



TEKNIK RAPD (*Random Applied Polymorphic DNA*) UNTUK ANALISIS KEANEKARAGAMAN GENETIK PADA TANAMAN CIPLUKAN (*Physalis angulata L.*) DI KABUPATEN LABUHAN BATU UTARA

Diana Yusvita^{1*}, Zahratul Idami²

^{1,2}Program Studi Biologi, Fakultas Sains Dah Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Indonesia

Email: diana0704201006@uinsu.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.12889>

Submit: 05-08-2024; Revised: 01-09-2024; Accepted: 21-09-2024; Published: 30-12-2024

ABSTRAK: Tanaman ciplukan (*Physalisangulata L.*) dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, namun selama ini masyarakat hanya mengetahui bahwa tanaman ini hanya dapat dimanfaatkan bagian buahnya saja. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil analisis primer RAPD yang dapat menghasilkan pita polimorfik pada tanaman ciplukan (*Physalisangulata L.*) di Kabupaten Labuhan Batu Utara dengan menggunakan primer yang berbeda. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif. Pengambilan sampel dilakukan di Desa Bondar dan Desa Simpang Tiga, Kecamatan Kualuh Leidong, Kabupaten Labuhan Batu Utara. Teknik analisis yang digunakan adalah analisis molekuler di Laboratorium Genetika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medan. Hasil analisis RAPD (*Random Applied Polymorphism DNA*) tanaman ciplukan di kabupaten Labuhan Batu Utara menggunakan enam primer yang berbeda yaitu panjang nukleotida pada fragmen DNA yang di amplifikasi terlihat pada primer OPA-2 & OPA-3 adalah 600bp-3000bp, sedangkan OPA-5, OPA-7, OPD -11, & OPD-13 yaitu 500bp-3000bp dengan urutan nukleotida yang berbeda. Perbedaan panjang dan jumlah urutan nukleotida pada tanaman ciplukan disebabkan karena tanaman yang digunakan berasal dari lokasi yang berbeda dan beberapa faktor seperti lingkungan, jumlah populasi, kondisi alam, cara reproduksi dan seleksi alam.

Kata Kunci: RAPD, keanekaragaman genetik, tanaman ciplukan.

ABSTRACT: The ciplukan plant (*Physalisangulata L.*) can be used as traditional medicine, but so far people only know that this plant can only be used for the fruit. This research aims to determine the results of RAPD primary analysis which can produce polymorphic bands in Ciplukan Plants (*Physalisangulata L.*) in North Labuhan Batu Regency using different primers. This research is a quantitative research. Sampling was carried out in Bondar Village and Simpang Tiga Village, Kualuh Leidong District, North Labuhan Batu Regency. Then continued with molecular analysis at the Genetics Laboratory, Faculty of Science and Technology, North Sumatra State Islamic University, Medan. The results of RAPD (*Random Applied Polymorphism DNA*) analysis of ciplukan plants in North Labuhan Batu district using six different primers, namely the length of the nucleotides in the amplified DNA fragments, are shown in primers OPA-2 & OPA-3 are 600bp-3000bp, while OPA-5, OPA-7, OPD -11, & OPD-13 are 500bp-3000bp with different nucleotide sequences. The differences in the length and number of nucleotide sequences in ciplukan plants are caused by the plants used coming from different locations and several factors such as the environment, population size, natural conditions, reproductive methods and natural selection.

Keywords: RAPD, genetic diversity, ciplukan plants

How to Cite: Yusvita, D., & Idami, Z. (2024). Teknik RAPD (*Random Applied Polymorphic DNA*) untuk Analisis Keanekaragaman Genetik pada Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata L.*) di Kabupaten Labuhan Batu Utara. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(2), 1797-1809. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.12889>



Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a [CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



PENDAHULUAN

Tanaman ciplukan (*Physalisangulata L.*) termasuk dalam famili Solanaceae, atau famili tumbuhan terong. Ada lima nama lain di luar Indonesia, antara lain morelberry, lentera Cina, ground cut leaf cherry, ground cherry, Bolsa mullaca, dan capegooseberry (Anwar, 2021). Ciplukan atau dikenal juga dengan nama resmi *Physalisangulat* merupakan tanaman perdu tahunan yang termasuk dalam famili *Solanaceae*. Taman ini mempunyai beberapa jenis atau ragam yaitu *Physalis Angulata L.*, *Physalis peruiana*, *Physalis acutifolia* (Setyaningrum, 2024).

Physalis Angulata L. merupakan tumbuhan tropis asli Amerika Utara dan Selatan dan merupakan spesies dari Solanaceae. Tanaman ini dapat dimakan di beberapa negara tropis dan subtropis di dunia sebagai pohon dan buah obat. Banyak cabang tumbuh di semak setiap tahun dan dapat tumbuh hingga 1,0 m. Bunganya berbentuk lonceng, namun bentuk yang paling khas adalah kelopak buah yang membesar hingga menutupi buah dan menjuntai seperti lentera. Buah *Physalis angulata L.* berbentuk telur, panjang sampai 14 mm, bila matang berwarna hijau sampai kuning, berurat ungu, mempunyai kelopak buah (Hidayati, 2022; Sylviningrum *et al.*, 2022).

Physalis Peruiana merupakan tumbuhan tropis asli Meksiko dan merupakan spesies dari Solanaceae. *Physialis peruviana* berasal dari dataran tinggi Andes di Amerika Utara Selatan yaitu Kolombia dan Meksiko. *Physialis peruviana* tumbuh di zona 1.500 dan 3.000 hingga 3.300 meter di atas permukaan laut. *Physialis peruviana* mempunyai ciri-ciri tanaman herba abadi yang tumbuh baik di daerah sub tropis dan dapat tumbuh hingga 1,8 m. Bunga dapat diserbuki oleh serangga, angin, dan penyerbukan otomatis. Buahnya berupa buah beri berbentuk lonjong, berwarna kuning sampai jingga, diameter 1,25-2,50 cm, berat 4-10 gram, mengandung sekitar 100-200 biji di dalam buahnya (Iwansyah *et al.*, 2019; Hidayati, 2022).

Physalis acutifolia merupakan salah satu jenis tumbuhan berbunga yang dikenal masyarakat luar dengan nama *sharpleaf groundcherry* atau *Wright ground-cherry*. Kadang-kadang rumput liar tumbuh di kebun pertanian, tetapi biasanya rumput liar tersebut bukan rumput liar. Merupakan tanaman herba tahunan yang menghasilkan batang bercabang setinggi satu meter. Daunnya berbentuk tombak hingga lonjong dengan panjang mencapai 12 cm dan bagian tepinya ditutupi selaput lunak. Bunga yang tumbuh pada daun berbentuk bulat dan terkadang lebarnya lebih dari 2 cm (Anwar, 2021; Sulistyowati, 2024).

Habitat dan sebaran tumbuh paling baik pada tanah yang lembab dan subur, pada lahan terbuka yang terkena sinar matahari dan dapat tumbuh liar di kebun, ladang, sawah, pinggir jalan, tepi hutan diantara tanaman basal. Ciplukan (*Physalisangulata L.*) merupakan tanaman asal Amerika yang kini tersebar luas di wilayah tropis dunia (Murnihati, 2020). Tanaman jawa tumbuh liar di kebun, tegalan, pinggir jalan, kebun, semak belukar, hutan terang, pinggir hutan. Ciplukan biasanya tumbuh di daerah dengan ketinggian 1-1550 m dpl (Makmuretal., 2020).

Pemanfaatan tanaman ciplukan (*Physalisangulata L.*) di masyarakat yaitu akar tanaman ciplukan sering digunakan sebagai obat dan penurun demam.



Daunnya digunakan untuk mengobati patah tulang, sakit gembur-gembur, bengkak, maag, menguatkan jantung, keseleo, sakit perut dan kencing nanah. Buah ciplukan sendiri sering dimakan dan diyakini untuk pengobatan epilepsi, ketidakmampuan buang air kecil dan penyakit kuning (Prasetyawan, 2024; Nirmalasari *et al.*, 2022).

Keberagaman jenis tanaman ciplukan merupakan salah satu gambaran adanya keanekaragaman genetik. Keanekaragaman genetik sangat penting bagi tanaman untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan sekitarnya. Informasi mengenai keanekaragaman genetik tanaman pada tingkat individu, spesies dan populasi harus dipertimbangkan dalam mengembangkan strategi konservasi, reproduksi, pengelolaan dan pemanfaatan sumber daya genetik tanaman secara berkelanjutan. Keanekaragaman genetik dapat disebabkan oleh perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan tersebut dapat mempengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dilihat secara langsung, atau mempengaruhi respon individu terhadap lingkungan tertentu. Secara umum keragaman genetik suatu populasi dapat disebabkan oleh mutasi gen, rekombinasi atau perpindahan dari satu tempat ke tempat lain. Semakin besar keragaman genetik maka semakin besar peluang untuk memperoleh genotipe yang lebih baik dan menunjukkan sejauh mana pengaruh genetik terhadap sifat-sifat yang diekspresikan (Larekeng *et al.*, 2020).

Keberagaman genetik menjadi salah satu bukti kehebatan ciptaan Allah SWT. Sebagai seorang hamba, manusia berusaha untuk mencari tahu dan mengkaji ilmu yang dianugerahkan oleh Allah SWT. Keanekaragaman tumbuhan merupakan anugerah agar manusia selalu berpikir dan terus menganalisa kekuasaan dan keluasan ciptaan Allah SWT. Allah SWT menjelaskan kemampuan berpikir dalam surat Al Imran/3 ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berakal (190), (yakni) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau berbaring dan mereka berpikir tentang penciptaan langit dan bumi (berkata): “Ya Tuhan kami, Engkau tidak menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (191).

Ayat di atas telah menjelaskan bagaimana Allah menciptakan dunia ini penuh dengan tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Kemudian manusia diberi kemampuan untuk menganalisis tanda-tanda yang terdapat di bumi ini dan mereduksi “benar-benar ada tanda-tanda “bukti yang menunjukkan kekuasaan Allah SWT” bagi orang-orang yang berakal, yaitu orang-orang yang berakal sehat. “yaitu orang-orang yang” ciri-ciri tersebut di atas menjadi penjelasan pengganti “mengingat Allah sambil berdiri, duduk dan berbaring”, artinya dalam segala keadaan (Makmuretal, 2020). Hal inilah yang mendasari penelitian ini guna mengungkap tanda-tanda kekuasaan Tuhan meski melalui



benda-benda gaib ciptaanNya. Penelitian ini mengkaji tanaman ciplukan karena memiliki manfaat yang banyak sekali dan merupakan tanda kekuasaan Allah SWT dalam melindungi makhluknya. Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengungkap keberagaman DNA dalam tanaman ciplukan adalah teknik RAPD.

Teknik RAPD menggunakan urutan primer pendek untuk memperkuat urutan DNA genom secara acak. Primer yang digunakan biasanya memiliki panjang 10 basa dan tersedia secara komersial dari berbagai perusahaan. Amplifikasi fragmen DNA dilakukan dengan menggunakan mesin PCR pada suhu rendah mendekati (35-40°C). Jika suhu annealing tepat, maka pada proses amplifikasi PCR, primer akan menempel pada beberapa lokasi yang sekuennya saling melengkapi dengan sekuens DNA templat dan menghasilkan fragmen DNA secara acak (Sarumaha, 2022). Produk amplifikasi biasanya berukuran 0,5-5kb, dipisahkan pada agarosa, dan pola pita diamati di bawah sinar ultraviolet dengan pewarnaan etidium bromida (Kristianto *et al.*, 2019) dan gugusnya dicatat “ada” atau “tidak ada”.

Tanda RAPD bersifat dominan, fragmen DNA yang dihasilkan tidak dapat membedakan individu dengan genotipe homozigot (AA) dan heterozigot (Aa), sedangkan individu tanpa pita jelas menunjukkan genotipe resesif (aa). Fragmen DNA yang diperoleh dari amplifikasi RAPD diberi skor untuk keberadaan pita “1” dan tidak adanya pita “0”. Data ini kemudian digunakan untuk menghasilkan matriks biner untuk analisis statistik lebih lanjut (Indriani Maya *et al.*, 2015). Keunggulan utama marka RAPD adalah secara teknis pengujiannya lebih mudah dan cepat, tidak memerlukan data sekuens DNA, sehingga marka ini dapat digunakan secara luas, jumlah sampel DNA yang diperlukan sedikit, primer tersedia secara komersial dan tidak menggunakan senyawa radioaktif. Dalam beberapa aplikasi, sifat dominan dari fragmen RAPD tidak berguna dalam studi genetika populasi dan tidak dapat digunakan untuk memprediksi heterozigot.

METODE

Studi ini merupakan penelitian kuantitatif. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2024. Pengambilan sampel dilakukan di Desa Bondar dan Desa Simpang Tiga, Kecamatan Kualuh Leidong, Kabupaten Labuhan Batu Utara. Kemudian dilanjutkan dengan analisis molekuler di Laboratorium Genetika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medan.

Penelitian ini menggunakan alat-alat yaitu, spidol permanen, gunting, kamera digital, lemari es, freezer, timbangan digital, mortar, spatula, tabung (Eppendorf) 1,5 ml, pusran (Biosan Multi-Vortex V-32), penangas air digital (18- ONE), tabung mikrosentrifugasi, sentrifugasi (Eppendorf), tabung pengumpul, kolom putar, elektroforesis minihorizontal HU10(BIO-RAD), gradien PCR (*Polymerase Chain Reaction*), tabung PCR 0,2 ml, labu Erlenmeyer 100 ml, gelas ukur 100 ml, pipet mikro (Rainin) dengan volume 10 µl; 20 ml; 100 ml; dan 1000 µl, ujung mikropipet kuning, biru dan putih, gelas kimia 500 ml, hot plate (Benchmark) dan alat dokumentasi Gel (BIOSTEP).



Penelitian ini menggunakan bahan berupa sampel jaringan daun muda yaitu daun ketiga dari pucuk tanaman ciplukan (*Physalisangulata* L.) yang diambil dari Desa Bondar dan Desa Simpang Tiga Kecamatan Kualuh Leidong Kabupaten Labuhan Batu Utara 70 % alkohol, tisu, klip plastik kedap udara (plastik zip-lock), cetakan DNA, aluminium foil, kotak icegelpack, sarung tangan, DNA Mini Plant Kit (Favorgen), campuran PCR, primer mundur dan maju, ddH₂O (air deionisasi) atau aquabides, memuat pewarna, berair steril, TBE (tris HCL, asam borat, dan ETDA) 10x (Basis ke-1), Tierfisk Agarose (Infitrigen), Tangga DNA 100 bp (Geneaid), pewarna pemuatan DNA. Kit PCR dengan pewarna dan DNAgelstatin.

Tabel 1. Daftar Primer yang Digunakan dalam Aplikasi DNA

No	Primer	Urutan Basa
1.	OPA-2	5'TGCCGAGCTG3'
2.	OPA-3	5'AGTCAGCCAC3'
3.	OPA-5	5'AGG GGTCTTG3'
4.	OPA-7	5'GAAACGGGTG3'
5.	OPD11	5'AGCGCCATTG3'
6.	OPD-13	5'GGGGTGACGA3'

Pada tahap amplifikasi PCR diperlukan beberapa campuran larutan yaitu, ditambahkan 5 µl larutan PCR Mix menggunakan pipet mikro ke dalam tabung mini, 2 µl larutan cetakan DNA dimasukkan ke dalam tabung mini, kemudian 2 µl larutan cetakan DNA dimasukkan ke dalam tabung mini. larutan primer ditambahkan ke dalam tabung mini, dan 1 µl larutan dan H₂O ditambahkan ke dalam tabung mini. Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan gradien PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Tabel 2. Tahapan Amplifikasi DNA

Tahapan	Suhu (°C)	Waktu	Siklus	
<i>Hot Start</i>	72	30 detik	1	
Denaturasi	98	10 detik		
Annealing	<i>Primer</i>			
	OPA2	36	30 detik	30
	OPA3	36		
	OPA5	36		
	OPA7	36		
	OPD11	36		
OPD13	36			
Extension	72	30 detik		
Final Extension	72	300 detik	1	

Berdasarkan data pada Tabel 2 diketahui bahwa pada tahap pertama hot start dilakukan pada suhu 72°C dengan durasi 30 detik. Selanjutnya dilakukan denaturasi pada suhu 98°C dengan durasi 10 detik, penempelan primer (annealing) pada suhu 36°C dengan durasi 30 detik, dan ekstensi pada suhu



72°C dengan durasi 30 detik, dilanjutkan dengan dengan perpanjangan akhir pada suhu 72°C selama 300 detik. Setelah semuanya selesai, selanjutnya ditahan pada suhu holding dengan suhu 4°C untuk menetralkan alat PCR. Sampel DNA murni yang diperoleh dari hasil amplifikasi PCR kemudian dilakukan melalui pengujian DNA kualitatif menggunakan elektroforesis.

Analisis data molekuler dilakukan dengan melihat pita DNA yang dihasilkan dari hasil elektroforesis PCR. Pita DNA yang dihasilkan terbagi dalam dua kategori, yaitu pita monomorfik dan polimorfik. Ada tidaknya pita dari sampel merupakan data yang kemudian dicatat dalam bentuk matriks. Matriks ini digunakan untuk beberapa analisis. Apabila terdapat pita DNA maka diberi nilai 1, sedangkan bila tidak terdapat pita DNA diberi nilai 0. Parameter yang dihitung adalah jumlah persen lokus polimorfik (PPL), variasi genetik, jumlah alel per lokus (Na), jumlah alel efektif per lokus (Ne), jarak genetik, aliran gen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan sifat molekuler gen lokus primer pada tanaman *Physalisangulata L.* diamati dari DNA dan hasil elektroforesis. Analisis molekuler terhadap *Physalis angulata L.* diawali dengan tahap isolasi DNA yang bertujuan untuk mengekstraksi DNA murni yang selanjutnya digunakan pada proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan Elektroforesis. Isolasi DNA harus dilakukan dengan sangat hati-hati, cepat, praktis dan menggunakan peralatan yang steril agar DNA tidak terdegradasi dan terhindar dari kontaminasi yang dapat menghambat proses dalam proses PCR serta dapat digunakan dalam berbagai analisis molekuler (Moyo, *et al.*, 2008; Chen, *et al.*, 2014). Untuk memperoleh hasil DNA murni dengan cepat dan tingkat kontaminasi yang rendah, dilakukan isolasi menggunakan alat isolasi komersial. Metode isolasi menggunakan kit komersial dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya tentang isolasi DNA famili *Solanaceae* (Shi *et al.*, 2011; Basak *et al.*, 2019; Saha *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020). DNA diisolasi dari daun menggunakan kit komersial dari Favorgen genomics. DNA dioptimalkan untuk menerjemahkan DNA genom, DNA mitokondria, dan DNA kloroplas yang berasal dari berbagai spesies tumbuhan. Proses isolasi DNA diawali dengan lisis membran dan dinding sel menggunakan buffer Fapg1. DNA diikat ke Kolom GD menggunakan buffer Fapg3. Residu seperti RNA dibersihkan dengan Rnase dan protein dibersihkan dengan buffer W1. DNA murni diperoleh dari hasil elusi menggunakan buffer elusi (Rau *et al.*, 2018).

Tabel 3. Hasil Uji Kuantitas 4 Sampel DNA Ciplukan

No	Nama Sampel	A260/A280	Konsentrasi DNA($\mu\text{g/ml}$)
1.	Ciplukan Hijau	1.6	-84.651 $\mu\text{g/ml}$
2.	Ciplukan Kuning	1.8	81.758 $\mu\text{g/ml}$
3.	Ciplukan Putih	1.5	76.154 $\mu\text{g/ml}$
4.	Ciplukan Jumbo	1.5	-51.838 $\mu\text{g/ml}$

Berdasarkan data hasil kuantitas DNA pada Tabel 3, serapan stok DNA pada A260/A280 berkisar antara 1,5-1,8. Hasil kemurnian di atas 1,8



menunjukkan adanya kontaminan protein dan fenol. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya residu etanol pada saat pengeringan tidak sempurna dan adanya sisa kandungan metabolit sekunder pada bagian tanaman. Kandungan metabolit tersebut ditandai dengan kekentalan pada hasil isolasi DNA yang menyebabkan kesulitan dalam pipetasi DNA.

Tahap amplifikasi DNA pada penelitian ini dilakukan dengan bantuan pasangan primer tertentu untuk membatasi luas area DNA yang akan diamplifikasi. Primer merupakan primer yang berguna sebagai penanda wilayah genom pada kloroplas (cpDNA). Primer digunakan untuk identifikasi molekuler tanaman dari famili Solanaceae (Ahmad *et al.*, 2008; Basak *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019; Gui *et al.*, 2020). Elektroforesis lokus primer memiliki efisiensi tinggi dengan tingkat keberhasilan amplifikasi hampir mendekati 100% dan menghadirkan keunggulan tingkat universalitas yang tinggi (Shi *et al.*, 2019; Newmaster *et al.*, 2006) yang menjadi alasan kuat untuk menggunakan lokus gen primer dalam analisis molekuler *Physalisangulata L.*

Amplifikasi DNA dengan PCR dilakukan melalui tiga tahapan utama yaitu Denaturasi, Annealing dan Ekstensi. Proses PCR sangat bergantung pada keakuratan suhu dan waktu yang digunakan pada setiap tahapannya. Pada tahap awal dilakukan tahap *Hot-start* dengan suhu 72°C dan waktu 30 detik sebagai awal Denaturasi. Waktu denaturasi tidak boleh terlalu lama karena dapat merusak kualitas DNA. Setelah melalui denaturasi, amplifikasi dilanjutkan dengan perlekatan dan pengenalan (*Annealing*) primer untuk mendapatkan lokus gen target. Suhu untuk annealing dilakukan pada suhu 36°C selama 30 detik. Suhu yang sesuai pada saat annealing mempengaruhi keberhasilan amplifikasi, suhu yang terlalu rendah (di bawah 27°C) atau terlalu tinggi (di atas 60°C) akan mengakibatkan kesalahan priming dan primer tidak menempel (Fatchiyah, *et al.*, 2011).

Tahap amplifikasi DNA selanjutnya adalah tahap ekstensi. Pada tahap ini terbentuk untai baru dimulai dari posisi basa nukleotida menempel pada primer mulai dari ujung 5' menuju ujung 3'. Tahap ekstensi dilakukan pada suhu 72°C dan waktu 30 detik. Tahap terakhir setelah seluruh siklus berakhir adalah tahap Final Extension yang bertujuan untuk memastikan seluruh basa nukleotida pada untai DNA dari lokus gen target telah terbentuk. Perpanjangan akhir berlangsung selama 600 detik pada suhu 72°C. Seluruh siklus amplifikasi pada PCR dilakukan berulang kali selama 30 siklus untuk memenuhi jumlah beberapa segmen DNA yang dibutuhkan (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Tabel 4. Hasil Amplifikasi 6 Primer RAPD

No	Primer	Urutan Basa (5'-3')	Jumlah DNA Teramplifikasi	Ukuran Fragmen DNA
1.	OPA-2	5'TGCCGAGCTG3'	5	600-3000
2.	OPA-3	5'AGTCAGCCAC3'	6	600-3000
3.	OPA-5	5'AGGGGTCTTG3'	8	500-3000
4.	OPA-7	5'GAAACGGGTG3'	7	500-3000
5.	OPD-11	5'AGCGCCATTG3'	3	500-3000
6.	OPD-13	5'GGGGTGACGA3'	3	500-3000



Berdasarkan hasil keenam primer yang digunakan, terdapat perbedaan jumlah pita yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena primer OPA-5 mampu mengenali keberadaan tempat perlekatan pada cetakan DNA. Hal lain yang mempengaruhi keberhasilan proses amplifikasi adalah pemilihan primer yang tepat. Penggunaan dan pemilihan primer sangat krusial dalam reaksi PCR. Primer berfungsi sebagai agen yang mengawali proses amplifikasi DNA pada sampel secara in vitro dengan menandai cetakan DNA yang diinginkan. Kesalahan dalam pemilihan primer akan menyebabkan primer menempel pada bagian DNA yang lain dan amplicon yang dihasilkan tidak sesuai dengan yang diharapkan. Sehingga secara terus menerus menghasilkan beberapa produk amplifikasi yang berbeda dengan bantuan enzim DNA polimerase. Prana dan Hartati (2003) menyatakan bahwa keberhasilan reaksi amplifikasi DNA ditentukan oleh suhu annealing. Berdasarkan hasil visualisasi pita DNA menggunakan Gel-doc terlihat adanya perbedaan intensitas pita yang dihasilkan, ada yang samar (buram) dan ada pula yang terang dan jernih. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran tempat perlekatan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi. (Rahayu & Jannah, 2019).

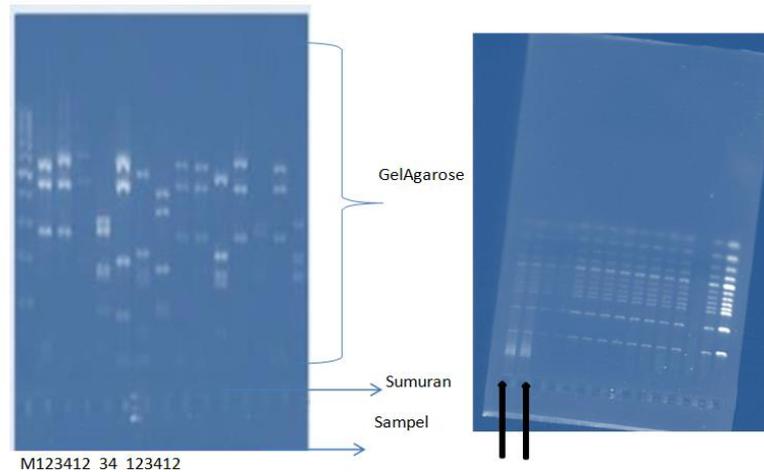
Sampel DNA tanaman ciplukan (*Physalisangulata* L.) dielektroforesis menggunakan teknik RAPD (*Random apply Polymorphism DNA*) menggunakan primer. Amplicon (potongan DNA) dari sampel *Physalis angulata* L. dielektroforesis dan dimurnikan menggunakan primer OPA-2 (5'TGC CGA GCTG 3'), primer OPA-3 (5' AGT CAG CCA C 3'), primer OPA -5 (5' AGG GGT CTT G 3'), primer OPA-7 (5'GAAACGGGTG3'), primer OPD-11 (5'AGCGCCATTG3'), dan primer OPD-13 (5' GGG GTG ACG A 3'). Tujuan pemurnian sampel *Physalisangulata* L. adalah untuk memisahkan sisa-sisa dan komponen sel lainnya yang dapat menyebabkan kontaminasi DNA. Data hasil uji disajikan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil Elektroporesis Sampel *Physalis sangulata* L.

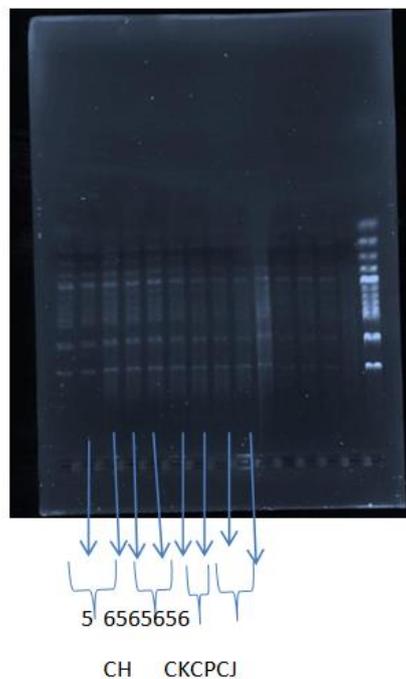
No	Primer	Urutan Basa (5'-3')	Total Pita	Pita Polimorfisme	Pita Monomorfisme	Ukuran Pita
1.	OPA-2	5'TGCCGAGCTG3'	5	3	2	600-3000
2.	OPA-3	5'AGTCAGCCAC3'	6	6	0	600-3000
3.	OPA-5	5'AGGGGTCTTG3'	8	8	0	500-3000
4.	OPA-7	5'GAAACGGGTG3'	7	7	0	500-3000
5.	OPD-11	5'AGCGCCATTG3'	3	0	3	500-3000
6.	OPD-13	5'GGGGTGACGA3'	3	0	3	500-3000

Berdasarkan hasil elektroforesis sampel *Physalis sangulata* L. pada Tabel 5 terdiri dari pembacaan primer OPA-2, OPA-3, OPA-5, OPA-7, OPD-11, dan OPD-13. Data pita polimorfisme dan pita monomorfisme, pola pita yang muncul dari sampel yang berhasil diamplifikasi menunjukkan pola pita polimorfisme. Terdapat 8 pita DNA pada primer OPA-5, sedangkan pada OPA-5 tidak terdapat pola pita monomorfisme. Pola pita yang muncul pada saat amplifikasi menunjukkan pola polimorfisme 7 pita DNA pada primer OPA-7, sedangkan pada

OPA-7 tidak muncul pola pita DNA. Pola pita yang dapat diamplifikasi dapat menunjukkan pola pita polimorfisme sebanyak 6 pita DNA pada primer OPA-3, sedangkan pola pita monomorfisme pada OPA-3 tidak menunjukkan adanya pita DNA. Pada primer OPD-11 dan OPD-13 yang diamplifikasi, tidak terdapat DNA yang muncul pada pola pita polimorfisme namun muncul 3 pola pita DNA pada pola pita monomorfisme.

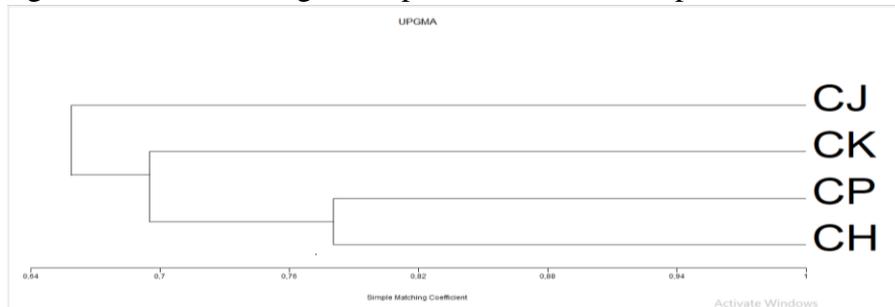


Gambar 1. Pola pita DNA Hasil Amplifikasi Menggunakan Primer OPA-2, OPA-3, OPA-5, & OPA-7

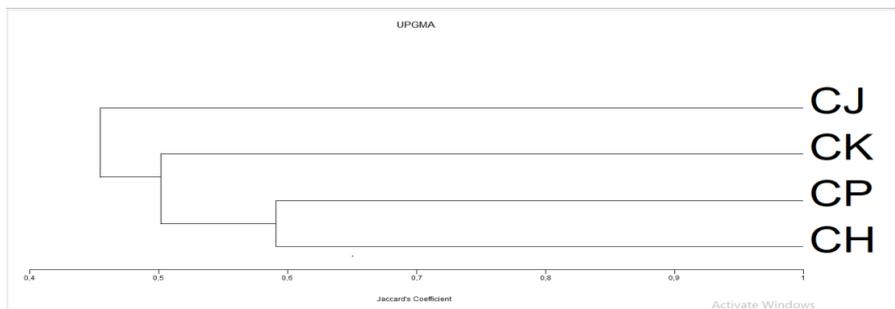


Gambar 2. Pola pita DNA Diampifikasi Menggunakan Primer OPD-11 dan OPD-13

Berdasarkan nilai matriks kemiripan yang diperoleh, baik koefisien pencocokan sederhana maupun koefisien jaccard, maka hubungan keragaman yang tergambar dalam dendrogram dapat direkonstruksi, seperti di bawah ini



Gambar 3. Dendrogram Spesies *Physalisangulata* L. Menggunakan Koefisien Pencocokan Sederhana



Gambar 4. Dendrogram Spesies *Physalisangulata* L. Menggunakan Koefisien Jaccard

Hubungan keanekaragaman jenis tumbuhan anggota genus *Physalis* ditunjukkan pada Gambar 3 (menggunakan koefisien SSm) dan Gambar 4 (menggunakan koefisien Jaccard) menunjukkan pengelompokan keanekaragaman yang sama yaitu ciplukan putih dengan ciplukan hijau yaitu 0,78 yang mempunyai hubungan keanekaragaman yang erat dan bergabung pada clade 1. Sedangkan pada clade 2 terdapat hubungan variasi dan evolusi antara kelompok clade 1 dan ciplukan hijau. tanaman ciplukan kuning yaitu 0,7 sedangkan pada clade 3 yaitu tanaman ciplukan jumbo yaitu 0,58 yang merupakan genus berbeda namun masih termasuk dalam famili Solanaceae. Hanya nilai kemiripannya saja yang berbeda, dimana dengan menggunakan koefisien pencocokan sederhana maka nilai cluster untuk taksa yang mempunyai nilai kemiripan tinggi ($\geq 70\%$) disebut taksospecies.

Jenis tanaman ciplukan jumbo mempunyai jarak genetik yang tinggi karena tidak mempunyai pita yang cukup dibandingkan dengan jenis tanaman lainnya. Kesesuaian primer untuk semua jenis tanaman diperlukan untuk akurasi yang lebih tinggi. Jenis tanaman ciplukan hijau yang secara genetik terjauh pada clade 1 pada dendrogram ini setelah jenis tanaman ciplukan jumbo. Jenis tanaman ciplukan hijau yang telah diidentifikasi sebelumnya mempunyai keanekaragaman yang jauh dari jenis tanaman lainnya dimana jarak genetiknya hanya berkisar 0,78 yang terdapat pada koefisien kemiripan SSm, sedangkan jarak genetiknya berkisar 0,60 koefisien Jaccard.



SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa (1) Hasil analisis RAPD tanaman ciplukan di kabupaten Labuhan Batu Utara menggunakan enam primer yang berbeda yaitu panjang nukleotida pada fragmen DNA yang diamplifikasi terlihat pada primer OPA-2 & OPA-3 adalah 600bp -3000bp, sedangkan OPA-5, OPA-7, OPD -11, & OPD-13 yaitu 500bp-3000bp dengan urutan nukleotida yang berbeda; (2) Perbedaan panjang dan jumlah urutan nukleotida pada tanaman ciplukan disebabkan karena tanaman yang digunakan berasal dari lokasi yang berbeda dan beberapa faktor seperti lingkungan, jumlah populasi, kondisi alam, cara reproduksi dan seleksi alam. Keanekaragaman genetik tanaman ciplukan dianalisis menggunakan aplikasi MVSP 3.1. Perhitungan keanekaragaman genetik dan jarak genetik; (3) Perhitungan keanekaragaman genetik, keanekaragamannya sama yaitu ciplukan putih dengan ciplukan hijau yaitu sebesar 0,78 dan tanaman ciplukan jumbo lebih rendah yaitu 0,58 sedangkan jarak genetik antara tanaman ciplukan hijau dengan ciplukan jumbo lebih rendah yaitu 0,091 dibandingkan dengan tanaman ciplukan hijau yang lebih tinggi yaitu 0,252 menunjukkan bahwa ciplukan lebih primitif sifatnya. Kemudian diperoleh dimana dengan menggunakan koefisien pencocokan sederhana yang mempunyai nilai cluster pada taksa yang mempunyai nilai kemiripan tinggi ($\geq 70\%$) yang disebut taksospecies.

SARAN

Penulis memberikan saran untuk peneliti selanjutnya agar melakukan penelitian lebih lanjut dengan dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan primer yang berbeda seperti OPC-19, OPD-8, OPB-7, P 06, P 17 atau UBC 101 D untuk mendapatkan data yang lebih lengkap mengenai hasil analisis RAPD (*Random amplified Polymorphism DNA*) pada tanaman ciplukan (*Physalisangulata* L).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, D., Kikuchi, A., Jatoy, S.A., Mimura, M., & Watanabe, KN. (2009). Variasi genetik DNA kloroplas pada taksa Zingiberaceae dari Myanmar dinilai dengan analisis polimorfisme panjang fragmen restriksi PCR. *Sejarah Biologi Terapan*, 155(1),91–101.
- Anwar, S., Lukiwati, DR, & Kusmiyati, F. (2021). Keanekaragaman genetik berdasarkan marka RAPD mutan kedelai generasi ketiga (M3) pada tanah salin. *Konferensi IOP: Ilmu Bumi dan Lingkungan*. 1.803.
- Arsyad, M.A., Boer, D., & Cahyaningsih, Y.F. (2022). Polimorfisme Primer RAPD pada Tanaman Jambu Mete dari Tiga Kabupaten di Sulawesi Tenggara Polimorfisme Primerson RAPD pada Tanaman Jambu Mete dari Tiga Kabupaten di Sultra. *Jurnal Galung Tropis*, 11(2), 124–131.
- Basak, S., Moolam, R.A., Parida, A., Mitra, S., dan Rangan, L. 2019. Evaluasi Diagnostik RapidMolecular untuk Membedakan Spesies Obat Kaempferia dari Pezinahnya. *Keanekaragaman Tumbuhan*, 41:206-211.
- Cendana, W., Solarbesain, G., Siahaan, H., Harapan, U.P., Harapan, U.P., & Harapan, U.P. (2021). Program pembelajaran yang berani untuk guru,



- kepala sekolah, orang tua dan siswa melalui layanan pembelajaran. *Jurnal Aspikom*, 2, 773–779.
- Chen, S., Pang, Kemajuan Bioteknologi, 32:1237-1244.
- Fatchiyah, Arumingtyas, E.L., Widyarti, S., dan Rahayu, S. 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Erlangga Publishers. Jakarta.
- Favorit. 2020. *Ekstraksi dan Pemurnian DNA Genomik Favorgen TM Protocol*. Favorgen Biotech Ltd. <http://www.geneaid.com>
- Gui, L., Jiang, S., Xie, D., Yu, L., Huang, Y., Zhang, Z., & Liu, Y. (2020).
- Gusmiaty, G., Sari, N.A., Safira, T.N., Budiman, A., & Larekeng, S.H. (2021). Polimorfisme RApd Marker untuk Analisis Keanekaragaman Genetik Kemiri (*Aleurites Mollucana*) di Kabupaten Maros. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 6(1), 22-30.
- Haiyul Fadhli. (2023). Ciplukan (*Physalis angulata* L.): Tinjauan Tumbuhan Liar yang Berpotensi Sebagai Tanaman Obat. *Jurnal Farmasi Indonesia. Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 134-141.
- Hidayati, UD (2022). Efektivitas Jus Buah Ciplukan (*Physalis*) dalam Menurunkan Tekanan Darah Tinggi di Desa Balun. Yogyakarta Ilmu, J., Nusifera, S., Alia, Y., Lestari, A.P., & Maulana, M. (2020). Agrosains dan Keanekaragaman Genetik Populasi Padi (*Oryza sativa* L.) Payodi Keanekaragaman Genetik Payo (*Oryza sativa* L.) Padi Populasi Lokal di Kabupaten Kerinci Provinsi Jambi Berdasarkan Penanda Morfologi. *Jurnal Sains & Teknologi Pertanian*, 4(1), 61-69.
- Indriani, M, S, S, Lollie A, P, Putri, H. S. (2015). Penerapan Marka Lima Primer RAPD (Random Applied Polymorphic DNA) untuk Analisis Keanekaragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Sumatera Utara. *Jurnal Agroetnologi* 4(1), 1748-1755
- Kristianto, N, Rerenstradika Tizar Terryana, Refflinur, P.L. (2019). Metode ekstraksi DNA tanaman tanpa pengendapan etanol untuk aktivitas Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 6(5), 29-38.
- Kurniajati, WS, Sobir, S., & Aisyah, SI (2020). Penentuan Dosis Iradiasi Sinar Gamma dalam Meningkatkan Keanekaragaman untuk Meningkatkan Karakter Kuantitatif Ciplukan (*Physalis angulata*). *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 3(1), 35-45.
- Lestiariani, L, Djabir YY, Rita, A. (2022). Pengaruh Toksisitas Subakut Ekstrak Daun *Physalis angulata* Terhadap Ginjal dan Hati Tikus Wistar Betina. *Iran Jtoxicol*, 4(1), 1–15.
- Makmur, MF, Larekeng, SH, & Restu, M. (2020). Keanekaragaman genetik delapan jenis ciplukan berdasarkan marka Random Applied Polymorphic DNA (RAPD). *Lengkungan Tanaman*, 20(2), 2333–2337.
- Murnihati, S, BL (2020). Pupuk Bokashi Sus Scrofa Pada Tanaman Jagung Manis Pertumbuhan Penggunaan Pupuk Bokashi Sus Scrofa Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis. *Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(1), 1-20.



- Moyo, M., Amoo, S.O., Bairu, M.W., Finnie, J.F., dan VanStaden, J. 2008. Optimalisasi Isolasi DNA untuk Tanaman Obat. *Jurnal Botani Afrika Selatan*, 74:771–775.
- Newmaster, S.G., Fazekas, A, J. dan Ragupathy, S. 2006. Barcoding DNA pada Tanaman Darat: Evaluasi Pendekatan Berjenjang Multigene rbcLina. *Canadian Journal of Botany*, 84, 335-341.
- Paramitha, AI, Dila., S., Raden, I., Raden., M., & Rahmat, R. (2022). *Radikula: Jurnal Ilmu Pertanian*, 1(2), 94–99.
- Rahayu, D.A., dan Jannah, M. 2019. DNABarcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia. Yayasan Inspirasi Ide Berdaya. Jakarta.
- Rau, C.H., Yudistira, A., dan Simbala, H.E.I. 2018. Isolasi, Identifikasi Molekuler Menggunakan Gen 16s rRNA, dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Simbion Endofit yang Diisolasi dari Alga Halimedaopuntia. *FARMASI: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(2), 53-61.
- Rostikawati, T. (2020). Uji Obat Kumur Antibakteri. Ekstrak Etanol Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri Gram Positif. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 13(1), 103-107.
- Saha, K., Dholakia, B. B., Sinha, R. K., dan Sinha, S. 2020. Barcoding DNA spesies Zingiberaceae terpilih dari India Timur Laut. *Jurnal Biokimia dan Bioteknologi Tumbuhan*, 29(1), 494-502.
- Sarumaha, M. (2022). *Penggunaan Model Pembelajaran Artikulasi Terhadap Hasil Belajar*. Nuta Media. bogor.
- Sembiring, I.M.S., Putri, L.A.P., & Setiado, H. (2019). Penerapan lima penanda primer RAPD (Random Applified Polymorphic DNA) untuk analisis keanekaragaman genetik indiman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Sumatera Utara. *Jurnal Agroekoteknologi*, 4(1), 1748-1755.
- Shi, Yulita, K.S., Arifiani, D., Rustiami, H., dan Girmansyah, D. (eds). 2019. *Tanaman Langka Indonesia: 50 Jenis Tanaman Terancam Punah*. LIPIPRESS. Jakarta.