

Polimorfisme Primer RAPD pada Tanaman Jambu Mete Asal Tiga Kabupaten di Sulawesi Tenggara

Polymorphism of RAPD Primers on Cashews From Three Districts In Southeast Sulawesi

Mirza Arsiaty Arsyad^{*1}, Irwan¹, Dirvamena Boer¹, Yuni Fitri Cahyaningsih², Siti Halimah Larekeng³, Iswanto³

^{*}) Email koresponden: mirzaaarsyad@gmail.com

¹) Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo, Jl. HEA Mokodompit, Anduonohu Kambu, Kendari, Indonesia

²) Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jl Raya Solok Aripian KM 8, Kota Singkarak, Aripian, Solok, Sumatera Barat, Indonesia

³) Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan X, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

ABSTRAK

Sulawesi Tenggara merupakan salah satu penghasil komoditas jambu mete terbesar di Indonesia yang memiliki makna penting dalam dunia perdagangan. Penentuan polimorfisme suatu primer merupakan langkah awal dalam melakukan studi keragaman genetik untuk memperoleh informasi genetik suatu species. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan primer RAPD yang polimorfik untuk digunakan dalam analisis keragaman genetik jambu mete di tiga kabupaten di Sulawesi Tenggara. Penelitian menggunakan 20 primer RAPD untuk mengamplifikasi sampel DNA jambu mete dan memperoleh tiga primer RAPD (primer OPA-15, OPP-08 dan OPC- 11) yang menunjukkan pita polimorfik pada sampel DNA yang digunakan. Ketiga primer RAPD yang diperoleh berpotensi untuk digunakan pada studi genetik jambu mete yang berasal dari Sulawesi Tenggara.

Kata kunci: DNA jambu mete; polimorfisme; RAPD.

ABSTRACT

Southeast Sulawesi is one of the largest producers of cashew commodities in Indonesia, which has an essential meaning in the world of trade. Determination of the polymorphism of a primer is the first step in conducting genetic diversity studies to obtain genetic information about a species. This study aims to determine the polymorphic RAPD primers to be used in the analysis of the genetic diversity of cashew in three districts in Southeast Sulawesi. The study used 20 RAPD primers to amplify cashew DNA samples and obtained three RAPD primers (OPA-15, OPP-08, and OPC-11 primers) which showed polymorphic bands in the DNA samples used. The three RAPD primers obtained have the potential to be used in genetic studies of cashew originating from Southeast Sulawesi.

Keywords: cashew DNA; polymorphism; RAPD.

I. PENDAHULUAN

Jambu mete merupakan produk perkebunan yang mempunyai makna penting dalam perdagangan di Indonesia (Listyati & Sudjarmoko, 2011). Manfaat tanaman jambu mete, selain sebagai sumber devisa negara, juga merupakan sumber penghasilan petani dan bermanfaat dalam pelestarian lingkungan (Pitono, 2017; Randriani, *et al.*, 2012). Sulawesi

Tenggara merupakan provinsi di Indonesia yang telah membudidayakan tanaman jambu mete sejak lama, sehingga menjadi salah satu penghasil bagi petani di daerah tersebut. BPS Sultra melaporkan produksi jambu mete di daerah ini pada tahun 2019 mencapai 50.861 ton dengan luasan panen 115.468 ha dan produktivitas 299 kg/ha. Sementara itu, produksi jambu mete di Indonesia pada tahun 2019 sekitar 162.510 ton dengan luasan panen 486.300 ha dan produktivitas 535 kg/ha (Badan Pusat Statistik, 2019).

Budidaya jambu mete di Sulawesi Tenggara saat ini masih dilakukan dalam skala kecil dan tidak intensif. Selain itu, informasi genetik individu-individu jambu mete di Sulawesi Tenggara masih sangat terbatas, sehingga menjadi penghambat untuk dikembangkan dalam program pemuliaan tanaman. Salah satu informasi penting yang dibutuhkan dalam kegiatan pemuliaan tanaman adalah informasi keragaman genetik serta hubungan kekerabatan antar individu. Penelitian keragaman genetik jambu mete melalui pendekatan morfologi telah dilaporkan oleh Boer, *et al.*, (2021), namun keragaman morfologi yang diperoleh masih sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Oleh sebab itu, dibutuhkan suatu pendekatan lain untuk memperoleh informasi genetik tanpa dipengaruhi oleh faktor lain.

Pengaplikasian marka molekuler dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik suatu spesies dan hubungan kekerabatan antar individu spesies tersebut. *Random Amplification Polymorphic DNA* (RAPD) merupakan salah satu marka molekuler DNA yang umum digunakan dalam studi keragaman genetik. Beberapa kelebihan dari marka ini adalah relatif lebih cepat, lebih murah, dan lebih sederhana (Salamena & Seumahu, 2018) dibandingkan *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) dan *Random Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Selain itu, marka ini juga dapat digunakan sebagai indikator seleksi karena tanpa dipengaruhi lingkungan dan dapat berfungsi untuk mengetahui keragaman genetik, hubungan kekerabatan antar genotipe, dan mengidentifikasi suatu varietas. Marka ini juga telah digunakan secara luas dalam studi pemuliaan tanaman.

Teknik RAPD mendeteksi polimorfisme DNA dengan mengidentifikasi kemunculan pita DNA pada suatu lokus melalui perbedaan urutan pada titik pertemuan primer. Alel pada penanda RAPD adalah pita atau dominan *marker* (penanda). Pola pita DNA hasil RAPD dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu komponen reaksi PCR (konsentrasi cetakan DNA, konsentrasi enzim polimerase, konsentrasi primer, dan jumlah siklus termal), suhu siklus PCR (*denaturation* dan *annealing*). Konsentrasi primer RAPD untuk amplifikasi DNA pada beberapa tanaman juga bervariasi. Hal ini menyebabkan perlu dilakukan penelitian tersendiri untuk mendapatkan produk amplifikasi yang optimum. Seleksi primer untuk memperoleh primer polimorfik telah dilakukan pada tanaman bambu (Makmur, *et al.*, 2020), *Duabanga moluccana* (Larekeng, *et al.*, 2020), jabon putih (Larekeng, *et al.*, 2020), *Nigella sativa* (Subositi, *et al.* 2021) dan durian (Salamena & Seumahu, 2018). Oleh sebab itu, maka perlu dilakukan seleksi primer untuk mengetahui polimorfisme primer RAPD pada tanaman jambu mete asal tiga kabupaten di Sulawesi Tenggara, Indonesia.

II. METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan merupakan daun muda dari pohon dewasa jambu mete dengan kisaran umur lebih dari 20 tahun. Tiga puluh sampel dikoleksi pada setiap kabupaten (Kabupaten Kolaka Timur, Kabupaten Konawe Selatan dan Kabupaten Konawe), sehingga

jumlah keseluruhan 90 sampel. Daun muda yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam amplop kertas dan diberi kode sesuai kode setiap pohon. Seluruh sampel selanjutnya disimpan dalam *freezer* bersuhu -20°C sampai kegiatan isolasi DNA dilakukan. Seluruh kegiatan molekuler dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

1. Prosedur Penelitian

a. Isolasi DNA

Proses isolasi DNA diawali dengan lisis dinding sel menggunakan metode *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB). Setiap daun muda jambu mete ditimbang 0,3 gr tanpa tulang daun, kemudian digerus hingga halus (*powder*). 800 μl *buffer* ekstraksi CTAB ditambahkan pada gerusan daun lalu divortex selama 15 detik. Tabung mikro yang berisi larutan diinkubasi ke dalam *waterbath* bersuhu 65°C selama 120 menit. Setiap sampel yang telah diinkubasi ditambahkan isoamil alkohol:chloroform 100 μl dan dicampur secara perlahan-lahan kemudian disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang berada di atas sampel hasil sentrifugasi dipindahkan ke dalam tabung mikro baru dan ditambahkan 800 μl isopropanol. Larutan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit dan endapan DNA dikeringkan selama semalam.

Endapan DNA yang diperoleh dipurifikasi dengan menambahkan 500 μl *buffer TE* 1x, lalu disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 10.000 rpm. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung mikro 2 ml baru dan ditambahkan 100 μl kloroform. Larutan supernatan selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil kemudian ditambahkan 100 μl natrium asetat 3 M dan 800 μl isopropanol, kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 10.000 rpm. Endapan diambil dan dikeringkan selama semalam lalu ditambahkan 100 μl *Buffer TE* dan disimpan pada *freezer* bersuhu -20°C .

b. Amplifikasi PCR

Satu reaksi PCR terdiri atas 3 μl DNA, 1,25 μl primer RAPD, PCR mix Kapa 6,25 μl , dan ddH₂O 3 μl dan total reaksi adalah 10,5 μl . Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR. Tahapan pada amplifikasi PCR adalah 1 siklus denaturasi awal pada suhu 95°C selama 180 detik, diikuti oleh 35 siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, penempelan primer menggunakan gradient suhu ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) berdasarkan suhu spesifik setiap primer selama 50 detik, pemanjangan primer pada suhu 72°C selama 60 detik, pemanjangan akhir 72°C selama 300 detik, dan penyimpanan 4°C .

Tahapan elektroforesis ialah agarose ditimbang seberat 3,6 gram kemudian ditambahkan 180 ml *buffer TAE* 1x. Larutan agarose dipanaskan menggunakan selama 5 menit, dan ditambahkan *gelred* sebanyak 1,5 μl dan didiamkan sampai hangat. Larutan dituang ke dalam cetakan agar dan diberi sisir, lalu didiamkan hingga agarose memadat. Sisir dilepas dan agarose diletakkan ke dalam tank yang berisi larutan *buffer TAE* 1x. Sampel DNA selanjutnya dimasukkan ke dalam lubang. Proses elektroforesis dilakukan selama 70 menit pada tegangan 120 volt. Visualisasi agarose dilakukan menggunakan gel documentation system.

c. Seleksi primer

Pada proses seleksi primer, primer terpilih adalah primer yang bersifat polimorfik dan menghasilkan pita yang jelas. Pada tahap ini, setiap primer mengamplifikasi 12 sampel DNA yang diambil secara acak dari setiap daerah menggunakan 12 suhu yang berbeda (gradient suhu). Hal ini dilakukan untuk mengetahui suhu optimum serta tingkat variasi pita yang dihasilkan dari setiap primer. Primer yang diseleksi tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Nama primer dan sekuen primer RAPD.

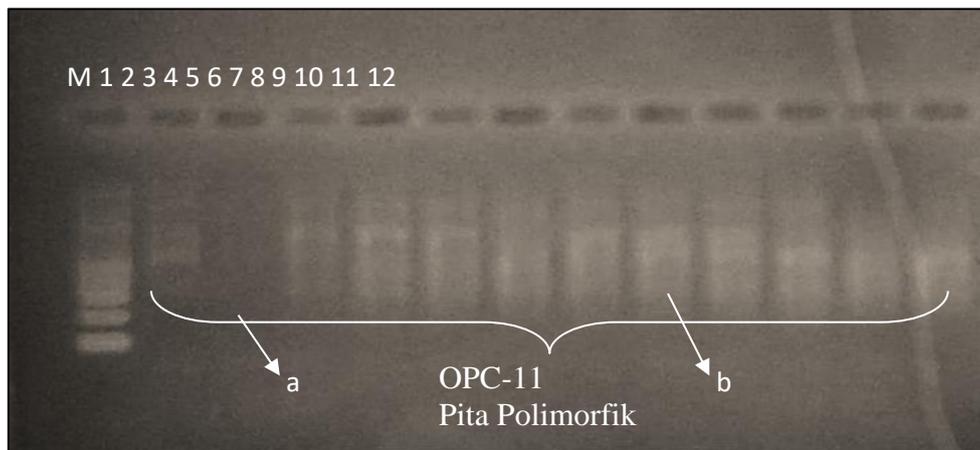
No	NamaPrimer	UrutanSekuenNukleotida	Tm (°C)
1	OPG-06	5'-GTG CCT AAC C-3'	31.8
2	OPA-05	5'-AGG GGT CTT G-3'	32.6
3	OPG-19	5'-GTC AGG GCA A-3'	34.7
4	OPAE-11	5'-AAG ACC GGG A-3'	35.5
5	OPC-11	5'-AAA GCT GCG G-3'	36.9
6	OPP-08	5'-ACA TCG CCC A-3'	37.6
7	OPK-20	5'-GTG TCG CGA G-3'	38.5
8	OPA-02	5'-TGC CGA GCT G-3'	40.7
9	OPY-09	5'-AGC AGC GCA C-3'	42.5
10	M-29	5'-CCGGCCTTA C-3'	36.8
11	OPAD-11	5'-CAA TCG GGT C-3'	32.1
12	OPA-15	5'-TTC CGA ACC C-3'	34.2
13	OPZ-05	5'-TCC CAT GCT G-3'	34.3
14	OPO-14	5'-AGC ATG GCT C-3'	35.1
15	OPAA-20	5'-TTG CCT TCG G-3'	35.6
16	OPA-18	5'-AGG TGA CCG T-3'	36.2
17	OPA-09	5'-GGG TAA CGC C-3'	37.4
18	OPAC-12	5'-GGC GAG TGT G-3'	38.1
19	OPQ-07	5'-CCC CGA TGG T-3'	38.5
20	OPD-20	5'-ACC CGG TCA C-3'	39.1

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

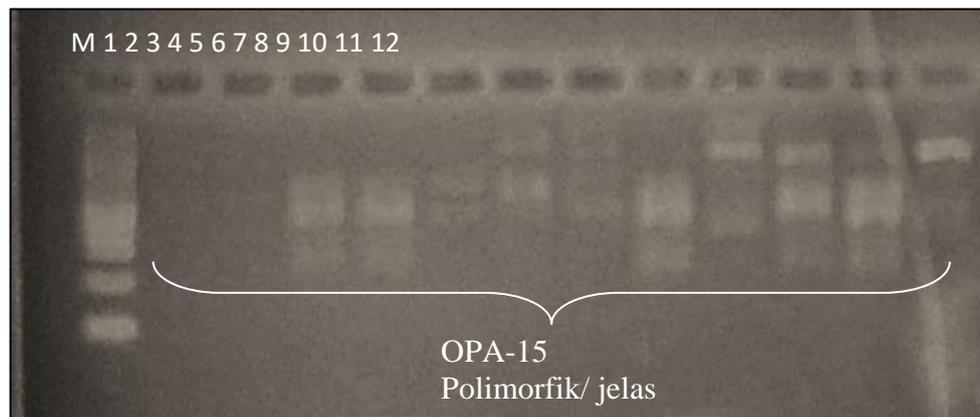
Seleksi primer dilakukan untuk mengetahui primer yang mampu mengamplifikasi pita-pita DNA polimorfik dengan baik dan jelas (Larekeng, *et al.*, 2015). Primer-primer polimorfik tersebut selanjutnya dapat digunakan dalam analisis genetik untuk studi keragaman genetik (Syahri, *et al.*, 2019), struktur populasi (Saldaña, *et al.*, 2021), kestabilan genetik (Chittora, 2018), karakterisasi (Gadakh, *et al.*, 2017), dan deteksi dini (Adhikari, *et al.*, 2018). Pita-pita DNA yang terbentuk menunjukkan kesesuaian primer dengan DNA sampel menggunakan mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Hasil seleksi pada 20 primer RAPD diperoleh tiga primer yang dapat mengamplifikasi pita polimorfik pada sampel DNA yang diuji. Ketiga primer tersebut adalah primer OPP-08, OPA-15, dan OPC-11. Primer lain juga dapat mengamplifikasi sampel DNA, namun pita DNA yang dihasilkan buram (*smear*) dan monomorfik. Primer-primer tersebut yaitu primer OPO-14, OPA-02, OPA-18, OPG-06, OPK-20, OPAE-11, OPZ-05, OPAA-20, OPA-09, OPAC-12, OPQ-07, OPD-20, OPD-03 dan OPY-09.

Keberhasilan suatu primer dalam mengamplifikasi DNA cetakan ditentukan oleh ada tidaknya homologi sekuen nukleotida primer dengan sekuen nukleotida DNA cetakan. Di samping itu, keberhasilan suatu primer dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas DNA, konsentrasi $MgCl_2$, enzim *Taq* DNA polimerase, dan suhu *annealing* primer (Sembiring, *et al.*, 2015). Primer hanya dapat menempel pada bagian DNA *single strand* yang komplementer dengan urutan basanya. DNA yang ditempel primer akan menjadi DNA template dan berlipat jumlahnya sesuai banyak siklus yang dilakukan (amplifikasi) (Adeputri & Suryati, 2016). Pita DNA polimorfik OPP-08, OPA-15, dan OPC-11 tersaji pada Gambar 1, 2, dan 3.



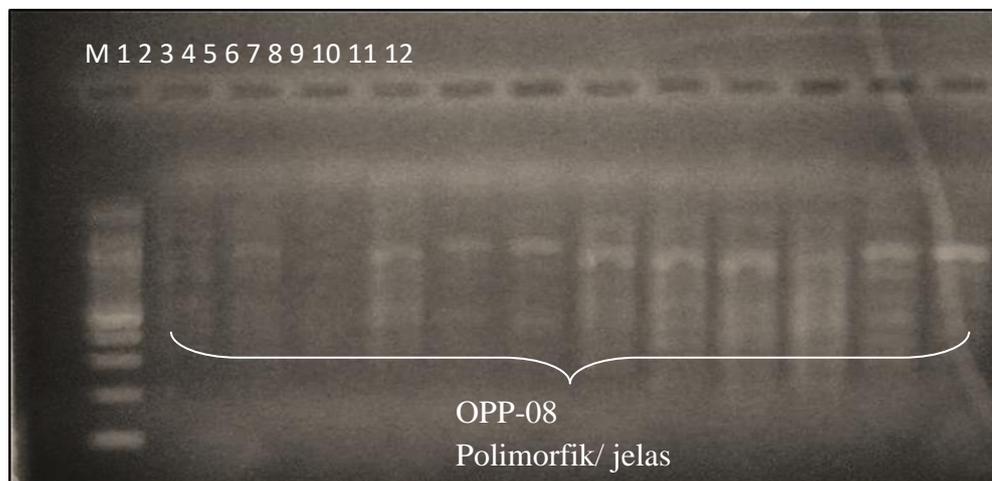
Gambar 1. Elektroforegram 12 DNA jambu mete menggunakan primer OPC-11. M : Marker 100 bp (base pair), 1-12 : DNA jambu mete, a: tidak teramplifikasi, b: teramplifikasi (pita DNA).



Gambar 2. Elektroforegram 12 DNA jambu mete menggunakan primer OPA-15. M : Marker 100 bp (base pair), 1-12 : DNA jambu mete.

Gambar 1, 2, dan 3 menunjukkan amplifikasi pita-pita DNA polimorfik yang jelas dan terang. Primer OPC-15 menghasilkan pita yang lebih tipis dibandingkan dengan kedua primer lainnya (OPC-11 dan OPP-08), namun primer ini masih ideal untuk digunakan dalam analisis selanjutnya. Jumlah primer polimorfik yang diperoleh (3 primer RAPD) pada penelitian ini lebih sedikit dibandingkan penelitian Bhargava, *et al.*, (2019) pada tanaman *Feronia limonia* L yang memperoleh 22 primer RAPD polimorfik dari 25 primer yang

diseleksi. Jumlah dan intensitas pita DNA yang teramplifikasi sangat dipengaruhi kesesuaian dari primer dan sekuen DNA yang digunakan sebagai cetakan (Bima, *et al.*, 2021). Primer-primer terpilih ini dapat menjadi rujukan untuk digunakan dalam studi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan individu-individu jambu mete asal Kabupaten Konawe, Kabupaten Konawe Selatan dan Kabupaten Kolaka Timur.



Gambar 3. Elektroforegram 12 DNA jambu mete menggunakan primer OPP-08. M : Marker 100 bp (base pair), 1-12 : DNA jambu mete.

Seleksi primer juga dilakukan untuk menentukan suhu *annealing* yang tepat. Menentukan suhu *annealing* yang tepat sangat berpengaruh terhadap hasil dari amplifikasi sampel yang diuji. Hal ini disebabkan karena proses amplifikasi seluruh sampel menggunakan suhu yang sama. Primer OPC-11 memiliki suhu *annealing* 37,5°C, Primer OPA-15 memiliki suhu *annealing* 38,9°C dan primer OPP-08 memiliki suhu *annealing* sebesar 39,2°C. Jumlah sampel yang teramplifikasi untuk setiap primer terpilih dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nama primer dan jumlah sampel teramplifikasi.

No.	Nama primer	Jumlah Sampel yang Teramplifikasi
1	OPC-11	11
2	OPA-15	8
3	OPP-08	8

Suhu *annealing* selama proses PCR sangat mempengaruhi proses penempelan primer. Setiap satu derajat perubahan suhu dapat menyebabkan kegagalan primer untuk menempel pada DNA cetakan (Gusmiaty, *et al.*, 2016). Suhu *annealing* yang tepat menentukan kualitas pita. Jika suhu *annealing* terlalu rendah, primer akan menempel pada lokasi yang bukan menjadi target penempelan pada cetakan DNA. Hal ini menyebabkan pita DNA terbentuk tidak spesifik. Namun, jika suhu *annealing* terlalu tinggi, maka primer tidak dapat menemukan situs penempelan pada cetakan DNA bahkan primer dapat mengalami kerusakan sehingga tidak menghasilkan pita DNA. Ludyasari (2014) melaporkan bahwa kegagalan dalam proses amplifikasi DNA *Metapenaeus elegans* yang disebabkan oleh suhu *annealing* yang terlalu rendah.

IV. KESIMPULAN

Seleksi pada 20 primer RAPD menggunakan DNA daun muda jambu mete menghasilkan tiga primer polimorfik (OPP-08, OPA-15, dan OPC-11). Ketiga primer ini dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik dan hubungan kekerabatan jambu mete dari tiga kabupaten di Sulawesi Tenggara. Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menyeleksi primer-primer RAPD lain, sehingga dapat memperoleh jumlah primer RAPD polimorfik lebih banyak untuk digunakan dalam studi genetik jambu mete, khususnya di Sulawesi Tenggara.

V. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Muh. Restu, MP sebagai Kepala Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

VI. REFERENSI

- Adeputri, E., & Suryati, D. (2016). Penapisan tiga puluh tujuh genotipe tomat dan seleksi primer rapd untuk toleransi terhadap layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*). *Akta Agrosia*, 19(1), 28–42.
- Adhikari, Sinchan, Sekh. S., & Kumar, T. (2018). Touchdown-PCR based RAPD assay for early diagnosis of gender in *Carica papaya* L. *Experimental Biology*, 56, 136–40.
- Badan Pusat Statistik. (2019). Produksi Jambu Mete di Sulawesi Tenggara. *Badan Pusat Statistik, Sulawesi Tenggara*.
- Bhargava, Rangoli, Gurjar, K., Singh, A., K., & Singh, S. (2019). Genetic diversity of wood apple (*Feronia limonia* L.) revealed by random amplified polymorphic. *Chemical Studies*, 7, 208–12.
- Bima, Muhammad, Nuraeni, S., & Larekeng, S., H. (2021). Detecting DNA polymorphism on mulberry (*Morus* Sp.) using RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(36), 106–11.
- Boer, D., Ladati, N., Jumarno, Irwan, Arsyad, M. A., Larekeng, S. H. (2021). Morphological diversity and relationship among cashew (*Anacardium occidentale* L) individuals in three districts of Southeast Sulawesi, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 88, 012056.
- Chittora, M. (2018). Assessment of genetic fidelity of long term micropropagated shoot cultures of *Achras sapota* L. Var. 'Cricket Ball' as assessed by RAPD and ISSR markers. *Indian Journal of Biotechnology*, 17(3), 492–95.
- Gadakh, S. S., Patel, D., U., & Singh D. (2017). Use of RAPD markers to characterize salt and drought lines of sugarcane. *Adv. Res. Biol. Sci*, 4(5), 50–57.
- Gusmiaty, Restu, M., Asrianny, & Larekeng, S.H. (2016). Polimorfisme penanda RAPD untuk analisis keragaman genetik *Pinus merkusii* di hutan pendidikan UNHAS. *Alam Indonesia* 16 (2), 47–53.

- Larekeng, Halimah, S., Paelongan, R., & Cahyaningsih, Y., F. (2020). Primer screening and genetic diversity analysis of jabon putih (*Anthocephalus cadamba* (Roxb) Miq.) based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *International Journal of Current Research and Review*, 12(24), 173–78.
- Larekeng, Halimah, S., Yusniar, Restu, M., Rismawati, Cahyaningsih Y., F., Arsyad, M., A., & Nirsatmanto N. (2020). Genetic diversity of *Duabanga Moluccana* Blume from two provenances in West Nusa Tenggara revealed by microsatellite markers. *Agriculture System*, 8(1), 34–43.
- Larekeng, S. H., Maskromo, I., Purwito, A., Matjik, A.N., & Sudarsono. (2015). Pollen dispersan and pollination patterns studies in Pati Kopyor Coconut using molecular markers. *Cord*, 31(1), 46-60.
- Listyati, D., & Sudjarmoko, B. (2011). Nilai tambah ekonomi pengolahan jambu mete Indonesia. *Buletin RISTRI*, 2(2), 231–38.
- Ludyasari, A. (2014). *Pengaruh Suhu Annealing pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (Metapenaeus elegans De Man, 1907) Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah* (Bachelor thesis, Fakultas Sains dan Teknologi).
- Makmur, Fadly, M., Larekeng, S., H., & Restu, M. (2020). Genetic diversity of eight types of bamboo based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Plant Archives*, 20:2333–37.
- Pitono, Joko. (2017). Hydraulic li on cashew and its utilization prospect hydraulic lift on cashew and its utilization prospect. *Perspektif*, 16(1):58–68.
- Randriani, E., Tresniawati, C., & Syafaruddin, S. (2012). Pemanfaatan teknik random amplified polymorphic DNA (RAPD) untuk pengelompokan secara genetik plasma nutfah jambu mete (*Anacardium Occidentale* L.). *Industri dan Penyeagar*, 3(1), 1-6.
- Salamena, Fuadiska, & Seumahu, C., A. (2018). Genetic characterization of galoba durian (*Amonum* Spp.) in Ambon Island based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Agrotech*, 3(1):27–33.
- Saldaña, Carla L., Johan D., Cancan, Cruz W., Mirian Y., Correa, Ramos, M., Cuellar, E., & Carlos, I. Arbizu. (2021). Genetic diversity and population structure of capirona (*Calycophyllum spruceanum* Benth.) from the Peruvian Amazon revealed by RAPD markers. *Forests*, 12(8),1–12.
- Subositi, Dyah, Joice, Mursyanti, E., Widodo, H., & Widiyastuti, Y. (2021). RAPD primer screening for markers development of jinten hitam (*Nigella sativa* L.) authentication. *E3S Web of Conferences*, 306,01008.
- Sembiring, I. M. S., Putri, L. A. P., & Setiado, H. (2015). Aplikasi penanda lima primer RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) untuk analisis keragaman genetik. 4(1), 1748–1755.
- Syahri, Y. F., Rauf, M., Paembonan, S., A., Larekeng, S., H., & Cahyaningsih, F., Y. (2019). RAPD amplification on cocoa (*Theobroma cacao* L.) from East Kolaka, Southeast Sulawesi Province. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 270(1).