo. Fifth group was: Aceh Besar. The difference of member from each groups between dendrogram using RAPD and morphological markers indicated that the bands resulted from RAPD did not have relation with characters observed.

Key words: Jatropha curcas L, RAPD analysis, Morphologycal marker, cluster analysis

PENDAHULUAN

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L) merupakan salah satu tanaman sebagai sumber biodiesel. Kandungan minyak pada biji jarak sebesar 32.4% - 33.12% (Balitbang, 2006). Aksesi jarak pagar tersebar di berbagai wilayah Indonesia dan diperkirakan memiliki keragaman genetik yang tinggi.

Informasi mengenai keragaman genetik yang dimiliki oleh aksesi jarak pagar sangat dibutuhkan untuk mengetahui kekerabatan dari aksesi tersebut. Plasma nutfah yang berkerabat jauh dibutuhkan dalam menentukan tetua persilangan untuk merakit varietas hibrida.

Analisis keragaman genetik tanaman dapat diketahui dengan identifikasi secara molekuler dan identifikasi morfologi. Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan adalah metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic* DNA) (Dwiatmini *et al*., 2003). Metode ini dikembangkan berdasarkan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Keuntungan metode RAPD adalah relatif sederhana, membutuhkan kuantitas DNA yang lebih sedikit (5 -25 ng DNA) dalam setiap rantai PCR (Pandey *et al*., 1998). Pada metode ini DNA genom yang dideteksi berada pada *strigency* yang rendah, menggunakan oligonukliotida tunggal dan pendek biasanya 10 polimer yang sekuennya dibuat secara acak. Kondisi *strigency* yang rendah memungkinkan primer dapat menempel pada banyak tempat pada genom dan menghasilkan sejumlah pita pragmen DNA. Teknik RAPD memiliki kemampuan yang cepat dalam mendeteksi polimorfisme pada sejumlah lokus. Teknik ini merupakan teknik yang paling cepat dalam mengumpulkan polimorfisme dalam DNA genom (Soemantri *et al.*, 2002).

Metode RAPD mampu menampilkan hasil dalam waktu relatif singkat. Hasil dapat segera divisualisasi setelah proses amplifikasi DNA. Karakter yang muncul sangat banyak tergantung pada primer yang digunakan. Kelemahan metode ini adalah *reproducibility* yang

[1]* Penulis untuk korespondensi. Email: susa12j@yahoo.com. Telp. (0711)352132-354222 Fax: (0711)317202, 320310. No HP: 081367784856. Jl. Padang Selasa No. 524, Bukit Besar Palembang 30139 dan staf Pengajar di Fakultas Pertanian, Universitas Baturaja

rendah, namun kelemahan ini dapat diatasi dengan konsistensi kondisi PCR (Prana dan Hartati, 2003).

Penelitian menggunakan teknik RAPD telah banyak dilakukan diantaranya: *Pinus radiata* (Stange *et al.*, 1998), lili (Purwantoro *et al*., 1999), jeruk (Karsinah *et al*., 2002), anggrek (Kartikaningrum *et al*., 2003), dan kelapa dalam yang berasal dari Banyuwangi, Lubuk Pakam dan Paslaten (Roslim *et al*., 2003).

Hasil visualisasi dari metode RAPD dikelompokkan dengan analisis klaster. Menurut Supranto (2004), analisis klaster adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengklasifikasikan obyek ke dalam kelompok yang cenderung mirip satu sama lain dan berbeda jauh dengan obyek dari kelompok lain.

Identifikasi morfologi tanaman adalah identifikasi terhadap tinggi tanaman, bentuk daun, jumlah buah, jumlah cabang, dan lain-lain. Identifikasi secara morfologi memiliki kelemahan yaitu penampilan sering rancu karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan, subjektivitas peneliti (Hadiati dan Sukmadjaya, 2002), dan umur tanaman. Oleh karena itu harus diikuti dengan identifikasi molekuler (Dwiatmini *et al*., 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengelompokkan aksesi jarak pagar yang dikoleksi dari beberapa wilayah di Indonesia sehingga didapatkan calon tetua yang berkerabat jauh untuk mencari tetua persilangan. Penelitian ini dilakukan dengan mengidentifikasi DNA dan identifikasi morfologi. Selanjutnya dari kedua data tersebut dibuat dendrogram sehingga didapat beberapa kelompok aksesi yang dapat digunakan sebagai tetua dalam persilangan

BAHAN DAN METODE

Tanaman jarak pagar diambil dari berbagai wilayah Indonesia di antaranya, yaitu: Komering (KMR), Palembang (PLG), Yogyakarta (JGY), Indralaya (IND), Agro Techno Park 2 (ATP2), Pontianak (PNT), Lahat (LHT), Pagaralam (PGR), Curup (CRP), Lampung (LMP), Medan (MDN), Aceh Besar (ABS), Pidi (PDI) dan Gorontalo (GRT). Pengamatan morfologi dilakukan di kebun Balai Agro Techno Park (ATP) Desa Bakung Kecamatan Indralaya Utara Ogan Ilir Sumatera Selatan. Analisis RAPD dilakukan di Laboratorium RGCI (*Research Group on Crop Improvement*) Fakultas Pertanian IPB, Bogor.

Isolasi dan pemurnian DNA dilakukan dengan metode sebagai berikut. Daun ditimbang sebanyak 0.1 g dan digerus di dalam lumpang porselin menggunakan N_2 cair dan polivinilpolipirilidon (PVPP) untuk mencegah terjadinya pencoklatan karena terbentuknya polifenol. Serbuk halus hasil gerusan daun dimasukkan ke dalam cairan DNAzol 0.3 ml, kemudian dibiarkan selama satu malam kemudian ditambahkan kloroform 1.0 ml dan disentrifugasi dengan 12000 rpm selama 10 menit.

Terbentuk dua lapis larutan, kemudian supernatan diambil lalu dimasukkan ke *micro tube* yang baru lalu ditambah 0.22 ml etanol 100%. *Micro tube* digoyang dengan tangan untuk melihat agregat DNA kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 5 menit setelah terlihat pelet (DNA), pelet diambil dan etanol dibuang.

Pencucian DNA mengunakan campuran DNAzol dan etanol dan diberi laruan buffer ekstrak dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 0.3 ml kemudian diaduk dengan vortex mixer, setelah itu disentrifugasi dengan 5000 rpm selama 5 menit. Larutan supranatan (larutan atas) dibuang dan pelet tetap ditinggal dalam *micro tube* dan ditambah etanol 75% sebanyak 0.3 ml lalu diaduk lagi, kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 5 menit. Tahap selanjutnya etanol dibuang, DNA dikeringanginkan dengan cara membalikkan *tube* di atas kertas tissue dan dibiarkan sampai tidak terdapat etanol lagi. DNA dilarutkan dalam tris-EDTA (TE) sebanyak 100 ml lalu diencerkan dengan aquades (1 : 5).

Amplifikasi dengan PCR dilakukan beberapa tahap yaitu:

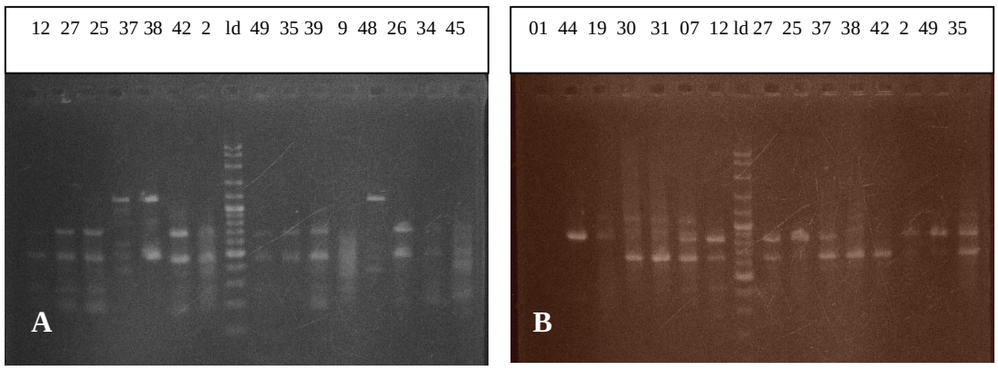
1. Dimasukkan 5 µl DNA template (50 ng), 12.5 µl green tag pol 2x, 2.5 primer (100 pM), dan 2.5 µl aquades dalam *micro tube*.
2. *Micro tube* yang telah berisi bahan disusun dalam mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*).
3. Reaksi amplifikasi dilakukan menggunakan alat Thermal Cycler (Thermolyne Amplithrone) dengan siklus termal sebanyak 45 kali dengan tahapan sebagai berikut: 1) 5 menit pada 94 ^{o}C, 2) 12.5 detik pada 94 ^{o}C, 3) 30 detik pada temperatur annealing (Tm – 4 ^{o}C), 4) 1 menit 72 ^{o}C sebanyak 45 siklus, dan 5) *elongation* selama 10 menit 72 ^{o}C.
4. Hasil amplifikasi DNA dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis pada 2.0% gel agarose dengan kecepatan 50 volt selama lebih kurang 2 jam.
5. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transiluminator dan di dokumentasikan dengan alat foto yang ada iluminator.

Jenis primer yang digunakan adalah: OPE-01, OPE-03, OPE-05, OPE-07, OPE-08, OPE-09, OPE-15, OPE-19, OPH-04, OPH-07, OPH-08, OPH-13, OPH-14, OPH-15, OPM-02, OPM-12, OPM-16, OPM-17, OPM-20, dan OPM-24. Data RAPD didapat berdasarkan ada (1) atau tidak ada (0) pita yang dimiliki oleh masing-masing aksesi. Data morfologi diamati selama 11 bulan, dibuat skoring dan dibinerkan. Data morfologi berupa data kuantitatif dan data kualitatif. Data kuantitaif yaitu jumlah buah/tanaman, jumlah malai bunga/tanaman, diameter batang, jumlah bunga betina, tinggi tanaman, berat buah, berat biji basah, berat biji kering, dan jumlah cabang primer. Data kualitatif berupa bentuk daun, warna bunga, dan warna daun. Data dianalisis dengan menggunakan metode UPGMA

(*Unweighted pair group arithmatic average*) dan *similarity matrix* dengan menggunakan program komputer NTSYS-pc atau *Numerical taxonomy* and *multivariate analysis system* (Rohlf, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil seleksi primer yang digunakan, diperoleh beberapa primer yang menampakan hasil amplifikasi yang jelas dan relatif tajam. Primer-primer tersebut yaitu: OPE-01, OPE-08, OPE-09, OPE-15, OPE-19, 0PH-08, OPH-13, OPM-12, OPM-16, dan OPM-20. Contoh hasil amplifikasi ditampilkan pada Gambar 1. Data dari kesepuluh primer tersebut dibuat skoring dan dendrogram.



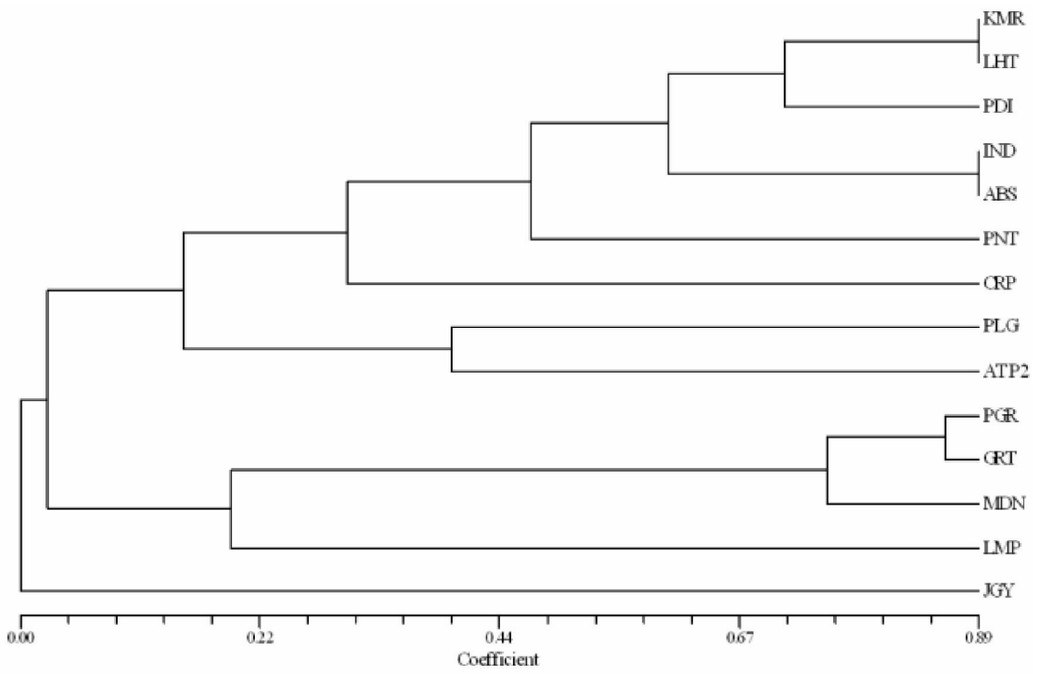
Gambar 1. Penampilan pita DNA hasil amplifikasi dari beberapa aksesi jarak pagar menggunakan primer OPE-15 (1A) dan OPH-13 (1B). Lajur atas:37) Pontianak, 38) Aceh, 39) Pidi, 40) Lahat, 41) Pagaralam 42) Indralaya, 43) Yogyakarta, 44) Palembang, 45) Curup, 46) Gorontalo, 47) Komering, 48) Lampung, 49) ATP2, ld) ladder/ pembanding

Keberhasilan amplifikasi DNA genom dalam teknik RAPD ditentukan oleh salah satunya adalah urutan basa primer yang digunakan dalam setiap reaksi dan kuantitasnya (kandungan primer dalam setiap reaksi). Peningkatan kuantitas primer menghasilkan produk amplifikasi DNA dapat dilihat dengan jelas dan jumlah pita yang maksimum. Kualitas pita yang tajam juga dipengaruhi oleh konsentrasi $MgCl_2$, konsentrasi DNA, konsentrasi enzim polimerase, dan suhu siklus PCR terutama suhu *annealing* (Prana dan Hartati, 2003). Menurut Setiawan (2007) adanya pita DNA mencerminkan *inverted priming site* yang mengapit pragmen DNA yang tidak diketahui sekuensnya. Polimorfisme hasil analisis RAPD berasal dari adanya insersi, delesi, dan mutasi. Hal ini dapat menyebabkan hilangnya *landing site* yang menyebabkan primer gagal menempel, sehingga amplifikasi tidak terjadi dan akhirnya individu tidak memiliki pita DNA.

Tabel 1 menyajikan matrik kemiripan (*similarity*) genetik berdasarkan pola pita DNA dari 14 belas aksesi jarak pagar. Kemiripan antar aksesi yang besar menunjukkan bahwa aksesi-asksesi tersebut mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat. Tingkat kemiripan terbesar ditunjukan antara aksesi LHT (Lahat) dengan aksesi KMR (Komering), dan antara aksesi JGY (Yogyakarta) dengan aksesi PLG (Palembang) dengan tingkat kemiripan 95%. Tingkat kemiripan terendah ditunjukan antara aksesi PNT (Pontianak) dengan aksesi IND (Indralaya), dan antara aksesi ABS (Aceh Besar) dengan aksesi PNT (Pontianak) dengan tingkat kemiripan 19%. Berdasarkan dendrogram (Gambar 2) pada tingkat kemiripan 22% plasma nutfah jarak pagar mengelompok menjadi lima. Kelompok 1 terdiri dari Komering, Lahat, Pidi, Indralaya, Aceh Besar, Pontianak dan Curup. Kelompok 2 yaitu Palembang dan ATP2. Kelompok 3 adalah Pagaralam, Gorontalo dan Medan. Kelompok 4 yaitu Lampung, sedangkan Yogyakarta termasuk dalam kelompok 5.

Tabel 1. Matrik kemiripan (*similarity*) dari 14 aksesi jarak pagar berdasarkan penanda RAPD

	KMR 1	PLG 2	JGY 3	IND 4	ATP2 5	PNT 6	LHT 7	PGR 8	CRP 9	LMP 10	MDN 11	ABS 12	PDI 13	GRT 14
1.	-													
2.	0.72	-												
3.	0.76	0.95	-											
4.	0.72	0.52	0.57	-										
5.	0.67	0.86	0.81	0.48	-									
6.	0.48	0.57	0.62	0.19	0.43	-								
7.	0.95	0.76	0.81	0.76	0.71	0.43	-							
8.	0.67	0.76	0.71	0.67	0.71	0.33	0.71	-						
9.	0.81	0.90	0.95	0.62	0.86	0.57	0.86	0.76	-					
10.	0.62	0.81	0.86	0.43	0.67	0.67	0.67	0.67	0.81	-				
11.	0.62	0.71	0.76	0.33	0.57	0.86	0.57	0.48	0.72	0.62	-			
12.	0.72	0.52	0.57	0.90	0.48	0.19	0.76	0.76	0.62	0.52	0.33	-		
13.	0.86	0.76	0.81	0.76	0.71	0.43	0.90	0.71	0.86	0.67	0.57	0.76	-	
14.	0.57	0.67	0.71	0.29	0.52	0.90	0.52	0.43	0.67	0.67	0.86	0.29	0.52	-

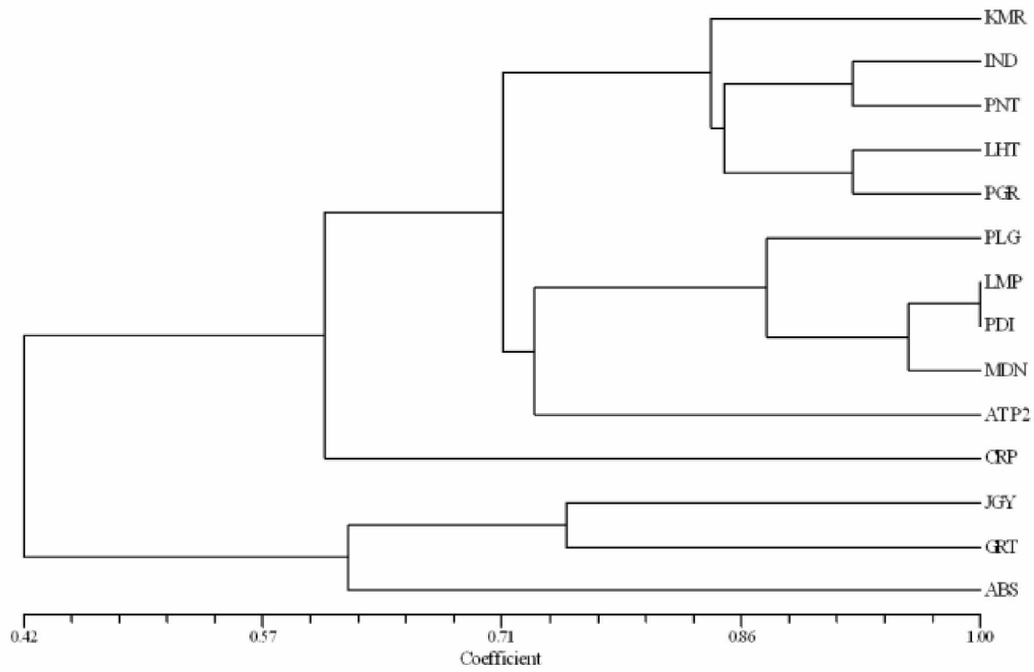


Gambar 2. Dendrogram dari 14 aksesi jarak pagar hasil analisis klaster berdasarkan penanda RAPD dengan metode UPGMA

Tabel 2 menampilkan matrik kemiripan berdasarkan penanda morfologi. Tingkat kemiripan berkisar antara 17% sampai dengan 100% (antara aksesi PDI: Pidi dengan LMP: Lampung). Berdasarkan analisis klaster dari penanda morfologi (Gambar 3) pada tingkat kemiripan 72% diperoleh lima kelompok. Kelompok pertama terdiri dari Komering, Indralaya, Pontianak, Lahat dan Pagaralam. Palembang, Lampung, Pidi, Medan dan ATP2 termasuk dalam kelompok kedua. Curup termasuk kelompok tiga. Kelompok empat adalah Yogyakarta dan Gorontalo. Sedangkan Aceh Besar termasuk dalam kelompok kelima.

Tabel 2. Matrik kemiripan (*similarity*) dari 14 aksesi jarak pagar berdasarkan penanda morfologi

	KMR 1	PLG 2	JGY 3	IND 4	ATP2 5	PNT 6	LHT 7	PGR 8	CRP 9	LMP 10	MDN 11	ABS 12	PDI 13	GRT 14
1.	-													
2.	0.78	-												
3.	0.33	0.17	-											
4.	0.88	0.75	0.40	-										
5.	0.71	0.59	0.36	0.67	-									
6.	0.80	0.80	022	0.92	0.57	-								
7.	0.88	0.75	0.20	0.86	0.67	0.92	-							
8.	0.80	0.67	0.22	0.77	0.57	0.83	0.92	-						
9.	0.71	0.43	0.50	0.67	0.62	0.55	0.67	0.73	-					
10.	0.86	0.86	0.40	0.74	0.80	0.67	0.74	0.67	0.59	-				
11.	0.80	0.90	0.43	0.78	0.74	0.71	0.67	0.59	0.50	0.96	-			
12.	0.31	0.31	0.57	0.36	0.67	0.20	0.18	0.20	0.44	0.50	0.53	-		
13.	0.86	0.86	0.40	0.74	0.80	0.67	0.74	0.67	0.59	1.00	0.96	0.50	-	
14.	0.57	0.43	0.75	0.67	0.46	0.55	0.50	0.55	0.60	0.59	0.63	0.67	0.59	-



Gambar 3. Dendrogram 14 aksesi jarak pagar hasil analisis kalster berdasarkan penanda morfologi dengan metode UPGMA

Pengelompokan berdasarkan penanda morfologi tidak selaras dengan pengelompokan berdasarkan RAPD. Aksesi yang termasuk dalam satu kelompok berdasarkan morfologi tetapi masuk dalam kelompok lain menurut klaster pola pita DNAnya. Ketidak-selarasan tersebut berarti pita-pita yang dihasilkan oleh analisis RAPD tidak berhubungan dengan karakter morfologi tertentu yang diamati dari masing-masing aksesi.

Aksesi jarak pagar dikoleksi dari berbagai wilayah yang mewakili dataran rendah (Komering, Indralaya, Palembang, Lampung, Pidi, Aceh Besar, Pontianak, Yogyakarta, Medan dan Gorontalo), dataran tengah (Lahat) dan dataran tinggi (Curup, Pagaralam, Aceh Besar). ATP2 merupakan koleksi BATAN. Letak geografis yang berbeda tersebut tidak menentukan kekerabatan tanaman jarak. Hal ini dibuktikan dari hasil pengelompokan baik RAPD maupun morfologi tidak menunjukkan kedekatan geografis. Hasil RAPD menunjukkan aksesi yang berasal dari dataran rendah berkerabat dekat dengan aksesi yang berasal dari dataran tinggi. Demikian juga hasil dari klaster berdasarkan morfologi.

Menurut Indriani (2000), aksesi yang berasal dari satu negara/letak georafis yang sama cenderung memiliki jarak genetik yang sama. Keragaman genetik yang berasal dari letak geografis/lokasi yang sama cenderung disebabkan oleh adaptasi yang terus menerus sehingga terjadi perubahan-perubahan baik secara biokimia maupun fisiologisnya. Menurut Hartati *et al.* (2007), pengelompokan tidak berhubungan dengan letak geografis disebakan karena dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan. Berdasarkan uraian di atas calon tetua yang akan digunakan dalam persilangan lebih baik ditentukan dari hasil analisis RAPD. Hal ini disebabkan karena hasil analisis RAPD tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

KESIMPULAN

1. Hasil analisis klaster berdasarkan derajat kemiripan dari 14 aksesi jarak pagar menggunakan penanda RAPD dan morfologi sama-sama menghasilkan lima klaster. Tetapi analisis secara morfologi memiliki tingkat kemiripan yang lebih tinggi yaitu sebesar 72%, sedangkan analisis RAPD memiliki tingkat kemiripan yang rendah yaitu sebesar 22%.
2. Lima klaster berdasarkan analisis RAPD, yaitu aksesi Komering, Lahat, Pidi, Indralaya, Aceh Besar, Pontianak dan Curup termasuk dalam kelompok pertama. Kelompok kedua yaitu Palembang dan ATP2. Kelompok ketiga terdiri dari Pagaralam, Gorontalo, dan Medan. Kelompok keempat adalah Lampung. Kelompok kelima yaitu Yogyakarta.
3. Lima klaster berdasarkan marka morfologi yaitu Komering, Indralaya, Pontianak, Lahat dan Pagaralam kelompok satu. Palembang, Lampung, Pidi, Medan, dan ATP2 termasuk kelompok kedua. Kelompok ketiga adalah Curup, kelompok kempat yaitu Yogyakarta dan Gorontalo. Kelompok kelima adalah Aceh Besar.
4. Ketidak selarasan antara dendrogram menggunakan penanda RAPD dan penanda morfologi menunjukkan bahwa pita-pita DNA yang dihasilkan dari analisis RAPD tidak berhubungan dengan karakter morfologi tertentu yang diamati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih di sampaikan kepada Dirjen Pendidikan Tinggi Pendidikan Nasional yang telah mendanai penelitian ini melalui proyek penelitian Hibah Bersaing tahun anggaran 2007/2008

DAFTAR PUSTAKA

Balitbang. 2006. Pengembangan energi alternatif biodiesel dari buah jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Badang Penelitian dan Pengembangan Daerah Propinsi Kalimantan Timur.

Dwiatmini, K., N.A. Mattjik, H. Aswidinoor, N.I.T. Matius. 2003. Analisis pengelompokan dan hubungan kekerabatan spesies Anggrek *Phalaenopsis* berdasarkan kunci determinasi fenotifik dan marka molekuler RAPD. J. Hort. 13(1):16-27.

Hadiati, S., D. Sukmadjaja. 2002. Keragaman pola pita beberapa aksesi nenas berdasarkan analisis isozim. J. Bioteknol. Pert. 7(2):82-70.

Hartati, D., A. Rimbawanto, Taryono, E. Sulistyaningsih, Widyatmoko. 2007. Pendugaan keragaman genetik di dalam dan antar provena pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) menggunakan penanda RAPD. J. Pemul. Tan. Hutan 1(2):1-9.

Indriani, C.F., L. Sutopo, Sudjindro, A.N. Sugianto. 2000. Keragaman genetik plasma nutfah kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dan beberapa spesies yang sekerabat berdasarkan analisis isozim.http://images.hughet.multiply.com/attachment/0/ RvnPKAoKCh8AAAPWqQg1/ publikasi%20ilmiah%20febria.doc?nmid=59432286. (diakses tanggal 22 Agustus 2009).

Karsinah, Sudarsono, L. Setyobudi, H. Awidinnoor. 2002. Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. J. Bioteknol. Pert. 7(1):8-16.

Kartikaningrum, S., N. Hermiati, A. Baihaki, M.H. Karmana, N.I.T Mathius. 2003. Kekerabatan 13 genotip Anggrek Substribe *Sarcanthinae* berdasarkan karakter morfologi dan pola pita DNA. J.Hort.13(1):7-15.

Pandey, R.N., R.P. Adam, L.E. Flournoy. 1998. Inhibition of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) by plant polysaccarides. Plant Molec. Biol. Reporter 14:15-22.

Purwantoro, A., K. Supaibuiwatana, M. Mii, Koba. 1999. Cytological and RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) analysis of somaclonal variation in Easter Lily (*Lilium longiforum* Thumb.) Plant Biotechnol. 16:247-250.

Prana, K.D., N.S. Hartati. 2003. Identifiasi sidik jari DNA Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Skrining primer dan optimalisasi kondisi PCR. J. Natur Indonesia 5(2):107-112.

Rolf, R.I.M. 1998. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Verson 2.0. Department of Ecology and Evolution State of New York.

Roslim, I.D., A. Hartana, Suharsono. 2003. Hubungan genetika populasi kelapa dalam Banyuwangi, Lubuk Pakam, dan Paslaten berdasarkan analisis RAPD (*Random Apmlified Polimorphic* DNA). Jurnal Natur Indonesia 6(1):5-10.

Stange, C.D, Prehn, Patricio. 1998. Protocols isolation of *Pinus Radiata* genomic DNA suitable for RAPD analysis. Plant Molec. Biol. Reporter 16:1-8.

Soemantri, H.I, T.J. Santoso, Minantyorini, A.D. Ambarwati, Sisharmini, A. Apriana. 2002. Karakterisasi molekuler plasma nutfah tanaman pangan. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman.

Supranto, J. 2004. Analisis Multivariat, Arti dan Interprestasi. Rineka Cipta, Jakarta.

Setiawan, A. 2007. Marka Molekuler. Handout Training Bioteknologi Berbasis DNA. Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB.