

Analisis Polimorfisme Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan Berdasarkan Pendekatan PCR-RAPD

Polymorphism Analysis of Local Varieties of South Sumatra Rice Based on PCR-RAPD

Fikri Adriansyah^{1*)}, Laila Hanum², Muharni Muharni², Yuanita Windusari²

¹Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Palembang, Sumatera Selatan 30139

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Sumatera Selatan 30862

^{*)}Penulis untuk korespondensi: fikri24adriansyah@gmail.com

ABSTRACT

The existence of rice germplasm is threatened because of the introduction of various high-yielding varieties. This study aimed to analyze rice kinship and conservation of local varieties of South Sumatra rice. This study was conducted in August 2015 to December 2015. DNA isolation using the Promega Wizard Purification Systems KIT. This study uses OPA-9 primer, OPA-10, OPA-13, OPA-16. All primers can amplify DNA with optimal quality. OPA-9 primers produced 5 DNA bands, OPA-10 primers produced 9 DNA bands, OPA-13 primers produced 12 DNA and Primary OPA-16 bands producing 9 ppita DNA.

Kata kunci: monomofik, Polimorfik, Pita DNA, smear

ABSTRAK

Keberadaan plasma nutfah padi tersebut terancam karena introduksi berbagai varietas unggul. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kekerabatan padi dan konservasi padi varietas lokal Sumatera Selatan. Penelitian ini telah dilakukan pada Agustus 2015 sampai Desember 2015. Isolasi DNA menggunakan KIT Promega *Wizard Purification Systems*. Penelitian ini menggunakan primer OPA-9, OPA-10, OPA-13, OPA-16. Semua primer dapat mengamplifikasi DNA dengan kualitas yang optimal. Primer OPA-9 menghasilkan 5 pita DNA, Primer OPA-10 menghasilkan 9 pita DNA, Primer OPA-13 menghasilkan 12 pita DNA dan Primer OPA-16 menghasilkan 9 ppita DNA.

Keywords: monomofic, Polymorphic, DNA Bands, Smears

PENDAHULUAN

Sumatera Selatan memiliki potensi yang tinggi untuk dijadikan daerah sentra produksi padi. Hal ini disebabkan karena Sumatera Selatan merupakan salah satu daerah di Indonesia yang memiliki lahan rawa lebak terluas. Akan tetapi lahan rawa lebak memiliki beberapa kendala untuk kegiatan pertanian (Nurmalina, 2008).

Sumatera Selatan kaya akan plasma nutfah padi varietas lokal yang tergolong dalam kelas aromatik. Sebagai akibat dari introduksi padi varietas unggul, konsistensi padi varietas lokal Sumatera Selatan terdegradasi. Hal ini disebabkan karena siklus hidup padi varietas lokal Sumatera Selatan yang cukup lama sehingga kurang menguntungkan bagi petani (Hanum *et al.*, 2017).

Salah satu penyebab permasalahan tersebut karena terbatasnya lahan yang optimal untuk budidaya kedelai. Upaya peningkatan produksi padi dapat dilakukan melalui perluasan areal tanam. Menurut Lakitan dan Gofar (2013), dewasa ini pemerintah Indonesia tengah memanfaatkan lahan-lahan suboptimal yang baik sudah dikelola maupun memungkinkan untuk dikelola. Akan tetapi upaya ini memiliki banyak tantangan. Hal ini disebabkan karena berbagai macam karakteristik lahan yang kurang menguntungkan untuk pertanian

Umumnya lahan suboptimal yang terdapat di Indonesia merupakan tanah ultisol. Menurut Suriadikarta & Sutriadi (2007), tanah ultisol memiliki potensi yang cukup tinggi di Indonesia yaitu sebesar 25% dari total luas daratan Indonesia. Sebaran terluas terdapat di Kalimantan (21.938.000 ha), diikuti di Sumatera (9.469.000 ha), Maluku dan Papua (8.859.000 ha), Sulawesi (4.303.000 ha), Jawa (1.172.000 ha), dan Nusa Tenggara (53.000 ha). Menurut Prasetyo dan Suriadikarta (2006), tanah ini dapat dijumpai pada berbagai relief, mulai dari datar hingga bergunung

Di Indonesia, khususnya di Sumatera Selatan pemanfaatan tanah ultisol khususnya untuk tanaman hortikultura belum dimanfaatkan secara optimal. Hal ini khususnya untuk skala petani kecil disebabkan karena biaya pengolahan tanah ultisol yang cukup tinggi. Selain itu Menurut Prasetyo dan Suriadikarta (2006), dalam skala besar tanah ultisol banyak digunakan untuk perkebunan komoditas karet, kelapa sawit, dan hutan tanaman industri.

Tanah ultisol tidak efektif untuk budidaya tanaman hortikultura. Hal ini disebabkan karena karakteristik tanah ultisol yang kurang mendukung pertumbuhan tanaman. Menurut Nursyamsi (2006), umumnya tanah Ultisol memiliki pH yang sangat masam hingga agak masam, yaitu sekitar 4.1-5.5, jumlah basa-basa dapat ditukar tergolong rendah hingga sedang dengan kompleks adsorpsi

didominasi oleh Al, dan hanya sedikit mengandung kation Ca dan Mg. Kapasitas tukar kation (KTK) dan kejenuhan basa (KB) lapisan atas tanah umumnya rendah hingga sedang. Kekahatan kalium merupakan kendala yang sangat penting dan sering terjadi di tanah Ultisol. Masalah tersebut erat kaitannya dengan bahan induk tanah yang miskin K, hara kalium yang mudah tercuci karena KTK tanah rendah, dan curah hujan yang tinggi di daerah tropika basah sehingga K banyak yang tercuci. Selain itu salah satu kendala lingkungan yang sangat mendesak yaitu cekaman tenggelam

Peningkatan produktivitas dan konservasi plasma nutfah padi varietas lokal Sumatera Selatan dapat dilakukan melalui pendekatan molekuler. RAPD sebagai salah satu pendekatan analisis molekuler memiliki keuntungan dalam produktivitas dan efektivitas (Simarmata & Rustikawati, 2015). Padi varietas lokal Sumatera Selatan memiliki sifat-sifat unggul yang penting sebagai informasi dasar pemuliaan tanaman. Oleh karena itu penting untuk melakukan eksplorasi informasi-informasi genetik tersebut. Upaya peningkatan produktivitas padi dapat dilakukan melalui pemuliaan varietas khususnya peningkatan adaptasi-adaptasi terhadap kondisi lingkungan lahan rawa lebak. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kekerabatan padi dan konservasi padi varietas lokal Sumatera Selatan.

BAHAN DAN METODE

Eksplorasi Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Agustus 2015 hingga Desember 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Uji kualitas dan kuantitas DNA dan PCR-RAPD telah dilakukan di Laboratorium Genetik dan Laboratorium

Fasilitas Penelitian Bersama (FALITMA) Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

Eksplorasi dan inventarisasi varietas padi lokal Sumatera Selatan telah dilakukan dengan menggunakan metode *Purposive*

Sampling di 9 kabupaten di Sumatera Selatan. Lokasi telah dipilih sesuai dengan studi literatur dan wawancara. Lokasi varietas lokal beras Sumatera Selatan menunjukkan (Gambar 1).



Gambar 1. Peta Eksplorasi Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan

Isolasi DNA

DNA diekstraksi dari daun muda menggunakan protokol seperti yang dijelaskan oleh Hanum *et al.* (2018). Aksesori yang dipilih dari varietas lokal beras Sumatera Selatan (Tabel 1.) dalam kualitas yang baik (daun padi muda, bersih, dan tidak rusak) disimpan dalam *freezer* selama 1 minggu. Isolasi varietas padi lokal Sumatera Selatan DNA dilakukan dengan menggunakan KIT Promega Wizard Purification Systems. Kemurnian DNA ditentukan dengan menggunakan protokol yang dijelaskan oleh Sambrook *et al.*, (1989) kemurnian DNA ditentukan oleh

rasio $A_{260}/A_{280} = 1,8-2$. Kuantifikasi DNA dilakukan untuk menentukan kemurnian dan konsentrasi DNA. 2 μ l sampel DNA terisolasi dimasukkan ke dalam kuartet yang mengandung aquabides steril 1998 μ l dan dicampur secara homogen. Kuantitas dihitung pada panjang gelombang (λ) 260 dan 280 nm. Rasio konsentrasi terhadap setiap panjang gelombang digunakan sebagai patokan kemurnian DNA. Hasil isolasi diuji secara kualitatif dengan elektroforesis menggunakan protokol seperti yang dijelaskan oleh (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Tabel 1. Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan

No.	Nama Varietas	Kode	No.	Nama Varietas	Kode
1	Padi Pegagan	PP	12	Padi Dayang Telasih	DTLLG
2	Padi Dayang Rindu	DRMK	13	Padi Hitam	HLLG
3	Padi Dayang Kuning	DKMK	14	Padi Pulut/Meto Tomok	PLLG1
4	Padi Seluang	SMK	15	Padi Putih	PLLG2
5	Padi Panak/Pendek	PMK	16	Padi Pegagat	PLLG3
6	Padi Pamulan/Empat Bulan	PEBMK	17	Padi Dayang Rindu	DRLLG
7	Padi Talang	TB	18	Padi Pulut	PM2SI
8	Padi Sanapi	SB	19	Padi Panjang	PM2S2
9	Padi Ketan Hitam	KIB	20	Padi Jambat Thehas	JTM2S
10	Padi Ketan Putih	KPB	21	Padi Stik	SK
11	Padi Ketan Abang/Ketan Merah	KAB	22	Padi Beram	BM2S

Analisis Penanda Molekuler PCR-RAPD

Pengamatan molekuler dari 22 aksesori dilakukan dengan tahap persiapan *template* DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis gel, kuantifikasi hasil elektroforesis gel, dan analisis data. Sebelum digunakan dalam proses PCR-RAPD, primer (Tabel 2.) dihentikan menggunakan aquabides steril. Volume yang ditambahkan ke masing-masing tabung utama dihitung dengan berat molekul utama yang tercantum pada setiap tabung. Reaksi PCR dilakukan pada volume total 25 μ L untuk setiap mikrotube. Setiap reaksi PCR terdiri dari 12,5 μ L goTag green mastermix (2x), 5 μ L primer (Sigma-Proligo), 5 μ L DNA template, dan 2,5 μ L

Nuclease-free water. Amplifikasi DNA dilakukan dengan C1000TM Thermal Cycler dari Bio-Rad. Pemanasan pertama dilakukan pada 94 ° C selama 7 menit, diikuti oleh 45 siklus dengan suhu dan waktu setiap siklus denaturasi pada 94 ° C selama 1 menit, annealing telah dilakukan dengan menggunakan gradien anil pada 39 ° C-38 ° C-37 ° C -36 ° C yang menurun secara bertahap, masing-masing 11 siklus selama 1 menit, dan elongasi pada 72 ° C selama 1 menit 30 detik. Siklus terakhir diikuti oleh pasca elongasi pada 72 ° C selama 2 menit. Hasil PCR diamati menggunakan perangkat elektroforesis dan disimpan pada -40 ° C.

Table 2. PCR-RAPD Primer

Primer	Nucleotide	Referen
OPA 9	GGGTAACGCC	Juansa <i>et al.</i> , 2012
OPA 10	GTGATCGCAG	Juansa <i>et al.</i> , 2012
OPA 13	CAGGACCCAC	Juansa <i>et al.</i> , 2012
OPA 16	AGCCAGCGAA	Juansa <i>et al.</i> , 2012

Analisis Data

Data yang diperoleh dari metode RAPD dalam bentuk band atau band amplifikasi adalah data biner yang dilambangkan dengan 'ada (1) atau tidak ada (0)' dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Hanum & Rina, 2013). Hasil pita DNA diukur dengan jarak migrasi mereka. Menentukan ukuran amplifikasi pita DNA dilakukan dengan mengukur jarak migrasi DNA standar (1 kb

tangga) dari sumur ke tempat migrasi DNA. Ukuran fragmen DNA standar kemudian logaritmik, dan nilai logaritma digunakan sebagai sumbu Y sementara jarak migrasi DNA standar diukur menjadi sumbu X. Setelah X dan Y nilai-nilai yang dikenal maka persamaan linear linear $Y = ax + b$ diperoleh melalui persamaan regresi linier. Ukuran pita DNA yang diperkuat dicari dengan memasukkan nilai yang terukur dalam persamaan garis. Selanjutnya, nilai Y

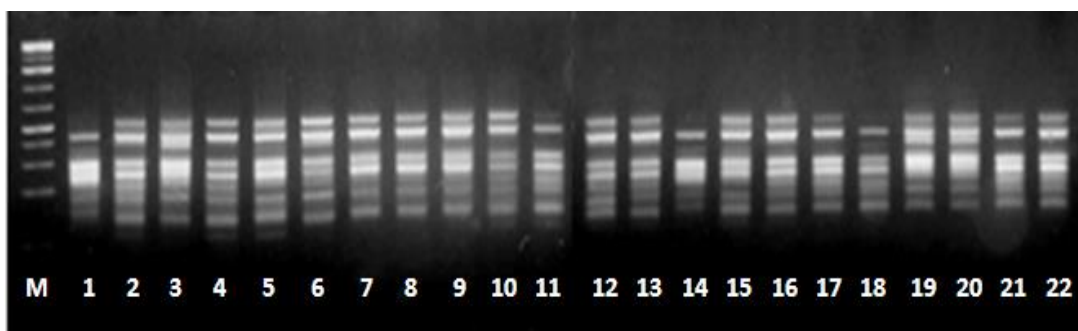
yang diperoleh sebagai antilog dan akan dikenal sebagai panjang basis yang diperkuat oleh primer. Setelah panjang dasar diketahui dan data biner diperoleh dengan '(1) atau tidak ada (0)'.
 visualisasi pita DNA. Sehingga identifikasi dan klasifikasi pita DNA monomorfik dan polimorfik dapat dilakukan. RNA dan protein ataupun kontaminan lainnya yang kemudian terbawa dalam proses elektroforesis. Hasil analisis PCR-RAPD menunjukkan pita-pita yang jelas. Hal ini dipengaruhi oleh penggunaan KIT isolasi DNA serta penggunaan larutan purifikasi DNA. Penggunaan KIT untuk isolasi DNA sangat mempengaruhi kemurnian DNA (Simarmata & Rustikawati, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

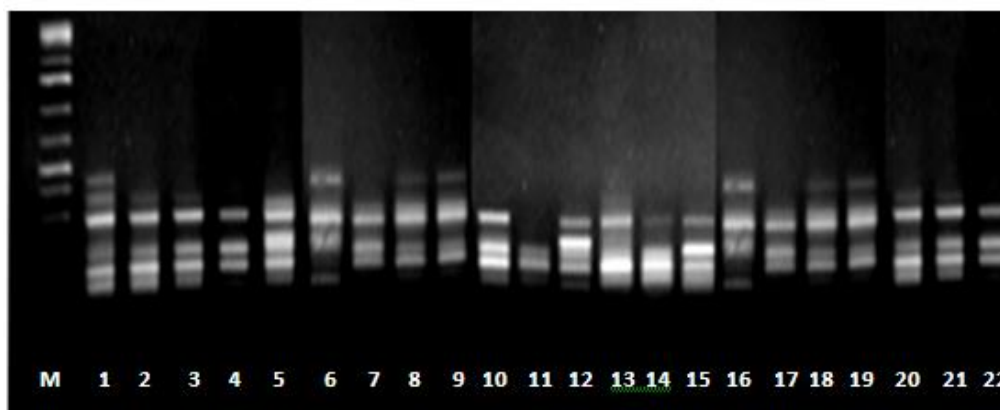
Hasil amplifikasi PCR-RAPD melalui elektroforesis (Gambar 3-5). Didapatkan hasil berupa visualisasi pita-pita DNA yang cukup jelas dan tidak *smear*. Berdasarkan hasil elektroforesis pita-pita DNA hasil amplifikasi dapat dibedakan dan dikelompokkan menjadi pita DNA monomorfik dan pita DNA polimorfik.

Berdasarkan (Gambar. 2-4) hasil amplifikasi PCR-RAPD menunjukkan pita-pita DNA yang jelas dan terang serta tidak ada *smear* yang signifikan mempengaruhi

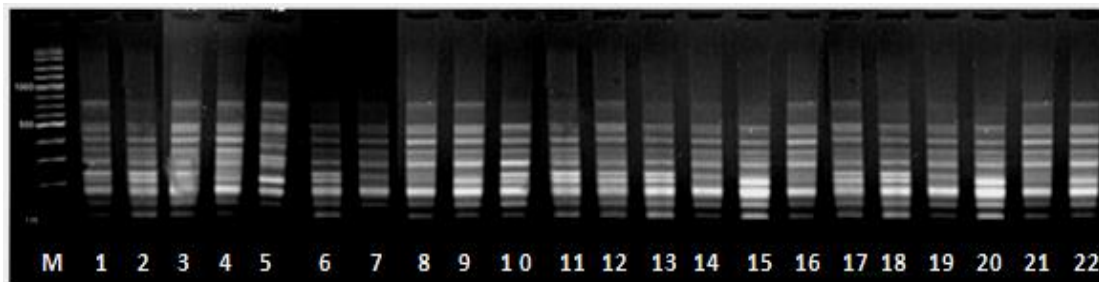
Berdasarkan (Gambar. 2-4) didapatkan pita-pita DNA monomorfik dan polimorfik. Dengan demikian 4 primer yang digunakan untuk analisis PCR-RAPD spesifik dengan gen padi varietas lokal Sumatera Selatan. Primer yang digunakan pada penelitian ini sebelumnya telah digunakan untuk analisis molekuler padi varietas lokal oleh Juansa *et al.*, (2012).



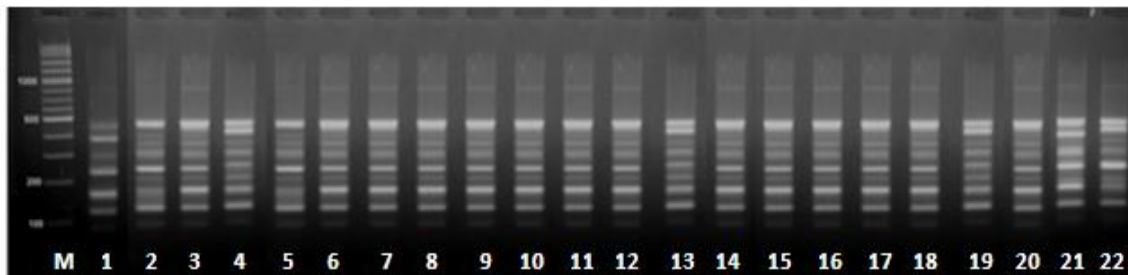
Gambar 2. Primer OPA-9



Gambar 3. Primer OPA-10



Gambar 4. OPA-13



Gambar 5. OPA-16

Primer memiliki tingkat spesifitas terhadap DNA target. Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan *mispriming* atau bahkan tidak dapat mengamplifikasi DNA. Menurut Hairmansis & Aswidinnoor (2005), bahwa dasar dari keberhasilan proses PCR terletak pada kesesuaian primer dan efisiensi serta optimasi proses PCR. Primer yang tidak spesifik dalam proses PCR dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sebagai sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi.

Presentase jumlah pita yang didapatkan pada amplifikasi DNA sangat dipengaruhi oleh primer. Pemilihan primer dalam proses PCR-RAPD sangatlah penting. Kualitas dari pita DNA hasil amplifikasi dipengaruhi oleh primer. Menurut Hasan *et al.*, (2015), bahwa pemilihan primer sangat penting dalam proses PCR-RAPD untuk mendapatkan pita DNA yang bersih dan bagus. Primer yang sesuai atau baik akan menghasilkan lebih dari tiga pita DNA yang bersih.

Salah satu faktor penting dalam proses PCR-RAPD yaitu Suhu *annealing*. Tahap *annealing* pada penelitian ini memerlukan suhu yang spesifik dan optimum. Untuk mendapatkan suhu

annealing yang spesifik dan optimum maka dilakukanlah optimalisasi dengan cara menggunakan gradien suhu yang terdapat di mesin PCR. Cara kerja gradien suhu yaitu dengan cara mencari suhu spesifik dan optimum pada kisaran suhu tertentu (suhu terendah dan suhu tertinggi) dimana primer dapat mengamplifikasi DNA target. Suhu *annealing* yang tidak spesifik dan optimum dapat menyebabkan terjadinya *mispriming* yaitu primer mengamplifikasi daerah yang bukan menjadi target atau bahkan tidak teramplifikasi DNA target. Berdasarkan penelitian Langga *et al.* (2012), didapatkan bahwa proses pelekatan primer pada DNA target sangat dipengaruhi oleh pengaturan suhu pada fase *annealing*. Perubahan suhu satu derajat akan menyebabkan primer gagal melekat pada DNA target. Menurut Uslan & Pharmawati, (2015), suhu *annealing* merupakan kisaran suhu yang membuat pasangan primer menempel dengan komplemenya pada DNA target saat proses PCR. Suhu *annealing* sangat menentukan keberhasilan amplifikasi. Hal ini disebabkan karena proses pemanjangan DNA dimulai dari primer. Suhu yang umum digunakan pada saat *annealing* yaitu 50-65° C.

Berdasarkan uji kualitatif yang dilakukan oleh peneliti dan uji kuantitatif

dengan menggunakan metode spektrofotometri yang dilakukan Hanum *et al.* (2018), dengan menggunakan isolat DNA yang sama yang akan digunakan pada penelitian variasi genetik PCR-RAPD ini, didapatkan bahwa isolat DNA padi varietas lokal yang diisolasi dengan menggunakan *Wizard Purification System* (KIT) Promega telah memenuhi syarat untuk digunakan pada penelitian molekuler. Selain itu juga dilakukan perbandingan kualitas dan kuantitas isolat DNA padi varietas lokal Sumatera Selatan dengan menggunakan aksesori yang sama untuk meneliti variasi genetik padi varietas lokal melalui pendekatan PCR-RAPD dari metode isolasi DNA CTAB dan *Wizard Genome DNA* (KIT). Berdasarkan perbandingan yang dilakukan didapatkan bahwa isolat DNA dari *Wizard Genome DNA* (KIT) memenuhi syarat dan lebih baik kualitas dan kuantitasnya dibandingkan isolat DNA dari metode CTAB. Menurut Dewi *et al.* (2014), primer tidak akan menempel pada DNA target jika DNA *template* kurang murni.

Identifikasi pita monomorfik dan pita polimorfik dilakukan berdasarkan beberapa kriteria dalam proses pemberian skor pita DNA pada teknik PCR-RAPD ini, antara lain reproduksibilitas dari pita DNA (konsistensi kemunculan pita DNA), ketebalan pita DNA, dan ukuran pita DNA serta segregasi pita DNA. Menurut Kumar & Gurusubramanian (2011), terdapat beberapa kriteria dalam pemberian skor pada pita DNA hasil PCR-RAPD antara lain reproduksibilitas konsistensi keberadaan pita DNA, ketebalan pita DNA, ukuran pita DNA, dan segregasi pada pita DNA.

Jumlah pita polimorfik yang didapatkan pada penelitian variasi genetik padi varietas lokal Sumatera Selatan ini lebih besar jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Juansa *et al.* (2012) yang meneliti variasi genetik dan hubungan kekerabatan padi varietas lokal dengan menggunakan 7 primer yang sama. Didapatkan total pita polimorfik yang dapat diamplifikasi oleh primer pada penelitian sebanyak 16, 20% (kurang dari 50%) sedangkan pada penelitian ini sebesar 53,6%. Rendahnya presentase polimorfik pada suatu aksesori dapat diduga disebabkan karena aksesori tersebut memiliki penamaan lokal yang bervariasi di berbagai daerah akan tetapi semua nama lokal tersebut merupakan satu aksesori yang sama.

Primer OPA-13 menghasilkan pita polimorfik yang paling banyak yaitu 11 pita (91,7%), OPA-19 menghasilkan 7 pita polimorfik (58,3%), OPA-10 menghasilkan 5 pita polimorfik (55,6%), OPA-16 menghasilkan 4 pita polimorfik (44,4%), dan OPA 9 menghasilkan 1 pita polimorfik (20%) (Tabel 3). Menurut Peloa *et al.* (2015), banyaknya pita DNA yang diamplifikasi disebabkan oleh banyaknya situs penempelan primer terutama pada sekuens DNA berulang di dalam genom dan peningkatan konsentrasi DNA genom dalam reaksi. Hal ini dapat dilihat dengan semakin tajamnya intensitas pita yang dihasilkan. Selain itu sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi DNA genom dalam reaksi mempengaruhi intensitas pita DNA yang dihasilkan.

Tabel 3. Presentase Pita DNA Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan Hasil PCR-RAPD

No.	Primer	Sekuen (5' - 3')	Total Pita Teramplifikasi	Pita Monomorfik	Pita Polimorfik	Persentase Polimorfik (%)
1.	OPA 9	GGGTAACGCC	5	4	1	20,0
2.	OPA 10	GTGATCGCAG	9	4	5	55,6
3.	OPA 13	CAGGACCCAC	12	1	11	91,7
4.	OPA 16	AGCCAGCGAA	9	5	4	44,4
Total			70	30	40	212,7
Rata-rata			17,5	7,5	10	53,2

Pola pita hasil amplifikasi menunjukkan terdapatnya variasi genetik di antara padi varietas lokal Sumatera Selatan. Variasi genetik berdasarkan pola pita DNA hasil amplifikasi ini dapat dijadikan dasar dalam proses penyusuan pemuliaan tanaman atau perakitan varietas unggul. Hal ini sependapat dengan Zulfahmi (2013), bahwa variasi genetik merupakan tingkat variasi paling rendah dalam organisasi biologi. Variasi genetik merupakan informasi dasar dalam menyusun strategi konservasi pemuliaan, pengelolaan, dan pemanfaatan sumber daya genetik secara berkelanjutan.

KESIMPULAN

Semua primer dapat mengamplifikasi semua pita DNA dengan kualitas baik. Semua primer dapat mengamplifikasi pita DNA monomorfik dan polimorfik. Pola pita polimorfik mengindikasikan terdapatnya variasi genetik diantara aksesi padi lokal Sumatera Selatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Hibah Unggulan Perguruan Tinggi tahun 2015. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Riset dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi A, Restuhadi F & Nugroho T T. 2014. Optimasi PCR Dan Amplifikasi Its DNA Ribosomal Penicillium Primer Gambut Cagar Biosfer Bukit Batu Riau. *Journal Ind. Che Acta*, 4(2).
- Fatchiyah, Arumningtyas E L, Widyarti S, & Rahayu S. 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Hairmansis A & Aswidinnoor H. 2005. Evaluasi Daya Pemulih Kesuburan Padi Lokal dari Kelompok *Tropical Japonica*, *Jurnal Agronomi Indonesia* 6(4): 1–6.
- Hanum L & Rina. 2013. Tumbuhan Duku: Senyawa Bioaktif, Aktivitas Farmakologis dan Prospeknya dalam Bidang Kesehatan, 5: 84–93.
- Hanum L, Windusari Y, Muharni & Adriansyah, F. 2017. Genetic Relatedness Of Local Varieties Of Rice South Sumatra Based On. *Sriwijaya Journal of Enviroment*, 2:19–24.
- Hanum L, Windusari Y, Setiawan A, Adriansyah F & Mubarak A A. 2018. Comparison of CTAB Method and Wizard Genomic DNA Purification System Kit From Promega on DNA Isolation of Local Varieties of Rice of South Sumatera, *Science & Technology Indonesia*, 3:26–29.
- Hasan M M, Rafii M Y, Ismail M R, Mahmood M, Rahim H A, Alam M A, Latif M A. 2015. Marker-assisted backcrossing: A useful method for rice improvement. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 29(2): 237–254.
- Juansa A, Purwantoro A, Basunanda P. 2012. Keanekaragaman Padi (*Oryza sativa* L.) Berdasar Karakteristik Botani Morfologi dan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Kumar N S & Gurusubramanian, G. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Sci Vis*, 11(3):116-124.
- Lakitan B & Gofar N. 2013. Kebijakan Inovasi Teknologi. *Lahan Suboptimal*, (September): 20–21.
- Langga I F, Restu M & Kuswinanti T. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex Cofassus* Reinw) serta Analisis Keragaman Genetik. *J Sains & Teknologi*, 12(3):265–276.

- Nurmalina R. 2008. Analisis Indeks dan Status Keberlanjutan Sistem Ketersediaan Beras di Beberapa Wilayah Indonesia. *Jurnal Agro Ekonomi*, 26(1): 47–79.
- Nursyamsi D. (2006). Kebutuhan Hara Kalium Tanaman Kedelai di Tanah Ultisol. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 6(2): 71–81.
- Peloa A, Wullur S, & Sinjal C A. 2015. Amplifikasi Gen Cytcochrome Oxidase Subunit I (COI) Dari Sampel Sirip Ikan Hiu dengan Menggunakan Beberapa Pasangan Primer. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1:37–42.
- Prasetyo B H & Suriadikarta D A. 2006. Karakteristik, Potensi, dan Teknologi Pengelolaan Tanah Ultisol untuk Pengembangan Pertanian Lahan Kering di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*, 25(2): 39–47.
- Sambrook J, Fritsch E & Maniatis A. 1889. *Molecular cloning. A laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbour.
- Simarmata M & Rustikawati. 2015. Identifikasi Genetik Kultivar Padi Gogo dengan Menggunakan Marka RAPD. *Akta Agrosia*, 18(2): 1–10.
- Suriadikarta D A & Sutriadi M T. 2007. Jenis-jenis lahan berpotensi untuk pengembangan pertanian di lahan rawa. *Jurnal Litbang Pertanian*, 26(3): 115–122.
- Uslan & Pharmawati M. 2015. Optimasi Konsentrasi DNA dan MgCl₂ pada Reaksi Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA untuk Analisis Keragaman Genetik Tanaman Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) (Optimization of DNA and MgCl₂ Concentrations in Polymerase Chain Reactio. *Jurnal Bioslogos*, 5(1): 1639–