

Hubungan Kekerabatan Genetik Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Berdasarkan Lima Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

Rafika Indah Fitriyanti¹, Endang Yuniastuti², dan Nandariyah²

¹Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret

Jl. Ir. Sutami 36, Kentingan, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah 57126

²Program Pascasarjana Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret

Jl. Ir. Sutami 36, Kentingan, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah 57126

*Alamat korespondensi: yuniastutisibuea@staff.uns.ac.id

INFO ARTIKEL	ABSTRACT/ABSTRAK
Diterima: 31-08-2022	
Direvisi: 17-06-2023	The Genetic Relationship of Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.) Based on Five RAPD (<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>) Markers
Dipublikasi: 14-08-2023	
Keywords: Genetic diversity, Polymorphism, Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.), RAPD marker	Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.) is a tropical Indonesian plant that has a lot of economic potential for the diversification of fruits. The preservation of rambutan germplasm needs to be done further, both in quality and quantity. The RAPD method was used to obtain information on genetic diversity between rambutan species. The study was conducted using the RAPD (<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>) method with 20 primers. The results showed that the selection of 20 primers produced the 5 best primers (OPD 2, OPD 5, OPD 6, OPD 10, OPD 12) at a size of 50–2000 bp with a total of 48 bands (42 polymorphic bands and 6 monomorphic bands). The polymorphism level of diversity among rambutans was 86.24%. The results of the UPGMA dendrogram test showed that there was high genetic diversity in rambutan. The two main clusters formed have a similarity level of 56.7-77%. The rambutan type of Rapiyah is closely related to Sibatuk Ganal by 77%.
Kata Kunci: Marka RAPD, Keragaman genetik, Polimorfisme, Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.) merupakan salah satu tanaman tropis Indonesia yang mempunyai banyak potensi ekonomi sebagai upaya diversitas buah-buahan. Pelestarian plasma nutfah rambutan perlu dilakukan lebih lanjut baik secara kualitas maupun kuantitas. Metode RAPD digunakan untuk memperoleh informasi mengenai keragaman genetik antar jenis tanaman rambutan. Penelitian dilakukan menggunakan metode RAPD (<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>) dengan 20 primer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seleksi 20 primer menghasilkan 5 primer terbaik yaitu (OPD 2, OPD 5, OPD 6, OPD 10, OPD 12), pada ukuran 50-2000 bp dengan total 48 pita (42 pita polimorfik dan 6 pita monomorfik). Tingkat polimorfisme keragaman antar jenis rambutan sebesar 86,24%. Hasil uji dendrogram UPGMA menunjukkan adanya keragaman genetik yang tergolong tinggi pada rambutan. Terbentuk dua klaster utama dengan tingkat kesamaan antara 56-77%. Rambutan jenis Rapiyah berkerabat dekat dengan Sibatuk Ganal sebesar 77%.

PENDAHULUAN

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) adalah tanaman tropis yang memiliki potensi ekonomi dan mudah ditemukan di Indonesia. Rambutan memiliki

nilai komersial tinggi dalam perdagangan internasional (Wen *et al.*, 2018). Rambutan dikenal sebagai tanaman buah yang dikonsumsi karena kandungan vitamin C, mineral dan seratnya yang baik untuk kesehatan (Fila *et al.*, 2012). Potensi lain

dari rambutan di antaranya sebagai bahan fitofarmaka. Biji rambutan yang dipanggang mengandung antioksidan dan senyawa antidiabetik (Jahurul *et al.*, 2020). Selain itu akar dan daunnya juga dapat berguna sebagai obat dan sumber pewarna. Kandungan senyawa fenolik pada kulit rambutan dapat digunakan sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas (penyebab kanker) yang terdapat dalam tubuh (Lisdiana *et al.*, 2019). Ekstrak kulit batang rambutan dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dan dapat digunakan sebagai zat tambahan pada *cocoa butter* (Azzatul *et al.*, 2020). Dilaporkan bahwa ekstrak kulit rambutan mengandung senyawa antibakteri yang memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dan *Escherichia coli* (Aksonkird *et al.*, 2019). Kulit kayu rambutan dapat digunakan untuk mengatasi sariawan, daun rambutan dapat digunakan untuk mengatasi diare dan menghitamkan rambut, sedangkan akar rambutan dapat digunakan untuk mengatasi demam (Widyaningrum, 2011).

Pengembangan dan budidaya rambutan sangat diperlukan melihat potensinya yang sangat besar, namun tanaman ini banyak tumbuh secara liar tanpa perlu adanya perawatan dan budidaya yang baik, bahkan kadang-kadang dibiarkan tumbuh begitu saja. Upaya pengembangan dan budidaya rambutan memerlukan informasi genetik yang memadai dan jenis-jenis dari rambutan yang tersedia. Oleh sebab itu, diperlukan pendekatan identifikasi mengenai karakter dari rambutan, baik secara morfologi maupun molekuler.

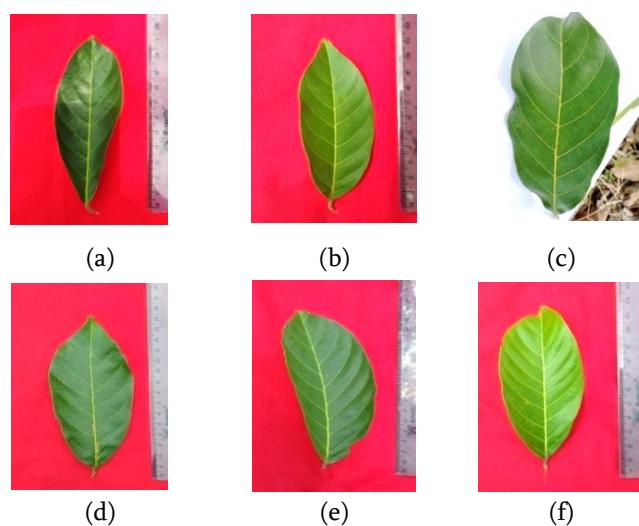
Pendekatan morfologi untuk tanaman tahunan sulit dilakukan, karena umur tanaman panjang. Selain itu, lingkungan juga mempengaruhi fenotip tanaman. Menurut Hamouda (2019), identifikasi sifat tanaman dengan teknologi lebih modern mampu memberikan informasi lebih detail, tanpa dipengaruhi lingkungan dalam waktu yang cepat. Salah satunya adalah penggunaan teknologi marka molekuler DNA. Penanda molekuler dilaporkan menjadi metode yang dapat diandalkan untuk memperkirakan hubungan filogenetik antara genotipe organisme apapun (Cui *et al.*, 2017). Selain itu, penanda molekuler dianggap sebagai pilihan

tepat untuk digunakan dalam studi keragaman genetik tanaman karena karakterisasi yang jelas dari sumber daya genetiknya pada tingkat DNA (Barcaccia *et al.*, 2016).

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah salah satu teknik studi keragaman genetik yang banyak digunakan. Keuntungan dari penggunaan marka molekuler RAPD hanya memerlukan kuantitas DNA yang kecil dan mudah karena tidak memerlukan proses radiaktif, blotting dan hibridisasi, serta dengan cepat dapat mendeteksi polimorfisme pada sejumlah lokus (Jonah *et al.*, 2011; Selaocoe *et al.*, 2019). RAPD memiliki tingkat replikasi yang rendah, tetapi sangat efisien dalam menganalisis keragaman genetik karena tidak memerlukan sekvens data untuk merancang primer molekuler (Ganie *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2014). Analisis RAPD yang digunakan saat ini studi untuk penilaian keragaman genetik adalah karena kesederhanaannya, cepat dan mudah dilakukan dan relatif lebih murah dan kebutuhan tidak ada kesadaran akan urutan DNA (Brandolini *et al.*, 2014; Tripathi *et al.*, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi genetik rambutan dan keragamannya secara molekuler berdasarkan metode RAPD melalui seleksi 20 primer terhadap beberapa jenis rambutan yang berbeda, sehingga bisa bermanfaat untuk pelestarian dan pengembangan budidaya rambutan juga perakitan varietas unggul.

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan pada penelitian ini meliputi lima jenis varietas rambutan koleksi dari Kebun Benih Tanaman Pangan Hortikultura Pendem, Karanganyar, Jawa Tengah dan satu jenis rambutan koleksi lapangan dari Teras, Boyolali, Jawa Tengah (Gambar 1). Bahan yang digunakan berupa daun rambutan muda yang sehat (bebas dari hama dan penyakit). Penelitian ini berlangsung pada bulan Desember 2020 hingga Februari 2021 di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.



Gambar 1. Lima sampel varietas rambutan koleksi Kebun Benih Tanaman Pangan Hortikultura Pendem a) Antalagi, (b) Binjai, (c) Garuda, (d) Rapiyah, dan (e) Sibatuk Ganal serta satu sampel jenis rambutan dari Teras Boyolali (f) Lebak Bulus.

Ekstraksi Total Genomik DNA Daun Rambutan

Daun rambutan yang digunakan sebagai sampel dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan dikeringkan dengan tissue. Sampel yang digunakan sebanyak 0,05 g sampel segar, kemudian digerus dengan mortar sampai lembut, ditambahkan 1500 μ l larutan penyanga CTAB (terdiri dari 2% CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris HCl pH 8, 20 mM EDTA pH 8, 2% PVP, 2% β -mercaptoethanol), yang sebelumnya telah diinkubasi pada *waterbath* pada suhu 65°C selama 30 menit. Campuran hasil gerusan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 65°C selama 60 menit. Setiap 10 menit campuran dibolak-balik agar tetap homogen. Campuran diambil dari *waterbath* dan dibiarkan selama 2 menit agar suhu larutan kembali normal kemudian ditambahkan pada setiap sampel 500 μ l campuran 24 kloroform: 1 isoamil alkohol (CIAA). Larutan kemudian divorteks selama 5 menit dan dilanjutkan dengan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 putaran per menit (rpm). Supernatan yang terbentuk diambil dengan hati-hati kemudian ditambahkan isopropanol dingin sebanyak 2/3 dari volume total diikuti dengan penambahan 0,1x total volume 3 M sodium asetat. Larutan kemudian dicampur dengan cara membolak-balik tabung dan didiamkan pada suhu -20°C selama minimum 1x24 jam, setelah itu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dibuang dan edapan DNA dikeringkan. Setelah kering, edapan DNA dilarutkan dengan 50 μ l ddH₂O (Aquabides), kemudian disimpan pada lemari pendingin pada suhu 4°C. Endapan DNA yang dihasilkan menunjukkan adanya lendir kotoran,

kemudian dilakukan purifikasi DNA menggunakan DNA *Clean Up GeneAid*.

Total DNA genom hasil isolasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm ($\lambda_{260/280}$) untuk menentukan kemurnian dan konsentrasi DNA dengan dikuantifikasi menggunakan *GeneQuant*. Referensi diatur dengan menggunakan ddH₂O. Faktor dilusi (ddH₂O) sebanyak 1988 μ l dan DNA sebanyak 2 μ l dimasukkan dalam kuvet, kemudian dimasukkan dalam *GeneQuant* dan diukur penyerapan cahaya pada panjang gelombang 260 nm sehingga diketahui konsentrasi DNA dan rasio DNA dengan komponen lain. Dilusi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh konsentrasi DNA yang sesuai untuk proses amplifikasi. Untuk mendapatkan volume akhir dilusi, larutan DNA ditambahkan ddH₂O sehingga konsentrasi DNA sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan untuk proses PCR. Penghitungan konsentrasi setelah dilusi dilakukan dengan menggunakan rumus dilusi: $V_1.M_1 = V_2.M_2$.

Amplifikasi RAPD dan Elektroforesis

Analisis RAPD menggunakan reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang bertujuan untuk menggandakan sekuen DNA berdasarkan primer yang digunakan. Primer yang digunakan yaitu OPA 1, OPA 9, OPA 10, OPA 12, OPA 19, OPK 16, OPD 2, OPD 3, OPD 4, OPD 5, OPD 6, OPD 7, OPD 8, OPD 9, OPD 10, OPD 12, OPD 14, OPD 15, OPD 19 dan OPD 20. Nama primer dan urutan basa tiap primer disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Daftar primer yang digunakan dalam analisis RAPD

Primer	Urutan Basa Nukleotida
OPA 1	5' CAGGCCCTTC 3'
OPA 9	5' GGGTAACGCC 3'
OPA 10	5' GTGATCGCAG 3'
OPA 12	5' TCGGCGATAG 3'
OPA 19	5' CAAACGTCCG 3'
OPK 16	5' GAGCGTCGAA 3'
OPD 2	5' GTGAGGGCGTC 3'
OPD 3	5' GGGGGTCTTT 3'
OPD 4	5' TCTGGTGAGG 3'
OPD 5	5' TGAGCGGACA 3'
OPD 6	5' ACCTGAACGG 3'
OPD 7	5' TTGGCACGGG 3'
OPD 8	5' TGGACCGGTG 3'
OPD 9	5' CTCTGGAGAC 3'
OPD 10	5' GGTCTACACC 3'
OPD 12	5' CACCGTATCC 3'
OPD 14	5' CTTCCCCAAG 3'
OPD 15	5' CATCCGTGCT 3'
OPD 19	5' CTGGGGACTT 3'
OPD 20	5' ACCCGGTCAC 3'

Reaksi PCR dilakukan pada total volume 12,5 μL untuk setiap tabung PCR. Setiap reaksi PCR terdiri dari 6,25 μL PCR mix Go Taq® Green (Promega), 0,5 μL 100 μM primer (Sigma-Proligo), 2,75 μL DNA sampel dan 2,5 μL nuclease free water. Amplifikasi DNA dilakukan dengan alat PCR System BIO-RAD. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan program sebagai berikut pemanasan pertama dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit, kemudian diikuti 35 siklus dengan suhu dan waktu pada setiap siklus adalah denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, annealing pada suhu 37°C selama 1 menit dan elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik, diikuti dengan elongasi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit. DNA produk amplifikasi PCR kemudian dielektroforesis menggunakan 1,5% (b/v) agarosa yang telah ditambahkan florosafe DNA stain sebagai pewarna, dalam TBE buffer 1X (yang terdiri dari 0,45 M Tris-

HCl pH 8, 0,45 M Boric acid, 20 mM EDTA) dengan tegangan 100 volt selama 55 menit. Hasil kemudian divisualisasi dengan bantuan sinar UV.

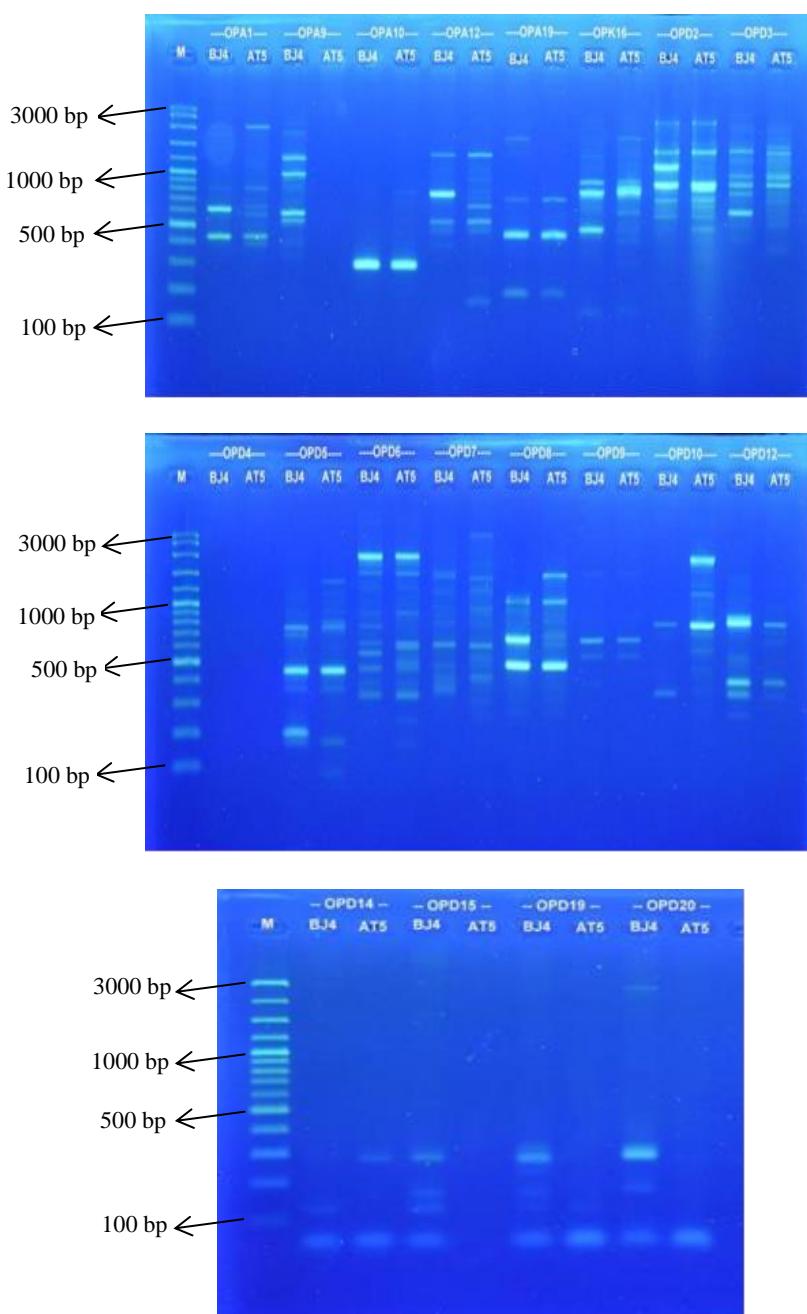
Analisis Data

Pita-pita DNA hasil amplifikasi divisualisasi dengan sinar UV dan diskoring dengan ketentuan nilai "1" apabila terdapat pita DNA hasil amplifikasi dan "0" apabila tidak terdapat pita DNA hasil amplifikasi. Analisis data pada penelitian ini yaitu analisis molekuler dengan data biner hasil skoring pita DNA dianalisis dengan fungsi *similarity interval* pada progam NT Sys 2.02 menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmatic Averages*) dengan output yang dihasilkan berupa dendrogram yang mengelompokkan suatu individu berdasarkan nilai kemiripan secara genetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Penanda RAPD

Seleksi dari dua puluh primer, terpilih lima primer (OPD 2, OPD 5, OPD 6, OPD 10 dan OPD 12) berdasarkan tinggi tingkat polimorfismenya. Seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda pita, baik dari jelasnya pita yang muncul maupun jumlah lokus yang diperoleh. Pratama *et al.* (2021) menyebutkan bahwa keberhasilan suatu primer mengamplifikasi DNA cetakan berdasarkan ada tidaknya homologi sekuen nukleotida primer dengan sekuen nukleotida DNA cetakan. Sementara itu, tingkat ketebalan pita bervariasi pada setiap sampel ditunjukkan pada hasil amplifikasi DNA (Gusmiaty *et al.*, 2016). Pola pita DNA hasil amplifikasi pada enam jenis rambutan menunjukkan variasi genetik tinggi. Variasi genetik berdasarkan pola pita DNA yang diperkuat dapat digunakan sebagai dasar untuk proses pemuliaan. Hal ini karena bergantung pada materi genetik, stabil dan tidak terpengaruh oleh lingkungan (Singh *et al.*, 2016; Daryono *et al.*, 2019). Hasil amplifikasi DNA (seleksi 20 primer) disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Seleksi 20 Primer (A). OPA 1, OPA 9, OPA 10, OPA 12, OPA 19, OPK 16, OPD 2 dan OPD 3 (B). OPD 4, OPD 5, OPD 6, OPD 7, OPD 8, OPD 9, OPD 10 dan OPD 12 (C). OPD 14, OPD 15, OPD 19 dan OPD 20.

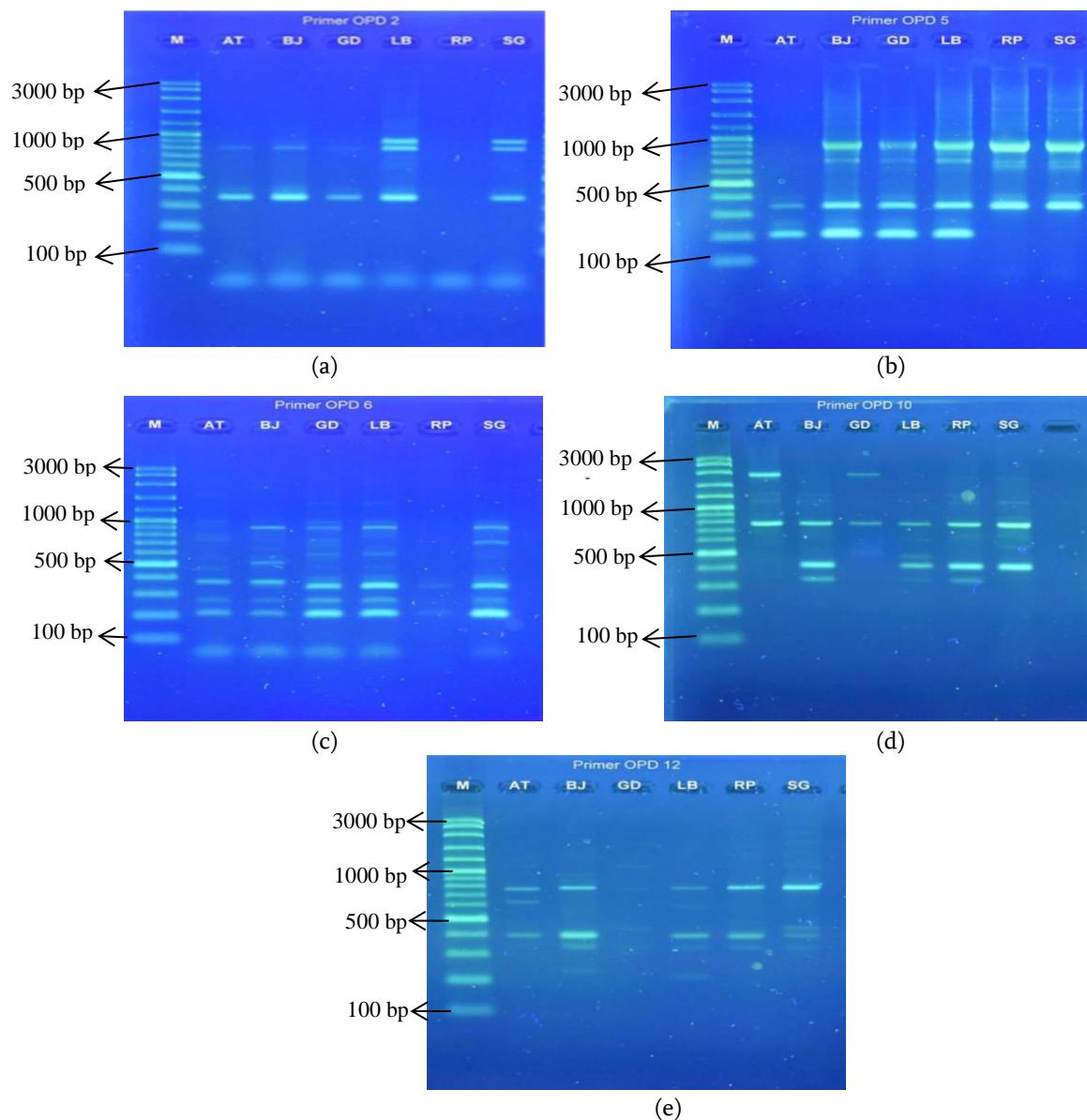
Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari lima primer RAPD yang digunakan (OPD 2, OPD 5, OPD 6, OPD 10 dan OPD 12) diperoleh total sejumlah 48 pita DNA, dengan 42 pita polimorfik dan 6 pita monomorfik yang muncul pada enam jenis tanaman rambutan pada ukuran 50-2000 bp. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Anggraheni & Mulyaningsih (2018) melaporkan keragaman genetik sembilan varietas rambutan di Bogor dengan marka RAPD enam marker menghasilkan 45 pita DNA, dengan pita

polimorfik hanya sebesar 26 pita DNA. Jumlah pita yang dihasilkan dari amplifikasi setiap primer beragam antara 5-14 pita DNA. Hasil kualitas DNA lima primer terpilih ditunjukkan pada (Gambar 3) yang menghasilkan pita berbentuk tipis (kurang terang) hingga tebal (jelas dan terang). Primer yang menghasilkan pita jelas, terang dan polimorfik yaitu primer yang dapat digunakan untuk analisis lanjutan.

Jumlah pita yang dihasilkan dari amplifikasi setiap primer yang terpilih dari seleksi 20 primer beragam antara 5-14 pita DNA. Hasil kualitas DNA

lima primer terpilih pada Gambar 3 menunjukkan hasil pita berbentuk tipis (kurang terang) hingga tebal (jelas dan terang). Primer yang menghasilkan pita jelas, terang dan polimorfik yaitu primer yang selanjutnya dapat digunakan untuk analisis lanjutan. Jumlah pita DNA polimorfis hasil amplifikasi PCR menggunakan lima primer RAPD pada keenam jenis rambutan dalam analisis keragaman genetika sebagai penentu tingkat keragaman suatu populasi. Menurut

Mir *et al.* (2021), semakin banyak pita polimorfik semakin tinggi pula keragaman genetiknya. Nilai polimorfisme tinggi dapat memberikan informasi bahwa enam jenis rambutan yang diuji memiliki tingkat keragaman tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Radwan *et al.* (2021), polimorfisme tinggi mencerminkan pengelolaan plasma nutfah yang digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik dalam mengungkapkan hubungan genetik.



Gambar 3. Hasil Amplifikasi Lima Primer RAPD Pada Enam Jenis Rambutan (a). OPD 2 (b). OPD 5 (c). OPD 6 (d). OPD 10 (e). OPD 12; M= DNA Ladder VC 100 bp Plus, AT= Antalagi, BJ= Binjai, GD= Garuda, LB= Lebak Bulus, RP= Rapiyah, SG= Sibatuk Ganal.

Berdasarkan pita DNA hasil amplifikasi kelima primer (Tabel 2) terlihat bahwa primer OPD 6 mengamplifikasi pita DNA polimorfik sebesar 13 pita DNA terbanyak dibandingkan keempat primer

lainnya. Polimorfisme yang terbentuk sebesar 92,8%. Primer paling rendah yang mengamplifikasi pita DNA polimorfik yaitu OPD 2 sebanyak empat pita DNA polimorfik dan tidak ditemukannya pita DNA

spesifik dibanding keempat primer lainnya. Hal tersebut berbeda dengan pada primer OPD 2 jika digunakan pada tanaman sukun mampu mengamplifikasi 28 pita polimorfik (Ifah *et al.*, 2018). Kemunculan suatu pita DNA spesifik sangat dipengaruhi oleh situs penempelan primer pada cetakan DNA. Menurut Manggarani *et al.* (2018),

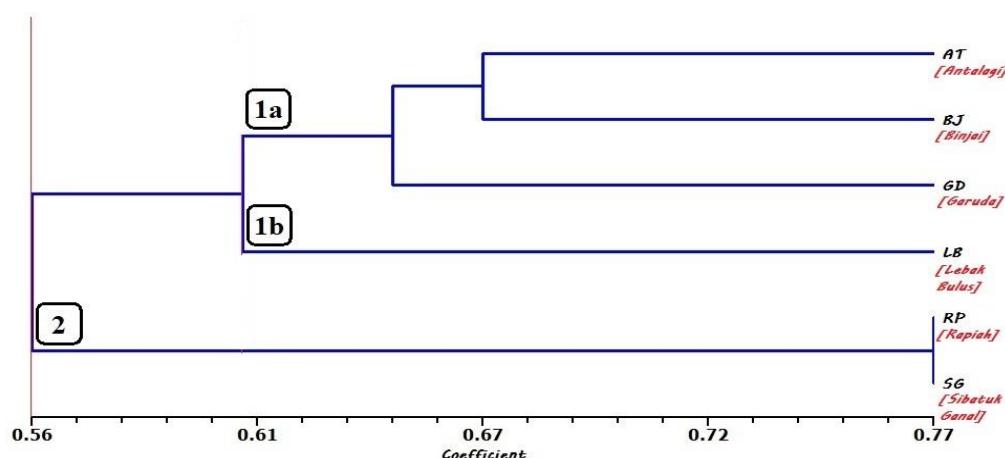
diperlukan lebih banyak primer serta teknik untuk mengetahui pola pita DNA yang lebih spesifik untuk setiap kultivar rambutan. Pola pita tertentu dapat membantu dalam klasifikasi genotip sebagai bukti, bahwa genotip dapat digunakan sebagai tetua yang beragam dalam program pemuliaan tanaman (Kumar *et al.*, 2018).

Tabel 2. Daftar primer RAPD terpilih

No.	Nama Primer	Total Pita	Pita Unik	Polimorfik		Kisaran Posisi Loci (bp)
				Jumlah Pita	%	
1	OPD 2	5	-	4	80,0	50-900
2	OPD 5	10	1	8	80,0	200-1750
3	OPD 6	14	1	13	92,8	50-1000
4	OPD 10	8	2	7	87,5	350-2000
5	OPD 12	11	7	10	90,9	200-1500
Total		48	11	42	86,24	

Gambar 4 menunjukkan hasil analisis kekerabatan keenam sampel rambutan oleh lima primer RAPD dengan nilai koefisien kemiripan antara 0,56-0,77. Keragaman genetik pada taraf tersebut tergolong tinggi, sehingga sifat yang terbentuk lebih dikendalikan oleh faktor genetik. Dendogram yang terbentuk menghasilkan dua kelompok utama pada nilai koefisien similaritas 0,56 atau kesamaan genetik sebesar 56%, yang berarti memiliki perbedaan genetik sebesar 44%. Kelompok

pertama terbagi menjadi dua subklaster yaitu 1A dan 1B. Subklaster 1A terdiri dari sampel rambutan jenis AT (Antalagi), BJ (Binjai) dan GD (Garuda). Subklaster kedua terdiri dari sampel rambutan jenis LB (Lebak Bulus). Kedua subklaster tersebut terpaut pada nilai koefisien similaritas 0,605. Kelompok dua terdiri dari sampel rambutan jenis RP (Rapiyah) yang identik sama dengan rambutan jenis SB (Sibatuk Ganal) pada presentase kesamaan yaitu 77%.



Gambar 4. Hubungan kekerabatan antar enam jenis rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode RAPD berdasarkan lima jenis primers.

Nilai variasi sampel yang diuji tinggi maka akan semakin rendah presentase kesamaannya, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Nei & Li (1979); Xu *et al.*, (2000), semakin tinggi indeks kesamaan berarti semakin kecil variasi

genetiknya atau dengan kata lain jarak genetik yang lebih kecil. Indeks kesamaan yang rendah antar individu menunjukkan keragaman genetik yang tinggi. Sampel rambutan jenis RP (Rapiyah) dan SB (Sibatuk Ganal) berkerabat jauh dengan keempat

jenis rambutan lainnya, hal tersebut menggambarkan bahwa dari enam sampel rambutan yang diuji kedua sampel tersebut mempunyai variasi genetik tinggi dibandingkan keempat jenis rambutan yang lain, sehingga jenis ini berpotensi dikembangkan untuk dijadikan sebagai sumber keragaman genetik. Variasi genetik menggambarkan keragaman dalam suatu spesies (Hanum *et al.*, 2020). Wardani *et al.* (2019) melaporkan bahwa variasi genetik yang lebih tinggi diperlukan upaya peningkatan adaptasi spesies terhadap perubahan lingkungan untuk peningkatan produktivitas. Semakin jauh hubungan kekerabatan antar sampel maka keberhasilan persilangan semakin kecil, namun memungkinkan memperoleh genotipe unggul lebih besar jika persilangan berhasil (Julisaniah *et al.*, 2008; Sawitri *et al.*, 2019).

SIMPULAN

Analisis molekuler pada enam jenis rambutan oleh primer RAPD ini memperoleh hasil informatif mengenai informasi genetik dan keragaman pola pita DNA yang hasilnya bervariasi. Primer OPD 6 menghasilkan tingkat polimorfisme tertinggi dibandingkan empat primer RAPD lainnya. Hubungan kekerabatan antara keenam jenis rambutan tergolong tinggi yaitu 0,56-0,77. Rambutan jenis Rapiyah dan Sibatuk Ganal memiliki kekerabatan jauh dengan keempat jenis rambutan lainnya yang berarti memiliki variasi genetik tinggi. Sehingga kedepannya bisa digunakan untuk pelestarian dan pengembangan plasma nutfah rambutan, juga perakitan varietas unggul.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIPA Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional (221.1/UN27.22/HK.07.00/2021) atas dukungan dana penelitian, serta rekan-rekan yang turut berpatisipasi dalam kelancaran dan penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aksonkird, T, S Preeprem, N Pankaew, P Srisawad, and P Mittraparp-arthon. 2019. Antibacterial and antibiofilm activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract on *Vibrio parahaemolyticus* and *Escherichia coli* isolated from food. Proceeding of The 45th

- Congress on Science and Technology of Thailand "Seedling Innovation for Sustainable Development." Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 7-9 Oktober 2019. [Thailand].
- Anggraheni, YGD, and ES Mulyaningsih. 2018. Evaluasi keragaman genetik sembilan varietas rambutan (*Nephelium lappaceum*) dengan marka RAPD. Biopropal Industri. 9(1): 1-8.
- Azzatul, F, MHA Jahurul, J Norliza, MR Noraliza, M Hasmadi, MS Sharifudin, P Matanjun, and JS Lee. 2020. Characteristics of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed fat fractions and their potential application as cocoa butter improver. Food Research. 4(3): 852-859. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(3\).413](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(3).413).
- Barcaccia, G, M Lucchin, and M Cassandro. 2016. DNA barcoding as a molecular tool to track down mislabeling and food piracy. Diversity. 8(2): 1-16. <https://doi.org/10.3390/d8010002>.
- Brandolini M, M Corbella, P Cambieri, D Barbarini, D Sassera, M Stronati, and P Marone. 2014. Late-onset neonatal group B streptococcal disease associated with breast milk transmission: molecular typing using RAPD-PCR. Early Human Development. 90: 84-86. DOI: 10.1016/S0378-3782(14)70025-8.
- Cui, C, YLY Li, Y Liu, X Li, S Luo, Z Zhang, R Wu, G Liang, J Sun, J Peng, and P Tian. 2017. Determination of genetic diversity among *Saccharina* germplasm using ISSR and RAPD markers. Comptes Rendus Biologies. 340(2): 76-86. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2016.11.005>.
- Daryono, BS, AS Subiastuti, A Fatmadanni, and D Sartika. 2019. Phenotypic and genetic stability of new Indonesian melon cultivar (*Cucumis melo* L. 'Melonia') based on ISSR markers. Biodiversitas. 20(4): 1069-1075. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200419>.
- Fila, WO, JT Johnson, PN Edem, MO Odey, VS Ekam, UP Ujung, and OE Eteng. 2012. Comparative anti-nutrients assessment of pulp, seed, and rind of rambutan (*Nephelium Lappaceum*). Annals of Biological Research. 3(11):5151-5156.
- Ganie, SH, P Upadhyay, S Das, and MP Sharma. 2015. Authentication of medicinal plants by DNA markers. Plant Gene. 4: 83-99. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2015.10.002>.
- Gusmiaty, M Restu, dan SH Larekeng. 2016. Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik *Pinus merkusii* di Hutan

- PendidikanUnhas. Jurnal Natur Indonesia. 16(2): 47–53.
- Hamouda, M. 2019. Molecular analysis of genetic diversity in population of *Silybum marianum* (L.) Gaertn in Egypt. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 6(12): 1–9. <https://doi.org/10.1186/s43141-019-0011-6>.
- Hanum, L, ST Wardana, Alazi, Y Windusari, N Aminasih, and E Patriono. 2020. Analysing South Sumatra red rice polymorphism using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. IOP Conference Series: Journal of Physics: Conference Series. 1480:1–8. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1480/1/012069>
- Ifah, AA, E Yuniaستuti, and Parjanto. 2018. Analysis of breadfruit plant diversity (*Artocarpus altilis* P.) by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in DIY. Research Journal of Chemical and Environmental Sciences. 6(3): 96–102.
- Iqbal, M, ID Buwono, dan N Kurniawati. 2016. Analisis perbandingan metode isolasi DNA untuk deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Jurnal Perikanan Kelautan. 7(1): 54–65.
- Jahurul, MHA, FS Azzatul, MS Sharifudin, MJ Norliza, M Hasmadi, JS Lee, M Patricia, S Jinap, MR Ramlah Gorge, M Firoz Khan, and ISM Zaidul. 2020. Functional and nutritional properties of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed and its industrial application: A review. Trends in Food Science and Technology. 99: 367–374.
- Jonah, PM, LL Bello, O Lucky, A Midau, and SM Moruppa. 2011. Review: The importance of molecular markers in plant breeding programmes. Global Journal of Science Frontier Research. 11(5): 5–12.
- Julisaniah, NI, L Sulistyowati, dan AN Sugiharto. 2008. Analisis kekerabatan mentimum (*Cucumis sativus* L.) menggunakan metode RAPD-PCR dan isozim. Biodiversitas. 9(2): 99–102. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090205>.
- Kumar, V, S Sahay, RS Singh, H Mir, and K Rashmi. 2018. Molecular marker based genetic diversity analysis in cape gooseberry (*Physalis* Molecular L.). Current Journal of Applied Science and Technology. 31(3): 1–6. <https://doi.org/10.9734/CJAST/2018/45900>.
- Lisdiana, AY, A Yuniaستuti, and A Kusfitasari. 2019. Analysis of vitamin C and mineral content on rambutan peels extract. Journal of Physics: Conference Series. 1321: 1–5. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1321/3/032133>
- Manggarani, AM, T Chikmawati, and A Hartana. 2018. Characterization of rambutan cultivars (*Nephelium lappaceum*) based on leaf morphological and genetic. Biosaintifika. 10(2): 252–259. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v10i1.12218>.
- Mir, MA, S Mansoor, M Sugapriya, MN Alyemeni, L Wijaya, and P Ahmad. 2021. Deciphering genetic diversity analysis of saffron (*Crocus sativus* L.) using RAPD and ISSR markers. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(2): 1308–1317. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.063>.
- Nandariyah, Parjanto, and KPP Ratu. 2021. Genetic of Salak Pondoh, Gading Varieties and its hybrids based on RAPD markers. Journal of Biodiversity and Biotechnology. 1(1): 5–10. <https://doi.org/10.20961/jbb.v1i1.50396>.
- Nei, M, and Li WH. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 76: 5269–5273. DOI: 10.1073/pnas.76.10.5269.
- Pratama, R, Y Windusari, L Hanum, R Palupi, A Imsya, E Nofyan, and M Oktapia. 2021. Characteristic of local swamp buffalo (*Bubalis bubalis* Linn.) genetic variations in rambutan sub-district, South Sumatra based on Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA (PCR-RAPD). Buffalo Bulletin. 40(2): 301–310.
- Radwan, KH, GA Abdelfattah, MA Badawi, EM Zayed, MM Tardd, MMS El-Baghdady, and RMA El-Maksoud. 2021. Genetic variations in some Egyptian *Zea mexicana* genotypes based on RAPD and AFLP markers. Journal of Bioscience and Applied Research. 7(2): 77–92. <https://doi.org/10.21608/jbaar.2021.177577>.
- Sambrook, J, EF Fritsch, and T Maniatis. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Sawitri, AD, E Yuniaستuti, and Nandariyah. 2019. Morphological characterization of local durian as parent tree in Bitung District, Rembang. IOP Conf. Series: Earth and Environmental

- Science. 250: 1–7. DOI:
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/250/1/012002>.
- Silalahi, D, IGP Wirawan, and MMV Sasadara. 2021. Optimization of annealing temperature for amplification of *Ehoscn01a* locus in pranajawa (*Euchresta horsfieldii*) plant collected from mountains, urban and coastal areas in Bali. IOP Conf. Series: Earth and Environmental. 913: 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/913/1/012059>.
- Singh, DK, R Tewari, NK Singh, and SS Singh. 2016. Genetic diversity cucumber using Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). Transcriptomics. 4(1): 1–4. <https://doi.org/10.4172/2329-8936.1000129>.
- Singh, MK, NB Singh, S Takur, and PK Naik. 2014. Molecular evaluations of thirty one clones of poplar based on RAPD and SSR molecular markers. Genetika. 46(3): 985–1001. <https://doi.org/10.2298/GENS1403985S>.
- Selaocoe, ME, Adebola P, Pillay M, and Laurie SM. 2019. Genetic diversity of South African sweetpotato germplasm using molecular markers. Journal of Crop Improvement. 33:814-823. DOI:
<https://doi.org/10.1080/15427528.2019.1671930>.
- Tripathi, N, DS Chouhan, N Saini, and S Tiwari. 2012. Assessment of genetic variations among highly endangered medicinal plant *Bacopa monnieri* (L.) from Central India using RAPD and ISSR analysis. 3 Biotech. 2: 327–336. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0059-3>.
- Xu, RQ, N Tomooka, DA Vaughan, and K Doi. 2000. The *Vigna angularis* complex: Genetic variation and relationships revealed by RAPD analysis, and their implications for *in situ* conservation and domestication. Genetic Resources and Crop Evolution. 47: 123–134.
- Wardani, NC, E Yuniaستuti, dan Sulandjari. 2019. Genetic identification and micropropagation of distributed persimmons (*Diospyros kaki*) in Indonesia. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science. 42: 1343–1359.
- Widyaningrum, H. 2011. Kitab Tanaman Obat Nusantara. Media Pressindo. Yogyakarta.
- Wen, L, Z Jiaoke, and S Yuanzhi. 2018. Rambutan-*Nephelium lappaceum*. 369-375 pp. In Rodrigues S, E de Oliveira Silva and ES de Brito (eds). Exotic Fruits. Academic Press. Elsevier.