



SKRIPSI

ANALISIS GENETIK BENIH F1 *Eucalyptus pellita* HASIL KONTROL POLINASI MENGGUNAKAN MARKA SSR (SIMPLE SEQUENCE REPEATS)



Oleh:

FARDI ALJIONO
11382102602

UIN SUSKA RIAU

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN DAN PETERNAKAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU
PEKANBARU
2020
SKRIPSI

© Hak cipta milik UIN Suska Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.



UIN SUSKA RIAU

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cipta milik UIN Suska Riau

State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

ANALISIS GENETIK BENIH F1 *Eucalyptus pellita* HASIL KONTROL POLINASI MENGGUNAKAN MARKA SSR (SIMPLE SEQUENCE REPEATS)



UIN SUSKA RIAU

Oleh:

FARDI ALJIONO
11382102602

Diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana pertanian

UIN SUSKA RIAU

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN DAN PETERNAKAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU
PEKANBARU
2020

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

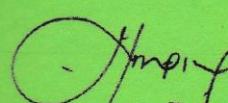
HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Analisis Genetik Benih F1 *Eucalyptus pellita* Hasil Kontrol Polinasi Menggunakan Marka SSR (*Simple Sequence Repaets*)
Nama : Fardi Aljiono
NIM : 11382102602
Program studi : Agroteknologi

Menyetujui,

Setelah diuji pada tanggal 12 Mei 2020

Pembimbing I



Dr. Rosmaina, S.P., M.Si.
NIP. 19790712 200504 2 002

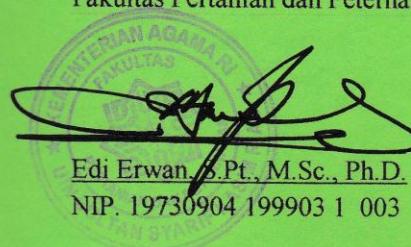
Pembimbing II



Ervina Aryanti, S.P., M.Si.
NIK. 130 812 078

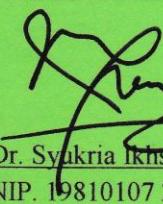
Mengetahui :

Dekan
Fakultas Pertanian dan Peternakan



Edi Erwan, S.Pt., M.Sc., Ph.D.
NIP. 19730904 199903 1 003

Ketua
Progam Studi Agroteknologi



Dr. Syukria Ikhwan Zam, M.Si.
NIP. 19810107 200901 1 008



UIN SUSKA RIAU

© H

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan didepan tim penguji ujian
Sarjana Pertanian pada Fakultas Pertanian dan Peternakan
Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau
dan dinyatakan lulus pada tanggal 12 Mei 2020

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. Triani Adelina, S.Pt., M.P	KETUA	1.
2.	Dr. Rosmaina, S.P., M.Si	SEKRETARIS	2.
3.	Ervina Aryanti, S.P., M.Si	ANGGOTA	3.
4.	Rita Elfianis, S.P., M.Sc	ANGGOTA	4.
5.	Dr. Irwan Taslapratama, M.Sc	ANGGOTA	5.

UIN SUSKA RIAU

1. Dilara
 - a. Pen
 - b. Peng
2. Dilarang



PERSEMBAHAN

“Bismillah”

Pangkal segala kebaikan,
permulaan segala urusan penting,
dan dengannya juga,
kita memulai segala urusan.

(Badiuzzaman Said Nursi)

Sebuah langkah usai sudah, satu cita telah tercapai,
ku bersujud dihadapan Mu,

Engkau telah memberi ku kesempatan hingga sampai ke tahap akhir dalam
penyelesaian satu tanggung jawabku
dan menjadi awal perjuangan bagi ku
Segala puji bagi Mu Ya Allah...

Alhamdulillah..

Alhamdulillahirobbil 'alamin...

Terima kasih atas nikmat dan rahmat yang telah engkau
limpahkan untuk hamba mu yang lemah ini,
Telah kau berikan secercah cahaya terang atas sebuah
perjuangan panjang ini, meskipun hari esok penuh
dengan teka-teki dan tanda tanya yang aku sendiri
belum tahu pasti jawabannya..

Syukur Alhamdulillah..

Kini aku tersenyum dengan takdir yang engkau tetapkan
Untukku Kini kumengerti arti kesabaran dalam penantian..

Inna ma'al 'usriyusra.. sesungguhnya sesudah
kesulitan itu ada kemudahan (Al-Insyirah)

Sungguh aku tak menyangka

Kau menyimpan sejuta makna dan rahasia..

Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang engkau dustai??
(Ar-Rahman)

Ibunda dan ayahanda tercinta...

Kau begitu kuat dan tegar hadapi hidup ini

Tak ada keluh kesah diwajahmu dalam mengantar anakmu ke gerbang masa depan
yang cerah untuk meraih segenggam harapan dan impian, kau kirim aku kekuatan
lewat untaian kata dan irungan doa. Cinta kasih sayang dan restumu temani hidup
ku.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Kasih sayang mu tak pernah bertepi, tiada kasih seindah kasihmu dan tiada cinta semurni cintamu..

Dengan ridho Allah SWT,

Kupersembahkan karya kecilku ini kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta (terima kasih atas doa, motivasi dan kasih sayang yang tiada bandingannya), Istriku, Abangku dan adik-adikku (terimakasih atas doa dan candatawa yang menguatkan) dan semua sahabatku seperjuangan di bumi Universitas ini, kuatkan tekadmu tuk hadapi rintangan, karena sesungguhnya Allah bersama kita..

Yakin, berusaha, bersyukur and never give up... ^ ^



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya berupa skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun (sarjana, tesis, disertasi, dan sebagainya), baik di Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim dosen pembimbing dan hak publikasi karya tulis ilmiah ini ada pada penulis, pembimbing 1 dan pembimbing 2.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarangnya dan dicantumkan pula di dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan saya ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma hukum yang berlaku di perguruan tinggi dan negara Republik Indonesia.

Pekanbaru, Mei 2020



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

UCAPAN TERIMAKASIH***Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh***

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT Tuhan semesta alam yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat beriring salam diucapkan untuk junjungan kita Baginda Rasulullah Muhammad SAW karena beliau telah membawa umat manusia dari zaman jahiliyah ke zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan seperti sekarang ini.

Dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini penulis menyampaikan terimakasih yang tidak terhingga kepada:

Kedua orang tua saya tercinta Ayahanda Jumadi dan Lisnawati, abang saya Ardi Satrio, S. Si, adik saya Monda Indah Lestari, adik saya Dendra Anzardi dan istri saya tercinta Rezki Umi Hanisyah serta keluarga besar saya yang selalu memotivasi, mendoakan, memberi dukungan dan bantuan spiritual maupun materil yang sangat luar biasa kepada penulis.

2. Bapak Edi Erwan, S.Pt., M.Sc., Ph. D selaku Dekan Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau yang telah memperkenankan penulis belajar dan menuntut ilmu di fakultas tercinta ini.
3. Selaku Ketua Munaqasah ibu Dr. Triani Adelina, S.Pt., M.P yang bersedia menjadi penguji dan memberikan masukan berupa saran dan kritikan kepada penulis demi perbaikan skripsi ini.

Bapak Zulfahmi,S,Hut., M.Si, ibu Dr. Rosmaina, S.P., M.Si dan Ibu Ervina Aryanti, S.P., M.Si sebagai pembimbing penelitian penulis yang dengan penuh kesabaran membimbing, memberi motivasi dan arahan kepada penulis sampai selesaiya skripsi ini.

Ibu Robbana Saragih, S,Pd., M.P , Ibu Rita Elfianis, S.P., M.Sc dan bapak Dr. Irwan Taslapratama, M.Sc sebagai penguji yang telah bersedia menjadi penguji dan memberikan masukan berupa saran dan kritikan kepada penulis demi perbaikan skripsi ini.

Ibu Ervina Aryanti, S.P., M.Si selaku Pembimbing Akademik yang memberikan motivasi dan semangat dari awal sampai akhir penulis kuliah.

Bapak dan Ibu dosen Program Studi Agroteknologi dan seluruh staff Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau yang telah mengajarkan banyak ilmu dan pengalaman yang berguna selama penulis kuliah.



© Hak cipta milik UIN Suska Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Sahabat dan teman-teman seperjuangan terutama kelas F Agroteknologi angkatan 2013 yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis baik pada saat perkuliahan maupun pada saat penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap dan mendoakan semoga semua yang telah kita lakukan dengan ihlas dihitung amal ibadah oleh Allah SWT, *Amin yarobb al'amin.*

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Pekanbaru, Mei 2020

Penulis

UIN SUSKA RIAU



RIWAYAT HIDUP

Fardi Aljiono dilahirkan di Okura Kecamatan Rumbai Kota Pekanbaru, pada 07 Januari 1996. Lahir dari pasangan Bapak Jumadi dan Ibu Lisnawati, yang merupakan anak ke dua dari empat bersaudara dan menyelesaikan pendidikan dasar di Sekolah Dasar Negeri 013 Kerinci Kanan Tahun 2007.

Tahun 2010 menyelesaikan pendidikan Sekolah Lanjut Tingkat Pertama di SMP N 001 Lubuk Dalam, tahun 2013 menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA N 001 Lubuk Dalam dan ditahun yang sama penulis terdaftar menjadi mahasiswa Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau melalui Seleksi Bersama Perguruan Tinggi Negeri (SBPTN).

Bulan Februari 2016 penulis melaksanakan Praktek Kerja Lapang (PPL) di Research and Development PT. Arara Abadi pada Unit Laboratorium Biotehnologi khususnya di Laboratorium Molekuler Genetik (DNA) yang berlokasi di Desa Pinang Sebatang Kecamatan Tualang Kabupaten Siak Sri Indrapura, Riau. Bulan Juli sampai Agustus 2016 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kampung Marempan Hilir Kecamatan Mampura Kabupaten Siak Sri Indrapura.

Tanggal 07 November 2017 telah melaksanakan seminar usul penelitian dengan judul “Analisis Genetik Benih F1 *Eucalyptus pellita* Hasil Kontrol Polinasi Menggunakan Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)”. Melaksanakan penelitian pada bulan November 2017 sampai Januari 2018 dan seminar hasil pada tanggal 01 Oktober 2019.

Pada tanggal 12 Mei 2020 penulis dinyatakan lulus dan berhak menyandang gelar Sarjana Pertanian melalui sidang tertutup Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kesehatan dan keselamatan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisa Genetik Benih *Eucalyptus pellita* Hasil Kontrol Polinasi Menggunakan Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Rosmaina, M.Si sebagai dosen pembimbing 1 dan Ibu Ervina Aryanti, S.P., M.Si. sebagai pembimbing 2 dan kepada Bapak Dr. Suharyanto sebagai pembimbing lapangan di PT. Arara Abadi yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, petunjuk dan motivasi sampai selesaiya skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua baik untuk masa kini maupun masa yang akan datang.

Pekanbaru, Mei 2020

Penulis

UIN SUSKA RIAU

**Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Analisis Genetik Benih F1 *Eucalyptus Pellita* Hasil Kontrol Polinasi Menggunakan Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)

Fardi Aljiono (11382102602)

Dibawah bimbingan Rosmaina dan Ervina Aryanti

INTISARI

Penanda molekuler *simple sequence repeat* (SSR) merupakan penanda molekuler yang banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik tanaman. Penelitian bertujuan untuk mengetahui tingkat keberhasilan hibrid, pencemaran polen, pencemaran benih, dan *inbreeding* pada keturunan F1 *Eucalyptus pellita* hasil kontrol polinasi menggunakan penanda SSR. Penelitian dilaksanakan di Research and Development (R&D) PT. Arara Abadi. Penelitian menggunakan lima kelompok persilangan terkendali *Eucalyptus pellita* yaitu persilangan AxB, CxD, ExF, CxB dan CxF dengan masing-masing kelompok persilangan terdiri dari 1 tetua jantan, 1 tetua betina, dan 10 benih keturunan F1, sehingga total sampel yang digunakan berjumlah 60 sampel. Pengelompokan ditentukan dengan membandingkan pola genotipe tetua dengan keturunan F1 berdasarkan pola pita DNA SSR yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 48% keturunan F1 hasil silangan (Hibrida), terdapat 26% kontaminasi polen, 24% Kontaminasi Benih, *inbreeding* 0% dan 2% merupakan sampel yang tidak teridentifikasi.

Kata Kunci : Polinasi, Hibrid, Kontaminasi Polen, Kontaminasi Benih dan *Inbreeding*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Genetic Analysis of Seed F1 Eucalyptus pellita Results of Pollination Control Using Marka SSR (Simple Sequence Repeats)

Fardi Aljiono (11382102602)

Under the guidance of Rosmaina and Ervina Aryanti

ABSTRACT

Simple sequence repeat (SSR) molecular markers are molecular markers that are widely used for analysis of plant genetic diversity. The research aims to determine the success rate of hybrid, pollen contamination, seed contamination, and inbreeding in F1 of Eucalyptus pellita which is the result of pollination control by using SSR markers. The research was conducted at the Research and Development (R&D) of PT. Arara Abadi. The study used five controlled crossing groups of Eucalyptus pellita namely AxB, CxD, ExF, CxG and CxF crosses with each crossing group consisting of 1 male parent, 1 female parent, and 10 F1 seed descendants so that the total sample used amounted to 60 samples. The grouping is determined by comparing the genotype pattern of the elders with F1 descendants based on the formed SSR DNA band pattern. The results showed that 48% of F1 offspring crossed (Hybrid), there were 26% pollen contamination, 24% Seed Contamination, 0% inbreeding and 2% were unidentified samples.

Keywords : *Pollination, Hybrid, Pollen Contamination, Seed Contamination and Inbreeding.*

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
INTISARI.....	ii
ABSTRACT	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR SINGKATAN	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Manfaat Penelitian	3
II.TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. <i>Eucalyptus pellita</i>	4
2.2. Hibridisasi	5
2.3. Inbreeding pada tanaman	6
2.4. Penyerbukan / Polinasi	7
2.5. Marka SSR (<i>Simple Requence Repeats</i>).....	9
2.6. Ekstraksi DNA.....	10
2.7. Uji Kualitas DNA.....	13
2.8. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	14
2.9. <i>Elektroforensis Gel Polyacrelamide</i>	17
III.MATERI DAN METODE	
3.1. Tempat dan Waktu.....	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.3. Metode Penelitian	20
3.4. Pelaksanaan Penelitian	20
3.5. Analisis Data.....	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Uji Kuantitas	29
4.2. Uji Kualitas	29
4.3. Hasil <i>Visual Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	30
4.4. Analisa Software Quantity One versi 4.6.2.....	31
4.5. Profil Penanda SSR (<i>Simple Squnce Reapet</i>).	33
4.6. Analisis Genetik F1	35
4.7. Persentasi Status Benih F1	41

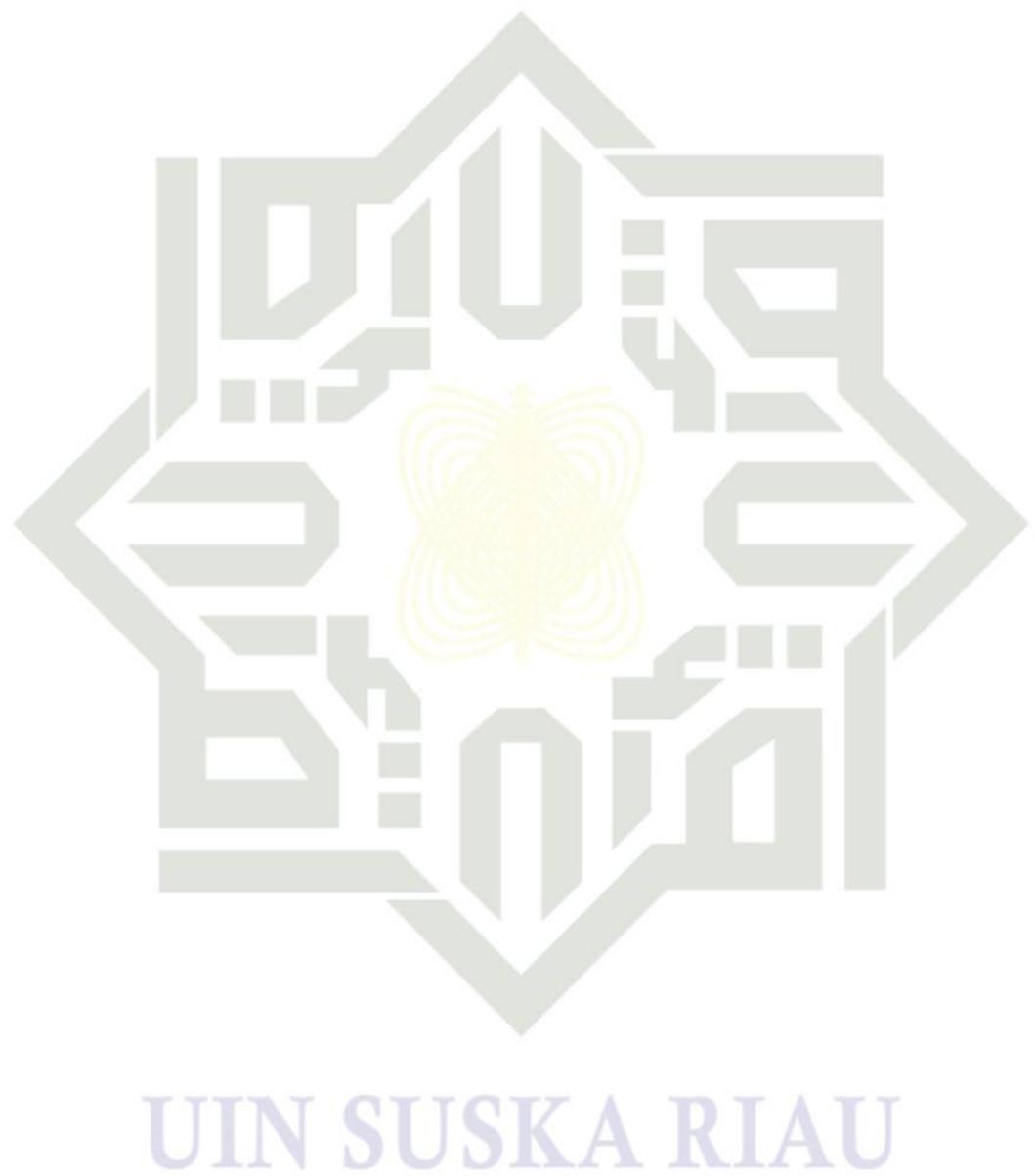
PENUTUP	
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44

© Hak cipta milik UIN Suska Riau

State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

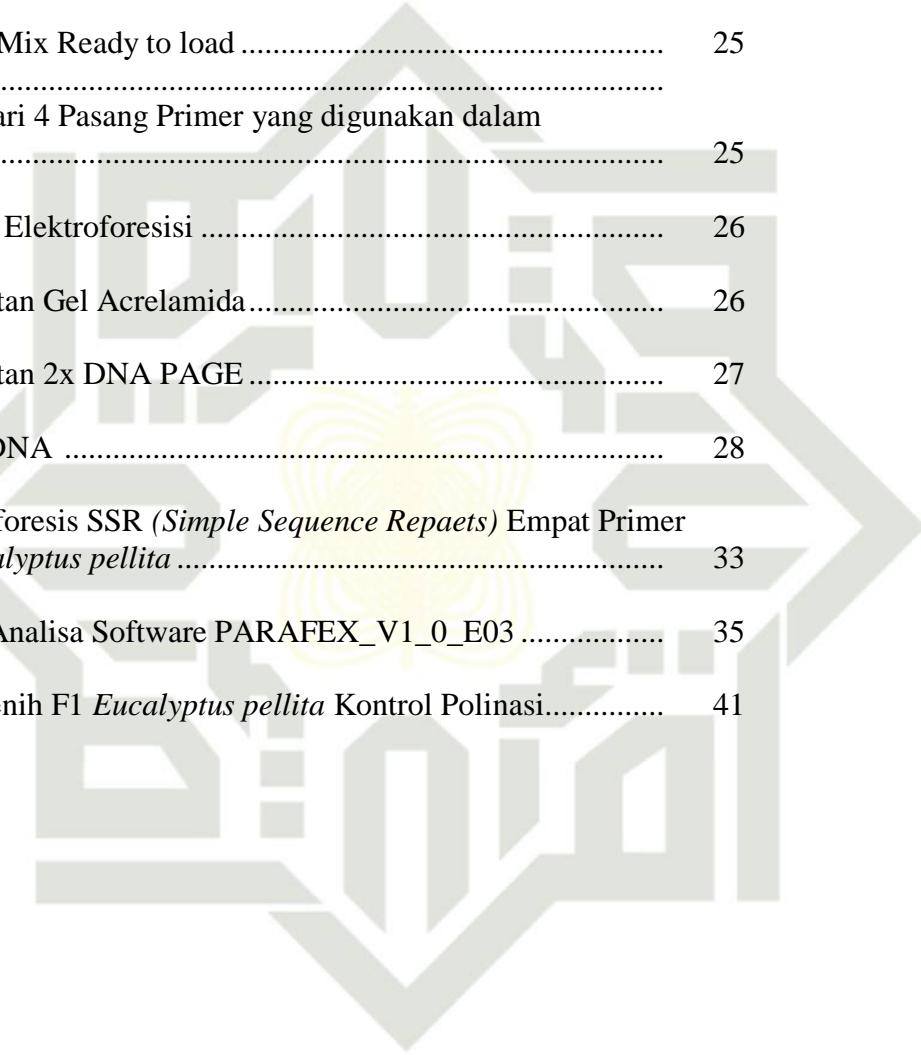
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Daftar Sampel Yang Digunakan dalam Penelitian.....	20
2. Komponen Buffer Ekstraksi.....	22
3. Komponen Sampel.....	24
3.4. 5x Firepool Master Mix Ready to load	25
3.5. Kode dan Sequen dari 4 Pasang Primer yang digunakan dalam Penelitian.....	25
3.6. Sampel DNA untuk Elektroforesis	26
3.7. Komponen Pembuatan Gel Acrelamida.....	26
3.8. Komponen Pembuatan 2x DNA PAGE	27
4.1. Hasil uji kuantitas DNA	28
4.2. Profil Hasil Elektroforesis SSR (<i>Simple Sequence Repaets</i>) Empat Primer pada Tanaman <i>Eucalyptus pellita</i>	33
4.3. Hasil Rekapitulasi Analisa Software PARAFEX_V1_0_E03	35
4.4. Persentasi Status Benih F1 <i>Eucalyptus pellita</i> Kontrol Polinasi.....	41

**UIN SUSKA RIAU****Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Proses Penyerbukan (Polinasi) Tanaman	8
2.1. Estimasi Hasil Elektroforesis	28
2.1. Hasil Pengukuran Kualitas DNA Menggunakan Mesin Gel Doc	30
2.2. Hasil PCR uji Primer-Primer (EU36, EU41 EU42 dan EU53) menggunakan Taq firepool Master Mix Ready to Load	30
2.3. Pelabelan Alel berdasarkan posisi relatif dari pita-pita dengan bantuan softwere Quantity one versi 4.6.2.....	32

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cipta milik **UNIVERSITAS SULTAN SYARIF HAU**

DAFTAR SINGKATAN

CTAB	<i>CetyltrimethylAmmonium Bromide</i>
CUVETTE	<i>Cuvette Compartment</i>
dntp	<i>DeoxynucleosideTriphosphates</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	<i>Ethylenediamine Tetraacetic</i>
HTI	Hutan Tanaman Industri
ISSR	<i>Inter Simple Sequence Repeat</i>
PIC	<i>Polimorfis Identity Content</i>
PAGE	<i>Polyacrylamide Gel Elektroforensis</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PVP	<i>Polyvinylpyrrolidone</i>
PID	<i>Probability Identity</i>
STRs	<i>Short Tandem Repeats</i>
SSLPs	<i>Simple Sequence Length Polymorphisms</i>
SSR	<i>Simple Sequence Repeats.</i>
SDS	<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>

UIN SUSKA RIAU

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Alur Kegiatan Penelitian	50
Hasil Uji Kuantitas DNA Menggunakan Alat <i>Spektropotometer (NanoDrop)</i>	51
Hasil Dilusi atau Pengenceran	53
Hasil Visual PCR pada Gel Agarose 3% menggunakan UV <i>Transluminatore</i> atau Gel Doc	55
Hasil <i>Polyacrelamide Gel Elektroforesis (PAGE)</i> setelah diwarnai dengan Pewarna Perak (<i>Silver Stening</i>)	56
Nilai atau Panjang Pita yang didapat dalam Analisis Menggunakan Software Quantity One Versi 4.6.1. dengan Perhitungan Berdasarkan Posisi Relatif Pita-Pita DNA	57
Hasil Analisis Software Parfex_V1_0_E3	60
Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	66

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

I. PENDAHULUAN

. Latar Belakang

Hutan Tanaman Industri (HTI) pada saat ini menghadapi tantangan cukup berat yang berkaitan dengan adanya ketimpangan kebutuhan bahan baku industri dengan kemampuan produksi kayu secara lestari. Kerusakan hutan (degradasi dan deforestasi) yang besar dengan laju rata-rata 1,8 juta ha pertahun menyebabkan hutan alam saat ini tidak mampu lagi menjadi sumber pemasok kayu utama untuk bahan baku industri. Permintaan kayu oleh industri hasil hutan semakin meningkat harus dapat dipenuhi oleh HTI. Permasalahan yang timbul adalah persediaan kayu HTI semakin lama semakin menurun sebagai akibat kurangnya pohon yang layak untuk ditebang. Keadaan tersebut yang mendorong HTI untuk menanam tanaman yang memiliki sifat *fast growing* (cepat tumbuh). Salah satu tanaman yang diajukan oleh Departemen kehutanan sebagai tanaman pokok industri kehutanan adalah *Eucalyptus* sp (Adinugraha dkk., 2007).

Eucalyptus secara umum tumbuh alami di Australia, namun beberapa spesies tumbuh alami di Philipina, Papua New Guinea, dan Pulau Papuadi Indonesia (Adinugraha dkk., 2007). Genus *Eucalyptus* terdiri dari lebih 700 spesies. Jenis *Eucalyptus pellita* merupakan salah satu jenis tanaman yang diprioritaskan untuk hutan tanaman industri dan berpotensi sebagai jenis alternatif pengganti *Acacia mangium* yang pada saat ini banyak mengalami kematian akibat serangan jamur akar (*root rot disease*) di daerah tropika. Jenis *Eucalyptus pellita* mempunyai kemampuan adaptasi yang tinggi dan tumbuh cepat, berbatang tunggal, batang lurus, bebas cabang, tinggi serta tahan terhadap hama dan penyakit (Pudjiono dan Baskorowati, 2012).

Sampai saat ini, salah satu program pemuliaan pohon *Eucalyptus* sp. adalah pengembangan pohon *Eucalyptus* sp. berkualitas unggul dengan menggunakan teknik persilangan terkendali (*control pollination*). Program pemuliaan ini bertujuan untuk menggabungkan sifat-sifat unggul tetua kepada keturunannya. Program persilangan terkendali tetua *Eucalyptus* sp. meliputi penggunaan tetua dari species yang sama (*intra-species*) dan juga species yang berbeda (*inter-species*) telah dilakukan. Persilangan antarspesies memainkan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

peran penting dalam program pemuliaan tanaman (Kosmiatin dan Mariska, 2005). Banyaknya persilangan *Eucalyptus pellita* dan biji yang telah dihasilkan memerlukan manajemen dan evaluasi hasil persilangan yang cepat dan akurat. Teknik bioteknologi seperti pengujian secara biomolekuler dapat diterapkan untuk mengevaluasi kemurnian genetik hasil persilangan. Analisis secara molekuler sangat dibutuhkan untuk membantu proses seleksi tanaman secara lebih cepat dan akurat. Pemakaian penanda molekuler dapat meningkatkan ketepatan proses seleksi serta meningkatkan efisiensi waktu dalam seleksi (Zainudin dkk., 2010).

Berbagai metode menggunakan marka molekuler telah banyak diterapkan untuk pengujian keberhasilan hibrid salah satunya adalah marka mikrosatelit atau SSR (*Simple Sequence Repeats*). Penggunaan SSR secara langsung mampu mendeteksi perbedaan genetik pada tingkat DNA. Marka SSR telah digunakan secara ekstensif sebagai marka genetik atau analisis keragaman genetik dan evolusi. Teknik SSR sering pula digunakan dalam membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan gen, sebagai alat bantu seleksi, dan studi genetik populasi (Mulsanti dkk., 2013).

Primer-primer spesifik SSR hanya mengamplifikasi sekuen-sekuen tertentu, sehingga dapat meningkatkan keakuratan deteksi sekuen DNA yang mirip atau berbeda antar individu. Karena tingkat keakuratannya tinggi (*reproducibility*), maka metode SSR dapat digunakan oleh peneliti dengan hasil yang relatif sama (Sumantri dkk., 2008). Beberapa keunggulan lain seperti kelimpahan dan meratanya SSR dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus) dan sifatnya yang kodominan membuat penanda ini menjadi pilihan utama bagi para peneliti (Rahayu dan Handayani, 2010). Berdasarkan uraian diatas, maka penulis telah melakukan penelitian dengan judul **“Analisis Genetik Benih F1 *Eucalyptus pellita* Hasil Kontrol Polinasi Menggunakan Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)**.

2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian adalah untuk mengetahui tingkat kesuksesan hibrid, pencemaran polen, pencemaran benih, dan inbreeding keturunan F1 *Eucalyptus pellita* hasil kontrol polinasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

3. Manfaat Penelitian

Sebagai informasi tingkat kesuksesan hibrid, pencemaran polen, pencemaran benih, dan inbreeding keturunan F1 *Eucalyptus pellita* hasil kontrol polinasi menjadi justifikasi tingkat efisiensi metode persilangan terkendali pada *Eucalyptus pellita* yang diaplikasikan. Hasil verifikasi akan ditindak lanjuti dengan perbaikan-perbaikan yang diperlukan agar tingkat efisiensi dan validitas hasil bisa dimaksimalkan.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Eucalyptus pellita

Taksonomi dari *Eucalyptus* sebagai berikut, Divisio : Spermatophyta; Sub Divisio : Angiospermae; Class : Dikotyledon; Ordo : Myrtales; Family : Myrtaceae; Genus : *Eucalyptus*; Species : *Eucalyptus pellita* (Nababan, 2009). Tinggi rata-rata *Eucalyptus pellita* berkisar 40 meter dan diameter batang berkisar 1 meter. *Eucalyptus pellita* memiliki batang lurus, kulit batang kasar dan pecah-pecah. Kulit *Eucalyptus pellita* tebal dan berwarna coklat. Memiliki ranting yang kecil (Orwa dkk., 2009).

Daun pada bibit *E. pellita* berlawanan sekitar 4-7 pasang berbentuk bulat telur yang berukuran 5,15 x 1,6-7 cm, berwarna hijau. Daun *E. pellita* dewasa biasanya berbentuk meruncing panjang, permukaan halus, dengan ukuran 10-15 x 2-4 cm, berwarna hijau (Orwa dkk., 2009). Pada pohon yang masih muda letak daunnya berhadapan, bentuk dan ukurannya sering berbeda dan lebih besar dari pada pohon tua. Pada umur tua, letak daun berselang-seling (Irwanto, 2006).

Tanaman *Eucalyptus* memiliki bunga yang memanjang dan tidak bertangkai, warna benangsari putih dan berjumlah banyak. Bunga *Eucalyptus* tergolong bungasempurna yaitu bunga yang memiliki alat kelamin jantan dan betina secara bersama-sama dalam satu organ. Bunga sempurna disebut juga hemaprodit karena memiliki benangsari dan putik didalam organ yang sama sehingga dapat mengalami penyerbukan sendiri. Aksila, biasanya 7 bunga jarang terjadi 3 atau 9 bunga. Luas *penduncles* rata-rata 1,2,5 cm. *Pedikel* sesekali tidak ada, tetapi biasanya gemuk dengan panjang sudut 1-9 mm. Tunas dengan *hypanthia bconical*, biasanya dengan tulang rusuk dari *pedikel* dengan panjang 9-12 x 6-12 mm. Bentuk *operculum* sangat bervariasi, umumnya bercotok dan sekitar 1-1,5 kali panjang *hypanthium* (Orwa dkk., 2009). Biasanya bunga-bunga dari berbagai spesies *Eucalyptus* dilindungi oleh *operculum* (Daryono dkk., 2012).

Eucalyptus merupakan jenis tanaman *Fast Growing Species* (FGS), yang berdaur pendek sekitar 4 sampai 6 tahun yang dikembangkan pada HTI khususnya HTI pulp. Adinugraha (2007) *Eucalyptus pellita* adalah salah satu jenis yang dikembangkan untuk HTI karena sifatnya yang mudah menyesuaikan diri dan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Tidak Boleh Sama dengan Hak Cipta Universitas Syarif Hidayatullah Syarif Kasim Riau

kayunya dapat digunakan untuk bahan pulp. Ada lebih dari 700 spesies dari *Eucalyptus*, kebanyakan asli dari Australia, dengan beberapa dapat ditemukan di Papua Nugini dan Indonesia dan juga sampai Filipina (Supangat dkk., 2012). Turnbull (2000) menyatakan *Eucalyptus* sp. di Australia mendominasi populasi hutan alam dan hutan tanaman yang melingkupi sekitar 124 juta hektar. Hutan tanaman *Eucalyptus* sp. diluar Australia diestimasikan akan mencapai 20 juta hektar hingga tahun 2010. Saat ini lebih dari 10 juta hektar terdapat di Amerika Selatan dan Asia. *Eucalyptus* juga menjadi salah satu jenis tanaman unggulan penghasil pulp selain *Acacia* sp. Penanaman *Eucalyptus pellita* telah dilakukan dalam skala besar dan telah mencapai rotasi ke-3 di Riau (Supangat dkk., 2013). Salah satu spesies *Eucalyptus* berasal dari Indonesia, dengan sebaran alami dari Merauke (Supangat dkk., 2012).

Habitat alami *E. pellita* ditemukan dalam formasi hutan terbuka dengan sejumlah besar species lain *Eucalyptus*. *Eucalyptus* dapat tumbuh pada topografi miring. Tumbuh cepat dilahan yang lembab, biasanya terdapat di daerah dataran tropis dan membutuhkan seragaman curah hujan musim panas (Orwa dkk., 2009). Adinugraha (2007) menyatakan bahwa *Eucalyptus pellita* merupakan salah satu spesies endemik Indonesia yang tumbuh di Papua sampai dengan ketinggian di atas 800 m dpl dengan curah hujan 900 mm - 2.100 mm/tahun dan iklim kering yang jelas. Doran dan Turnbull (1997) menambahkan bahwa suhu maksimum rata-rata bulan terpanas di kisaran 24 - 34° C dengan minimum rata-rata bulan terdingin sekitar 4 - 19° C. Jenis tanah mulai dari pasir dangkal di pergunungan batu pasir dan hutan lebat tanah liat (Orwa dkk., 2009).

2. Hibridisasi

Hibridisasi merupakan cara yang paling sering dilakukan oleh para pemulia tanaman untuk mendapatkan galur tanaman unggul. Dalam hibridisasi, kromosom-kromosom yang berbeda digabungkan sehingga didapatkan keadaan heterozigot pada suatu galur tanaman. Untuk membuat hibrid, harus dikembangkan terlebih dahulu galur-galur homozigot yang merupakan hasil proses *inbreeding*. Hal ini biasanya dilakukan dengan menggunakan tanaman yang dapat menyerbuk sendiri (*self-pollinating plants*), yaitu dengan cara serbuk

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

sari suatu bunga jantan digunakan untuk menyerbuki bunga betina tanaman yang sama. Setelah diperoleh galur homozigot, selanjutnya dilakukan persilangan. Hibridisasi dapat dilakukan pada aras individu tanaman, atau pada aras sel yaitu dengan teknis fusi protoplas (Yuwono, 2006). Pada peristiwa hibridisasi akan memperoleh kombinasi genetik yang diperoleh melalui persilangan dua atau lebih tetua yang berbeda genotipnya (Hartati dkk., 2014).

Kosmiatin dan Mariska (2005) menyatakan persilangan antarspesies memainkan peran penting dalam program pemuliaan tanaman. Persilangan antarspesies juga memungkinkan untuk mendapatkan hibrida dengan variasi yang tinggi, seperti adanya mutasi serta perluasan adaptasi baik terhadap lingkungan abiotik maupun biotik atau memperoleh individu dengan kombinasi karakter yang baru. Teknik ini digunakan jika keragaman genetik yang diinginkan tidak ditemukan pada spesies yang dibudidayakan. Keragaman tersebut nantinya akan diseleksi untuk mendapatkan varietas yang memiliki sifat unggul. Varietas bersifat unggul tersebut yang nantinya dapat dilepas sebagai varietas unggul.

Said (2011) menyatakan pada tanaman menyerbuk silang, hibridisasi biasanya digunakan untuk menguji potensi tetua atau pengujian ketegaran hibrida dalam rangka pembentukan varietas hibrida. Perkawinan silang antar spesies dan dalam spesies memiliki beberapa perbedaan dalam tingkat keragaman genetik nantinya. Jenis perkawinan tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor. Akan tetapi hibridisasi juga dapat memberikan penampilan yang lebih buruk dari pada tetunya.

3. Inbreeding Pada Tanaman

Pola sebaran serbuk sari merupakan salah satu faktor yang ikut menentukan nilai *inbreeding*, ukuran populasi efektif dan level keragaman genetik dalam dan antar populasi (Burczyk and Prat, 1997). *Inbreeding* adalah metode perkembangbiakan tanaman satu kepada tanaman lain yang hubungan keturunannya masih berdekatan atau sebagai perkawinan silang antara kerabat. Jika kedua tetua berkerabat, anak-anaknya dikatakan inbred (Rusfidra dkk., 2012).

Metode *inbreeding* pada awalnya hanya mempunyai satu tujuan, yaitu menghasilkan bibit dasar tanaman jenis baru. Tetapi, *inbreeding* dapat

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

menghasilkan suatu varietas tanaman baru yang lebih bisa beradaptasi terhadap kondisi lingkungannya, termasuk lahan dan jenis iklim tertentu. Penggunaan metode inbreeding juga dapat menyebabkan ancaman terhadap suatu komponen populasi. Ancaman ini disebabkan pembatasan kawin silang acak antar genotip yang berbeda. Inbreeding dapat meningkatkan hasil bibit tanaman jika mempunyai alel zicot, namun juga menghasilkan efek fit yang disebut dengan *inbreeding depression*. *Inbreeding depression* pada tanaman dapat menyebabkan tanaman akan mengalami strees dengan menunjukkan tinggi tanaman semakin pendek, sendirung rebah, peka terhadap penyakit, dan bermacam-macam karakter lain yang tidak diinginkan (Prakoso dkk., 2012). *Inbreeding* yang terjadi terus-menerus akan menyebabkan kepunahan (Irmayati dkk., 2015). Namun demikian adanya budaya *Inbreeding* tidak selalu membawa dampak buruk karena dengan adanya perkawinan pada satu populasi yang berkerabat dekat dapat menjaga plasma nutrional dan kemurnian genetik pada suatu spesies (Sari, 2017).

2.4. Penyerbukan (Polinasi)

Polinasi berasal dari kata pollén atau serbuk sari. Benang sari (*stamen*) yang normal mempunyai tangkai sari (*filamentum*) dan kepala sari (*anthera*). Polinasi adalah pemindahan polen dari anthera ke stigma yang merupakan interaksi antara organ jantan dan betina yang pertama dalam proses reproduksi. Pada tumbuhan Angiospermae, proses polinasi merupakan proses menempelnya serbuk sari di atas kepala putik (stigma), sedangkan pada tumbuhan Gymnospermae, proses polinasi merupakan proses sampainya serbuk sari pada tetes penyerbukan atau ruang bakal biji (Darjanto dan Satifa, 1990).

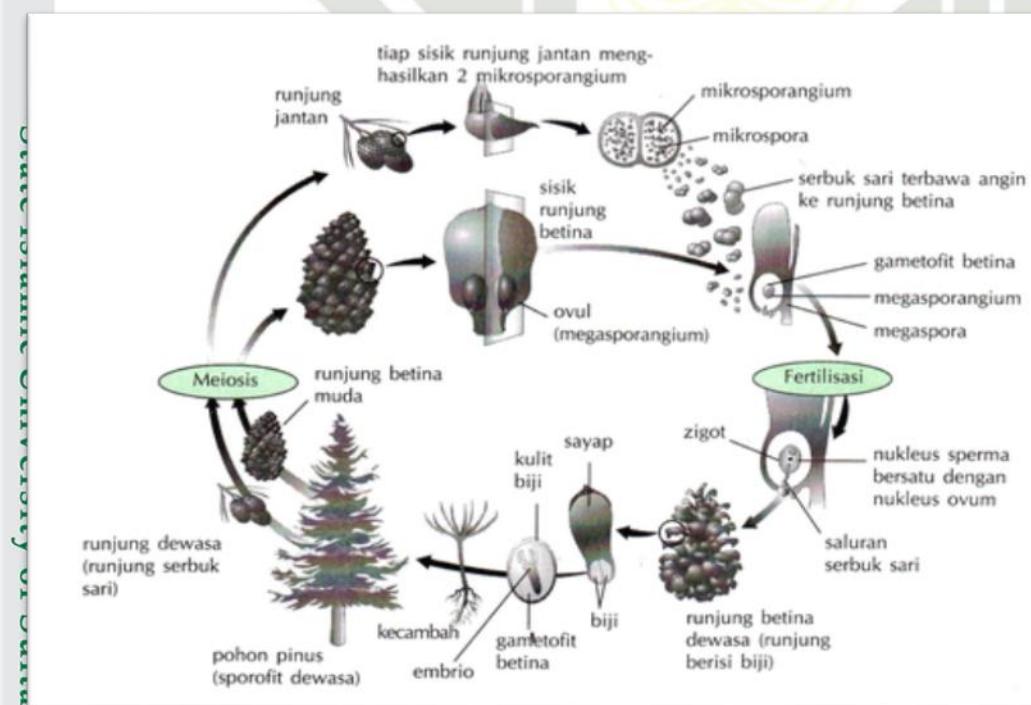
Menurut Permanasari dan Aryanti (2014) berdasarkan sumber polen penyerbukan dapat dibedakan yaitu penyerbukan sendiri dan penyerbukan silang. Penyerbukan sendiri yaitu penyerbukan yang terjadi apabila polen berasal dari bunga yang sama atau dari bunga lain pada tanaman yang sama. Penyerbukan sendiri terjadi karena bunga tidak mekar atau meskipun mekar tetap tertutup oleh bunga yang lain atau enther pecah sebelum bunga mekar dan terjadi pada tanaman yang mempunyai hermaprodit dan self-compatible. Tanaman yang menyerbuk

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta ampiUN suska Riau

sendiri menghasilkan benih dengan kemurnian murni. Penyerbukan silang yaitu penyerbukan yang terjadi apabila polen berasal dari tanaman yang berbeda.

Darjanto dan Satifa (1990) menyatakan proses penyerbukan tanaman terjadi melalui beberapa tahapan : 1). Kuncup bunga yang mekar merupakan tanda putik masak dan siap menerima serbuk sari.2). Kepala putik akan mengelurkan lendir dan zat-zat lain untuk perkecambahan.3). Apabila serbuk sari jatuh kekepala putik, akan menyerap cairan sehingga akan mengembung dan berkecambah.4). Dinding luar serbuk sari pecah, penyerapan cairan masih terus berlangsung sehingga volume membesar sehingga isi serbuk sari (protoplasma +2 inti) keluar melalui pori yang telah pecah membentuk tabung serbuk sari (*pollen tube*).5). Tugas inti vegetatif (*tube nucleus*) yaitu mengatur pertumbuhan tabung serbuk sari.6). Tugas 2 inti sperma (*sperm nuclei*) yaitu melakukan pembuahan didalam bakal biji.7). Serbuk sari yang berkecambah akan tumbuh memanjang bawah dan masuk kedalam saluran tangkai putik (*canalis stylinas*) menuju ruang bakal buah (ovarium) sampai ujungnya dapat menyentuh kantung embrio (*saccus embryana*). Proses penyerbukan memerlukan waktu 5-6 jam- 5 hari.Gambar proses penyerbukan (polinasi) pada tanaman dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Proses penyerbukan (polinasi) tanaman.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cipta am mikro satelit SSR pada state Islamic University Sultan Syarif Kasim Riau

25. Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*)

Rahayu dan Handayani (2010) penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Penanda molekuler *simple sequence repeat* (SSR) merupakan penanda yang berkembang lebih akhir dibanding RAPD dan RFLP. Penanda mikrosatelit merupakan penanda molekuler berbasis DNA yang banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik tanaman.

Mikrosatelit adalah lokus penanda molekuler yang berupa urutan DNA pendek yang tiap unit ulangannya terdiri dari satu sampai enam nukleotida. Lokus mikrosatelit diapit oleh suatu urutan nukleotida yang terkonservasi. Pada urutan DNA yang mengapit, bisa dirancang primer spesifik sehingga mikrosatelit bisa diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Adanya variasi jumlah pengulangan dari Sekuens yang menyebabkan SSR sangat *Polimorfik* sehingga penanda SSR sesuai digunakan dalam mempelajari keragaman genetik suatu populasi dan parental analisis (Zainudin dkk., 2010). Melalui penerapan strategi pemuliaan yang memadukan pendekatan biologi molekuler dapat diidentifikasi sifat-sifat penting yang akan dimuliakan pada tingkat DNA. Analisis molekuler sangat dibutuhkan untuk membantu proses seleksi tanaman secara lebih cepat dan akurat. Pemakaian penanda mikrosatelit dapat meningkatkan ketepatan proses seleksi serta meningkatkan efisiensi waktu seleksi.

Marka ini sangat populer karena memiliki karakter lokus co-dominan dan tingkat variabilitasnya tinggi, mudah diulang dan stabil (Ritschel *et al.* 2004) serta dapat diotomatisasi (Schuelke, 2000). Variabilitas tinggi memungkinkan penghitungan secara akurat pada setiap individu untuk mendeteksi kontribusi paternal pada progeni (Ottewell *et al.*, 2005). Marka mikrosatelit telah terbukti dapat membantu di dalam mendeteksi alel-alel yang diharapkan sedini mungkin dan efisien dalam seleksi progeni (Ritschel *et al.*, 2004). Bentuk pengulangan sekuen DNA sederhana yang berulang-ulang menjadikan marka mikrosatelit sering disebut *simple sequence repeat* (SSR), yang sekarang menjadi salah satu marka paling banyak digunakan secara luas untuk pemetaan genetik, analisis keragaman genetik, tingkat keragaman genetika turunan hasil persilangan, analisis penurunan sifat, dan studi QTL (Luro *et al.*, 2008).

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta aman UIN Suska Riau

Mikrosatelit atau SSR dapat dideteksi dengan pewarnaan menggunakan teknik *Silver Staining PAGE* (pewarnaan perak dengan teknik *Polyacrelamide Gel Electrophoresis*). Kelebihan utama dari teknik SSR adalah pembacaan fragmen DNA lebih akurat (ketelitian sampai 1 bp), lebih otomatis, dan *highthroughput* (marka yang berbeda ukuran fragmen DNA dan warna label dapat diproses bersamaan dalam sekali pendektsian) (Aryantha dkk., 2008).

Mikrosatelit memiliki pengulangan sekuen yang berurutan satu sampai enam nukleotida sebagai Sekuen Konservatif. Mikrosatelit sangat berguna sebagai penciri genetik karena bersifat kodominan, sehingga dapat mendekripsi keragaman alel pada level yang tinggi, mudah dan ekonomis dalam pengaplikasiannya karena menggunakan proses PCR. Mikrosatelit sangat variatif dan mudah diulang, menjadikan sangat ideal untuk pemetaan genom (Mulsanti dkk., 2013).

Perbedaan panjang alel pada lokus biasanya dikarenakan variasi pada jumlah ulangan dan ketidaksepadanan pasangan nukleotida saat kejadian replikasi dipertimbangkan sebagai mekanisme utama yang menyebabkan panjang variasi alel tersebut, bahkan muncul alel-alel baru. Variasi pada lokus-lokus mikrosatelit dapat diuji dengan amplifikasi PCR menggunakan Primer-Primer yang komplementer dengan sekuen unit pengait rangkaian nukleotida berulang seperti ATATATATATATATATAT, serta diikuti dengan Elektroforesis produk PCR (Zainudin dkk., 2010).

26. Ekstraksi DNA

Molekul DNA dalam satuan sel dapat diekstraksi atau diisolasi untuk berbagai macam keperluan seperti amplifikasi dan analisis DNA melalui *Elektroforesis*. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (*lysis*), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padatan seperti selulosa, protein, karbohidrat, dan lemak serta pemurnian DNA (Langga dkk., 2012).

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam proses isolasi DNA antara lain harus menghasilkan DNA tanpa adanya kontaminan seperti protein dan RNA, metodenya harus efektif dan biasanya dilakukan untuk semua spesies,

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta aman iku UIN Suska Riau Stage Planic Universitas Syarif Kasim Riau

metode yang dilakukan tidak boleh mengubah struktur dan fungsi molekul DNA dan metode harus sederhana dan cepat (Surzycki, 2000).

Pemecahan sel (lisis) merupakan tahapan dari isolasi DNA yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel (Langga dkk., 2012). Tahap penghancuran sel atau jaringan memiliki beberapa cara yakni dengan cara fisik seperti menggerus sempel dengan menggunakan moretar dan pastle dalam nitrogen cairan atau dengan menggunakan metode freezing-thawing dan iridiasi. Cara lain yakni dengan menggunakan kimiawi dan enzimatik, penghancuran dengan menggunakan kimiawi seperti penggunaan detergen yang dapat melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destilasi membran sel. Sementara cara enzimetik seperti menggunakan proteinase K seperti untuk melisiskan membran pada sel darah serta mendegradasi protein globular maupun rantai pilipeptida dalam komponen sel (Surzycki, 2000).

Larutan yang biasa digunakan dalam ekstraksi DNA ialah larutan Buffer DNA seperti detergen *Dodecyl Sulphate* (SDS) sebagai tahap pelisisan membran sel. Detergen tersebut selain berperan dalam melisiskan membran sel juga dapat berperan dalam mengurangi aktivitas enzim *nukleusase* yang merupakan enzim pendegradasi DNA (Tenriulo dkk., 2001). Selain digunakan SDS, penggunaan detergen yang lain seperti *Cetyl Trimethylammonium Bromide* (CTAB) juga sering dipakai untuk melisiskan membran sel pada isolasi DNA tambuhan. Penggunaan bufer CTAB sebagai pengganti nitrogen cair untuk ekstraksi dapat menghasilkan produk DNA yang berkualitas yang ditunjukkan oleh pita DNA genom (Ardiana, 2009).

Parameter keberhasilan dalam penggunaan CTAB bergantung pada beberapa hal. Pertama, konsentrasi NaCl harus diatar 1.0 M untuk mencegah pembentukan kompleks CTAB-DNA. Karena jumlah air dalam Pellet sel sulit diprediksi, maka penggunaan CTAB sebagai pemecah larutan harus dengan NaCL dengan konsentrasi minimum 1,4 M. Kedua, ektrak dan larutan sel yang mengandung CTAB harus disimpan pada suhu ruang karena komplek CTAB-DNA bersifat *insoluble* pada suhu dibawah 15°C. Ketiga, penggunaan CTAB dengan kemurnain yang baik akan menentukan kemurnian DNA yang didapatkan dengan sedikit sekali kontaminasi Polisakarida. Penggunaan bufer

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

CTAB sebagai pengganti nitrogen cair untuk ekstraksi dapat menghasilkan produk DNA yang berkualitas (Ardiana, 2009).

Penggunaan buffer CTAB seringkali ditambahakan reagen-reagen lain seperti NaCl, EDTA, Tris-HCl, dan 2-marcaptoethanol. NaCl berfungsi untuk menghilangkan polisakarida sementara 2-marcaptoethanol berfungsi untuk menghilangkan kandungan senyawa polyfanol dalam sel tumbuhan. 2- mercaptoethanol dapat menghilangkan polifenol dalam sel tanaman dengan cara membentuk ikatan-ikatan hydrogen dengan senyawa polifenol perlu dihilangkan agar diperoleh kualitas DNA yang baik. EDTA berfungsi sebagai perusak sel dengan cara mengikat ion magnesium, ion ini berfungsi untuk mempertahankan aktifitas enzim nuklease yang merusak asam nukleat (Tenriulo dkk., 2001).

Konsentrasi dan pH dari Buffer yang digunakan harus berada dalam rentang pH 5-12. Larutan Buffer dengan pH rendah akan mengakibatkan depurifikasi dan mengakibatkan DNA terdistribusi ke fase fenol selama proses deproteinisasi. Sedangkan pH larutan yang tinggi diatas 12 akan mengakibatkan pemisahan untai ganda DNA. Fungsi larutan buffer adalah untuk menjaga struktur DNA selama proses penghancuran dan purifikasi sehingga memudahkan dalam menghilangkan protein dan RNA serta mencegah aktivitas enzim pendegradasi DNA dan mencegah perubahan pada molekul DNA (Sulandri dan Zein, 2003).

Surzycki (2000) untuk mengoptimalkan fungsi larutan buffer, dibutuhkan konsentrasi, pH, kekuatan ion, dan penambahan inhibitor DNase dan detergen. Pada tahap ektaksi DNA, seringkali digunakan *Chelating agent* seperti *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) yang berperan menginaktivasi enzim DNase yang dapat mendenaturasi DNA yang di isolasi, EDTA menginaktivasi enzim nuklease dengan cara mengikat ion magnesium dan kalium yang dibutuhkan sebagai kofaktor enzim DNase (Langga dkk., 2012).

Penggunaan Fenol seringkali digunakan sebagai pendenaturasi protein, yang dapat memisahkan DNA dari protein melalui Sentrifugasi. Selain Fenol, dapat pula digunakan campuran Fenol dan Kloroform atau campuran Fenol, Kloroform, dan Isoamil alkohol untuk mendenaturasi protein. Ekstraksi DNA yang didapat sering kontaminan oleh RNA sehingga RNA dapat dipisahkan dari DNA ekstrak dengan pemberian RNase (Tenriulo dkk., 2001).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Penggunaan *Kloroform Isoamil Alkohol* (CIA) berdasarkan perbedaan sifat pelarut organik. Kloroform tidak dapat bercampur dengan air dan kemampuannya untuk mendeproteinasi berdasarkan kemampuan rantai polipeptida yang terdenaturasi untuk masuk atau termobilisasi ke dalam fase antara kloroform-air. Konsentrasi protein yang tinggi pada fase antara tersebut dapat menyebabkan protein mengalami presipitasi. Sedangkan lipid dan senyawa organik lain akan terpisah pada lapisan Kloroform. Penggunaan *Kloroform Isoamil Alkohol* (CAI) ini memungkinkan untuk didapatkan DNA yang sangat murni, namun dengan ukuran yang terbatas (20.000-50.000 bp). Fungsi penambahan CIA ini adalah untuk menghilangkan kompleks CTAB dengan meningkatkan DNA pada fase aqueous (Tenriulo dkk.,2001). Penggunaan Etanol atau Isopropanol dalam tahap presipitasi akan mempresipitasi DNA pada fase aquoeus sehingga DNA menggumpal membentuk struktur fiber dan terbentuk pellet setelah dilakukan sentrifugasi. Pada tahap pencucian biasanya etanol dicampur dengan ammonium asetat yang bertujuan untuk membentuk memisahkan kontaminan yang tidak diinginkan seperti dNTP dan oligosakarida yan terikat pada asam nukleat (Ratnayani dkk., 2009). Penambahan buffer TE atau ddH₂O ke dalam tabung yang bersisi Pellet agar dapat disimpan di dalam freezer dengan suhu sekitar -20°C dalam waktu yang cukup lama (Ardiana, 2009). Pelarutan kembali dengan Buffer TE juga dapat memisahkan antara RNA yang mempunyai berat molekul lebih rendah dibandingkan DNA sehingga DNA yang didapat tidak terkontaminasi oleh RNA dan DNA sangat stabil ketika disimpan dalam keadaan terpresipitasi pada suhu -20°C (Langga dkk., 2012).

7. Uji Kuantitas DNA

Sulandri dan Zein (2003) ukuran molekul DNA teramat kecil sehingga tidak dapat dilihat kasat mata. Namun demikian Ukuran (panjang-pendeknya), Kuantitas (tingkat kemurnian) molekul DNA dapat diketahui dengan pendugaan yang cukup akurat. Kuantitas DNA diukur melalui Spektrofotometri sinar ultraviolet dengan alat spektrofotometer UV-VIS Recording Spektrofotometer NanoDrop 2000. Sampel diukur dengan volume cuvet 2 µl dan faktor pengenceran 200 ml.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Untuk mendapatkan konsentrasi DNA untai ganda digunakan rumus :

$$\text{Konsentrasi DNA}(\mu\text{g/ml}) = \text{A260} \times 50 \times \text{Faktor Pengenceran}$$

Kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan. Kemurnian larutan DNA tersebut dapat dilihat dengan membagi nilai A260 dengan A280. Molekul DNA dikatakan murni jika rasio kedua nilai tersebut berkisar antara 1,8 – 2,0. Jika nilai rasio lebih kecil dari 1,8 maka masih ada kontaminasi protein atau fenol di dalam larutan. Prinsip kerja dari Spektrofotometer adalah iradiasi sinar ultra violet yang diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan. Penyerapan sinar tersebut oleh nukleotida secara maksimum dicapai pada gelombang 260 nm, sedangkan penyerapan maksimum oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 nm. Apabila kepadatan optik (*optikan density*) biasa disebut OD₂₆₀ sama dengan 1, maka konsentrasi setara dengan 50 μg/ml DNA untai ganda atau 40 μg/ml RNA dan DNA untai tunggal, atau setara dengan 20 μg/ml oligonukleotida untai tunggal.

2.8. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

PCR ditemukan oleh Kary Mullis pada tahun 1985, merupakan prosedur yang efektif untuk amplifikasi sekuen DNA target *in vitro* dan dapat memproleh 10⁶-10⁹ kali jumlah DNA awal. Proses ini mirip dengan proses replikasi DNA dalam sel. Amplifikasi ini dapat menghasilkan lebih dari sejuta kali DNA asli. Protokol asli untuk PCR menggunakan fragmen klenow polimerase I dari *E.coli* untuk mengkatalisis perpanjangan primer yang telah menempel pada DNA target. Enzim ini rusak pada suhu dimana DNA terdenaturasi, sehingga setiap kali sintesis diperlukan penambahan enzim. Masalah ini kemudian dapat diatasi dengan menggantikan dengan enzim yang tahan panas yang diperoleh dari bakteri termofilik *thermus aquaticus* dan enzimnya dinamakan polimerase Taq. Enzim ini tahan pada suhu 95°C. Walaupun sangat efisien, amplifikasi DNA target merupakan proses terbatas. Dibawah kondisi normal, polimerase taq tepat digunakan 25-30 siklus (Sudjadi, 2008).

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Universitas Islam Syarif Kasim Riau

PCR dilakukan dengan menggunakan mesin Thermal cycler (*MyGenie*). Proses PCR meliputi sejumlah siklus untuk amplifikasi suatu siklus tertentu. Setiap siklus terdiri dari tiga tahap berurutan (Sulandri dan Zein, 2003). Siklus amplifikasi terdiri dari: 1). Pada tahap pertama, pada suhu 95-96⁰C, DNA mengalami *denaturasi*, ialah pembelahan unit ganda menjadi unit tunggal. Waktu yang diperlukan untuk proses ini sekitar 2 menit pada suhu 96⁰C. Apabila DNA target mengandung banyak nukleotida G/C, suhu *denaturasi* secara cepat, sedangkan waktu *denatrasii* yang terlalu lama dapat mempengaruhi kerja *taq polymerase* (Sumantri dkk, 2005). Hal ini sangat berpengaruh terhadap keberhasilan proses PCR .

Umumnya sebelum proses siklus PCR dimulai sering sekali dilakukan pre denaturasi selama 3-5 menit, untuk menyakinkan bahwa molekul DNA target yang ingin dilipat gandakan jumlahnya benar-benar denaturasi (Sudjadi, 2008). 2). Langkah kedua, apabila suhu diturunkan antara 36-72⁰C terjadi proses penempelan primer (*annealing*) yang merupakan penempelan primer pada DNA yang telah terbelah pada tempat yang spesifik. Pada saat *annealing* dilakukan tiga kali perubahan suhu yaitu pada suhu 94⁰C yang berlangsung 1 menit, pada suhu 56⁰C yang berlangsung 1 menit, dan pada suhu 72⁰C yang berlangsung 1 menit. Pengulangan pada saat terjadinya proses *annealing* berlangsung selama 35 kali pengulangan. Primer sebaiknya berukuran 18-52 basa, mengandung 50-60% G + C dan T_m(⁰C) terhitung pada kedua primer sebaiknya sama. Semangkin panjang primernya semangkin tinggi temperatur *annealing* (Sulandri dan Zein, 2003). 3). Langkah ketiga, apabila suhu dinaikkan lagi sampai 72⁰C, maka primer dengan bantuan enzim *DNA polymerase* akan membentuk untai DNA sesuai dengan urutan DNA yang terbelah, proses ini disebut elongasi (*extension*). Langkah ketiga pada proses *elongasi* terjadi 2 kali perubahan suhu yaitu pada suhu 72⁰C berlangsung selama 7 menit dan pada suhu 10⁰C berlangsung selama 5 menit (Himawan dkk, 2010). Umumnya setelah proses siklus PCR selesai, ditambah proses *elongasi* selama 5-10 menit pada temperatur 72⁰C agar semua hasil PCR berbentuk untai ganda. Kecepatan penyusutan nukleotida diperkirakan antara 35-100 nukleotida perdetik, tergantung buffer, pH, konsentrasi garam, dan molekul DNA target (Pharmawati, 2009).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Ketiga tahapan tersebut merupakan satu siklus thermal.Jumlah fragmen DNA yang diamplifikasi adalah 2^n dimana n adalah banyaknya siklus thermal. Rumus tersebut berasal dari penambahan jumlah keping (copy) DNA secara eksponensial, dimana keping DNA yang terbentuk menjadi catatan bagi reaksi selanjutnya. Banyaknya siklus yang dilakukan tergantung pada banyaknya produk PCR (Sulandri dan Zein, 2003).

Sudjadi, (2008) umumnya larutan yang sering digunakan dalam proses PCR adalah 1). Enzim, enzim pada umumnya enzim yang digunakan adalah *taq polymerase* yang diisolasi dari *Mikroorganisme Thermus Aquaticus* yang dapat tetap stabil pada tempeatur tinggi. Jenis ini dapat optimum pada temperatur tinggi, sehingga membuat mikroorganisme ini menjadi pilihan yang ideal. Aktivitas enzim tersebut mempunyai waktu paruh sekitar 2 jam 40 menit pada temperatur denaturasi.Selain dapat tetap stabil pada temperatur tinggi, aktivitas *taq polymerase* optimal pada pH 8,2-9,0 dalam 10 mM tris dan diukur pada temperatur 25⁰C. kinerjanya akan menurun pada pH terlalu tinggi atau terlalu rendah. Penyimpanan *Taq polymerase* dilakukan pada temperatur -20⁰C. Pada waktu digunakan dalam membuat campuran larutan untuk membuat proses PCR, diusahakan komponen ini dikeluarkan terakhir dan segera disimpan kembali ke dalam freezer. Karena komponen ini merupakan yang paling mahal, maka sebaiknya *taq polymerase* yang akan digunakan sebaiknya dibagi menjadi beberapa tabung ependorf 0,2 ml dalam volume kecil. Hal ini dimaksudkan agar setiap penggunaan enzim tidak perlu mengeluarkan semua stock yang ada. Selain itu juga untuk menghindari terjadinya kontaminasi yang dapat merusak larutan dalam jumlah banyak.

2). *Deoxynucleoside triphosphates* (dNPT), pada umumnya dNPT dijual dalam bentuk freezw-dried atau larutan. Reagen ini stabil pad temperature -20⁰C untuk beberapa bulan. Jika dalam bentuk freezw-dried, reagent harus dilarutkan dengan KOH sebelum digunakan.Namun demikian beberapa perusahaan seperti Pharmacia, Sigma, dan Boehringer Manheim mengeluarkan produknya dalam bentuk larutan dengan komsentrasi tertentu. Konsentrasi dNTP dalam campuran larutan PCR adalah 0,2 Mm. kemudian larutan dNTP tersebut, sebaiknya dibagi

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

menjadi beberapa tabung ependorf 0,2 ml dalam volume kecil dan disimpan pada freezer -20°C.

3). Buffer PCR, Komposisi buffer dapat dilihat pada label yang dikelurkan oleh perusahaan-perusahaan pembuat. Pada prinsipnya komponen yang terdapat dalam larutan terdiri dari 10 mM tris (pH 8), 50 mM KCL, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% gelatin, 0,01 NP40, dan 0,1% Triton x-100. Konsentrasi larutan pada umumnya 10x dan penyimpanan dilakukan pada temperature -20°C. Beberapa perusahaan membuat MgCl₂ secara terpisah. Buffer PCR dijual satu paket bersama dengan taq polymerase. Konsentrasi larutan buffer dalam campuran larutan PCR adalah 1x. Penyimpanan dilakukan didalam freeze pada temperature -20°C. 4). Primer, Oligonukleotida (primer) pada umumnya dibuat dengan panjang 10-30 basa dan dipasarkan dalam bentuk freeze-dried atau larutan (solution). Jika dalam bentuk freeze-dried, maka sebelum digunakan larutan dengan konsentrasi tertentu dengan menggunakan air milli Q. Dalam melarutkan primer harus diperhatikan petunjuk yang tertera dalam brosur dan petunjuk konsentrasi pada tube. Sedangkan larutan primer yang siap digunakan untuk PCR pada umumnya adalah 2,5 pmol/μl kemudian dibagi dalam tabung ependorf 0,2 ml dalam volum kecil dan disimpan pada temperature 20°C. 5). Air, Air yang berkualitas merupakan syarat bagi berjalannya suatu laboratorium. air beku yang berupa air tanah maupun air PAM harus memenuhi standar kualitas yang tinggi. Hal ini sangat penting jika laboratorium memiliki pralatan yang membuat berbagai jenis air karena air beku yang buruk akan mempercepat kerusakan dari alat pengolahan air, seperti alat distilasi, alat deionisasi air, dan alat difurifikasi air.

29. *Elektroforesis Gel Polyacrelamide*

Elektroforesis adalah migrasi dari fragmen DNA di dalam gel yang direndam dalam larutan penyanga (buffer). Fragmen DNA yang lebih kecil berat molekulnya akan berjalan lebih cepat dari molekul DNA didalam gel mengikuti arus listrik dari kutup negatif (-) menuju kutup positif (+). Semakin besar tegangan arus listrik, perjalanan molekul DNA akan semakin cepat, demikian sebaiknya (Sulandri dan Zein, 2003).

© Hak Cipta Istimewa UIN Sultan Syarif Kasim Suska Riau

State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Sudjadi (2008) protein dapat dipisahkan berdasarkan ukuran massanya dengan elektroforesis gel poliakrilamid dengan sistem tegak. Protein kecil akan bergerak cepat melewati gel, sedangkan protein besar bergerak lebih lambat. *Elektroforesis Gel Polyacrelamide* menunjukkan tiga keunggulan dari pada gel agarose yaitu: 1). Kekuatan pemisahannya sangat besar sampai 10 bp sehingga dapat memisahkan satu pasang basa dengan 500 pasang basa. 2). Sistem ini dapat menampung jumlah sampai lebih besar dari pada agarose. 3). DNA yang diperoleh kembali dari gel poliakrilamid sangat murni.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

III. MATERI DAN METODE

31. Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di *Research and Development* (R&D) PT. Arara Abadi pada Unit Leboratorium Bioteknologi khususnya di Laboratorium Molekuler Genetik (DNA) yang berlokasi di Desa Pinang Sebatang, Kelurahan Perawang, Kecamatan Tualang, Kabupaten Siak. Penelitian dilaksanakan pada Bulan November 2017 hingga Januari 2018.

32. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ialah: *Refrigerated Microcentrifuge* (High Speed), *General Centrifuge*, *Shaking Water Bath*, *Autoclave*, *Rotery Mixer*, *Aspirator*, *Mortar*, *Bead Ruptor*, *Incubator*, *Vacum Desikator*, *Rotator*, *Spektrofotometer* (*Nano Drop*), *Mesin PCR*, Vertikal *Arcylamide Gel Elektrophoresis Polyacrilamide*, *Power Supply*, *Well-Forming Comb* (sisir pembentuk sumur), *Stainless Steel Tray* (ukuran 32x28 cm), IPC ukuran 32x38 cm, tray, geldoc Bio-rad, timbangan digital, *vortex*, Kotak penyimpan sample, Rak Tabung Ependorf, Tabung Ependorf 1,5 ml, Tabung 10 ml, Pipet (0,5-10 μ l, 2-20 μ l, 10-100 μ l, 20-200 μ l dan 200-1000 μ l), Tip Pipet (Warna Biru, Kuning dan Putih), Gunting dan Pinset, Kamera digital dan Computer atau laptop yang memiliki aplikasi software NanoDrop, QuantityOne dan Cervus, Gen Alex, dan Parfex.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah sampel DNA Hasil Ekstraksi (*DNA ladder*), ddH₂O steril, EDTA 0,5M,PVP 10%,SDS Buffer 5%,KAC 5M,CTAB 10%,Chaloroform: Isoamil (24:1), Tris HCl 1M, NaCl 5M, EtOH, β -marcaptoethanol 100%, Tris EDTA, Enzim *Taq DNA polymerase*, PrimerSSR untuk *Eucalyptus pellita*, *Deoxynucleoside triphosphates* (dNTP), Buffer PCR, MgCl₂, DMSD, *Louding Dye*, 6% *Acrylamide*, 1 x buffer TBE, 20% APS, TEMED, AgNO₃, NaOH, Na₂CO₃, H₂O, 5x Firepool master mix ready to load, 10 x Buffer Taq DNA (M188J). Daftar sampel yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1.Daftar sampel yang digunakan dalam penelitian.

Tetua Persilangan	Keturunan F1 (benih)
A x B	10
C x D	10
E x F	10
C x B	10
E x F	10
Total	50

Tabel 3.1 menjelaskan bahan yang digunakan antara lain adalah 5 kelompok persilangan terkendali *Eucalyptus pellita*. Masing-masing kelompok persilangan terdiri dari 1 tetua jantan, 1 tetua betina, dan 10 benih keturunan F1, sehingga total sampel yang digunakan berjumlah 60.

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian menggunakan metode deskriptif yang bersifat analisis identifikasi. Sampel diambil dari benih F1 *Eucalyptus pellita* hasil kontrol polinasi. Benih yang dijadikan sampel merupakan hasil kontrol polinasi yang sudah dilakukan sebelumnya. Benih hasil kontrol polinasi akan diketahui polinasi sukses, kontaminasi polen, kontaminasi benih dan inbreeding dengan menggunakan marka SSR (*Simple Sequence Repeats*). Bagan alur penelitian dapat dilihat lampiran 1.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel

Sampel berasal dari benih hasil kontrol polinasi yang telah diambil dari Kebun Kontrol Polinasi sebanyak 5 persilangan yaitu Persilangan A x B, Persilangan C x D, Persilangan E x F, Persilangan C x B dan Persilangan C x G. Benih diambil dan disimpan didalam freezer agar dapat menghambat pertumbuhan perkecambahan dan dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Benih juga dikoleksi dengan ketentuan benih tidak keropos, ukuran benih dan mutu benih. Mutu benih secara fisik dapat dilihat dari penampilannya seperti kebernasaran benih, warna, dan campuran fisik. Selain mutu fisik, terdapat mutu genetik dan mutu fisiologi. Mutu genetik menyangkut kemurnian dan keunggulan

© Hak Cipta amanah Universitas Syarif Kasim Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

varietas. Mutu fisiologi menyangkut daya tumbuh benih, kadar air, dan vigor benih (Ihwan dan Putra, 2016).

Pengambilan secara acak sebanyak ±10 benih setiap persilangan yang merupakan hasil kontrol polinasi akan mewakili berbagai macam benih dalam satu macam hasil kontrol polinasi dan benih disemaikan terlebih dahulu didalam botol yang berbeda-beda disetiap persilangan dan diberi label. Setelah 21 hari benih sudah menjadi tumbuhan baru dan daun-daun yang muda siap dijadikan sampel untuk ekstraksi. Sampel untuk Tetua dari masing-masing persilangan telah disediakan oleh perusahaan yang merupakan Database dari Klon tanaman *Eucalyptus pellita*. Sampel Tetua jantan dan Tetua betina akan dijadikan kontrol atau pembanding benih F1 hasil kontrol polinasi dari setiap persilangan.

3.4.2. Ekstraksi atau Isolasi DNA

Protokol yang digunakan merupakan prosedur ekstraksi berbasis CTAB dengan menggunakan metode Doyle *and* Doyle 1990 dengan Modifikasi (Nurkamila dan Pharmawati, 2014). Sampel yang dijadikan untuk ekstraksi ialah daun-daun muda yang sebelumnya sudah ditimbang sebanyak 1 gr dan dimasukkan dimasing-masing tube serta diberi label. Sebanyak 800 µl buffer ekstraksi dimasukkan kedalam tube bersamaan dengan 2 bead stainless steel. Komponen Buffer Ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 3.2. Sampel hancurkan menggunakan mesin bead ruptors selama 30 detik. Penambahan RNase sebanyak 80 µl kedalam tube dan vortex menggunakan *Whirli Mixer*. Inkubasi dilakukan pada suhu 65°C selama 30 menit dan pengaduk dilakukan sekitar 5 menit sekali dalam proses inkubasi. Penambahan Cloroform 800 µl didalam yang dilakukan dengan Fume Hood dan Rotator selama 10 menit. Sentrifugasi dilakukan selama 5 menit pada kecepatan 14.000 rpm. Pengambilan supernatant sebanyak 700 µl dan kemudian dipindahkan ketube-tube baru dengan penambahan 700 µl Chloroform Isoamil didalam ruangannya Fume Hood. Supernatant kembali dimasukkan kedalam mesin Rotator selama 10 menit. Sentrifugasi kembali dilakukan selama 5 menit pada kecepatan 14.000 rpm dan 650 µl supernatant kembali dipindahkan ketube-tube baru dan penambahan 650 µl isopropanol dingin. Sentrifugasi dilakukan kembali dengan kecepatan yang sama pada

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Universitas Islam Sultan Syarif Kasim Riau

kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Pencucian DNA pellet menggunakan EtOH 76 % sebanyak 500 μ l yang dilakukan 2 kali pencucian. Pengeringan DNA pellet menggunakan desikator selama 10 menit hingga DNA pellet benar-benar kering. penambahan sebanyak 150 μ l TE Buffer lalu inkubasi selama 30 menit dengan suhu 65°C merupakan langkah akhir dari ekstraksi DNA. Penyimpanan DNA didalam freezer dilakukan agar DNA dapat disimpan lebih lama dalam keadaan masih baik (Ardiana, 2009).

Tabel 3.2. Komponen Buffer Ekstraksi.

Komponen	1 Sampel (μ l)
Steril H ₂ O	362,50
1 M Tris HCl pH 8.0	125,00
NaCl	350,00
0,5 M EDTA	25,00
10% PVP	125,00
10% CTAB	250,00
100% 2-marcaptoethanol	12,50
Total	1.250,00

3.4.3. Uji Kuantitas DNA

Sulandari dan Zein (2003) Kuantitas DNA diukur melalui spektrofotometri sinar ultra-violet dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS Recording Spektrofotometer *NanoDrop 2000*. Sampel diukur dengan volume cuvet 2 μ l dan faktor pengenceran. Volume akhir pengenceran yang diinginkan ialah 200ml. Untuk mendapatkan konsentrasi DNA untai ganda digunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi DNA}(\text{ug/ml}) = \text{A260} \times \text{Faktor Pengenceran}$$

DNA yang didapat dari hasil ekstraksi yang telah ditambahkan TE buffer dikeluarkan dari dalam freezer. Leaptop dan mesin Spektrofotometer *NanoDrop 2000* pastikan dalam terhubung dengan baik. Blank TE dilakukan dengan meneteskan TE buffer didalam cuvette kemudian tekan tombol F3 di keyboard dan untuk uji kuanlitas DNA dilakukan dengan cara memipet 2 μ l DNA sampel teteskan kedalam cuvette, tekan tombol F5 di keyboard. Sampel yang diuji akan terlihat jumlah konsentrasi awal, grafik kandungan garam pada panjang gelombang 230nm, grafik kandungan protein pada panjang gelombnag 280 dan

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Stata Universitas Syarif Kasim Riau

grafik kandungan baselin pada panjang gelombang 320nm. Rasio DNA pada panjang gelombang 260/280 memiliki angka 1,7-2,1 memiliki tingkat kemurnian DNA yang baik. Sulandri dan Zein, (2003) menyatakan Molekul DNA murni jika rasio DNA pada panjang gelombang 260/280 berkisar antara 1,7 – 2,1. Jika nilai rasio lebih kecil dari 1,7 maka masih ada kontaminasi protein atau fenol di dalam larutan sedangkan rasio DNA 260/230 menunjukkan kontaminasi bahan kimia yang digunakan dalam ekstraksi DNA sangat rendah memiliki angka dibawah angka $\leq 9,00$.

3.4.4. Uji Kualitas DNA

Uji kualitas DNA diuji dengan menggunakan gel agarose dan selanjutnya dielektroforesis menggunakan alat *Power Supply* selama 45 menit. Agarose yang digunakan untuk uji kualitas DNA ialah 0,8% agarose. Banyaknya gel agarose yang diperlukan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{0.8}{100} \times \text{Volume}$$

Etidium Bromida sebanyak ($0.75\mu\text{l}$, $1.5\mu\text{l}$, $3\mu\text{l}$, dan $6\mu\text{l}$) ditambahkan kedalam komponen gel agarose tergantung volume agaros yang dibuat. Misalkan, untuk pembuatan gel agaros 0,8% dengan volume 200 mL. Gel agarose 8% sebanyak 6 g dicampurkan dengan 200mL 1x TAE kedalam gelas ukur yang dipanaskan menggunakan microwife hingga agarose benar-benar larut. Etidium bromide sebanyak $6\mu\text{l}$ dicampurkan kedalam larutan gel agarose, pengaduk dilakukan hingga etidium bromide merata. Penuangan gel kedalam tray (cetakan gel agarose) dan pemasangan comb atau siir dilakukan selama ± 30 menit atau hingga mengeras. Gel diletakkan kedalam tank elektroforesis yang telah terisi 1 x TAE. Sebagai pembanding digunakan λ DNA *ladder* yang diletakkan pada sumur pertama kemudian elektroforesis dijalankan dengan 75 watt, suhu 50°C dan dengan waktu ± 60 menit atau sampai DNA bermigrasi/bergerak lebih kurang 1 cm di atas batas bawah (Ardiana, 2009). Pengambilan gambar menggunakan alat Gel Doc Bio-Rad dilakukan setelah Gel selesai dielektroforesis. Komponen sampel dapat dilihat pada Tabel 3.3.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Universitas Islam Sultan Syarif Kasim Riau

Tabel 3.3. Komponen Sampel.

Komponen	Volume (μ l)
Sampel DNA	1,2
Loading dye	3
H_2O	8
Total	12,2

3.4.5. Dilusi dan Polimerase Chain Reaction (PCR)

Dilusi atau pengenceran dilakukan agar tersedianya DNA stok yang terjaga kualitas dan kuantitasnya. Dilusi atau pengenceran dilakukan dengan cara penambahan tris-EDTA (TE) atau H_2O . Dilusi ini dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang seragam dari semua sampel yang di pakai untuk proses PCR. Perhitungan dilusi menggunakan rumus:

$$M1 \cdot V1 : M2 \cdot V2$$

Dimana M1: Konsentrasi awal, V1: Volume awal, M2: Konsentrasi akhir, V2: Volume akhir (Sulandri dan Zein, 2003).

DNA yang sudah di uji kuantitas menggunakan mesin NanoDrop akan tertera data berupa konsentrasi awal, rasio 260, rasio 280, rasio 260/280, rasio 230/260 serta grafik kuantitas DNA. Data-data sampel DNA tersebut, di salin ke software Microsoft axcell. Untuk dilusi volume akhir ditetapkan sebanyak 200 μ l dan konsentrasi akhir yang diinginkan ialah 5.0 ng/ μ l. DNA stok dan TE sebanyak yang dihitung dimasukkan kedalam plate-plate kosong yang sudah disediakan. DNA hasil didilusi akan digunakan untuk tahap-tahap analisis benih F1 selanjutnya.

Taq yang di pakai atau yang diuji ialah 5x Firepool master mix ready to load. Sampel DNA dan primer yang digunakan harus seragam dalam sekali proses PCR dan pemberian label dilakukan agar sampel tidak tertukar. Sampel DNA yang digunakan ialah DNA yang sudah didilusi. Komponen reaksi 5x Firepool master mix ready to load dapat dilihat pada Tabel 3.4.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Universitas Islam Sultan Syarif Kasim Riau

Tabel 3.4. 5x Firepool Master Mix Ready To Load.

Reaksi	Volume (μ l)
H_2O	3,5
5x firepool master mix	2,0
Primer	0,5
DNA	4
Total	10,0

Primer-primer yang diuji sebelumnya sudah dijadikan unggulan untuk penanda SSR tanaman *Eucalyptus pellita*. Untuk pendugaan awal, digunakan primer-primer unggulan dan sering digunakan untuk penanda tanaman *Eucalyptus* yaitu Primer EU36, Primer EU41, Primer EU42, dan Primer EU53. Adapun Kode dan Sequen dari 4 pasang Primer yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.5.

Tabel 3.5. Kode dan Sequen dari 4 Pasang Primer yang digunakan dalam satu Peneitian.

Primer	5'-3' Forward Primer	5'-3' Reverse Primer
EU36	CAAGACATGCATTCGTAGT	ACTCTTGATGTGACGAGACA
EU41	GGTTGTTTCATCTTTCCATG	AGCGAAGGCAATGTGTTT
EU42	AAAGTATCTCACGCTTCAT	TCCCAATCATGATCTTCAG
EU53	CTTCGCTCACATCAGTCTC	CAATCGAGTCAATAACATTG

PCR dilakukan dengan menggunakan mesin Thermal cycler (*MyGenie*). Proses PCR meliputi sejumlah siklus untuk amplifikasi suatu sikuen DNA tertetu. Setiap siklus amplifikasi terdiri atas tiga tahap berututan (Sudjadi, 2008).

Langkah pertama, pada suhu 96^0C , DNA mengalami *denaturasi*, ialah pembelahan unit ganda menjadi unit tunggal. Waktu yang diperlukan untuk proses ini sekitar 2 menit pada suhu 96^0C .

Langkah kedua, *annealing* dilakukan tiga kali perubahan suhu yaitu pada suhu 94^0C yang berlangsung 1 menit, pada suhu 56^0C yang berlangsung 1 menit, dan pada suhu 72^0C yang berlangsung 1 menit. Pengulangan pada saat terjadinya proses *annealing* berlangsung selama 35 kali pengulangan.

Langkah ketiga, pada proses *elongasi* terjadi 2 kali perubahan suhu yaitu pada suhu 72^0C berlangsung selama 7 menit dan final extension pada suhu 10^0C berlangsung selama 5 menit (Himawan dkk, 2010).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta milik UIN Suska Riau

Keberhasilan hasil PCR diuji dengan menggunakan gel agarose 3% dan selanjutnya akan dielektroforesis menggunakan mesin Power Supply selama ± 45 menit. Gel agarose yang digunakan dapat dihitung dengan rumus:

$$\frac{3}{100} \times \text{Volume}$$

Komponen, cara pembuatan gel agarose 3% dan proses elektroforesis sama dengan pembuatan gel agarose 0,8% pada saat uji kualitas DNA. Komponen Sampel DNA yang digunakan untuk Elektroforesis dapat dilihat pada Tabel 3.6.

Tabel 3.6. Sampel DNA untuk Elektroforesis.

Komponen	Volume (μl)
DNA produk PCR	3
Loading dye for agarose	2
DNA marker 50 bp	5
6x Loading dye for marker agarose	1
Total	11

3.4.6. Polyacrelamide Gel Elektroforesis (PAGE) dan Silver Staining

DNA mikrosatelit produk PCR dipisahkan dengan teknik *elektroforesis gel polyacrelamide*. Gel Acrelame dibuat dengan gless plate dan IPC plate dalam kondisi bersih. Gless plate diusapkan secara merata dengan Bind silane, sedangkan IPC plate diusap dengan Repel silane. Glass plate, IPC plate, Spaser dan Klem jika terpasang dengan baik akan membentuk cetakan Gel Akrilamide. Gel Akrilamide dimasukan kedalam cetakan yang sudah dibuat dan susun jadi dalam keadaan terbalik untuk membuat cetakan sumur. Gel Akrilamide akan mengeras selama 30-45 menit dan siap digunakan proses elektroforesis. Komponen pembuatan Gel Akrilamide dapat dilihat pada Tabel 3.7.

Tabel 3.7. Komponen Pembuatan Gel Akrilamide

Reaksi	Volume (μl)
Acrelame 6%	20.000
APS	60
TAMED	20
Total	2.080

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Gel Acrelamide disusun pada tengki elektroforesis yang berisi 1 x TBE dimana untuk bagian atas tangki berisi ± 800 ml dan bagian bawah ± 350ml. Gel dan sampel dinaturasikan awal selama 8-10 menit didalam oven. Pemasangan comb/ sisir dilakukan sebagai tempat meletakkan sampel dalam gel. Pembuatan marker yang terdiri dari campuran 1,2 µl DNA marker, 9 µl TE dan 9 µl loading dye for PAGE disisipkan pada sampel DNA PAGE. Sampel DNA PAGE sebanyak 6µl dimasukkan kedalam cetakan sumur yang telah dibuat dengan disertakan marker dibagian tepi gel dan Elektroforesis dilakukan menggunakan alat Power Suplay dan Tenki Elektroforesis yang dilakukan selama 1 jam 30 menit pada arus listrik konstan 75 A atau sampai pewarna *bromthymol blue* mencapai bagian bawah gel (Sulandri dan Zein, 2003). Elektroforesis dilakukan dengan cara vertikal (Sudjadi, 2008). Komponen pembuatan DNA PAGE dapat dilihat pada Tabel 3.8.

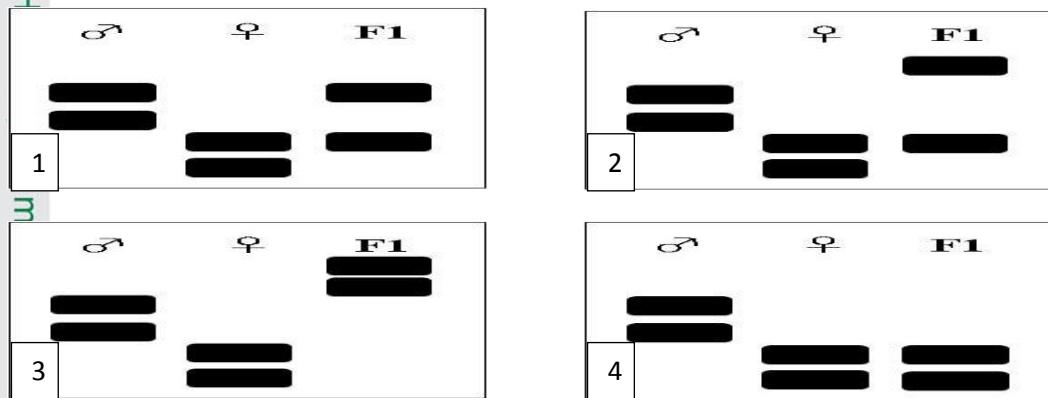
Tabel 3.8. Komponen Pembuatan 2x DNA PAGE

Reaksi	Volume 2x DNA PAGE (µl)
DNA Produk PCR	1,2
Size Standart 300bp	6
Loading Dye	6
Total	13,2

Takdir dkk (2009) menyatakan pewarnaan dilakukan dengan metode pewarnaan perak (*Silver Staining*) dengan cara perendaman. Pewarnaan terdiri dari 2 larutan yaitu larutan A yaitu AgNO₃ (*Silver Nitrat*) sebanyak 1,5 g yang dilarutkan ke dalam air sebanyak 1,5 liter dan larutan B yaitu NaOH sebanyak 30,0 g + 0,6 g Na₂CO₃ yang dilarutkan kedalam air sebanyak 1,5 liter. Estimasi hasil elektroforesis menggunakan gel akrilamide dapat dilihat pada Gambar 3.1.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.



Gambar 3.1. Estimasi Hasil Elektroforesis; 1). Tingkat kesuksesan Hibrid; apabila alel keturunan F1 mempunyai alel genotip yang berasal dari kedua tetua atau kesuksesan hibrid memiliki persamaan genotip dengan kontrol polinasi. 2). Kontaminasi polen; Apabila keturunan F1 mempunyai salah satu alel genotip yang berasal dari tetua betinanya saja, sedangkan alel yang lain berasal dari tetua berbeda. 3). Kontaminasi benih; Apabila keturunan F1 mempunyai salah satu alel genotip yang berasal dari tetua betina yang berbeda, atau kedua alel genotip berasal dari tetua berbeda. 4). Inbeeding; Apabila keturunan F1 mempunyai kedua alele genotip dari tetua betina.

3.5. Analisis Data

Pengambilan gambar hasil *Elektroforesis* yang telah diwarnai dengan pewarnaan perak (*Silver Staining*) menggunakan kamera. Pengubahan ekstensi pada gambar .JPG menjadi .TIF menggunakan software Irvan View. Skoring data berdasarkan posisi relatif dari pita-pita dengan bantuan software Quantity One versi 4.6.2 (Butler, 2007). Jumlah sampel (N), Jumlah alel dalam primer (K), Heterosigositas teramat (Ho), Heterozigositas harapan (He), Kandungan informasi polimorfisme (PIC), Probabilitas pengecualian tetua jantan hanya satu tetua yang genotipe (Pfirst), Probabilitas pengecualian tetua jantan saat kedua tetua genotipe (Psecont) dihitung dengan menggunakan software Cervus versi 3.0.7. (Santoso dkk, 2014 dan Pancoro dkk, 2016) dan Indeks informasi (I) dan Kekuatan pengecualian (Q) dihitung menggunakan software Gen Alex versi 6.5. Pengelompokan tingkat kesuksesan hibrid, kontaminasi polen, kontaminasi benih dan inbreeding ditentukan dengan membandingkan pola genotipe alel tetua dengan keturunan F1 menggunakan software Parfex_V1_0_E03.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

V. PENUTUP**51. Kesimpulan**

Analisa genetik benih F1 *Eucalyptus pellita* hasil kontrol polinasi menggunakan marka SSR (*Simpel Sequence Repeats*) menunjukkan tingkat keberhasilan Hibrid, Kontaminasi Polen, Kontaminasi Benih, dan Inbreeding pada persilangan. Persentase pada persilangan A x B yaitu untuk benih Hibrid 100 %, Kontaminasi Polen 0 %, Kontaminasi Benih 0 %, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 0 %. Persentase pada persilangan C x D yaitu untuk benih Hibrid 0 %, Kontaminasi Polen 30%, Kontaminasi Benih 70%, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 0 %. Persentase pada persilangan E x F yaitu untuk benih Hibrid 40 %, Kontaminasi Polen 60%, Kontaminasi Benih 0 %, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 0 %. Persentase persilangan C x B yaitu untuk benih Hibrid 50 %, Kontaminasi Polen 10%, Kontaminasi Benih 30 %, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 10 %. Persentase persilangan C x G yaitu untuk benih Hibrid 50 %, Kontaminasi Polen 30%, Kontaminasi Benih 20 %, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 0 %. Persentase keseluruhan 5 persilangan dengan jumlah 50 sampel benih F1 adalah benih Hibrid 48 %, Kontaminasi Polen 26 %, Kontaminasi Benih 24 %, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 2 %.

52. Saran

Persentase keseluruhan 5 persilangan dengan jumlah 50 sampel benih F1 adalah benih Hibrid 48 %, Kontaminasi Polen 26 %, Kontaminasi Benih 24 %, Inbreeding 0 % dan sampel tidak teridentifikasi 2 %, menunjukkan tingginya tingkat kontaminasi terhadap benih hasil polinasi. Peneliti menyarankan agar memperhatikan tingkat kontaminasi benih dengan mengurangi resiko-resiko terjadinya kontaminasi benih.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

DAFTAR PUSTAKA

- Adinugraha, H. A., S. Pudjiono dan D. Yudsitiro. 2007. Pertumbuhan Stek Pucuk dari Tunas Hasil Pemangkasan Semai Jenis *Eucalyptus pellita* F. Muell di Persemaian. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*,1 (1): 1- 6.
- Ardiana, D. W. 2009. Teknik Isolasi DNA Genom Tanaman Pepaya dan Jeruk dengan Menggunakan Modifikasi Bufer CTAB. *Buletin Teknik Pertanian*, 14 (1): 12-16.
- Anyantha, N. P., Y. Mulyani dan R. Ariffudin. 2008. Penanda Molekul DNA Mikrosatelit Untuk Karakterisasi Bibit Jamur Kuping (*Auricularia Polytricha* Mont. Sacc.). *Jurnal Matematika Dan Sains*, 13 (1): 7-16.
- Botstein, D., R. L. White., M. Skolnick and Ronald W. Davis. 1990. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am JHum Genet*, 32: 314-331.
- Burczyk, J and D. Prat. 1997. Male Reproductive Success in *Pseudotsugamenziesii* (Mirb.) Franco: The Effects of Spatial Structure and Flowering Characteristics. *Heredity*, 79: 638-647.
- Butler J. M. 2007. Short Tandem Repeat Typing Technologies Used in Human Identity Testing. *Supplement*. 43(2).
- Darjanto dan S. Satifa. 1990. *Pengetahuan Dasar Biologi Bunga dan Teknik Penyerbukan Silang Buatan*. Gramedia. Jakarta. 159 hal.
- Daryono, B.S., C. A. Koeswardani dan S. Sunarti. 2012. Karakter Kromosom Ekaliptus (*Eucalyptus pellita* F. Muell.) Hasil Induksi Ekstrak Etanolik Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.). *Seminar Nasional Agroforestri III*. 195-199.
- Doran, J.C and J. W. Turnbull. 1997. *Australian Trees and Shurbs Species for Land Rehabilitation and Farm Planting In The Tropic*. Australian Center for International Agriculture Research (ACIAR). Australia. 394 hal.
- Hartati, S., A. Budiyono dan O. Cahyono. 2014. Peningkatan Ragam Genetik Anggrek *Dendrobium* spp Melalui Hibridisasi Untuk Mendukung Perkembangan anggrek di Indonesia. *Caraka Tani*, 29 (2): 101-105.
- Hartati., Sumadi., Subandriyo dan T. Hartatik. 2010. Keragaman Morfologi dan Diferensiasi Genetik Sapi *Peranakan Ongole* di Peternakan Rakyat. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 15 (1): 72-80.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

- Himawan A., Y. B. Sumardiyono., S. Somowiyarjo., Y. A. Trisyono dan A. Beattie. 2010. Deteksi Menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) *Candidatus Liberibacter Asiaticus*, Penyebab Huanglongbing pada Jeruk Siem dengan Beberapa Tipe Gejala pada Daun. *Jurnal HPT Tropika*, 10 (2): 178 – 18.
- Ihwah, A dan H. M. Putra. 2016. Analisis Pengendalian Produk Akhir Benih Jagung Manis Ditinjau dari Uji Kadar Air, Refraksi, dan Daya Tumbuh. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 17 (2): 139-148.
- Irmayanti, L., I. Z. Siregar dan P. Pamuongkas. 2015. Keragaman Genetik Mundi *Malia azadarach L.* di Jawa Barat dengan Penanda Mikrosatelit. *Jurnal Silvikultur Tropis*, 06 (1): 1-8.
- Irwanto.2006. Penilaian Kesehatan Hutan Tegakan Jati (*Tectona grandis*) dan *Eucalyptus* (*Eucalyptus pelita*) Pada Kawasan Hutan Wanagama I. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Kalinowski, S.T. 2002. How Many Alleles per Locus Should be Used Toestimate Genetic Distances. *Heredity*, 88: 62–65.
- Kirst, M., C. M. Cordeiro., G. D. S. P. Rezende and D. Grattapaglia. 2005. Power of Microsatellite Markers for Fingerprinting and Parentage Analysis in *Eucalyptus grandis* Breeding Populations. *Jurnal Heredity*. 96 (2): 161–166.
- Kosmiatin, M dan I. Mariska. 2005. Kultur Embrio dan Penggandaan Kromosom Hasil Persilangan Kacang Hijau dan Kacang Hitam. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 10 (1): 24-34.
- Langga F. I., M. Restu dan T. Kuswinanti. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex Cofassus Reinw*) Serta Analisis Keragaman Genetik dengan Teknik RAPD-PCR. *Jurnal Sains & Teknologi*, 12 (3): 265–276.
- Lina, M,R., B. Bela dan Dadang. 2004. Uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk Deteksi Virus Hepatitis C. *Risalah Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi*.
- Luro, F. L., G. Costantino., J. Terol., X. Argout., T. Allario, P. Wincker., M. Talon., P. Ollitrault and R. Morillon. 2008. Transferability of the EST-SSRs Developed on Nules Clementine (*Citrus clementina* Hort ex Tan) to Other, *Citrus* Species and Their Fectiveness for Genetic Mapping. *BMC Genomics*, 9: 287.

- Mulsanti I. W., M. Surahman., S. Wahyunidan D. W. Utami. 2013. Identifikasi Galur Tetua Padi Hibrida Dengan Marka SSR Spesifik dan Pemanfaatannya Dalam Uji Kemurnian Benih. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 32 (1): 1-8.
- Mulyaningsih, E.S., H. Aswidinnoor dan D. Sopandie. 2010. Transformasi Padi Indica Kultivar Batutegi dan Kasalath dengan Gen Regulator HD-Zip untuk Perakitan Varietas Toleran Kekeringan. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 38 (1) : 1 – 7.
- Nababan, D. 2009. Penggunaan Hormon IBA Terhadap Pertumbuhan Stek *Eucalyptus* Klon IND 48. *Skripsi. Jurusan Budidaya Hutan*. Universitas Sumatera Utara.
- Nurkamilia, U. S dan M. Pharmawati. 2014. Ekstraksi DNA dari Herbarium Anggek. *Jurnal Simbiosis*, 2 (1): 135-146.
- Orwa, C., A. Mutua., R. Kindt., R. Jamnadass and S. Anthony. 2009. Agroforestry Data base:a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>).
- Ottewell. K. M., S. C. Donnellan., G. F. Moran and D. C. Paton. 2005. Multiplexed Microsatellite Markers for the Genetic Analysis of *Eucalyptus leucoxylon* (Myrtaceae) and Their Utility for Ecological and Breeding Studies in Other *Eucalyptus* species. *Journal of Heredity*, 96: 445-51.
- Pancoro, A., T. A. Septiyani., N. L. P. Indriyani dan P. J. Santoso. 2016. Analisis Progeni F1 Hasil Persilangan Intra Dan Inter-Spesies Durian (*Durio* Sp.) Menggunakan Marka Mikrosatelit. *Jurnal Hort.* 26 (2): 171-180.
- Pasaribu, A., L. Agustina., P. Putri dan Suryanto. 2017. Analisis Awal Keragaman Molekular Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Menggunakan Lima Primer SSR (*Simple Sequences Repeats*). *Jurnal pertanian Tropik*. 4 (5) : 47-56.
- Permanasari, I dan E. Aryanti. 2014. *Teknologi Benih*. Aswaja Pressindo. Yogyakarta. 229 hal.
- Pharmawati, M. 2009. Optimalisasi Ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp. (Proteaceae) Optimization of DNA Extraction and PCR-RAPD Condition Of *Grevillea* Spp. (Proteaceae). *J.Biologi*, 13 (1): 12-16.
- Prakoso, R. D. J., A. N. Sugiharto dan A. Soegianto. 2012. Keragaman dan Heritabilitas 10 Galur Inbrida S4 pada Tanaman Jagung Ketan (*Zea mays* L. var.*ceritina* Kulesh). *Buana Sains*. 16 (2): 189-194.

- Pudjiono, S dan Baskorowati. 2012. *Pembangunan Populasi Pemuliaan Tanaman Hutan Dalam: Bunga Rampai : Status Penelitian Pemuliaan Tanaman Hutan di BBPBPTH*. Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Yogyakarta.
- Rahayu, S. E dan S. Handayani. 2010. Keragaman Genetik Pandan Asal Jawa Barat Berdasarkan Penanda *Inter Sample Sequence Repeat*. *Jurnal Biologi*, 14 (2): 158-162.
- Ritschel, P. S., T. C. D. L. Lins., R. L. Tristan, G. S. C. Buso., J. A. Buso4 and M. E. Ferreira. 2004. Development of microsatellite markers from an anchored genomics library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.). *BMC Plant Biology*, 4 (9): 1-14.
- Rusfidra., R. Zein dan A. M. A. Hasibuan. 2012. Ukuran Populasi Efektif, Ukuran Populasi Aktual, dan Laju Inbreeding Pergenerasi Itik Lokal dikecamatan Tilalang Kemang Kabupaten Agam. *Jurnal Perternakan Indonesia*, 14(13): 161-165.
- Said, D. S. 2011.Uji Kemampuan Hibridisasi Intergenus Interspesies Ikan Pelangi. *Limnotek*, 18(1): 48-57.
- Santoso, P.J., Djamas., Rebin dan Pancoro. 2014. Analisis Diversitas dan Paternitas Progeni F1 Hasil Persilangan Arumanis 143 x Mangga Merah Menggunakan Marka Mikrosatelit (*Analysis of Diversity and Paternity of F1 Progeny from Crossing Arumanis 143 x Red Mangoes Using Microsatellite Markers*). *J. Hort.* 24 (3): 210-219.
- Sari, N. K. 2017. Penentuan Similaritas dan Variabilitas Genetik pada Keluarga Etnis Jawa dan Arab dengan DNA Fingerprint di Malang, Jawa Timur, Indonesia. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17 (1): 51-58.
- Sekino,M and S. Kakehi . 2012. PARFEX v1.0: Paket Perangkat Lunak Berbasis EXCELM Untuk Alokasi Tetua. *Genetika Konservasi* (4): 275-278.
- Schuelke, M. 2000. An Economic Method for the Fluorescent Labeling of PCR Fragments. *Nature Biotechnology*, 18: 233-4.
- Sudjadi.(2008). *Biotehnologi Kesehatan*.Kanisius. Yogyakarta. 279 hal.
- Suharyanto., M. Nose and S.Shiraishi. 2012. Development and Application of a Mutiplax SNP to Evaluate the Mating Dynamics of *Pinus thunbergii* Clonal Seed Orchard. *Mol Breeding*.
- Sulandari, S dan M.S.A. Zein. 2003. *Panduan Praktis Laboratorium DNA*. Bidang Zoologi Pusat Penelitian Biologi LIPI. Jakarta. 112 hal.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

- Sumantri, A., A. Farajallah., U. Fauzi dan J. F. Salamena. 2008. Keragaman Genetik DNA Mikrosatelite dan Hubungannya dengan Performa Bobot Badan pada Domba Lokal. *Media Peternakan*, 31 (1): 1-13.
- Sun, W., D. Yu., M. Dong., J. Zhao., X. Wang., H. Zhang and J. Zhang. 2017. Evaluation of Efficiency of Controlled Based Parentage Analysis in a *Larix Gmellinii* Var. *Principis-Rupprechtii* Mayr. Seed Orcard.
- Supangat, A.B., N. Supriyo., E. Poedjirahajoe dan P. Sudira. 2012. Produksi Biomasa dan Akumulasi Hara pada Lahan Hutan Tanaman *Eucalyptus pellita* F.Mucii Umur Empat Tahun, Di Riau. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 19 (2) : ll8-127.
- Supangat, A.B., N. Supriyo., E. Poedjirahajoe dan P. Sudira. 2013. Status Kesuburan Tanah Di Bawah Tegakan Eucalyptus Pellita F.Mueii: Studi Kasus di HPTI PT. Arara Abadi, Riau, *J. Manusia dan Lingkungan*, 20 (1): 22-34.
- Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 187 hal.
- Takdir, A., H. Aswidinnoor., Trikoesoemaningtyas dan J. Koswara. 2009. Estimasi Jarak Genetik Galur Jagung Pulut Berbasis Marka Mikrosatelite dan Korelasinya dengan Karakter Morfologi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 28 (1): 7-16.
- Tasma, I.M., L.L. Lorenzen., D.E. Green and R.C. Shoemaker. 2001. Mapping Genetic Loci for Flowering Time, Maturity, and Photoperiod Insensitivity in Soybean. *Molecular Breeding*. 8: 25–35.
- Tasma, I.M., D. Satyawan., A. Warsun., M. Yunus and B. Santosa. 2011. Phylogenetic and Maturity Analyses of Sixty Soybean Genotypes Used for DNA Marker Development of Early Maturity Quantitative Trait Loci in Soybean. *Jurnal AgroBiogen*. 7 (1) : 37-46.
- Tenriulo,A., E. Suryati., A. Parenrengidan Rosmiat. 2001. Ekstraksi DNA Rumphut Laut *Kappaphycus alvarezii* dengan Metode Fenol Kloroform. *Marina Chimica Acta*, 2 (2): 6-10.
- Turnbull, J.W. 2000. *Economic and Social important of Eucalypts. In Disease and Pathogen of Eucalypts*. 1- 9. Eds. Keane, J., Kile, G.A., Podger, P.D., and Brown, B.N.CSIRO, Melbourne. 61 hal.
- Wahyudi, A. T., S. Meliah dan A. A. Nawangsih. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, dan Telah Mutagenesis dengan Transposon. *Sains*, 15 (1): 89-96.

© Hak cipta milik UIN Suska Riau

State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

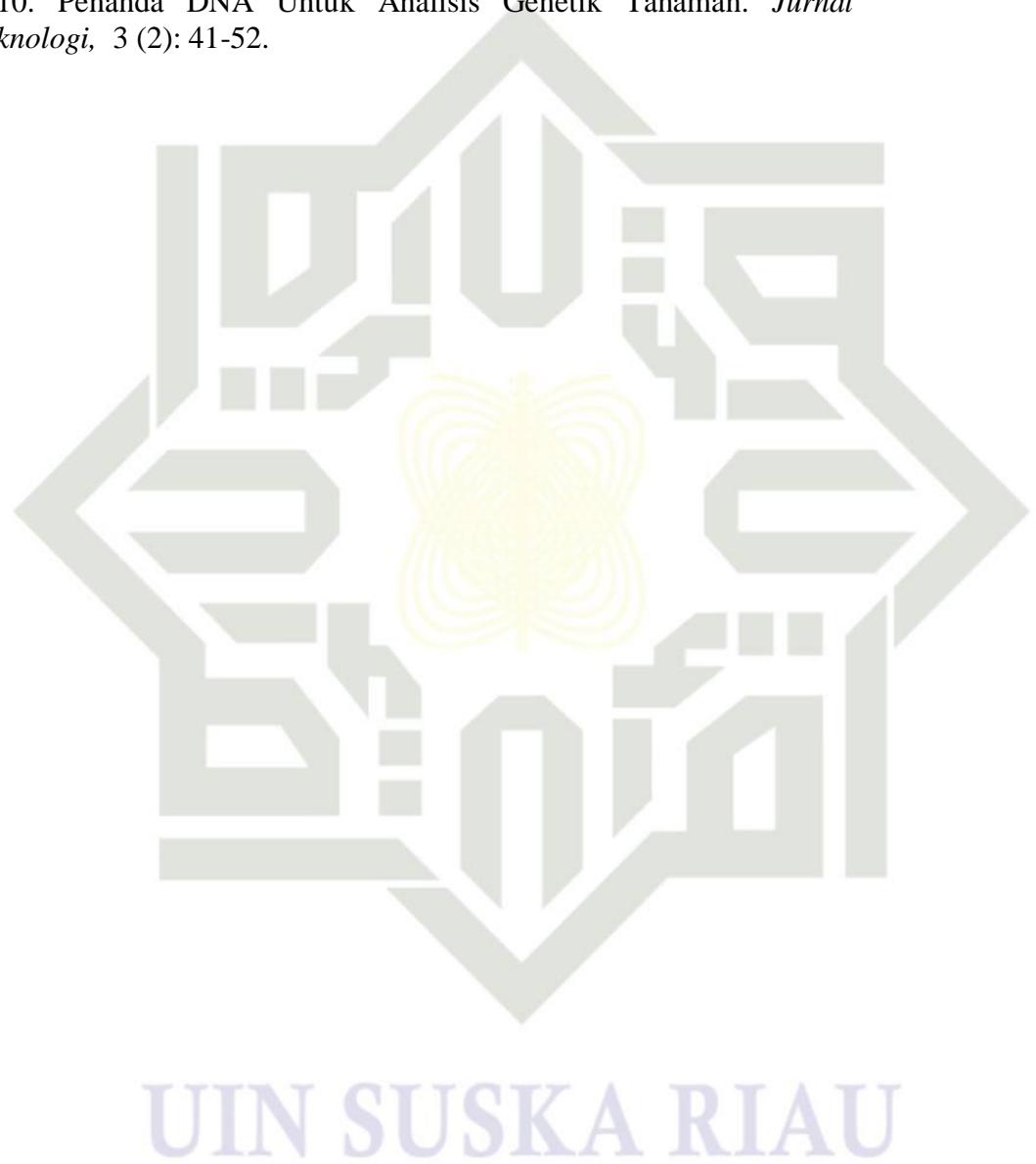
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Yuwono, T. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Gajah Mada University Press (anggota IKAPI). Yogyakarta.284 hal.

Zainudin, A., Maftuchah., C. Martasari, dan T. J. Santoso. 2010. Keragaman Genetik Beberapa Kultivar Tanaman Mangga Berdasarkan Penanda Molekuler Mikrosatelit. Kongres Ketiga Komisi Daerah Sumber Daya Genetik Hotel Singgasana. Surabaya: 1-15.

Zulfahmi. 2010. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi*, 3 (2): 41-52.



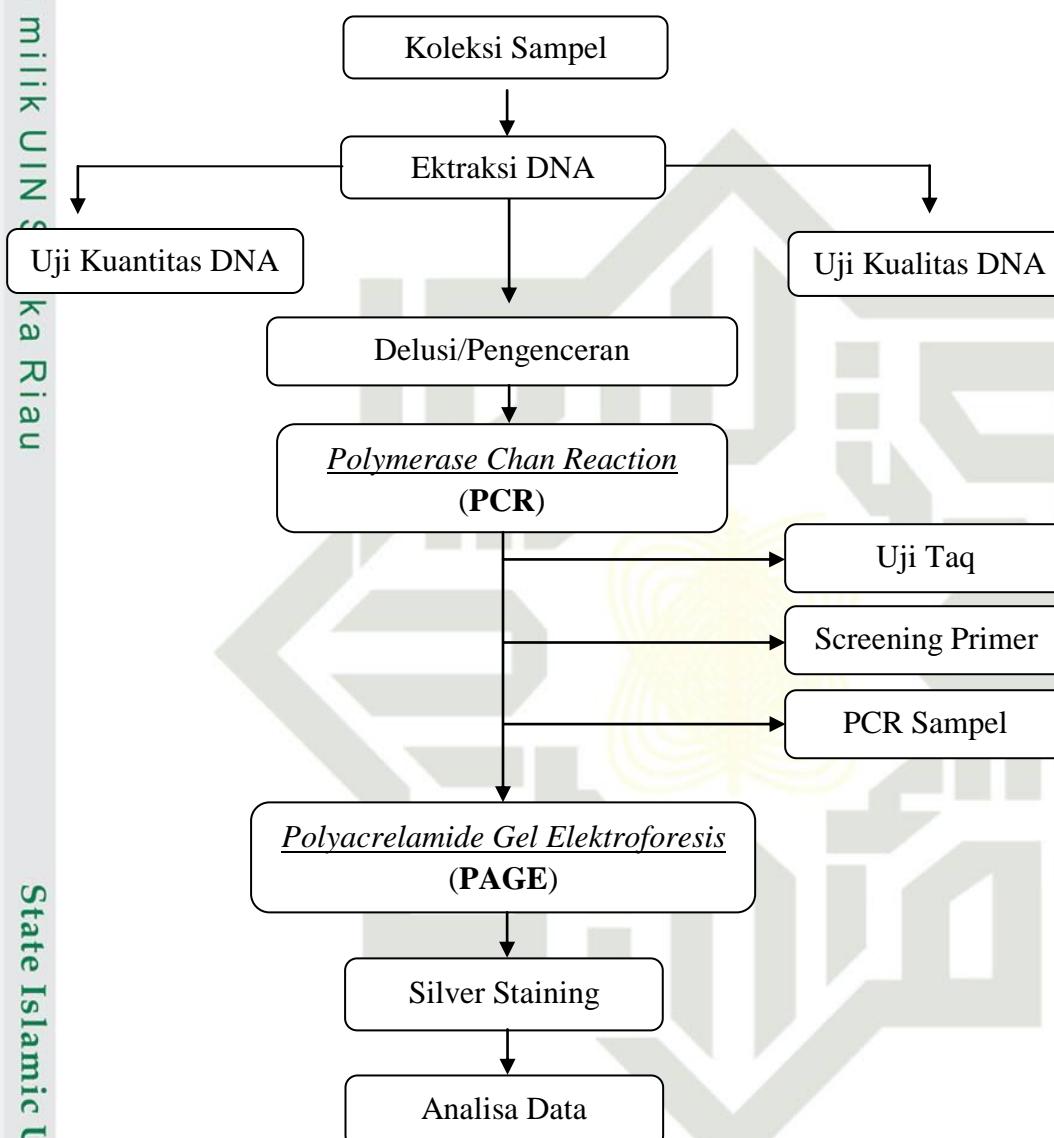
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cipta milik UIN Sultan Syarif Kasim Riau

State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

Lampiran 1. Alur Kegiatan Penelitian

Alur kegiatan pelaksanaan penelitian dapat dilihat sebagai berikut :



- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Lampiran 2. Hasil Uji Kuantitas DNA Menggunakan Alat spektrofotometer (*NanoDrop*).

No	Sampel	Kons. DNA	A260	A280	260/280	260/230	Faktor Pengencer
1	F1_1	41,70	0,83	0,45	1,83	2,83	50
2	F1_2	49,00	0,98	0,50	1,89	3,15	50
3	F1_3	46,50	0,93	0,50	1,85	2,98	50
4	F1_4	36,60	0,73	0,39	1,84	4,19	50
5	F1_5	56,20	1,12	0,59	1,90	2,19	50
6	F1_6	86,80	1,73	0,93	1,86	1,65	50
7	F1_7	124,50	2,49	1,32	1,88	1,13	50
8	F1_8	44,30	0,88	0,44	1,98	2,40	50
9	F1_9	59,10	1,18	0,62	1,89	1,70	50
10	F1_10	41,80	0,83	0,45	1,85	3,24	50
11	F1_13	73,80	1,47	0,75	1,95	1,95	50
12	F1_14	65,30	1,30	0,69	1,88	2,13	50
13	F1_15	61,60	1,23	0,65	1,89	2,29	50
14	F1_16	290,10	5,80	2,98	1,95	1,68	50
15	F1_17	123,50	2,46	1,31	1,87	1,59	50
16	F1_18	84,40	1,68	0,89	1,88	1,89	50
17	F1_19	80,30	1,60	0,84	1,91	1,15	50
18	F1_20	189,60	3,79	2,02	1,87	1,83	50
19	F1_21	147,80	2,95	1,59	1,85	2,20	50
20	F1_22	99,30	1,98	1,05	1,88	1,70	50
21	F1_25	37,30	0,74	0,41	1,81	1,33	50
22	F1_26	48,20	0,96	0,50	1,90	3,68	50
23	F1_27	30,90	0,61	0,34	1,80	1,16	50
24	F1_28	107,60	2,15	1,25	1,72	0,87	50
25	F1_29	134,60	2,69	1,41	1,90	1,26	50
26	F1_30	32,60	0,65	0,37	1,72	2,18	50
27	F1_31	114,20	2,28	1,24	1,83	1,13	50
28	F1_32	151,30	3,02	1,60	1,89	1,05	50
29	F1_33	124,00	2,48	1,27	1,95	1,49	50
30	F1_34	118,00	2,36	1,28	1,84	1,26	50
31	F1_37	162,30	3,24	1,87	1,73	1,47	50
32	F1_38	62,40	1,24	0,71	1,75	2,75	50
33	F1_39	139,00	2,78	1,46	1,90	1,21	50
34	F1_40	155,60	3,11	1,61	1,93	1,45	50
35	F1_41	318,00	6,36	3,06	2,07	1,92	50
36	F1_42	129,20	2,58	1,32	1,96	1,26	50
37	F1_43	123,90	2,47	1,29	1,92	1,29	50
38	F1_44	174,90	3,49	1,79	1,95	1,67	50
39	F1_45	222,10	4,44	2,29	1,93	1,45	50

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Lampiran 2. lanjutan

No	Sampel	Kons. DNA	A26 0	A280	260/280	260/230	Faktor Pengencer
40	F1_46	155,70	3,11	1,60	1,94	1,51	50
41	F1_49	205,70	4,11	2,05	2,00	1,49	50
42	F1_50	114,90	2,29	1,17	1,96	1,33	50
43	F1_51	205,30	4,10	2,07	1,98	1,68	50
44	F1_52	200,00	3,99	2,15	1,85	1,33	50
45	F1_53	117,20	2,34	1,17	1,99	1,65	50
46	F1_54	191,10	3,82	1,95	1,96	1,48	50
47	F1_55	205,00	4,10	2,07	1,98	1,51	50
48	F1_56	124,10	2,48	1,26	1,97	1,16	50
49	F1_57	150,40	3,00	1,54	1,94	1,39	50
50	F1_58	149,80	2,99	1,60	1,87	1,57	50

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Lampiran 3. Hasil Dilusi / Pengenceran

Sampel	Kons. (ng/ μ L)	Rasio (A260/A280)	Stok DNA Sampel (μ L)	H ₂ O (μ L)	Kons. Akhir (ng/ μ L)	Volume Akhir
F1_1	41,70	1,83	24,00	176	5	200
F1_2	49,00	1,89	20,40	180	5	200
F1_3	46,50	1,85	21,50	178	5	200
F1_4	36,60	1,84	27,30	173	5	200
F1_5	56,20	1,9	17,80	182	5	200
F1_6	86,80	1,86	11,50	188	5	200
F1_7	124,50	1,88	8,00	192	5	200
F1_8	44,30	1,98	22,60	177	5	200
F1_9	59,10	1,89	16,90	183	5	200
F1_10	41,80	1,85	23,90	176	5	200
F1_13	73,80	1,95	13,60	186	5	200
F1_14	65,30	1,88	15,30	185	5	200
F1_15	61,60	1,89	16,20	184	5	200
F1_16	290,10	1,95	3,40	197	5	200
F1_17	123,50	1,87	8,10	192	5	200
F1_18	84,40	1,88	11,80	188	5	200
F1_19	80,30	1,91	12,50	188	5	200
F1_20	189,60	1,87	5,3	195	5	200
F1_21	147,80	1,85	6,80	193	5	200
F1_22	99,30	1,88	10,10	190	5	200
F1_25	37,30	1,81	26,80	173	5	200
F1_26	48,20	1,90	20,70	179	5	200
F1_27	30,90	1,80	32,40	168	5	200
F1_28	107,60	1,72	9,30	191	5	200
F1_29	134,60	1,9	7,40	193	5	200
F1_30	32,60	1,72	30,70	169	5	200
F1_31	114,20	1,83	8,80	191	5	200
F1_32	151,30	1,89	6,60	193	5	200
F1_33	124,00	1,95	8,10	192	5	200
F1_34	1180,0	1,84	8,50	192	5	200
F1_37	162,30	1,73	6,20	194	5	200
F1_38	62,40	1,75	16,0	184	5	200
F1_39	139,00	1,90	7,20	193	5	200
F1_40	155,60	1,93	6,40	194	5	200
F1_41	318,00	2,07	3,10	197	5	200
F1_42	129,20	1,96	7,70	192	5	200
F1_43	123,90	1,92	8,10	192	5	200
F1_44	174,90	1,95	5,70	194	5	200
F1_45	222,10	1,93	4,50	195	5	200
F1_46	155,70	1,94	6,40	194	5	200
F1_49	205,70	2,00	4,90	195	5	200
F1_50	114,90	1,96	8,70	191	5	200

Lampiran 3. Lanjutan

Sampel	Kons. (ng/µL)	Rasio (A260/A280)	Stok DNA Sampel (µL)	H ₂ O (µL)	Kons. Akhir (ng/µL)	Volume Akhir
F1_51	205,30	1,98	4,90	195	5	200
F1_52	200,0	1,85	5,00	195	5	200
F1_53	117,20	1,99	8,50	191	5	200
F1_54	191,10	1,96	5,20	195	5	200
F1_55	205,00	1,98	4,90	195	5	200
F1_56	124,10	1,97	8,10	192	5	200
F1_57	150,40	1,94	6,60	193	5	200
F1_58	149,80	1,87	6,70	193	5	200

© Hak cipta milik UIN Suska Riau

State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

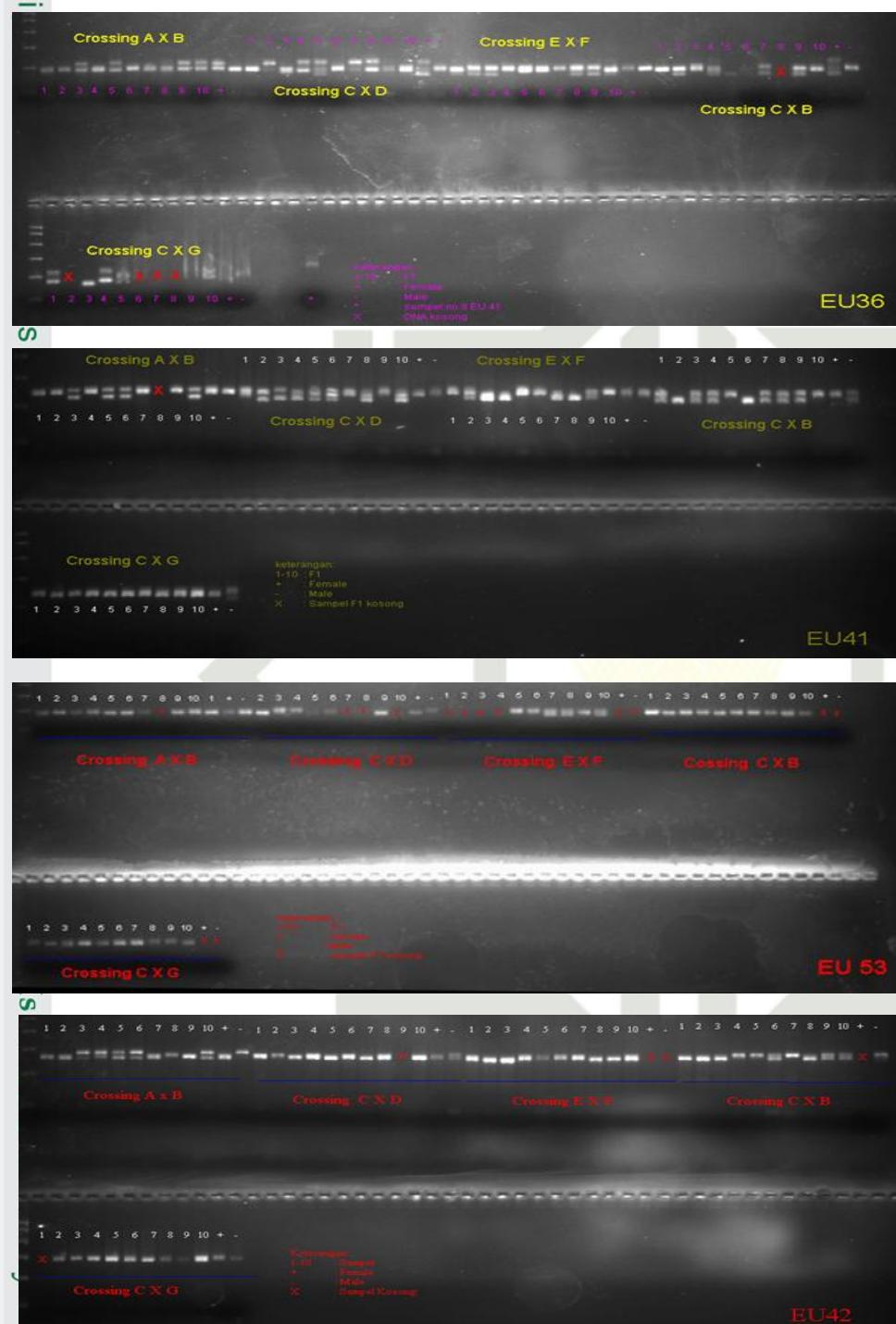
- Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cipta

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Lampiran 4. Hasil Visual PCR pada Gel Agarose 3% menggunakan UV Transluminator atau Gel Doc.

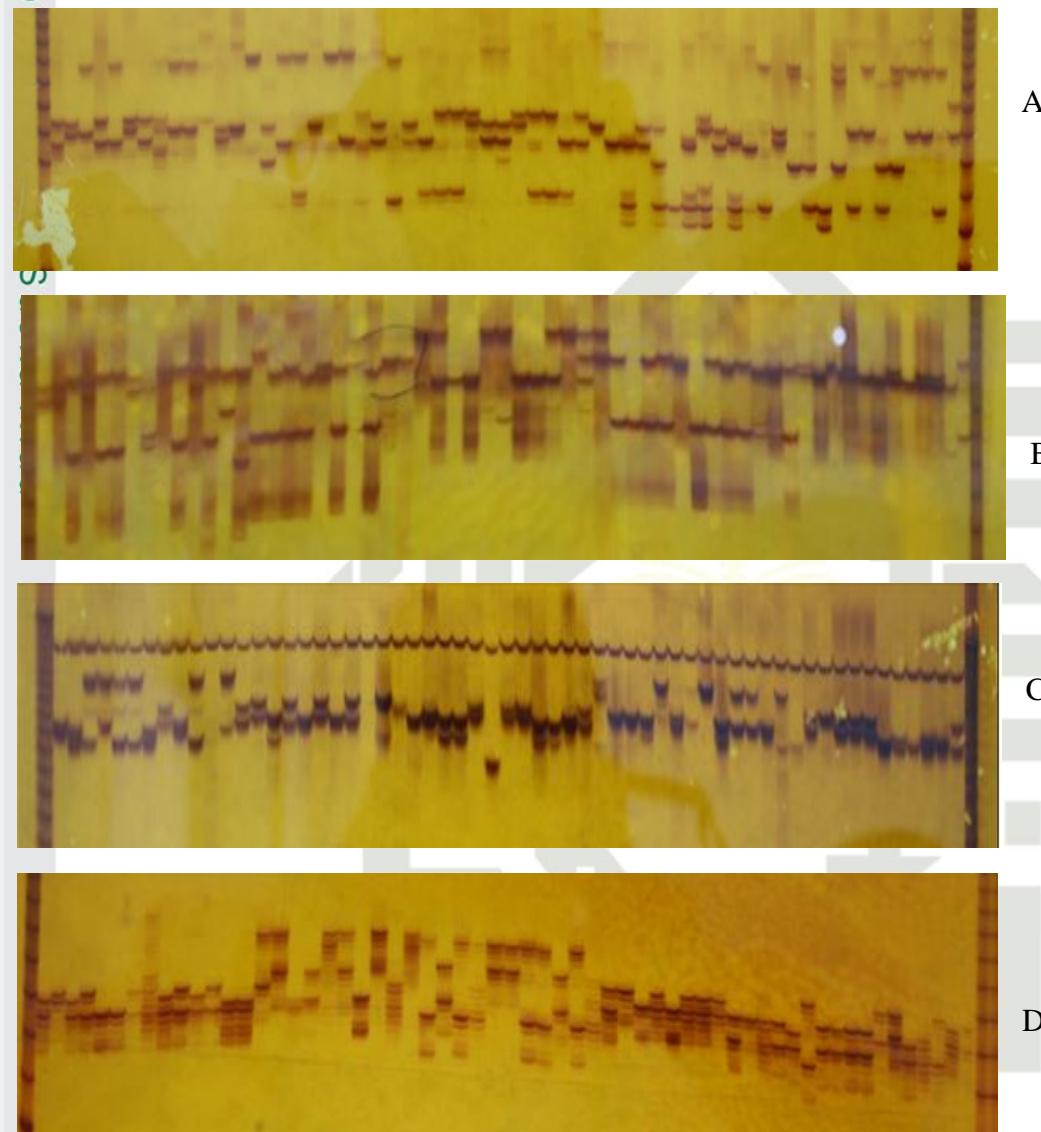


Keterangan :

- A: Hasil PCR 5 persilangan Eucalyptus pellita menggunakan Primer EU36.
- B: Hasil PCR 5 persilangan Eucalyptus pellita menggunakan Primer EU41.
- C: Hasil PCR 5 persilangan Eucalyptus pellita menggunakan Primer EU42.
- D: Hasil PCR 5 persilangan Eucalyptus pellita menggunakan Primer EU53.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cip



Keterangan:

- A Hasil PAGE dengan menggunakan Primer EU36.
- B Hasil PAGE dengan menggunakan Primer EU41.
- C Hasil PAGE dengan menggunakan Primer EU42.
- D Hasil PAGE dengan menggunakan Primer EU53.

Universitas Sultan Syarif Kasim Riau

Lampiran 6. Nilai atau Panjang Pita yang didapat dalam Analisis Menggunakan Software Quantity One Versi 4.6.1. dengan Perhitungan Berdasarkan Posisi Relatif dari Pita-Pita DNA.

Persilangan (♀ x ♂)	Sampel	PRIMER							
		Eu36		Eu41		Eu42		Eu53	
		1	2	1	2	1	2	1	2
A x B	1	134	125	211	205	242	236	131	124
	2	134	131	211	205	236	236	134	131
	3	157	131	212	183	272	236	131	124
	4	134	125	211	205	272	242	134	124
	5	157	125	212	183	272	236	124	124
	6	134	131	212	183	272	236	124	124
	7	134	125	211	205	242	236	134	124
	8	134	122	186	183	254	247	134	124
	9	157	131	212	211	247	242	131	124
	10	157	131	212	183	272	236	134	124
	A (♀)	157	134	212	205	247	236	131	124
	B (♂)	131	125	211	183	272	242	134	124
C x D	13	131	131	211	193	258	247	127	124
	14	161	161	211	176	258	247	127	124
	15	131	119	220	183	247	236	162	134
	16	161	125	209	183	258	247	162	148
	17	161	110	209	183	247	247	124	124
	18	131	131	205	183	258	247	148	127
	19	161	124	209	205	247	247	160	160
	20	161	125	209	183	258	247	162	148
	21	134	124	209	209	258	247	127	116
	22	131	125	205	183	258	239	162	152
	C (♀)	157	107	209	209	252	247	134	124
	D (♂)	131	125	211	211	247	247	160	160
E x F	25	125	110	227	227	247	247	162	124
	26	134	110	227	202	247	239	152	131
	27	134	110	202	202	247	239	162	124
	28	134	131	202	202	256	250	162	124
	29	131	125	227	227	256	250	162	152
	30	131	125	227	227	256	250	162	152
	31	134	131	202	202	256	250	162	124
	32	134	110	202	202	247	239	162	124
	33	134	110	227	202	247	239	152	131
	34	125	110	227	227	247	247	162	124
	E (♀)	134	125	211	202	256	247	148	127
	F (♂)	131	131	227	211	267	239	148	131

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Lampiran 6. Lanjutan

Persilangan (♀ x ♂)	Sampel	PRIMER									
		Eu36		Eu41		Eu42		Eu53			
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
C x B	37	125	125	211	183	252	252	148	131		
	38	125	107	183	183	252	252	134	124		
	39	131	125	211	183	252	252	134	131		
	40	119	107	212	183	272	272	148	131		
	41	107	107	211	211	252	247	134	124		
	42	125	107	183	183	272	252	148	134		
	43	134	107	212	183	272	272	148	134		
	44	131	125	209	183	252	242	148	134		
	45	128	107	212	183	272	252	134	124		
	46	125	125	209	183	272	252	134	134		
	C (♀)	157	107	209	209	252	247	134	124		
	B (♂)	131	128	211	183	272	242	134	124		
C x G	49	157	119	212	209	244	244	148	134		
	50	119	107	209	209	261	252	131	124		
	51	107	102	212	212	261	261	148	116		
	52	157	119	212	209	261	252	134	124		
	53	131	107	209	209	261	252	134	124		
	54	157	131	209	209	261	252	134	124		
	55	119	107	212	209	247	247	134	124		
	56	157	119	209	209	252	247	148	131		
	57	157	131	212	209	247	247	148	134		
	58	157	131	212	209	252	247	131	124		
	C (♀)	157	107	209	209	252	247	134	124		
	G (♂)	141	131	220	189	261	247	148	124		

LAMPIRAN B HASIL ANALISA SOFTWARE PARFEX_V1-0_E03

No.	MisMatch Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbred	Unidentified
Offspring									
F1_1	Marya tulis yang wajar sebagian besar	MALE B MALE D	FEMALE A FEMALE A	<i>Eu53</i>	1				
F1_2	sin tampa atau	Male B MALE D	FEMALE A FEMALE A	<i>Eu53</i>	1				
F1_3	UIN Suska Riau.	MALE B	FEMALE A		1				
F1_4	seleburu hukum karya	MALE B MALE D	FEMALE A FEMALE A	<i>Eu53</i>	1				
F1_5	dan menyebutkan s								
F1_6	aks dalam bentuk sa	MALE B MALE D	FEMALE A FEMALE A	<i>Eu42</i> <i>Eu53</i>	1 1				
F1_7	ns	MALE B	FEMALE A		1				

Lampiran

Offspring	Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbred	Unidentified
F1_1	MALE B	MALE D	FEMALE C	<i>Eu53</i>		1			
F1_2	MALE B	MALE D	FEMALE C	<i>Eu53</i>		1			
F1_3	MALE B	MALE D		<i>Eu53</i>			1		
F1_4	MALE B	MALE D					1		
F1_5	MALE B	MALE D		<i>Eu53</i>			1		
F1_6	MALE B	MALE D	FEMALE C	<i>Eu42</i>		1			
F1_7	MALE B	MALE D		<i>Eu53</i>			1		
F1_8	MALE D	MALE D		<i>Eu53</i>			1		
F1_9	MALE D	MALE D		<i>Eu53</i>			1		
F1_10	MALE D	MALE G		<i>Eu53</i>			1		
F1_11	MALE B	MALE D	FEMALE E	<i>Eu53</i>			1		
F1_12	MALE D	MALE D	FEMALE E	<i>Eu53</i>			1		
F1_13	MALE D			<i>Eu42</i>			1		

UIN SUSKA RIAU

Lampiran

Offspring	No Mismatch Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbred	Unidentified
F1_29	0	MALE E	FEMALE E	<i>Eu42</i>	1				
F1_29	1	MALE E	FEMALE E	<i>Eu42</i> <i>Eu53</i>		1			
F1_29	1		FEMALE E			1			
F1_29	0		FEMALE E			1			
F1_29	0		FEMALE E			1			
F1_29	1	MALE E	FEMALE E	<i>Eu42</i>	1				
F1_30	1	MALE G	FEMALE E	<i>Eu41</i>					
F1_30	0	MALE E	FEMALE E	<i>Eu42</i>	1				
F1_30	1	MALE G	FEMALE E	<i>Eu41</i>					
F1_31	0		FEMALE E			1			
F1_31	1	MALE B		<i>Eu41</i> <i>Eu53</i>		1			
F1_31	1		FEMALE E			1			
F1_32	0	MALE E	FEMALE E	<i>Eu42</i>	1				
F1_32	1	MALE E		<i>Eu42</i> <i>Eu41</i>					
F1_32	1	MALE G	FEMALE E	<i>Eu53</i>	1				

lindungi Undang-Undang mengutip sebagian besar dan memerlukan izin tulis tanpa mengutip sebagian yang wajar. UIN Suska Riau seluruh karya tulis dan penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan tidak merugikan dan mengumumkan dan memperbaiki sampaikan kepentingan yang wajar. UIN Suska Riau.

Lampiran

Offspring	No Mismatch Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbred	Unidentified
F1_3	MALE B	FEMALE C		<i>Eu53</i>		1			
F1_3	MALE D			<i>Eu42</i> <i>Eu53</i> <i>Eu42</i> <i>Eu53</i>				1	
F1_3		FEMALE C		<i>Eu41</i> <i>Eu53</i>					
F1_3		FEMALE E		<i>Eu41</i> <i>Eu53</i>					
F1_3	MALE B	MALE C				1			
F1_3	MALE D	MALE C		<i>Eu53</i>					
F1_4	MALE B						1		
F1_4		FEMALE C		<i>Eu41</i>					
F1_4	MALE B						1		
F1_4	MALE B	MALE C		<i>Eu42</i>		1			
F1_4	MALE B						1		
F1_4	MALE B	FEMALE C		<i>Eu41</i>					
F1_4	MALE B	MALE C		<i>Eu53</i>		1			
F1_4	MALE D	MALE C		<i>Eu53</i>					
F1_4	MALE B						1		
F1_4	MALE B	MALE C		<i>Eu41</i>		1			
F1_4	MALE B	MALE C		<i>Eu53</i>		1			
F1_4	MALE E	MALE C							

Lampiran

Offspring	No Mismatch Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbreed	Unidentified
F1_4	MALE B MALE D MALE E MALE B MALE D MALE E MALE G	FEMALE C FEMALE E FEMALE E FEMALE C		<i>Eu53</i> <i>Eu42</i> <i>Eu42</i> <i>Eu41</i> <i>Eu53</i> <i>Eu41</i> <i>Eu53</i> <i>Eu41</i> <i>Eu42</i> <i>Eu41</i> <i>Eu42</i>			1		
F1_5	MALE B MALE G MALE B MALE B MALE D MALE E MALE G MALE G MALE G MALE G	FEMALE C FEMALE A FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE E		<i>Eu42</i> <i>Eu41</i> <i>Eu41</i> <i>Eu42</i> <i>Eu42</i> <i>Eu53</i> <i>Eu42</i> <i>Eu53</i> <i>Eu42</i> <i>Eu53</i> <i>Eu41</i> <i>Eu42</i> <i>Eu41</i> <i>Eu53</i> <i>Eu41</i> <i>Eu53</i>			1		
F1_6	MALE G MALE E			<i>Eu41</i> <i>Eu41</i>	<i>Eu42</i>			1	

lindungi Undang-Undang mengutip sebagian kepentingan yang wajar UIN Suska Riau. Kepentingan yang wajar UIN Suska Riau. Laporan hanya untuk pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau. Mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

¹ sumber:

Lampiran

Offspring	No. Mismatch Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbreed	Unidentified
F1_5	O nya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyeimbangkan sumber: pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau. sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.	MALE G MALE B MALE B MALE G	FEMALE C FEMALE A FEMALE C FEMALE E	Eu41 Eu41 Eu42 Eu41 Eu42 Eu41 Eu53	1				
F1_5	O nya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyeimbangkan sumber: pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.	MALE B MALE G MALE B MALE D MALE E MALE G	FEMALE C FEMALE C FEMALE A FEMALE C FEMALE C FEMALE E	Eu42 Eu41 Eu41 Eu42 Eu42 Eu53 Eu42 Eu53 Eu41 Eu53	1				
F1_5	O nya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyeimbangkan sumber: pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.	MALE B MALE G MALE B MALE D MALE E MALE G	FEMALE C FEMALE C FEMALE A FEMALE C FEMALE C FEMALE E	Eu42 Eu41 Eu41 Eu42 Eu42 Eu53 Eu42 Eu53 Eu41 Eu53	1				

Lampiran

Offspring	No Mismatch Marker	Parentage (Male or unknown)	Parentage (Female or unknown)	Incompatible Markers	Hybrid (Tol. 1)	Pollen Cont.	Seed Cont.	Inbreed	Unidentified
F1_50	MALE G MALE B MALE B	FEMALE C FEMALE C FEMALE A FEMALE C		<i>Eu41</i> <i>Eu41</i> <i>Eu41</i> <i>Eu42</i>	1				
F1_51	MALE E MALE G MALE B MALE D MALE E MALE E MALE G MALE G MALE G		FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE C FEMALE A FEMALE C FEMALE A FEMALE C FEMALE E	<i>Eu42</i> <i>Eu41</i> <i>Eu53</i> <i>Eu42</i> <i>Eu53</i> <i>Eu41</i> <i>Eu42</i> <i>Eu53</i> <i>Eu41</i>		1			
F1_52	MALE G MALE E	FEMALE C FEMALE C		<i>Eu41</i> <i>Eu41</i>		1			
F1_53	MALE G MALE G MALE G MALE G MALE G	FEMALE C FEMALE A FEMALE A FEMALE C FEMALE E				1			

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak cipta



Sampel Daun



Penimbangan Sampel 100 g



Tube yang Berisi Sampel



Pembuatan Larutan Buffer



Pemberian larutan Buffer pada Sampel



Penghancuran Sampel

© Hak Cipta
Universitas Sultan Syarif Kasim Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak



Inkubasi Sampel



Vortex Sampel



Centrifuge Sampel



Pemurnian DNA



Hasil Centrifuge



DNA Murni



Universitas SAINS
SUSKA RIAU

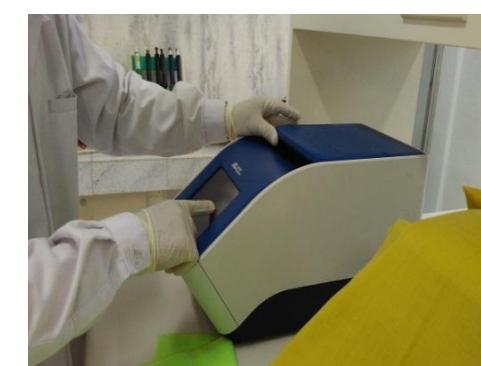
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© Hak Cipta Universitas Sultan Syarif Kasim Riau

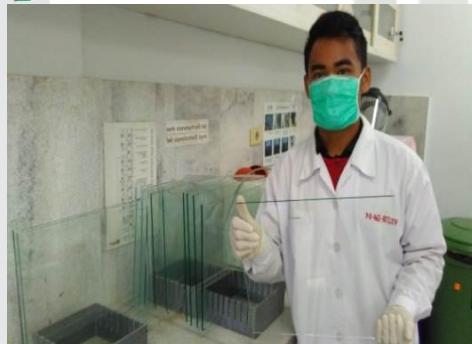
Alat Spektrofotometer



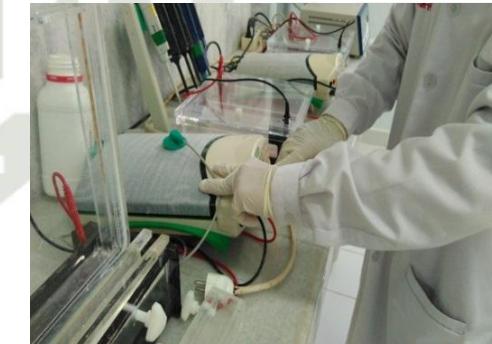
Uji Kuantitas DNA



Mesin Thermal Cycler



PCR (*Polymerase Chain Reaction*)



Pembersihan Kaca



Pengaktifan Power Supply



PAGE

PAGE

UIN SUSKA RIAU

iversity of Sultan Syarif Kasim Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

© H

N Suska Riau

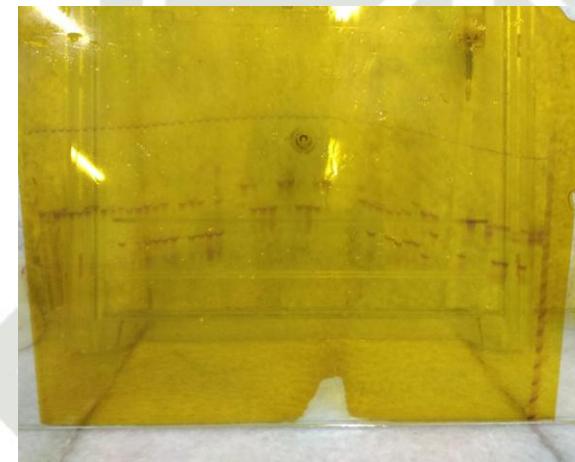
State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau



Pewarnaan (*Silver Staining*)



Hasil Silver Staining



Hasil Visual PAGE

UIN SUSKA RIAU