



**SELEKSI PRIMER UNTUK ANALISIS KESERAGAMAN GENETIK
KAKAO (*Theobroma cacao* L.) MELALUI PENANDA MOLEKULER
RAPD**

SKRIPSI

Oleh:

NUR AFNI HELIA DEWI

191810401002

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS JEMBER

2023



**SELEKSI PRIMER UNTUK ANALISIS KESERAGAMAN GENETIK
KAKAO (*Theobroma cacao* L.) MELALUI PENANDA MOLEKULER
RAPD**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Sarjana Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

NUR AFNI HELIA DEWI

191810401002

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS JEMBER

2023

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua tercinta yaitu Ibunda Helmy Qomariah dan Ayahanda alm. Abdul Laksan yang selalu memberikan do'a, semangat, nasihat dan kasih sayang yang tidak pernah terhenti selama ini;
2. Kakak tercinta Hasbi Fanzah Zain, Moh. Bashori dan adik tercinta Yulinda Sukmawati yang selalu memberikan semangat dan kekuatan dalam menyelesaikan tugas akhir ini;
3. Guru-guru TK Tunas Bangsa Sogaan, SDN Sumber Kembar, SMPN 02 Pakuniran, dan SMAN 1 Paiton yang telah mendidik dan membimbing dengan penuh kesabaran;
4. Dosen-dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

MOTTO

“(yaitu) orang-orang yang beriman dan hati mereka menjadi tenteram dengan mengingat Allah. Ingatlah, hanya dengan mengingati Allah-lah hati menjadi tenteram”

(Terjemahan Surah Ar-Ra'd ayat 28)¹



¹) Departemen Agama Republik Indonesia. 1977. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: PT Bumi Restu.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Afni Helia Dewi

NIM : 191810401002

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Seleksi Primer Untuk Analisis Keceragaman Genetik Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Melalui Penanda Molekuler RAPD” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Karya ilmiah ini didanai sepenuhnya oleh Proyek Internal Puslitkoka (DPA) dan Program Studi Biologi (DPU).

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2023

Yang menyatakan

Nur Afni Helia Dewi

NIM 191810401002



**SELEKSI PRIMER UNTUK ANALISIS KESERAGAMAN GENETIK
KAKAO (*Theobroma cacao* L.) MELALUI PENANDA MOLEKULER
RAPD**

SKRIPSI

Oleh:

NUR AFNI HELIA DEWI

191810401002

PEMBIMBING

Dosen Pembimbing Utama : Mukhamad Su'udi, Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Sulistyani Pancaningtyas, S.P.,M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Seleksi Primer Untuk Analisis Keceragaman Genetik Kakao (Theobroma Cacao L.) Melalui Penanda Molekuler RAPD* telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Sarjana Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember pada:

Hari :

Tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas
Jember

Tim Penguji

Ketua

Anggota I

Mukhamad Su'udi, Ph.D
NRP. 760016788

Sulistiyani Pancaningtyas, S.P., M.Si
NIK. 111000495

Anggota II

Anggota III

Prof. Ir. Bambang Sugiharto, DagrSc., MagrSc
NIP. 195510221982121001

Dr. rer. nat. Fuad Bahrul Ulum, S.Si., M.Sc
NIP. 198409262008121002

Mengesahkan
Dekan FMIPA Universitas Jember

Drs. Achmad Saifullah, M.Sc., Ph.D
NIP. 195910091986021001

RINGKASAN

Seleksi Primer Untuk Analisis Keseragaman Genetik Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Melalui Penanda Molekuler RAPD; Nur Afni Helia Dewi, 191810401002; 2023; 29 Halaman ; Program Studi Sarjana Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (Puslitkoka) merupakan salah satu lembaga penelitian Indonesia yang mendapatkan mandat dalam pengembangan komoditas kopi dan kakao di Indonesia. Salah satu kegiatan penelitian di Puslitkoka adalah memproduksi bibit kakao melalui kultur jaringan dalam memperoleh bibit-bibit dengan sifat unggul. Tanaman kakao dilakukan perbanyakan melalui metode embriogenesis somatik yaitu pembentukan embrio tanpa adanya fusi gamet. Ketidakmurnian genetik atau salah pelabelan menjadi tantangan bagi pemulia tanaman. Klon unggul kakao harus dijaga kemurnian genetiknya agar homogenitas genetik terjaga. Identifikasi keseragaman antara tanaman kakao induk dan anakan yaitu hasil embriogenesis somatik perlu dilakukan. Penggunaan marka molekuler dapat menganalisis variasi genetik, salah satu marka molekuler yang umum digunakan adalah *Random Amplification Polymorphic DNA* (RAPD).

Marka molekuler RAPD merupakan primer dengan panjang sekuen berkisar 10 sampai dengan 20 basa nukleotida dengan sekuen DNA yang diamplifikasi secara acak. Keunggulan RAPD yaitu relatif murah, sampel DNA yang dibutuhkan sedikit (0,5-5 ng), teknik yang digunakan cepat, menghasilkan banyak pita dan menyediakan karakteristik *fingerprints* tanpa informasi genetik. RAPD dapat digunakan untuk analisis mengetahui keragaman genetik, hubungan kekerabatan dan mendeteksi pohon induk. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis keseragaman genetik antara pohon induk dengan bibit kakao hasil embriogenesis somatik dengan menggunakan dua primer yaitu GY169 dan GY107. Identifikasi molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu isolasi DNA genom menggunakan Kit, kuantifikasi DNA genom menggunakan

spektrofotometer, amplifikasi DNA menggunakan dua primer RAPD dan analisis skoring data untuk menunjukkan persentase polimorfisme pita DNA yang terbentuk.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel tanaman kakao baik induk dan anakan dari 3 macam klon yaitu ICCRI 07, ICCRI 03 dan Sulawesi 03 memiliki keseragaman genetik yang sama dengan melihat pola *band* yang terbentuk. Primer GY169 klon ICCRI 07 induk dan anakan ditemukan monomorfisme di ukuran 370 bp, 700 bp, 1040 bp dan 1200 bp, klon ICCRI 03 induk dan anakan ditemukan monomorfisme di ukuran 1017 bp, sedangkan klon Sulawesi 03 induk dan anakan ditemukan monomorfisme di ukuran 370 bp. Primer GY107 klon ICCRI 07 induk dan anakan ditemukan monomorfis di ukuran 345 bp, 794 bp, 1087 bp dan 1235 bp, klon ICCRI 03 induk dan anakan ditemukan monomorfisme di ukuran 365 bp, 794 bp dan 915 bp, sedangkan klon Sulawesi 03 induk dan anakan ditemukan monomorfisme di ukuran 345 bp, 794 bp, 1119 bp dan 1330 bp. Hal ini menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai hipotesis yaitu *T. cacao* pohon induk dan anakan hasil embriogenesis somatik memiliki keseragaman genetik yang sama menggunakan dua primer RAPD. Persentase pita polimorfisme yang didapatkan >65% dari semua klon dengan rata-rata 89,16%. Primer GY169 dan GY107 yang memiliki panjang sekuen secara berurutan yaitu 21 dan 18 basa nukleotida dapat menghasilkan *band* jelas, terang dan *polymorphisme* pada semua sampel genom kakao.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Seleksi Primer Untuk Analisis Keceragaman Genetik Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Melalui Penanda Molekuler RAPD”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Sarjana Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan doa berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta yaitu Ibunda Helmy Qomariah dan Ayahanda alm. Abdul Laksan yang selalu memberikan do'a, semangat, nasihat dan kasih sayang yang tidak pernah terhenti selama ini sehingga penulis dapat menyelesaikan Pendidikan S1;
2. Mukhamad Su'udi, Ph. D. selaku dosen pembimbing utama dan Sulistyani Pancaningtyas, S.P., M.Si. selaku dosen pembimbing anggota yang telah memberikan nasihat dan membimbing dengan penuh perhatian dan kesabaran dalam penulisan skripsi ini;
3. Prof. Ir. Bambang Sugiharto, DagrSc., MagrSc. dan Dr. rer. nat. Fuad Bahrul Ulum, S.Si., M. Sc. selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Eva Tyas Utami, S. Si., M. Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan, semangat dan motivasi selama penulis menempuh Pendidikan S1;
5. Dosen-dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan berguna dalam kehidupan dan pendidikan penulis;
6. Alumni DNAR (El Shania, Waki'atil Rosida dan Muh. Ardiyansyah) dan tim riset TBV (Selvina, Nufan, dan Ayu) yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya dalam keadaan suka dan duka untuk membantu penulis dalam penyelesaian skripsi ini;

7. Tim riset DNAR (Rozee, Dinda, Asyifa, Kiki, Kurnia, Layli, Eka, Qummil, Agil, Nia, Ais, Ikmal dan Yusfi) yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membantu penulis dalam penyelesaian skripsi ini;
8. Teman-teman seperjuangan (Putri, Irma, Dita, Nita, Septi, Afri, Dila, Munaa, Rani, Malika, Tika, Fikrah, Anas, Caca, Khilfa, Dewi, Ica, Ainur, Shafa, Siti, Viruria, Vinna, dan Tantri) yang telah menemani dan menyemangati penulis selama menempuh Pendidikan S1;
9. Teman-teman mahasiswa Angkatan 2019 “GRIZZLY” dan Kombi Botani “PETALA” yang telah memberikan pengalaman dan kenangan selama penulis menempuh studi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari berbagai pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi peneliti selanjutnya sebagai referensi tambahan.

Jember, Juli 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN	iv
PEMBIMBINGAN	v
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Kakao	4
2.2 Penanda Molekuler	6
2.3 <i>Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD)</i>.....	7
2.4 <i>Short dan Long Primer RAPD</i>	9
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Rancangan Penelitian	11
3.4 Prosedur Penelitian	12
3.4.1 Koleksi Sampel.....	12
3.4.2 Isolasi DNA Genom	13

3.4.3 Kuantifikasi DNA Genom menggunakan Spektrofotometer..	
UV-Vis	13
3.4.4 Amplifikasi DNA Target	14
3.4.5 Analisis Hasil Amplifikasi DNA dengan Elektroforesis	14
3.5 Analisis Data	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Identifikasi Morfologi <i>Theobroma cacao</i> L	16
4.2 Kuantifikasi DNA Genom	17
4.3 Amplifikasi DNA menggunakan Primer GY169 dan GY107 ..	19
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	23
5.1 Kesimpulan	23
5.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN-LAMPIRAN	28

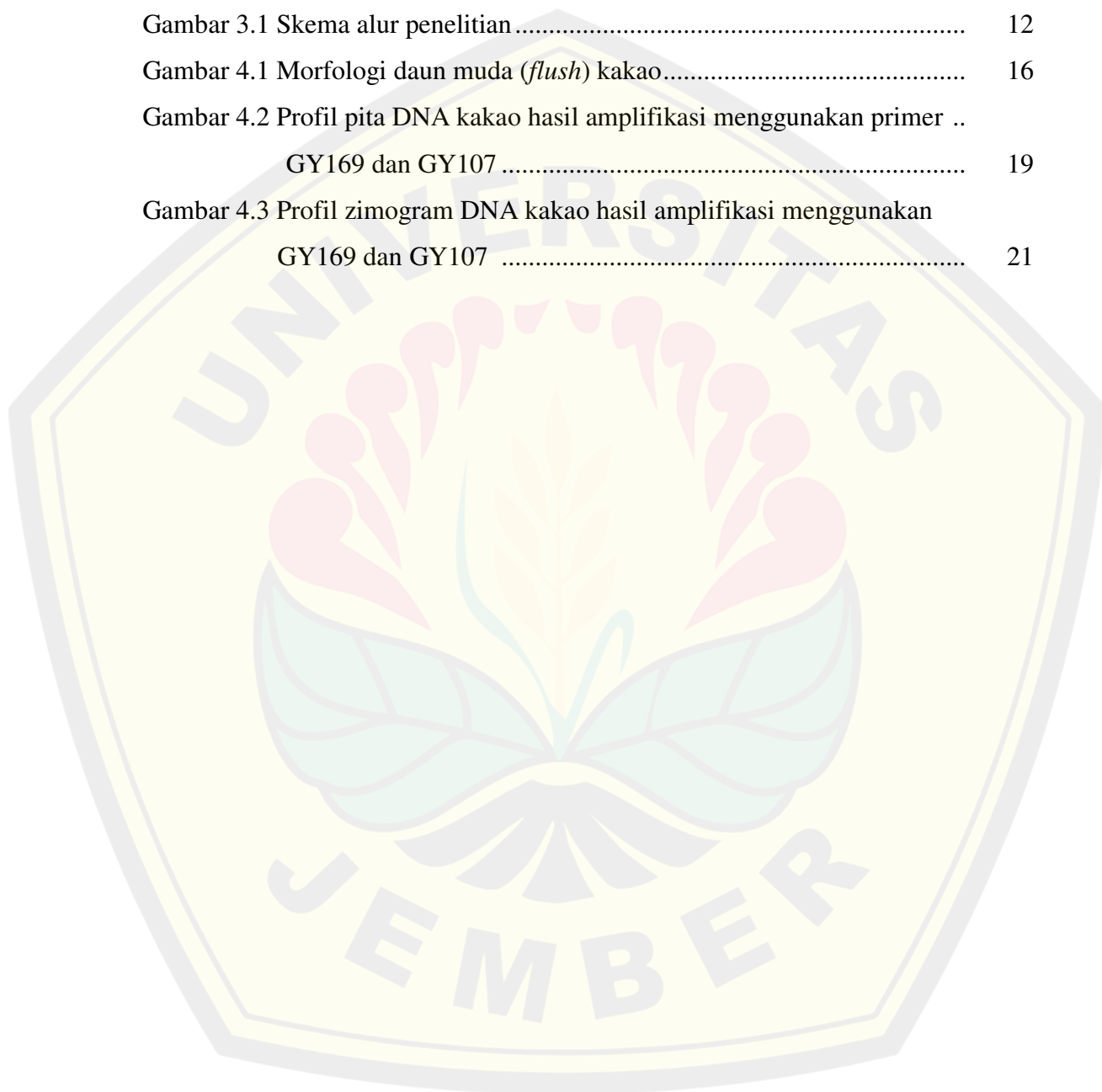
DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Daftar sekuen primer RAPD	14
Tabel 4.1 Hasil kuantifikasi DNA genom <i>T. cacao</i>	18
Tabel 4.2 Persentase pita polimorfis pada primer GY169 dan GY107.....	22



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah <i>T. cacao</i>	4
Gambar 2.2 Pohon <i>T. cacao</i>	5
Gambar 2.3 Ilustrasi skema <i>Random Amplification Polymorphic DNA</i>	8
Gambar 3.1 Skema alur penelitian	12
Gambar 4.1 Morfologi daun muda (<i>flush</i>) kakao.....	16
Gambar 4.2 Profil pita DNA kakao hasil amplifikasi menggunakan primer .. GY169 dan GY107	19
Gambar 4.3 Profil zimogram DNA kakao hasil amplifikasi menggunakan GY169 dan GY107	21



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data skoring perhitungan <i>band</i> polimorfis primer GY169	28
Lampiran 2. Data skoring perhitungan <i>band</i> polimorfis primer GY107	29

