

ANALISIS INTEGRATIF MORFOLOGI DAN MARKA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC* DNA TERHADAP KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN ANTAR 30 GENOTIPE UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) YANG DIBUDIDAYAKAN DI LAMPUNG, INDONESIA

(Skripsi)

Oleh

**NURUL HANIFAH
NPM 2114161010**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

ANALISIS INTEGRATIF MORFOLOGI DAN MARKA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC* DNA TERHADAP KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN ANTAR 30 GENOTIPE UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) YANG DIBUDIDAYAKAN DI LAMPUNG, INDONESIA

Oleh

Nurul Hanifah

Provinsi Lampung merupakan salah satu sentra produksi ubi kayu di Indonesia yang berkontribusi besar terhadap produksi nasional serta memiliki keragaman genotipe lokal yang tinggi. Namun, informasi mengenai hubungan kekerabatan genetik antar genotipe tersebut masih terbatas, terutama jika dikaji melalui pendekatan integrasi antara morfologi dan molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi keragaman dan hubungan kekerabatan genetik genotipe ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang dibudidayakan di Lampung menggunakan analisis morfologi dan molekuler secara integratif. Evaluasi morfologi berdasarkan enam karakter menunjukkan adanya variasi fenotipik pada 30 genotipe dengan nilai similaritas berkisar antara 0,67–1,00, dengan tingkat kemiripan tertinggi ditemukan pada pasangan Garuda–Celeng. Namun, karakter morfologi memiliki daya pembeda yang terbatas karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Analisis molekuler menggunakan enam primer RAPD (OPA-01, OPA-03, OPA-16, OPAA-01, OPB-18, dan OPC-06) menunjukkan nilai similaritas genetik berkisar antara 0,60–0,93, dengan kemiripan tertinggi pada pasangan TDSS–TDSL dan terendah pada TDSL–BW-1. Beberapa pasangan dan kelompok genotipe (TDSS–TDSL; Garuda–Celeng; KP–GSP–Klenteng; serta Vati-1–Vamas-1–SN–Adira-4) menunjukkan pola pengelompokan yang konsisten antara analisis morfologi dan molekuler. Hasil uji Mantel menunjukkan korelasi lemah dan tidak signifikan ($r = 0,0963$; $p > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa data morfologi belum sepenuhnya merepresentasikan variasi genetik. Oleh karena itu, integrasi analisis molekuler diperlukan untuk meningkatkan akurasi penilaian hubungan kekerabatan serta mendukung pengelolaan plasma nutfah dan pemuliaan ubi kayu.

Kata kunci: Genotipe ubi kayu; karakterisasi morfologi; keragaman genetik; marka molekuler RAPD; analisis filogenetik.

ABSTRACT

INTEGRATED MORPHOLOGICAL AND RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA MARKER ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY AND RELATIONSHIPS AMONG 30 CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) GENOTYPES CULTIVATED IN LAMPUNG, INDONESIA

By

Nurul Hanifah

*Lampung Province is one of the major cassava-producing regions in Indonesia, contributing substantially to national production and maintaining high local genotype diversity. However, information on genetic relationships among these genotypes remains limited, particularly when assessed using an integrated morphological and molecular approach. This study aimed to evaluate genetic variation and relationships among cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes cultivated in Lampung using combined morphological and molecular analyses. Morphological evaluation based on six traits revealed phenotypic variation among 30 genotypes, with similarity coefficients ranging from 0.67 to 1.00, with the highest similarity observed between Garuda and Celeng. However, morphological traits showed limited discriminatory power due to environmental influence. Molecular analysis using six RAPD primers (OPA-01, OPA-03, OPA-16, OPAA-01, OPB-18, and OPC-06) revealed genetic similarity coefficients ranging from 0.60 to 0.93, with the highest similarity observed in TDSS–TDSL and the lowest in TDSL–BW-1. Several genotype pairs and clusters (TDSS–TDSL; Garuda–Celeng; KP–GSP–Klenteng; and Vati-1–Vamas-1–SN–Adira-4) exhibited consistent clustering patterns across both analyses. Mantel test results indicated a weak and non-significant correlation ($r = 0.0963$; $p > 0.05$), suggesting that morphological data do not fully represent genetic variation. Therefore, integrating molecular analysis is essential to improve the accuracy of genetic relationship assessment and to support germplasm management and cassava breeding programs.*

Keywords: *Cassava genotypes; morphological characterization; genetic diversity; RAPD markers; phylogenetic analysis.*

ANALISIS INTEGRATIF MORFOLOGI DAN MARKA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC* DNA TERHADAP KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN ANTAR 30 GENOTIPE UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) YANG DIBUDIDAYAKAN DI LAMPUNG, INDONESIA

Oleh

NURUL HANIFAH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Agronomi dan Hortikultura
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul Skripsi : ANALISIS INTEGRATIF MORFOLOGI DAN
MARKA *RANDOM AMPLIFIED
POLYMORPHIC* DNA TERHADAP
KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN
ANTAR 30 GENOTIPE UBI KAYU (*Manihot
esculenta* Crantz) YANG DIBUDIDAYAKAN
DI LAMPUNG, INDONESIA

Nama Mahasiswa : Nurul Hanifah

Nomor Pokok Mahasiswa : 2114161010

Jurusan : Agronomi dan Hortikultura

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Fitri Yella, S.P., M.Si., Ph.D.
NIP 197905152008122005



Dr. Drs. Edy Listanto, M.P.
NIP 196109261992031002

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura



Prof. Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D.
NIP 196603041990122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.

Sekretaris : Dr. Drs. Edy Listanto, M.P.

Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. H. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 3 Maret 2026

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Hanifah
NPM : 2114161010
Jurusan : Agronomi dan Hortikultura
Fakultas : Pertanian
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi berjudul:

“ANALISIS INTEGRATIF MORFOLOGI DAN MARKA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC* DNA TERHADAP KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN ANTAR 30 GENOTIPE UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) YANG DIBUDIDAYAKAN DI LAMPUNG, INDONESIA”

Merupakan hasil karya yang saya tulis sendiri bukan hasil karya orang lain. Jika di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 16 April 2026
Penulis,



Nurul Hanifah
NPM 2114161010

RIWAYAT HIDUP



Nurul Hanifah merupakan mahasiswa Jurusan Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Universitas Lampung angkatan 2021. Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada 17 November 2003 dari pasangan Ayahanda Jumari, S.Pd. dan Ibunda Eka Yurismawati. Penulis menempuh pendidikan di SDN 2 Palapa, MTsN 1 Bandar Lampung, serta MAN 1 Bandar Lampung. Penulis berpengalaman menjadi Asisten Praktikum pada mata kuliah Kimia Dasar 2022, Bioteknologi Tanaman 2024, Bioteknologi Tanaman 2025, dan Genetika Tumbuhan 2025. Penulis mengikuti kegiatan magang melalui program MBKM Matching Fund Kedaireka 2023, yang merupakan kerja sama antara FP Unila dengan PT. Great Giant Food, pada bagian kultur jaringan tanaman ubi kayu, serta melaksanakan penelitian ubi kayu di Badan Riset dan Inovasi Nasional BRIN, Cibinong, Jawa Barat 2024–2025.

Kegiatan *non* akademik yang pernah diikuti adalah menjadi anggota magang bidang Kaderisasi dan Organisasi HIMAGRHO 2022, anggota tetap bidang Penelitian dan Pengembangan HIMAGRHO 2023, Staf Khusus Sekretaris Eksekutif BEM FP Unila 2023, dan Sekretaris Umum HIMAGRHO 2024.

Bismillahirrahmanirrahim

Tiada kata yang lebih indah selain puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas karunia dan rahmat-Nya yang senantiasa tercurah. Dengan segala kerendahan hati dan rasa syukur yang mendalam, penulis mempersembahkan skripsi ini kepada:

Terkhusus:
Kedua Cahaya Hidupku,
Ayahanda Jumari dan Ibunda Eka Yurismawati,
serta Datuk Minami, Nenek Netti, Mbah Ngatemi, dan almarhum Mbah Dullah,
yang senantiasa memberi tanpa hitung, membuka jalan dengan segala daya,
mempercayai langkah penulis, mendoakan tanpa henti, serta pondasi kasih yang
tak tergoyahkan.

Udo Arifbillah, Adik Abdu, Azizah, Rohmah, In'am, Sa'ad, Fatih, dan Syarifah.

Semoga setiap helai ilmu dalam skripsi ini dapat menjadi benang dalam tenun kesuksesan kalian, penyemangat untuk melangkah lebih jauh, berbuat lebih besar, bermanfaat lebih luas, dan pengingat bahwa kita selalu memiliki satu sama lain.

Almamater tercinta,
Universitas Lampung.

QS. Al-Jatsiyah: 3–4

“Surely in the creation of the heavens and the earth are signs for the believers. And in ‘your own creation’, and whatever living beings He dispersed, are signs (of His greatness) for people of sure faith.”

Mursyid Syekh Suhaimi Yusuf

“Perbedaan melahirkan keberagaman, di sanalah nyata kemahakayaan Tuhan. Maka saksikanlah kesatuan dalam keberagaman, dan keberagaman dalam kesatuan.”

Marcus Aurelius

“What stands in the way becomes the way.”

Nurul Hanifah

“Jadilah cahaya, setidaknya untuk kegelapanmu sendiri.”

Sayyidina Ali ibn Abi Talib

“Tidak ada kemiskinan yang lebih berat daripada kebodohan, dan tidak ada kekayaan yang lebih bermanfaat daripada akal.”

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas kasih dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “**Analisis Integratif Morfologi dan Marka *Random Amplified Polymorphic DNA* terhadap Keragaman Genetik dan Hubungan Antar 30 Genotipe Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang Dibudidayakan di Lampung, Indonesia**”, bekerja sama dengan Badan Riset dan Inovasi Nasional. Skripsi ini merupakan hasil akhir dari sebuah perjalanan akademik yang tidak mungkin terwujud tanpa dukungan serta bantuan dari banyak pihak. Atas dasar itu, penulis dengan tulus ingin mengucapkan terima kasih dan menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Ibu Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama, atas bimbingan, kepercayaan, ilmu, saran, serta motivasi berharga yang telah mengantarkan penulis memperoleh kesempatan melakukan penelitian di BRIN sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
3. Bapak Dr. Drs. Edy Listanto, M.P., selaku Peneliti BRIN sekaligus Pembimbing Pendamping, atas izin, kesempatan, ilmu, serta bimbingan berharga selama penulis melaksanakan penelitian di BRIN, juga atas motivasi dan masukan yang tak kenal jarak sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku Dosen Penguji, atas kesediaan, dukungan, saran, kritik, kepercayaan, serta motivasi yang sangat berarti bagi penulis dalam pelaksanaan hingga penyelesaian skripsi ini.

5. Ibu Ir. Ermawati, M.S., selaku Pembimbing Akademik pertama, atas bimbingan, arahan, dan nasihat berharga yang menjadi fondasi awal bagi penulis dalam menempuh proses studi.
6. Ibu Prof. Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D., selaku Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura sekaligus Pembimbing Akademik, atas motivasi, bimbingan, dan kebijaksanaan dalam membimbing penulis, sehingga penulis yakin untuk terus berkembang dan menyelesaikan studi.
7. Ibu Ir. Eny Ida Riyanti, M.Si., Ph.D., selaku Peneliti BRIN, atas izin, dukungan, serta kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menggunakan bahan penelitian yang sangat berharga dalam pelaksanaan penelitian ini.
8. Keluarga tercinta atas segala doa, pengorbanan, kasih sayang, serta dukungan yang tiada henti diberikan kepada penulis, yaitu Ayahanda Jumari, S.Pd., Ibunda Eka Yurismawati, Saudaraku M. Arifbillah dan Abdurrahman A. S.
9. Rekan-rekan penelitian S1, S2, dan S3, di GH Riset atas dukungan, ilmu, dan bantuan selama penulis di BRIN, yaitu Isfina Nurfaidatur R., Al Baasiqot Shoffia N. J., Kak Wiwik Ariska, Kak Bella Rahayu I., Kak Nanda Adya S., Regina Arisanti, Fanny Priscilla S. M., Diana Ayu, dan Kak Tya.
10. Sahabat-sahabat seperjuangan yang memberikan dukungan dan bantuan selama proses penyusunan skripsi, yaitu Aprilian R., Seri Wahyuni, Fatima Salshabilla, Sandra Gusmia Sari, Puspita Reni Nurbaiti, Cut Nurul Hasanah Miswar, Presidium Inti HIMAGRHO 2024, dan Kedaireka Cassava Team.
11. Seluruh pihak terkait yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuan dan kontribusinya dalam penyelesaian skripsi ini.

Besar harapan penulis bahwa substansi skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca secara umum, serta bagi penulis secara khusus. Aamiin.

Bandar Lampung, 16 April 2026
Penulis,

Nurul Hanifah

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pemikiran	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.6 Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Morfologi Tanaman Ubi Kayu	8
2.2 Pemanfaatan Ubi Kayu.....	11
2.3 Plasma Nutfah Ubi Kayu.....	12
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	14
2.5 Marka Molekuler.....	16
2.6 <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> (RAPD).....	19
III. METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan	22
3.3 Metode Penelitian.....	24
3.4 Pelaksanaan Penelitian	25
3.4.1 Karakterisasi Morfologi Ubi Kayu Berdasarkan Karakter Vegetatif....	25
3.4.2 Karakterisasi DNA Ubi Kayu Berdasarkan Marka Molekuler RAPD..	28
3.4.3 Analisis Data	33

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Hasil Penelitian.....	39
4.1.1 Karakterisasi Morfologi 30 Genotipe Ubi Kayu yang Dibudidayakan di Lampung.....	39
4.1.2 Evaluasi Performa Primer RAPD pada 30 Genotipe Ubi Kayu yang Dibudidayakan di Lampung	48
4.1.3 Pola Kekerbatan 30 Genotipe Ubi Kayu.....	53
4.1.4 Korelasi antara Data Morfologi dan Molekuler.....	58
4.2 Pembahasan	59
V. KESIMPULAN DAN SARAN	64
5.1 Kesimpulan.....	64
5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Daftar deskripsi 30 genotipe ubi kayu	23
2. Daftar 15 primer RAPD	24
3. Komposisi dan volume pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA	32
4. Profil PCR untuk amplifikasi DNA dengan teknik RAPD	32
5. Deskripsi morfologi 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung	40
6. Rentang dan ukuran fragmen DNA yang dihasilkan oleh enam primer RAPD pada 30 genotipe ubi kayu	51
7. Performa enam primer RAPD dalam analisis variasi genetik 30 genotipe ubi kayu	52
8. Pengelompokan 30 genotipe ubi kayu berdasarkan karakter morfologi	56
9. Pengelompokan 30 genotipe ubi kayu berdasarkan analisis molekuler	58
10. Hasil analisis kuantitatif dan kualitatif DNA 30 genotipe ubi kayu	79
11. Skoring mentah karakter vegetatif dari 30 genotipe ubi kayu	80
12. Matriks biner hasil konversi 6 karakter morfologi	81
13. Skoring hasil visualisasi 6 primer RAPD terpilih	83
14. Perbandingan nilai koefisien similaritas 30 genotipe ubi kayu di Lampung berdasarkan data morfologi	87
15. Perbandingan nilai koefisien similaritas 30 genotipe ubi kayu di Lampung berdasarkan data molekuler	93

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema kerangka pemikiran.....	6
2. Morfologi batang ubi kayu: a) batang muda; b) batang tua.....	8
3. Morfologi daun ubi kayu	9
4. Panduan skoring warna daun apikal (Fukuda <i>et al.</i> , 2010).....	25
5. Panduan skoring bentuk daun sentral (Fukuda <i>et al.</i> , 2010).....	26
6. Panduan skoring warna tangkai daun (Fukuda <i>et al.</i> , 2010).....	27
7. Panduan skoring warna urat daun (Fukuda <i>et al.</i> , 2010)	27
8. Panduan skoring warna kulit batang tua (Fukuda <i>et al.</i> , 2010)	28
9. Prosedur isolasi DNA menggunakan <i>Genomic DNA Mini Kit (Plant)</i>	30
10. Profil Invitrogen 1 Kb <i>Plus DNA Ladder</i> (Thermo Fisher Scientific, USA) sebagai penanda ukuran DNA.....	33
11. Diagram alir pelaksanaan penelitian	38
12. Dokumentasi visual karakter morfologi 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung.....	43
13. Visualisasi hasil elektroforesis primer OPA-01	48
14. Visualisasi hasil elektroforesis primer OPA-03	49
15. Visualisasi hasil elektroforesis primer OPA-16	49
16. Visualisasi hasil elektroforesis primer OPAA-01	50
17. Visualisasi hasil elektroforesis primer OPB-18	50
18. Visualisasi hasil elektroforesis primer OPC-06	51
19. <i>Heatmap</i> koefisien similaritas 30 genotipe ubi kayu di Lampung berdasarkan karakter morfologi	54
20. <i>Heatmap</i> koefisien similaritas 30 genotipe ubi kayu di Lampung berdasarkan karakter molekuler	55
21. Dendrogram kekerabatan 30 genotipe ubi kayu di Lampung dengan metode UPGMA berdasarkan karakter morfologi	56

22. Dendrogram kekerabatan 30 genotipe ubi kayu di Lampung dengan metode UPGMA berdasarkan marka molekuler RAPD	57
23. Visualisasi korelasi Mantel antara jarak morfologi dan molekuler pada 30 genotipe ubi kayu	58
24. Variasi fenotipik warna daun apikal pada 30 genotipe ubi kayu.....	75
25. Variasi fenotipik bentuk daun sentral pada 30 genotipe ubi kayu.....	75
26. Variasi fenotipik warna kulit batang tua pada 30 genotipe ubi kayu	76
27. Visualisasi 9 primer yang tidak memenuhi kriteria seleksi: a) OPA-11; b) OPAA 03; c) OPB-17; d) OPC-02; e) OPC-03; f) OPD-01; g) OPD-04; h) OPJ-08; i) OPM-02.....	77

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu komoditas unggulan dalam subsektor tanaman pangan yang berpotensi menjadi bahan baku di berbagai kegiatan industri. Ubi kayu memiliki nilai strategis sebagai sumber karbohidrat, bahan baku industri, dan mampu menyimpan energi dalam bentuk pati, serta menghasilkan produk bertepung tinggi yang berasal dari akumulasi pati pada bagian umbinya (Zheng *et al.*, 2023). Ubi kayu dapat juga disebut tanaman subsisten, karena banyak ditanam oleh petani kecil untuk konsumsi pribadi atau komunitas. Kemampuan ubi kayu bertahan dalam kondisi lingkungan fluktuatif seperti anomali iklim, tanah berkadar hara rendah, dan kekeringan, menjadikan ubi kayu memegang peranan vital dalam mendukung ketahanan pangan dan pembangunan ekonomi berkelanjutan (Ye *et al.*, 2023).

Indonesia sebagai negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayati dan potensi pertanian memiliki peran penting dalam produksi ubi kayu di tingkat global. Sebagian besar provinsi penghasil ubi kayu di Indonesia berkontribusi dalam kegiatan ekspor pati ubi kayu di pasar internasional (Putri *et al.*, 2022). Luas panen ubi kayu pada tahun 2023 sebesar 618,27 ribu hektar, meningkat sebesar 69,04 ribu hektar atau 12,57% dibandingkan luas panen pada tahun 2022 sebesar 549,25 ribu hektar. Produksi ubi kayu pada tahun 2023 mencapai 16,76 juta ton, meningkat sebesar 1,81 juta ton atau 12,13% dibandingkan produksi ubi kayu pada tahun 2022 sebesar 14,95 juta ton. Provinsi Lampung merupakan kontributor utama produksi ubi kayu nasional yang menyumbang 47,32% dari total produksi dengan capaian 7,906,179 ton (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2025).

Provinsi Lampung sebagai *primary producer* ubi kayu di Indonesia menyimpan keragaman genotipe yang luas dalam sistem budidaya petani. Beberapa genotipe ubi kayu yang banyak dibudidayakan oleh petani di Lampung antara lain Thailand, Kasetsart (UJ-5) (Pranowo *et al.*, 2021), UJ-3, BW-1 (Yelli *et al.*, 2021), Vamas-1, Vati-1, UTK (Utomo *et al.*, 2025), serta berbagai genotipe lainnya. Beberapa genotipe tersebut memiliki karakteristik yang beragam seperti umur panen, rendemen pati, produktivitas, serta keunggulan lain tersendiri sehingga disukai oleh petani. Variasi dalam sifat morfologi ini mencerminkan perbedaan fenotipe antar genotipe. Keanekaragaman genotipe ubi kayu yang tersebar di Lampung ini merupakan plasma nutfah potensial untuk dikembangkan menjadi varietas unggul baru.

Keragaman penamaan genotipe lokal ubi kayu di Lampung belum terstandarisasi sehingga menyebabkan ambiguitas dalam identifikasi dan berpotensi menjadi kendala dalam program pemuliaan tanaman. Genotipe ubi kayu dengan karakter fenotipik serupa sering kali memiliki nama lokal yang berbeda antar wilayah. Kondisi ini menunjukkan adanya kemungkinan ketidaksesuaian antara identitas fenotipik dan genotipik. Beragam nama lokal yang berbeda mewakili genotipe yang sama atau sangat mirip secara genetik, sedangkan varietas yang berbeda secara genetik kadang disebut dengan nama yang sama (Ocampo *et al.*, 2022). Pendekatan morfologi memungkinkan identifikasi dan pengelompokan awal genotipe berdasarkan ciri fisik yang nyata, seperti bentuk daun, lobus, batang, dan umbi, sehingga dapat memberikan gambaran awal mengenai keragaman dalam suatu populasi tanaman. Namun, pendekatan morfologi tidak dapat dijadikan satu-satunya dasar untuk menentukan hubungan kekerabatan genetik antar genotipe ubi kayu karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Evaluasi keragaman genetik pada tanaman dapat dilakukan melalui penggunaan marka DNA berbasis molekuler (Arum *et al.*, 2024). Penggunaan marka molekuler bertujuan untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi seleksi. Salah satu marka yang umum digunakan adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), yang mampu membandingkan genotipe dalam suatu populasi untuk

menentukan hubungan kekerabatan. RAPD tidak memerlukan informasi dari sekuens DNA sebelumnya dan proses amplifikasi yang dilakukan menghasilkan pita-pita polimorfik yang mencerminkan perbedaan karakter genetik antar individu tanaman (Muhammad *et al.*, 2023). Teknik RAPD tetap relevan untuk studi awal variasi genetik meskipun memiliki keterbatasan seperti rendahnya reproduktibilitas (Affek *et al.*, 2025; Ennami *et al.*, 2025).

Dengan demikian, pendekatan integratif yang menggabungkan data morfologi dan molekuler menjadi penting untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai hubungan kekerabatan genotipe ubi kayu. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis hubungan kekerabatan dan variasi genetik ubi kayu di Lampung berdasarkan karakter morfologi dan marka molekuler RAPD, serta mengkaji korelasi antara kedua jenis data tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung berdasarkan karakter morfologi?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung berdasarkan analisis menggunakan marka molekuler RAPD?
3. Bagaimana korelasi antara data morfologi dan molekuler dalam menentukan hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung berdasarkan karakter morfologi.
2. Mengetahui hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung berdasarkan analisis marka molekuler RAPD.
3. Mengetahui korelasi antara data morfologi dan molekuler dalam menentukan hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung.

1.4 Kerangka Pemikiran

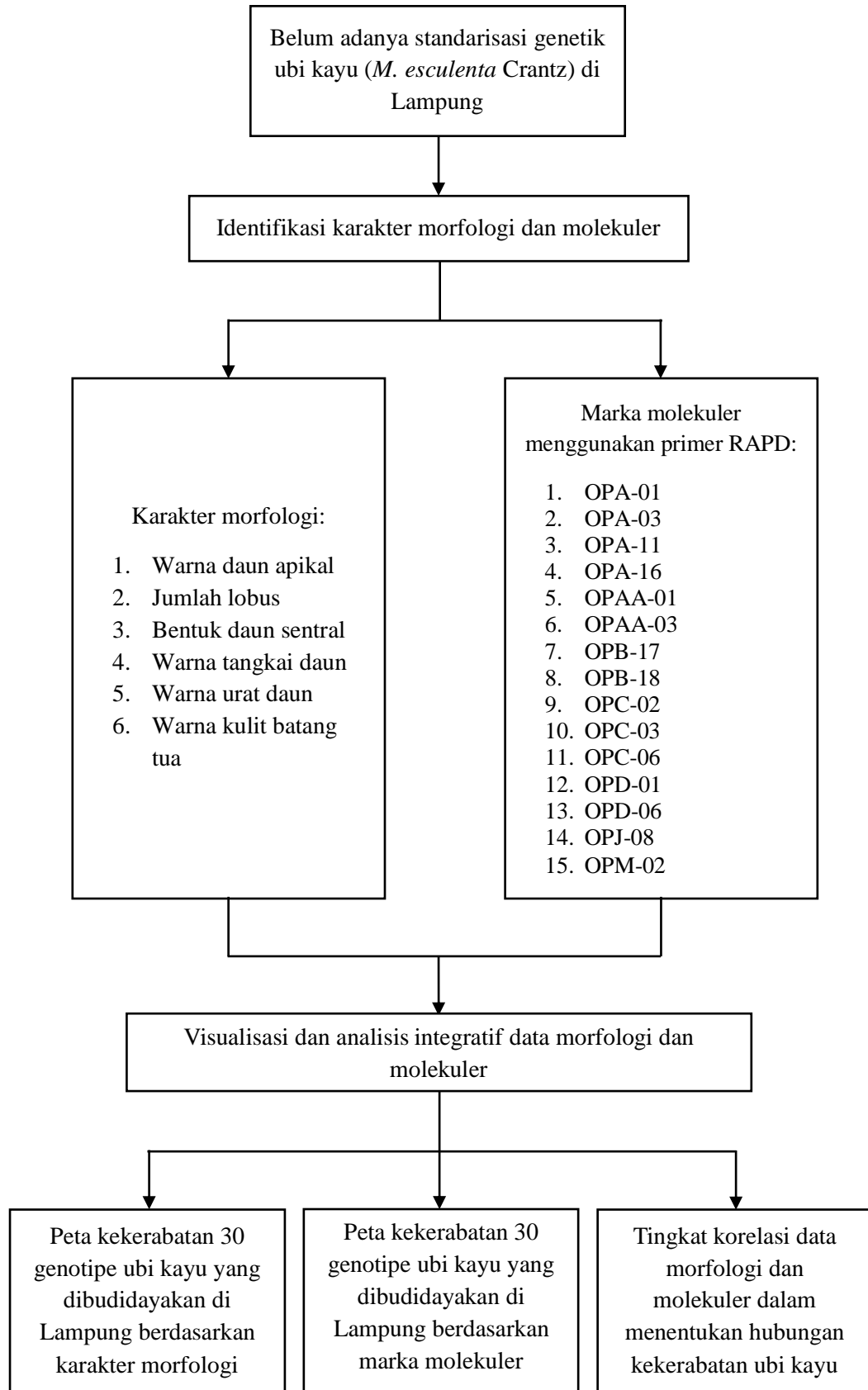
Ubi kayu (*M. esculenta* Crantz) merupakan salah satu tanaman pangan utama di Indonesia yang memiliki peran penting dalam memenuhi kebutuhan karbohidrat, pakan ternak, dan bahan baku industri. Provinsi Lampung memiliki peran penting sebagai penghasil utama ubi kayu nasional. Keragaman genetik ubi kayu di Lampung sangat luas dengan berbagai genotipe yang dibudidayakan, namun nama dan karakteristik genetik dari genotipe ubi kayu tersebut belum memiliki informasi yang terstandarisasi. Beberapa sifat morfologi yang dapat diamati pada genotipe ubi kayu antara lain warna daun apikal, jumlah lobus, bentuk daun sentral, warna tangkai daun, warna urat daun, warna kulit batang tua, dan sebagainya. Variasi dalam karakter morfologi ini mencerminkan perbedaan fenotipe antar genotipe, yang menjadi dasar identifikasi awal genotipe di lapangan serta pengelompokan genotipe sebelum konfirmasi melalui data molekuler.

Informasi genetik yang akurat sangat diperlukan untuk memetakan hubungan kekerabatan dan memanfaatkan potensi plasma nutfah lokal demi keberlanjutan pemuliaan tanaman (Pranowo *et al.*, 2021). Pendekatan modern menggunakan marka molekuler mengintegrasikan data genetik dalam proses seleksi fenotipe. Teknik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memungkinkan identifikasi polimorfisme DNA secara cepat tanpa memerlukan informasi urutan DNA sebelumnya. Analisis ini menghasilkan pola pita DNA polimorfik yang dapat digunakan untuk mendeteksi hubungan

kekerabatan antar individu, pemetaan gen, serta studi keragaman genetik dengan tingkat efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan metode konvensional.

Keberhasilan deteksi variasi genetik dalam penelitian ini ditentukan oleh pemilihan primer yang tepat. Beberapa primer RAPD, seperti OPA-01, OPA-03, OPA-11, OPA-16, OPAA-01, OPAA-03, OPB-17, OPB-18, OPC-02, OPC-03, OPC-06, OPD-01, OPD-06, OPJ-08, dan OPM-02, dilaporkan menghasilkan pita polimorfik dan informatif pada berbagai spesies, sehingga efektif untuk analisis variasi genetik (Probojati *et al.*, 2019; Tiwari *et al.*, 2018; Kusmiyati *et al.*, 2019; Aristya *et al.*, 2019; Lizawati *et al.*, 2019; Nasution *et al.*, 2021; Boomibalagan *et al.*, 2021; Al-Hassnwy dan Al-Nomani, 2021; Valencia-Ledezma *et al.*, 2022; Fitriyanti *et al.*, 2023; Sawitri *et al.*, 2025; Sandhya *et al.*, 2026). Primer-primer tersebut mampu mengamplifikasi berbagai fragmen DNA yang berbeda antar individu sehingga menghasilkan pola pita yang mencerminkan keragaman genetik. Oleh karena itu, pemilihan primer yang tepat menjadi faktor penting dalam meningkatkan akurasi deteksi variasi genetik menggunakan teknik RAPD. Belum adanya informasi mengenai profil genetik genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung memberikan peluang untuk mengidentifikasi variasi genetik tersebut melalui integrasi data molekuler menggunakan 15 primer RAPD dan dukungan data morfologi melalui uji korelasi.

Karakter morfologi digunakan untuk menggambarkan variasi fenotipe yang tampak di lapangan, sedangkan data molekuler memberikan informasi langsung mengenai perbedaan pada tingkat DNA. Oleh karena itu, kedua jenis data tersebut saling melengkapi dan tidak dapat berdiri sendiri dalam menjelaskan keragaman genetik secara komprehensif. Melalui pendekatan integratif ini, penelitian dilakukan untuk memetakan hubungan kekerabatan sekaligus menentukan primer yang paling polimorfik dan efektif pada 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan Lampung sebagai landasan ilmiah dalam perakitan varietas unggul di masa depan. Skema kerangka pemikiran penelitian ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema kerangka pemikiran.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu menghasilkan informasi variasi genetik yang berguna untuk pengembangan genotipe ubi kayu unggul yang sesuai dengan kebutuhan industri. Informasi yang diperoleh dari analisis molekuler dan karakter morfologi dapat digunakan untuk memahami hubungan kekerabatan antar genotipe ubi kayu serta keterkaitan antara variasi fenotipe dan genotipe tanaman. Data tersebut menjadi dasar penting dalam program pemuliaan tanaman, terutama dalam menentukan tetua persilangan yang memiliki jarak kekerabatan genetik yang jauh sehingga dapat memperluas keragaman genetik dan meningkatkan peluang memperoleh varietas unggul. Selain itu, informasi genetik yang dihasilkan juga mendukung upaya pelestarian dan pemanfaatan sumber daya genetik lokal, sehingga petani ubi kayu di Lampung dapat memanfaatkan genotipe unggul yang berpotensi berproduksi tinggi.

1.6 Hipotesis

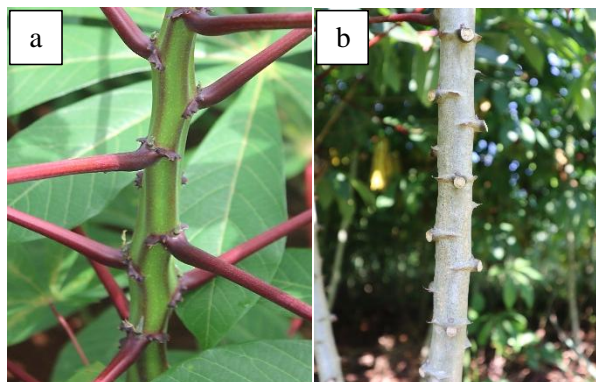
Berdasarkan kerangka pemikiran, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung dapat dipetakan berdasarkan karakter morfologi.
2. Hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung dapat dipetakan berdasarkan analisis menggunakan marka molekuler RAPD.
3. Terdapat korelasi antara data morfologi dan data molekuler dalam menentukan hubungan kekerabatan 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Lampung.

II. TINJAUAN PUSTAKA

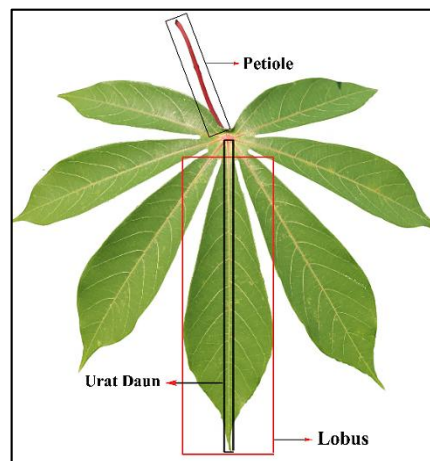
2.1 Morfologi Tanaman Ubi Kayu

Ubi kayu (*M.esculenta* Crantz) merupakan tanaman perdu tahunan yang termasuk dalam famili *Euphorbiaceae*. Pertumbuhan tanaman ubi kayu berlangsung optimal pada ketinggian 10–700 mdpl, dengan curah hujan tahunan antara 760–1.015 mm. Kondisi suhu lingkungan yang ideal berkisar antara 18–35°C, kelembaban udara sekitar 60–65%, dan membutuhkan penyinaran matahari selama sekitar 10 jam per hari. Tanaman ini dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 3–7 m dengan batang berkayu dan beruas. Batang tanaman ubi kayu berbentuk bulat dengan diameter sekitar 2,5–4 cm dan berfungsi sebagai penopang serta tempat tumbuhnya daun di sepanjang ruas batang (Silalahi *et al.*, 2019). Batang ubi kayu memiliki jaringan yang relatif lunak dengan warna hijau pada tanaman muda, namun akan menjadi lebih keras, berkayu, dan berwarna abu-abu seiring bertambahnya umur tanaman (Gambar 2). Batang yang telah tua umumnya digunakan sebagai bahan setek karena memiliki tingkat kekuatan dan viabilitas yang lebih baik untuk pertumbuhan tanaman baru.



Gambar 2. Morfologi batang ubi kayu: a) batang muda; b) batang tua.

Daun ubi kayu tumbuh pada setiap ruas batang dengan tangkai daun yang relatif panjang. Daun berwarna hijau dengan tulang daun majemuk menjari dan tersusun atas beberapa lobus atau cuping daun. Setiap tangkai daun umumnya memiliki 5–9 lobus yang berbentuk lanset dengan ujung meruncing. Lobus daun merupakan bagian helaian daun yang memanjang dari pusat tulang daun utama sehingga membentuk struktur menjari (Gambar 3). Lobus tengah biasanya paling panjang, sedangkan lobus di sisi kiri dan kanan lebih kecil. Bentuk, jumlah, lebar, serta kedalaman lekukan antar lobus dapat bervariasi antar genotipe. Warna daun muda (pucuk) bervariasi dari hijau muda hingga ungu, sedangkan daun dewasa berwarna hijau tua. Warna urat daun dapat bervariasi dari hijau hingga kemerahan. Selain itu, warna tangkai daun (*petiole*) juga menunjukkan variasi, yaitu hijau, kuning, merah, atau kombinasi dari beberapa warna tersebut dan sering digunakan sebagai salah satu karakter dalam deskripsi morfologi ubi kayu (Fukuda *et al.*, 2010).



Gambar 3. Morfologi daun ubi kayu.

Akar tanaman ubi kayu mengalami pembesaran dan berkembang menjadi umbi yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan berupa pati. Umbi tersebut umumnya berbentuk bulat memanjang dengan ukuran yang bervariasi tergantung pada genotipe atau kultivarnya, biasanya berdiameter sekitar 2–3 cm dengan panjang 50–80 cm. Daging umbi merupakan bagian terbesar dari umbi dan berwarna putih hingga kekuningan. Pengisian umbi pada ubi kayu

merupakan proses kritis yang menentukan kualitas dan kuantitas pati yang tersimpan dalam akar. Pengisian pati pada umbi terbagi menjadi dua tahap, yaitu inisiasi dan pertumbuhan. Pada fase inisiasi, pati dalam xilem akar sudah mulai terbentuk sejak umur 28 hari. Akar ubi kayu mulai menyimpan pati dalam jumlah besar seiring perkembangan *storage root*, dimulai sekitar minggu ke-6 masa pertumbuhan dan terus meningkat seiring pembesaran umbi (Carluccio *et al.*, 2022).

Transportasi hasil fotosintesis dari daun ke akar melalui floem, mekanisme tersebut dikenal sebagai *symplasmic phloem loading*. Efisiensi *symplasmic phloem loading* sangat menentukan jumlah sukrosa yang berhasil dikirim ke akar, sehingga memengaruhi kapasitas akumulasi pati di umbi (Rüscher *et al.*, 2024). Setelah masuk ke akar, sukrosa mengalami transportasi subseluler ke berbagai sel parenkim yang berperan sebagai tempat akumulasi pati. Transportasi ini melibatkan interaksi antara vakuola, plastida, dan jaringan parenkim, serta dikendalikan oleh ekspresi gen tertentu yang berhubungan dengan daya serap akar (*sink strength*). Pembentukan pati pada akar ubi kayu mulai terlihat sekitar 6 minggu setelah tanam (MST), kemudian pada sekitar 8 MST terjadi penumpukan granul pati di berbagai bagian akar lateral (Danquah *et al.*, 2025).

Tanaman ubi kayu termasuk jenis tanaman *monoecious*, yaitu memiliki bunga jantan dan bunga betina pada satu individu tanaman. Bunga betina umumnya mekar sekitar 10–14 hari lebih awal dibandingkan bunga jantan pada cabang yang sama. Ubi kayu merupakan tanaman yang penyerbukannya bersifat silang (*cross-pollinated*), dengan lebah madu berperan sebagai agen penyerbuk utama (Sheela *et al.*, 2022). Terdapat variasi antar genotipe baik dalam waktu pembungaan, yang dapat terjadi antara 4 hingga lebih dari 8 bulan setelah tanam, maupun dalam jumlah bunga yang dihasilkan. Strategi untuk meningkatkan pembungaan pada tanaman ubi kayu yang sulit berbunga antara lain dengan melakukan pruning, pemberian hormon, dan induksi buatan. Pemberian sitokinin (*benzyladenine/BA*) dapat memfeminisasi bunga, sedangkan *anti-ethylene (silver thiosulfate/STS)* dan pruning dapat meningkatkan jumlah bunga (Oluwasanya *et al.*, 2021). Setelah

proses penyerbukan dan fertilisasi, bakal buah berkembang menjadi buah. Sinkronisasi pembungaan pada tanaman ubi kayu relatif sulit dilakukan karena terdapat variasi waktu berbunga antar genotipe, yaitu berkisar antara 4–5 bulan hingga 8–10 bulan setelah tanam (Silalahi *et al.*, 2019).

2.2 Pemanfaatan Ubi Kayu

Bagian tanaman ubi kayu yang paling banyak dimanfaatkan manusia adalah umbi, yang merupakan sumber karbohidrat utama dengan kandungan energi tinggi, meskipun rendah protein dan lemak dibandingkan biji-bijian. Dalam 100 g umbi terdapat 34 g karbohidrat, 1,2 g protein, 0,3 mg lemak, 62,5 g air, 33 mg kalsium, 40 mg fosfor, 0,7 mg besi, 30 mg vitamin C, dan 0,01 mg vitamin B1 (Yuliadi, 2018). Umbi ubi kayu dimanfaatkan secara luas sebagai bahan pangan maupun bahan baku industri. Pati dihasilkan dari umbi ubi kayu melalui proses pascapanen dan dapat dipakai sebagai bahan dasar dalam produksi makanan (Satmalawati *et al.*, 2024). Selain itu, umbi ubi kayu juga telah diteliti sebagai bahan pakan alternatif untuk unggas dan mampu menggantikan sebagian penggunaan jagung dalam ransum tanpa menurunkan performa produksi ternak (Palupi *et al.*, 2022).

Selain umbi, daun ubi kayu juga memiliki potensi pemanfaatan yang cukup besar. Daun ubi kayu dapat dimanfaatkan sebagai sayuran maupun sebagai pakan ternak karena memiliki kandungan nutrisi yang relatif tinggi. Kandungan protein daun ubi kayu dapat mencapai 14–40% dari bobot kering serta mengandung vitamin B, vitamin C, karotenoid, dan berbagai mineral penting seperti kalsium, zat besi, dan seng yang relatif lebih tinggi dibandingkan beberapa jenis sayuran hijau lainnya (Mohidin *et al.*, 2023). Selain itu, daun ubi kayu juga mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid dan polifenol, yang berkaitan dengan aktivitas antioksidan serta berpotensi memberikan efek kesehatan seperti anti obesitas, antidiabetik, dan anti inflamasi (Rahman, 2025). Daun ubi kayu memiliki sifat anti bakteri dan anti kanker serta berpotensi membantu menurunkan tekanan darah (Toni dan Pane, 2025). Daun ubi kayu juga berpotensi dimanfaatkan sebagai

pakan lengkap (*complete feed*) bagi ternak ruminansia karena kandungan nutrisinya yang tinggi (Pinem, 2025).

Selain bagian tanaman yang dimanfaatkan secara langsung, limbah ubi kayu juga memiliki potensi pemanfaatan yang cukup luas. Limbah yang berasal dari bagian tanaman, seperti pucuk, batang, kulit umbi, dan bonggol, serta residu hasil pengolahan ubi kayu seperti umbi afkir dan ampas pengolahan pati masih mengandung karbohidrat yang relatif mudah dicerna sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak. Batang ubi kayu dapat dicampur dengan daun sebagai pakan penguat, sedangkan kulit ubi kayu dapat diolah menjadi biobriket sebagai bahan bakar padat yang berpotensi menggantikan sumber energi tak terbarukan seperti bahan bakar fosil dan kayu bakar sehingga lebih ramah lingkungan (Puri *et al.*, 2022). Selain itu, ubi kayu juga dapat diolah menjadi berbagai produk pangan alternatif, salah satunya beras analog. Formulasi beras analog yang terdiri atas 78% tepung ubi kayu dan 20% tepung kacang merah dilaporkan menghasilkan karakteristik fisikokimia dan sifat fungsional terbaik dibandingkan formulasi lainnya (Lalong *et al.*, 2025). Dengan demikian, ubi kayu merupakan tanaman multifungsi yang memiliki berbagai manfaat sebagai sumber pangan, pakan, bahan baku industri, serta berpotensi mendukung ketahanan pangan dan keberlanjutan lingkungan.

2.3 Plasma Nutfah Ubi Kayu

Plasma nutfah merupakan sumber daya genetik yang mencakup seluruh variasi genetik suatu spesies tanaman, baik yang berasal dari varietas lokal, varietas unggul hasil pemuliaan, maupun kerabat liar yang masih memiliki hubungan kekerabatan dengan spesies budidaya. Plasma nutfah memiliki peran penting dalam pengembangan varietas unggul karena menjadi sumber gen yang dapat dimanfaatkan untuk memperoleh sifat-sifat agronomis yang diinginkan, seperti produktivitas tinggi, ketahanan terhadap hama dan penyakit, toleransi terhadap cekaman lingkungan, serta kualitas hasil yang lebih baik. Keragaman plasma nutfah yang luas memungkinkan pemulia tanaman melakukan seleksi dan

kombinasi genetik yang lebih efektif dalam menghasilkan varietas unggul baru (Wooding dan Peña, 2023). Oleh karena itu, keberadaan plasma nutfah yang beragam menjadi dasar penting dalam kegiatan pemuliaan tanaman dan pengembangan varietas yang adaptif terhadap berbagai kondisi lingkungan.

Keberadaan genotipe dengan latar belakang asal yang berbeda dalam koleksi plasma nutfah memungkinkan terbentuknya variasi genetik yang luas. Semakin tinggi tingkat keragaman genetik dalam suatu koleksi plasma nutfah, semakin besar peluang untuk memperoleh kombinasi sifat yang diinginkan melalui proses seleksi maupun persilangan. Dalam konteks budidaya tanaman, varietas merupakan kelompok tanaman dalam satu spesies yang memiliki karakter morfologi, fisiologi, dan agronomi yang relatif seragam serta dapat dibedakan secara jelas dari kelompok tanaman lainnya dan dipertahankan sifatnya melalui perbanyakan. Pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif seperti ubi kayu, istilah klon digunakan untuk menyebut kelompok tanaman yang berasal dari satu individu induk dan memiliki susunan genetik yang identik karena diperbanyak secara vegetatif (Ashar, 2016). Klon yang telah lama dibudidayakan oleh petani di suatu wilayah dan berkembang melalui seleksi alami maupun seleksi petani dikenal sebagai klon lokal. Sementara itu, klon introduksi merupakan klon yang berasal dari daerah atau negara lain yang kemudian diperkenalkan dan dibudidayakan di wilayah baru

Beberapa varietas ubi kayu yang banyak dibudidayakan di Indonesia antara lain varietas UJ-3, UJ-5, Adira-4, Vati-1, dan Vamas-1. Varietas UJ-3 dan UJ-5 merupakan varietas ubi kayu unggul nasional yang berasal dari introduksi Thailand dan banyak dikembangkan di Provinsi Lampung karena memiliki potensi hasil tinggi serta kadar pati yang sesuai untuk industri tapioka (Saleh *et al.*, 2016). Varietas Adira-4 merupakan varietas ubi kayu unggul nasional hasil persilangan bebas dengan tetua betina BIC 528 (Muara) yang dilepas oleh Kementerian Pertanian pada tahun 1978 dan memiliki potensi produksi 35 ton ha⁻¹ (Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, 2016). Varietas Vati-1 memiliki ketahanan terhadap hama tungau merah serta potensi hasil yang

mencapai 46,9 t ha⁻¹ (Utomo *et al.*, 2025). Varietas Vamas-1 merupakan hasil persilangan terbuka dengan tetua betina CMR44-29-12, cenderung toleran hama tungau merah, cenderung toleran penyakit busuk umbi *Fusarium* sp., berumur genjah, dan memiliki potensi hasil 46,61 t ha⁻¹ (Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, 2019; Sholihin, 2022).

Beberapa penelitian juga telah mengevaluasi performa agronomi beberapa varietas dan klon ubi kayu. Varietas Vamas-1, Vati-1, dan UJ-5 dilaporkan memiliki jumlah umbi segar berkisar antara 6,6–7,3 umbi per tanaman pada umur 24 minggu setelah tanam. Bobot umbi segar masing-masing varietas tersebut berturut-turut mencapai sekitar 2316,7 g tanaman⁻¹ pada Vamas-1, 2183,3 g tanaman⁻¹ pada Vati-1, dan 1433,3 g tanaman⁻¹ pada UJ-5, dengan kadar pati masing-masing sekitar 26,2%, 25,2%, dan 23,2%. Pada penelitian yang sama, klon UTK yang merupakan salah satu klon lokal juga menunjukkan jumlah umbi sekitar 6,3 umbi per tanaman dengan bobot umbi segar mencapai sekitar 2150,0 g tanaman⁻¹ serta kadar pati sekitar 25,8% (Utomo *et al.*, 2025).

2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik biologi molekuler yang digunakan untuk memperbanyak fragmen DNA secara *in vitro* melalui proses amplifikasi enzimatik. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1983 dan sejak itu menjadi metode yang sangat penting dalam berbagai penelitian genetika dan bioteknologi. Teknik PCR terus mengalami perkembangan dan telah menjadi salah satu metode paling revolusioner dalam ilmu biologi dan kedokteran. Metode ini memungkinkan analisis DNA dalam berbagai bidang, termasuk genetika, forensik, mikrobiologi, serta diagnostik penyakit menular dan genetik (Alsharksi *et al.*, 2024). Dibandingkan dengan metode analisis DNA konvensional, PCR memiliki keunggulan berupa sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi sehingga mampu mendeteksi DNA dalam jumlah yang sangat kecil secara cepat dan akurat (Bhat dan Al-Khayri, 2023).

Komponen utama dalam reaksi PCR terdiri atas DNA *template*, primer spesifik, enzim DNA *polymerase*, dan *deoksiribonukleotida trifosfat* (dNTP). DNA *template* merupakan DNA target yang akan diamplifikasi dalam proses PCR. Primer merupakan fragmen oligonukleotida pendek yang berfungsi sebagai penanda awal sintesis DNA dengan menempel pada daerah komplementer dari untaian DNA yang telah terdenaturasi. Enzim DNA *polymerase* berperan dalam mengkatalisis sintesis untaian DNA baru dengan menambahkan nukleotida bebas (dNTP) pada ujung 3' dari primer yang telah berikatan dengan DNA *template*. Sementara itu, dNTP berfungsi sebagai bahan penyusun (*building block*) yang digunakan oleh DNA *polymerase* untuk membentuk rantai DNA baru selama proses amplifikasi (Mahanama dan Wilson-Davies, 2021).

Proses PCR terdiri atas tiga tahap utama yaitu denaturasi, *annealing*, dan ekstensi yang berlangsung secara berulang dalam alat *thermal cyclers* sehingga menghasilkan amplifikasi DNA secara eksponensial (Widodo, 2024). Tahap pertama adalah denaturasi, yaitu proses pemisahan DNA beruntai ganda menjadi dua untaian tunggal dengan cara memanaskan sampel DNA pada suhu sekitar 94–95 °C. Pada suhu tinggi tersebut, ikatan hidrogen yang menghubungkan pasangan basa nukleotida pada molekul DNA akan terputus sehingga kedua untaian DNA terpisah dan dapat berfungsi sebagai cetakan (*template*) untuk proses sintesis DNA berikutnya.

Tahap kedua dalam PCR adalah *annealing*, yaitu proses penempelan primer pada urutan basa DNA target yang bersifat komplementer. Pada tahap ini, suhu diturunkan agar primer dapat berikatan dengan sekuens komplementer pada DNA *template*. Suhu *annealing* sangat dipengaruhi oleh panjang primer dan nilai *melting temperature* (T_m) dari primer yang digunakan. Pada PCR konvensional, suhu *annealing* umumnya berada pada kisaran 50–65 °C agar penempelan primer berlangsung secara spesifik. Namun pada *teknik Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) digunakan primer pendek yang bersifat acak dengan panjang sekitar 10 nukleotida sehingga memiliki nilai T_m yang relatif rendah. Oleh karena itu, suhu *annealing* pada PCR-RAPD umumnya lebih rendah, yaitu sekitar 34–37

°C, agar primer dapat menempel pada berbagai lokasi pada genom dan menghasilkan fragmen DNA yang teramplifikasi. Penggunaan suhu annealing yang rendah tersebut memungkinkan terbentuknya banyak pita DNA yang digunakan untuk analisis keragaman genetik (Herman *et al.*, 2019).

Tahap ketiga dalam PCR adalah ekstensi atau elongasi, yaitu proses pemanjangan rantai DNA baru oleh enzim DNA *polymerase*. Pada tahap ini, enzim menambahkan nukleotida bebas (dNTP) secara berurutan pada ujung primer yang telah menempel pada DNA cetakan, sehingga membentuk untai DNA komplementer baru. Proses ini berlangsung pada suhu sekitar 72 °C, yang merupakan suhu optimum bagi aktivitas enzim Taq DNA *polymerase* (Putra, 2020). dNTP akan berikatan dengan ion magnesium (Mg^{2+}) yang memengaruhi konsentrasi ion yang efektif untuk reaksi polimerisasi menggunakan *single-stranded* DNA (ssDNA) sebagai *template*. Enzim DNA *polymerase* mensintesis untai ganda baru (dsDNA) dari template secara enzimatik, dengan arah pemanjangan dari ujung 5' menuju ujung 3' primer. Ketiga tahapan PCR tersebut kemudian diulang dalam beberapa siklus, umumnya 25–40 siklus, sehingga jumlah fragmen DNA target akan meningkat secara eksponensial dan dapat dianalisis lebih lanjut dalam berbagai studi genetika molekuler.

2.5 Marka Molekuler

Marka molekuler dalam studi keragaman genetik mampu menilai keragaman genetik dan relasi antar genotipe, serta mendukung seleksi berbasis DNA (*marker-assisted selection*, MAS) yang mencerminkan informasi langsung dari susunan genetik tanaman (Manikandan *et al.*, 2025). Kriteria marka molekuler genetik antara lain memiliki tingkat polimorfisme yang sedang sampai tinggi, terdistribusi merata di seluruh genom, memberikan resolusi perbedaan genetik yang cukup, mampu membedakan kedua tetua dan ciri marka yang diwariskan secara sama dan akurat dari tetua ke turunannya. Terdapat dua jenis marka molekuler, yaitu marka dominan (*dominant marker*) dan marka ko-dominan (*codominant marker*). Marka dominan dapat menandai adanya lokus target, tetapi tidak bisa membedakan

homozigot dengan heterozigot, sedangkan marka kodominan dapat menandai adanya lokus target homozigot atau lokus target heterozigot. Berbagai metode marka seperti RAPD, SSR, AFLP, dan SNP telah menjadi fondasi utama dalam pemetaan genetik, analisis diversitas, serta penentuan struktur populasi karena sifatnya yang sangat informatif dan kemampuannya mendeteksi perubahan genetik walaupun tanaman diperbanyak secara vegetatif (Karakas, 2024).

Marka molekuler dengan situs acak yang dapat digunakan dalam seleksi antara lain *restriction fragment length polymorphisms* (RFLP), *random amplified polymorphic DNAs* (RAPD), *sequence tagged sites* (STS), *amplified fragment length polymorphisms* (AFLP), *simple sequence repeats* (SSRs), dan *single nucleotide polymorphisms* (SNP). Marka situs spesifik yang dapat digunakan dalam seleksi antara lain *sequence characterized amplification region* (SCAR) dan *expressed sequence tags* (EST). Prinsip kerja RFLP meliputi pemotongan DNA oleh endonuklease restriksi, pemisahan fragmen melalui elektroforesis, dan deteksi pola fragmentasi yang merepresentasikan polimorfisme genetik antar individu atau kultivar. Pendekatan ini telah diaplikasikan secara efektif pada analisis keanekaragaman genetik tanaman, termasuk kultivar pisang (*Musa spp.*) dan durian (*Durio zibethinus*). Pada kultivar pisang, PCR-RFLP ITS dengan enzim *RsaI* menghasilkan fragmen spesifik yang membedakan genom A dan B, konsisten dengan klasifikasi mikrosatelit, sehingga memungkinkan identifikasi dan pengelompokan kultivar secara efisien (Ekasari *et al.*, 2012). Sementara itu, pada durian, PCR-RFLP ITS yang menggunakan enam enzim restriksi (*AluI*, *Eco471*, *Bsp1431*, *BsuRI*, *Mph11301*, dan *Ade1*) menghasilkan pola fragmen unik yang mengelompokkan aksesi durian dengan hubungan genetik dekat, mendukung identifikasi kultivar yang sulit dibedakan secara morfologis serta memberikan informasi dasar untuk program pemuliaan dan konservasi plasma nutfah (Hikmah *et al.*, 2016).

Sequence Tagged Site (STS) adalah segmen DNA pendek ($\pm 200\text{--}500$ bp) yang unik dalam genom dan memiliki urutan serta lokasi yang diketahui. Segmen DNA ini dapat diamplifikasi secara spesifik menggunakan primer PCR (Tasliyah,

2021). STS berfungsi sebagai penanda genetik lokus tertentu, bersifat kodominan, sehingga dapat membedakan alel heterozigot dan homozigot. Meskipun urutan STS bisa mengandung elemen berulang, keunikan pada kedua ujung segmen memungkinkan peneliti mengidentifikasi lokasi genom secara tepat. *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) merupakan teknik marker molekuler yang mengombinasikan pemotongan DNA dengan enzim restriksi dan amplifikasi selektif menggunakan PCR. DNA genom dipotong oleh enzim restriksi untuk menghasilkan fragmen DNA, yang kemudian diadaptasi dengan primer khusus untuk amplifikasi PCR. Fragmen hasil amplifikasi ini dipisahkan melalui elektroforesis dan menghasilkan pola banding unik yang mencerminkan variasi genetik antar individu atau populasi. AFLP bersifat dominan dan dapat digunakan untuk menilai keragaman genetik, struktur populasi, dan stabilitas genetik tanaman (Hu *et al.*, 2024; Al-Kiyyam *et al.*, 2024).

Simple Sequence Repeat (SSR) merupakan marka molekuler yang didasarkan pada variasi jumlah pengulangan sekuens DNA pendek (1–6 pasangan basa) yang tersebar di seluruh genom. Perbedaan jumlah pengulangan tersebut menghasilkan variasi panjang fragmen DNA yang dapat dideteksi melalui PCR menggunakan primer spesifik. Marka SSR banyak digunakan dalam diferensiasi populasi, studi keragaman genetik, analisis kekerabatan, analisis *linkage*, pemetaan gen, dan penelitian keragaman genetik, sehingga sangat mendukung program pemuliaan molekuler pada berbagai tanaman (Xu *et al.*, 2021). Pemanfaatan SSR telah dilaporkan pada beberapa tanaman, antara lain gandum (*Triticum aestivum*) untuk identifikasi varietas dan pemetaan QTL resistensi terhadap hawar daun (Xu *et al.*, 2021), jelai (*Hordeum vulgare*) untuk analisis struktur populasi (Mohammadi *et al.*, 2020), padi (*Oryza sativa*) untuk analisis keragaman genetik varietas upland rice (Li *et al.*, 2023), kapas (*Gossypium* spp.) untuk karakterisasi varietas dan penentuan ambang batas genetika dalam DUS testing (Wang *et al.*, 2023), serta jagung (*Zea mays*) untuk analisis keragaman genetik (Belalia *et al.*, 2018).

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) merupakan variasi genetik yang terjadi akibat perubahan satu nukleotida pada posisi tertentu dalam genom, sehingga mampu menangkap perbedaan alel dengan resolusi yang sangat tinggi. SNP

memungkinkan identifikasi subpopulasi dan varietas, termasuk varietas hibrida yang sulit dibedakan secara morfologi pada tahap bibit. Studi melon menunjukkan bahwa hasil fingerprinting menggunakan SNP konsisten dengan SSR dan dapat digunakan untuk supervisi, identifikasi, dan perlindungan varietas (Zhang *et al.*, 2023).

Selain marka dengan situs acak, terdapat marka dengan situs spesifik seperti *Sequence Characterized Amplified Region* (SCAR) dan *Expressed Sequence Tag* (EST). SCAR dikembangkan dari fragmen DNA spesifik yang diperoleh melalui teknik seperti RAPD, kemudian disekuensing untuk merancang primer spesifik sehingga menghasilkan amplifikasi DNA yang lebih akurat dan reproduktif. Studi terbaru menunjukkan bahwa SCAR yang dikembangkan dari ISSR dapat digunakan untuk identifikasi dan konservasi *Rhynchosyilis gigantea* beserta varietasnya, menyediakan alat yang efektif untuk pelestarian genetik (Saengprajak *et al.*, 2026). Sementara itu, *Expressed Sequence Tag* (EST) merupakan fragmen DNA yang berasal dari cDNA hasil transkripsi gen yang diekspresikan. Marka berbasis EST digunakan untuk mengidentifikasi gen yang aktif dan menganalisis variasi genetik pada wilayah genom yang terkait langsung dengan ekspresi gen. Studi terbaru pada kenaf (*Hibiscus cannabinus*) menunjukkan bahwa EST-SSR yang dikembangkan dari transkriptom tanaman yang terkena stres salinitas tidak hanya memperkaya jumlah marker molekuler, tetapi juga efektif untuk menilai polimorfisme, keragaman genetik, dan struktur populasi dari sumber daya plasma nutfah (An *et al.*, 2023).

2.6 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

RAPD merupakan aplikasi *polymorphic chain reaction* (PCR) yang digunakan untuk mendeteksi adanya suatu polimorfisme DNA dalam suatu populasi atau antarpopulasi. Teknik RAPD berkembang pada awal 1990-an ketika penggunaan PCR mulai meluas setelah ditemukan oleh Kary Mullis pada tahun 1983. Pada masa tersebut, banyak organisme belum memiliki peta genom dan informasi sekuens DNA yang memadai, sehingga pembuatan primer spesifik menjadi

kendala besar dalam analisis genetik. Dalam konteks inilah teknik RAPD diperkenalkan secara independen oleh John G. K. Williams dari DuPont Company serta Johan Welsh dan Michael McClelland dari University of California pada tahun 1990 sebagai metode PCR berbasis primer acak yang tidak memerlukan informasi sekuens sebelumnya.

Teknik RAPD memiliki beberapa keunggulan, antara lain tidak memerlukan informasi sekuens DNA sebelumnya, cepat dan sederhana dengan hanya membutuhkan sedikit DNA, mampu mendeteksi polimorfisme pada tingkat molekuler, serta memberikan data awal untuk analisis keragaman genetik dan *fingerprinting*. Namun, RAPD juga memiliki keterbatasan, seperti bersifat dominan sehingga tidak dapat membedakan antara homozigot (AA) dan heterozigot (Aa) sehingga resolusi genetik terbatas (Manikandan *et al.*, 2025), reproduibilitas rendah karena hasil pita DNA dapat bervariasi antar eksperimen akibat sensitivitas terhadap kondisi PCR, kualitas DNA, dan suhu annealing yang rendah (35–40°C) (Sharma *et al.*, 2022; Larekeng *et al.*, 2019), serta sifat multi lokus dan acak yang membuat satu pita dapat berasal dari berbagai bagian genom sehingga sulit dikaitkan dengan sifat tertentu (Manikandan *et al.*, 2025). Selain itu, pola pita RAPD memiliki resolusi rendah untuk mendeteksi variasi alelik dibandingkan marker kodominan seperti SSR atau SNP (Martin *et al.*, 2025) dan tidak ada basis data referensi untuk dibandingkan secara standar antar laboratorium atau spesies (To *et al.*, 2021).

Polimorfisme pada RAPD muncul dari variasi pada situs penempelan primer akibat mutasi atau pengaturan ulang DNA, yang terdeteksi sebagai keberadaan pita DNA tertentu. Dalam konteks analisis genetik, polimorfisme merujuk pada keberadaan lebih dari satu bentuk alel atau fragmen DNA di antara individu dalam populasi, di mana perbedaan ukuran atau pola pita DNA (*fingerprint*) menunjukkan variasi genetik. Semakin tinggi polimorfisme yang dihasilkan oleh suatu primer, semakin informatif primer tersebut untuk membedakan individu dalam populasi (Ennami *et al.*, 2025). Oleh karena itu, pemilihan primer sangat penting; primer dari spesies yang sefamili dengan tanaman yang diteliti sering

digunakan untuk memperoleh tingkat polimorfik yang tinggi (Gusmiaty *et al.*, 2021)

Untuk menilai efektivitas primer dalam mendeteksi polimorfisme, beberapa penelitian terdahulu telah mengevaluasi kinerja berbagai primer RAPD pada berbagai spesies tanaman, menunjukkan bahwa tingkat polimorfisme yang terdeteksi sangat bergantung pada pemilihan primer. Berbagai studi telah melaporkan primer tertentu yang mampu menghasilkan pita polimorfik tinggi pada tanaman berbeda, yang dapat dijadikan acuan dalam analisis keragaman genetik, antara lain primer OPA-01 dan OPA-03 menghasilkan pita polimorfik pada tanaman pisang raja (Probojati *et al.*, 2019). Primer OPA-11 menghasilkan pita polimorfisme pada tanaman kersen liar (Nasution *et al.*, 2021). Primer OPA-16 menghasilkan tingkat polimorfisme 100% pada pisang raja (Probojati *et al.*, 2019) dan durian criwik (Sawitri *et al.*, 2025). Primer OPAA-01 menghasilkan persentase polimorfisme sebesar 90% pada kedelai hitam (Kusmiyati *et al.*, 2019), dan primer OPAA-03 menghasilkan polimorfisme 100% pada *Panicum sumatrense* (Tiwari *et al.*, 2018).

Primer OPB-17 dikategorikan sebagai salah satu primer yang informatif dan polimorfik (Sandhya *et al.*, 2026). Primer OPB-18 menghasilkan polimorfisme 100% pada durian criwik (Sawitri *et al.*, 2025). Pada tanaman tebu, primer OPC-02 dan OPD-01 mampu membedakan profil genetik 20 varietas dengan kemiripan morfologi (Aristya *et al.*, 2019), sedangkan primer OPC-03 efektif dalam pemetaan sidik jari DNA spesies *Gymnema sylvestre* (Boomibalagan *et al.*, 2021). Primer OPC-06 direkomendasikan untuk mengidentifikasi variasi genetik *Aspergillus fumigatus* karena dapat menghasilkan pola pita yang polimorfik (Valencia-Ledezma *et al.*, 2022). Primer OPD-06 menghasilkan polimorfisme sebesar 92,8% pada tanaman rambutan (Fitriyanti *et al.*, 2023). Primer OPJ-08 menghasilkan jumlah pita DNA heterogen terbanyak (Al-Hassnwy dan Al-Nomani, 2021), serta primer OPM-02 menghasilkan pita informatif dan polimorfik pada tanaman kayu manis (Lizawati *et al.*, 2019).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2024–April 2025. Lokasi penelitian adalah (1) Kebun ubi kayu Natar, Lampung Selatan (2) Kebun ubi kayu Kelurahan Rajabasa Raya, Bandar Lampung (3) Laboratorium Sentral Rumah Kaca dan Lahan Uji, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Kawasan Sains dan Teknologi, Cibinong, Jawa Barat.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet, *vortex mixers*, *centrifugator*, NanoDrop, *gel document*, *microwave*, *thermal cycler*, cetakan gel, mesin elektroforesis, gelas ukur, erlenmeyer, *micropestle*, oven, lemari pendingin 4°C, freezer -20°C, freezer -80°C, timbangan digital, pinset, *scalpel*, *sprayer*, *cryoBox*, rak *tube Eppendorf*, pena marker, dan kamera digital. Bahan kimia yang digunakan meliputi 15 primer RAPD (Macrogen, Korea Selatan), *Genomic DNA Mini Kit (Plant)* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan), *agarose powder* (Sigma-Aldrich, USA), tip mikropipet, *tube Eppendorf*, *tube PCR* (Servicebio, China), alkohol 70%, *RedSafe Nucleic Acid Staining Solution* (iNtRON Biotechnology, Korea Selatan), 6x *DNA Loading Dye* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan), Invitrogen 1 Kb *Plus DNA Ladder* (Thermo Fisher Scientific, USA), *buffer Tris-EDTA* (TE), *Nuclease-Free Water* (NFW) (Thermo Scientific, USA), *MyTaq HS Red Mix* (Meridian Bioscience, USA), *buffer Tris Acetate EDTA* (TAE), dan ddH₂O. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun muda dari 30 genotipe ubi kayu yang dibudidayakan di Provinsi Lampung (Tabel 1).

Tabel 1. Daftar deskripsi 30 genotipe ubi kayu

No	Genotipe	Deskripsi
1	Bendo-3	Klon introduksi dari Sragen, Jawa Tengah
2	UTK	Klon lokal Lampung
3	SL-36	F1 keturunan tetua betina Sayur Liwa
4	KG	Korem Gatam; klon introduksi
5	SL-30	F1 keturunan tetua betina Sayur Liwa
6	Unila UK-1	F1 keturunan Sayur Liwa
7	KP	Ketan Palas; klon lokal Lampung
8	UJ-3	Umas Jaya; Varietas unggul nasional, introduksi dari Thailand
9	UJ-5	Umas Jaya; Varietas unggul nasional, introduksi dari Thailand; Kasetsart
10	UJ-6	Umas Jaya; Klon lokal Lampung
11	BW-1	Bumi Waras; Klon introduksi dari Thailand
12	BW-0223	Bumi Waras; Klon introduksi dari Thailand
13	CN	Cino; Klon lokal Lampung
14	SN	Soponyono; Klon lokal Lampung
15	Waxy	Klon introduksi dari Thailand
16	Adira-4	Varietas unggul nasional, hasil persilangan bebas tetua betina BIC 528 (Muara)
17	Garuda	Klon lokal Lampung
18	Barokah	Klon lokal Lampung
19	MU-55	F1 keturunan tetua betina Mentik Urang, Malang
20	BL-81	Bayam Liwa
21	GSP	Gajah Super Palas; klon lokal Lampung
22	Gani	Klon lokal Lampung
23	MRT	Marinten; klon lokal Lampung
24	Manggu	Klon introduksi dari Jawa Barat
25	Klenteng	Klon lokal Lampung
26	Celeng	Klon lokal Lampung
27	Vati-1	CMM 02040-1; varietas unggul nasional, hasil persilangan tetua betina MLG 10098 dan tetua jantan MLG 10025
28	Vamas-1	OMR 51-20-5; varietas unggul nasional, hasil seleksi dari populasi hasil penyerbukan terbuka tetua betina CMR44-29-12 (Sholihin, 2022).
29	TDSS	Tanaman Daun Sembilan Sempit; klon lokal Lampung
30	TDSL	Tanaman Daun Sembilan Lebar; klon lokal Lampung

Daftar 15 primer RAPD yang digunakan disajikan pada Tabel 2:

Tabel 2. Daftar 15 primer RAPD

No	Primer	Urutan Basa Nukleotida
1	OPA-01	5' CAGGCCCTTC 3'
2	OPA-03	5' AGTCAGCCAC 3'
3	OPA-11	5' CAATCGCCGT 3'
4	OPA-16	5' AGCCAGCGAA 3'
5	OPAA-01	5' AGACGGCTCC 3'
6	OPAA-03	5' TTAGCGCCCC 3'
7	OPB-17	5' AGGGAACGAG 3'
8	OPB-18	5' CCACAGCAGT 3'
9	OPC-02	5' GTGAGGCGTC 3'
10	OPC-03	5' GGGGGTCTTT 3'
11	OPC-06	5' GAACGGACTC 3'
12	OPD-01	5' ACCGCGAAGG 3'
13	OPD-06	5' ACCTGAACGG 3'
14	OPJ-08	5' CATAACCGTGG 3'
15	OPM-02	5' ACAACGCCTC 3'

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif dengan integrasi pendekatan morfologi dan molekuler. Karakterisasi morfologi dilakukan sebagai langkah awal untuk memperoleh gambaran visual perbedaan karakter vegetatif antar genotipe, sedangkan pendekatan molekuler digunakan sebagai metode utama untuk mengidentifikasi variasi genetik secara akurat dan memberikan data kuantitatif. Integrasi kedua pendekatan ini memungkinkan interpretasi hasil yang lebih komprehensif dan mendukung pemahaman hubungan genetik antar genotipe, sehingga hasil morfologi dan profil genetik dapat digunakan bersama dalam analisis variasi dan kekerabatan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

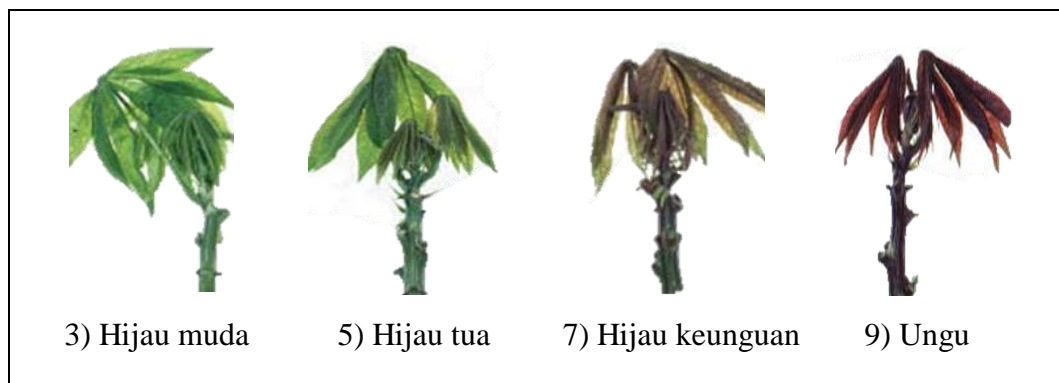
Penelitian ini dilaksanakan dalam tiga tahapan, yaitu (1) karakterisasi morfologi ubi kayu berdasarkan karakter vegetatif, (2) karakterisasi DNA ubi kayu berdasarkan marka molekuler RAPD, dan (3) analisis data.

3.4.1 Karakterisasi Morfologi Ubi Kayu Berdasarkan Karakter Vegetatif

Karakterisasi morfologi dilakukan sebagai data pendukung terhadap hasil analisis molekuler berbasis marka RAPD. Karakterisasi ini dilakukan terhadap 30 genotipe ubi kayu dengan mengamati enam karakter vegetatif yang mengacu pada panduan Fukuda *et al.* (2010). Karakter yang diamati meliputi warna daun apikal, jumlah lobus, bentuk daun sentral, warna urat daun, warna tangkai daun, dan warna kulit batang tua. Pemilihan variable ini didasarkan pada nilai diskriminasi yang tinggi, mencakup karakter yang stabil secara genetik seperti bentuk dan jumlah lobus, serta karakter pigmentasi yang responsif terhadap lingkungan.

3.4.1.1 Warna Daun Apikal

Pengamatan visual terhadap daun yang terletak di pucuk atau titik tumbuh tanaman. pada umur 3 bulan setelah tanam (BST). Panduan skoring untuk variabel warna daun apikal disajikan pada Gambar 4:



Gambar 4. Panduan skoring warna daun apikal (Fukuda *et al.*, 2010).

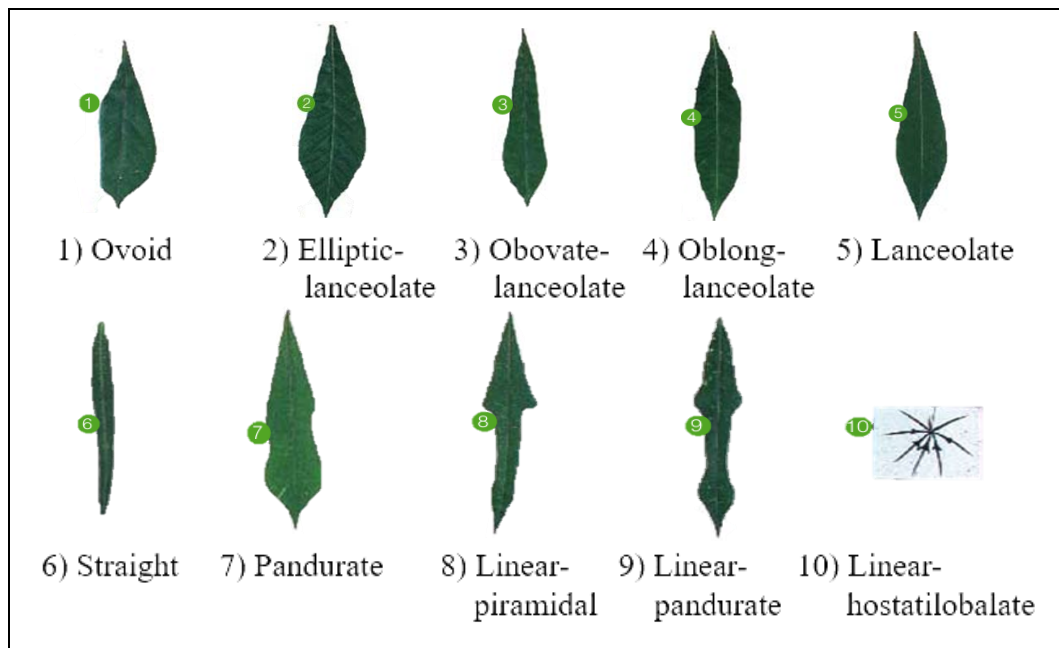
3.4.1.2 Jumlah Lobus

Pengamatan jumlah lobus dilakukan secara visual pada tanaman berumur 6 BST. Sebanyak lima daun dewasa pada bagian tengah tanaman diamati, kemudian dicatat jumlah lobus berdasarkan frekuensi dominan dengan kriteria sebagai berikut:

- 3) Tiga lobus,
- 5) lima lobus,
- 7) tujuh lobus,
- 9) sembilan lobus, dan
- 11) sebelas lobus (Fukuda *et al.*, 2010).

3.4.1.3 Bentuk Daun Sentral

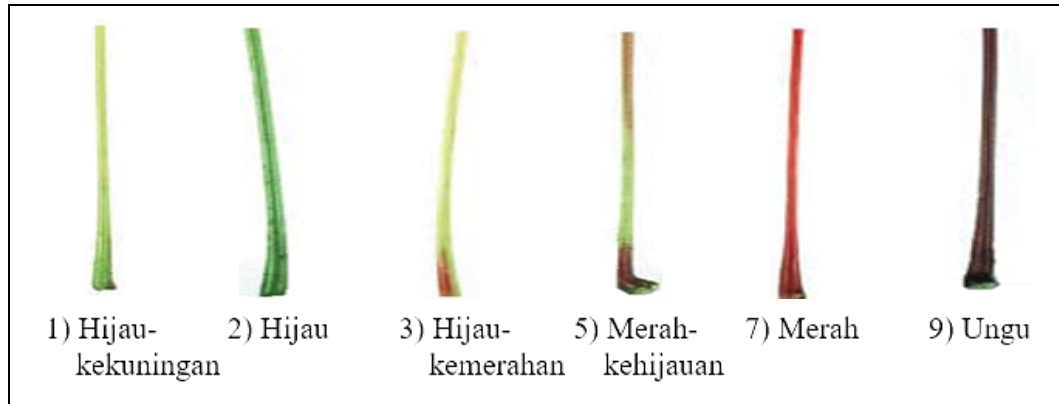
Pengamatan visual terhadap bentuk daun sentral pada tanaman berumur 6 BST. Daun yang diamati merupakan daun yang memiliki posisi seimbang terhadap arah 2 tangkai.



Gambar 5. Panduan skoring bentuk daun sentral (Fukuda *et al.*, 2010).

3.4.1.4 Warna Tangkai Daun

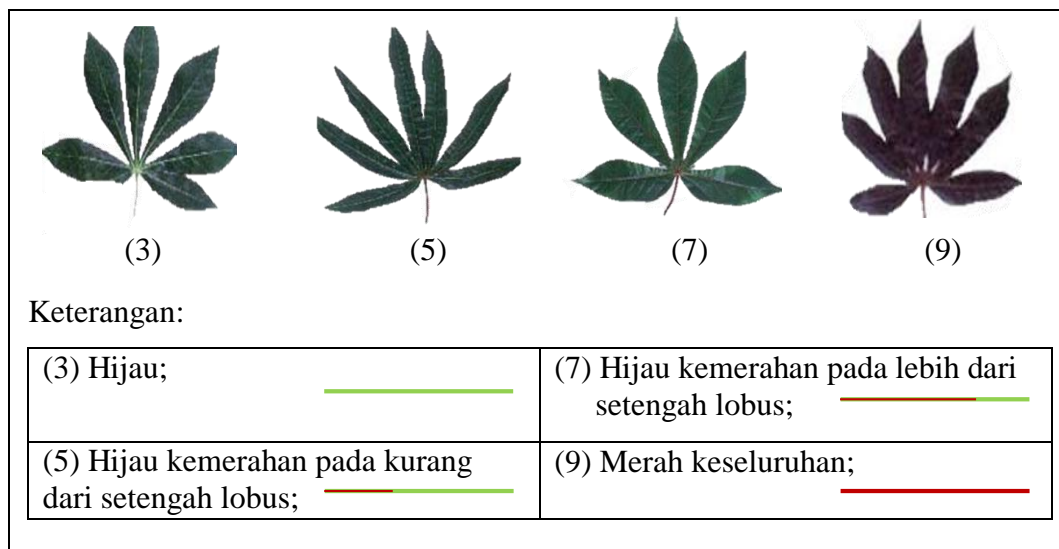
Pengamatan warna tangkai daun dilakukan pada tanaman berumur 6 BST.



Gambar 6. Panduan skoring warna tangkai daun (Fukuda *et al.*, 2010).

3.4.1.5 Warna Urat Daun

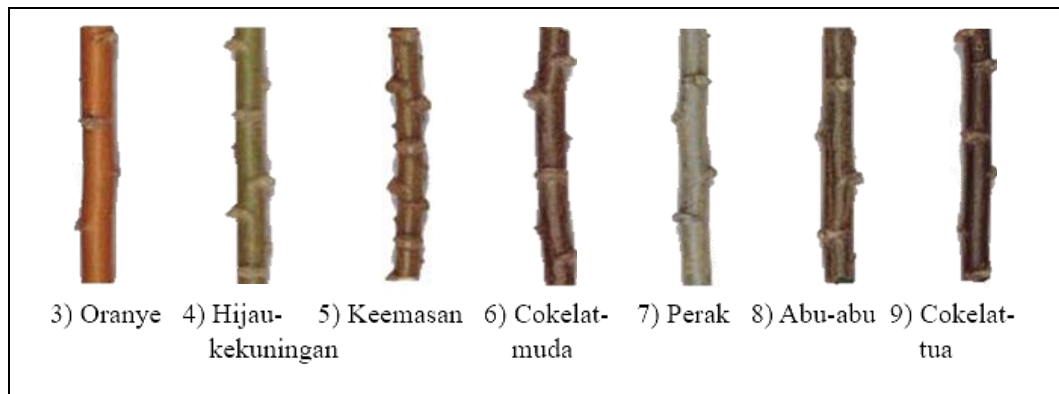
Pengamatan warna urat daun dilakukan secara visual pada daun dewasa tanaman berumur 6 BST.



Gambar 7. Panduan skoring warna urat daun (Fukuda *et al.*, 2010).

3.4.1.6 Warna Kulit Batang Tua

Pengamatan warna kulit (bagian luar) batang tua dilakukan secara visual pada batang utama tanaman berumur minimal 6 BST. Panduan skoring untuk variabel warna kulit batang tua disajikan pada Gambar 6:



Gambar 8. Panduan skoring warna kulit batang tua (Fukuda *et al.*, 2010).

3.4.2 Karakterisasi DNA Ubi Kayu Berdasarkan Marka Molekuler RAPD

3.4.2.1 Persiapan Sampel Tanaman

Sampel berupa daun muda diambil dari pucuk tanaman ubi kayu yang sehat. Sampel segera dimasukkan ke dalam kantong plastik berlabel yang memuat informasi genotipe, tanggal, dan lokasi pengambilan. Seluruh kantong sampel kemudian diletakkan dalam *coolbox* berisi es untuk menjaga integritas jaringan selama transportasi ke laboratorium. Sampel disimpan pada suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk penyimpanan jangka panjang.

3.4.2.2 Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan pada daun muda ubi kayu bagian pucuk menggunakan *Genomic DNA Mini Kit (Plant)* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan).

A. Protokol Isolasi DNA

Protokol isolasi DNA yang dilakukan sebagai berikut:

- a. Penggerusan Sampel
Sebanyak 100 mg sampel daun digerus di dalam tabung Eppendorf 1,5 mL hingga homogen.
- b. Tahap Lisis
Penambahan GPX-1 *Buffer* sebanyak 400 μ L dan RNase A sebanyak 5 μ L. Campuran divortex untuk homogenisasi dan diinkubasi menggunakan inkubator pada suhu 60°C selama 10 menit.
- c. Tahap Presipitasi (Pengendapan) Protein
Setelah inkubasi, ditambahkan 100 μ L GP-2 *Buffer* ke dalam campuran, divortex, kemudian diinkubasi di dalam es selama 3 menit.
- d. Tahap Filtrasi
Larutan dari tahap (b) dipindahkan ke dalam Filter *Column* yang telah dipasang pada *tube* 2 mL dan disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 1 menit.
- e. Tahap Pengikatan DNA
Filtrat dari tahap (c) dipindahkan ke dalam tabung 1,5 mL baru, kemudian ditambahkan GP-3 *Buffer* sebanyak 1,5 kali volume larutan dan divortex sesaat. Campuran selanjutnya dimasukkan ke dalam GD *Column* dan disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 2 menit. *Flow-through* dibuang dan filtrat yang tersisa kembali dimasukkan ke kolom yang sama untuk disentrifugasi ulang pada 15.000 rpm selama 2 menit.
- f. Tahap Pencucian 1
GD *Column* dari tahap (e) dicuci dengan menambahkan 400 μ L W-1 *Buffer* dan disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 30 detik.
- g. Tahap Pencucian 2
Flow-through dibuang, kemudian pencucian dilanjutkan dengan menambahkan 600 μ L *Wash Buffer* dan disentrifugasi kembali pada 15.000 rpm selama 30 detik.

h. Tahap Pengeringan Membran

Column disentrifugasi tambahan pada 15.000 rpm selama 3 menit untuk mengeringkan membran.

i. Tahap Elusi (Pelepasan DNA yang terikat pada membran kolom)

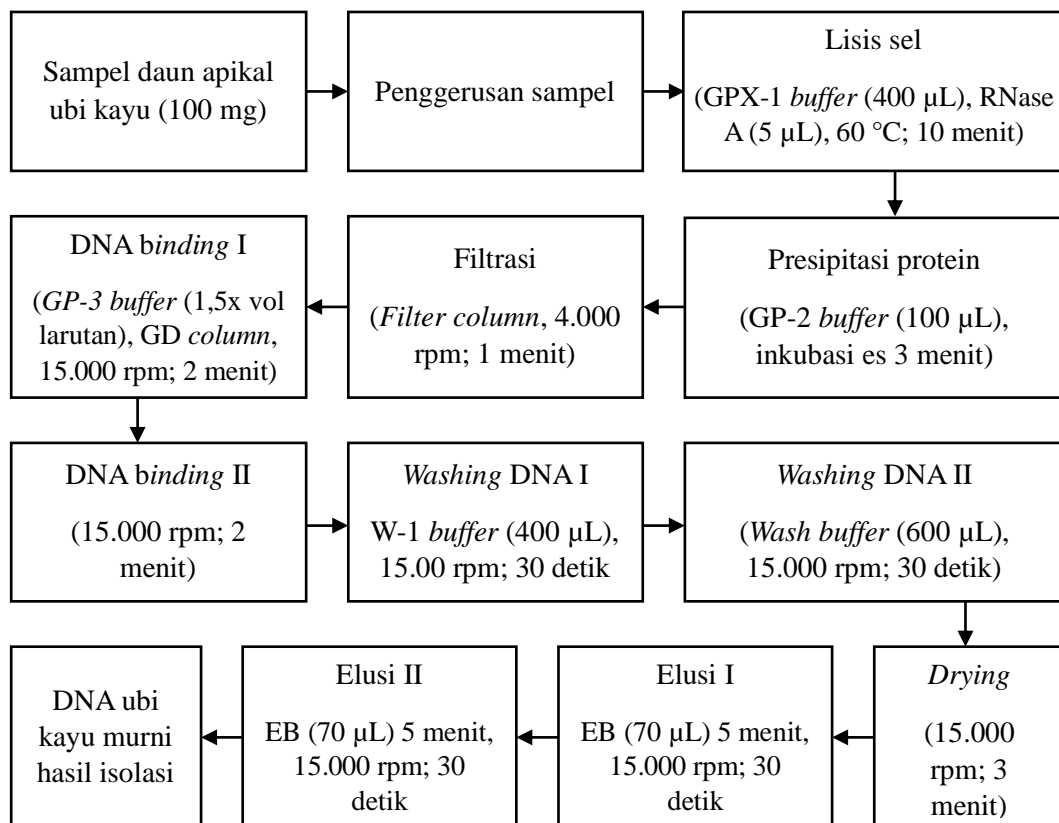
Untuk tahap elusi, *GD Column* dipindahkan ke tabung 1,5 mL steril, kemudian ditambahkan 70 μ L *Elution Buffer* yang telah dipanaskan (60 °C) ke bagian tengah membran dan didiamkan selama 3–5 menit. Elusi dilakukan dengan sentrifugasi pada 15.000 rpm selama 30 detik.

j. Tahap Elusi Ulang

Langkah elusi diulangi satu kali dengan menggunakan eluate yang sama untuk meningkatkan konsentrasi DNA.

k. DNA hasil isolasi disimpan pada suhu –20 °C hingga proses analisis.

Bagan alir prosedur isolasi DNA dengan menggunakan *Genomic DNA Mini Kit (Plant)* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan) disajikan pada Gambar 9:



Gambar 9. Prosedur isolasi DNA menggunakan *Genomic DNA Mini Kit (Plant)*.

B. Fungsi Reagen

Reagen *Genomic DNA Mini Kit (Plant)* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan) berfungsi sebagai berikut:

- a. GPX-1 *Buffer* mengandung *Cetyl-Trimethyl-Ammonium Bromide* (CTAB) yang melarutkan membran sel, membentuk kompleks dengan DNA. *Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid* (EDTA) menginaktivasi nuklease melalui pengkelatan ion Mg^{2+} . *β -Mercaptoethanol* berperan dalam mereduksi ikatan disulfida serta menghambat oksidasi senyawa fenolik, sementara Tris-HCl mempertahankan stabilitas pH dan NaCl menyediakan kondisi ionik yang optimal selama ekstraksi DNA (Lodhi *et al.*, 1994).
- b. GP-2 *Buffer* mengandung asam asetat dan kalium asetat yang berfungsi mengendapkan protein, polisakarida, dan kontaminan (Dellaporta *et al.*, 1983).
- c. GP-3 *Buffer* mengandung guanidin hidroklorida (GuHCl) yang berfungsi mendenaturasi protein, dan isopropanol yang memfasilitasi pengikatan DNA ke membran silika (Boom *et al.*, 1990).
- d. W-1 *Buffer* dengan etanol konsentrasi rendah mencuci kontaminan seperti protein dan metabolit sekunder dari membran (Boom *et al.*, 1990).
- e. Wash *Buffer* dengan etanol konsentrasi tinggi membersihkan residu garam dan menyiapkan membran untuk elusi (Boom *et al.*, 1990).
- f. Elution *Buffer* berupa Tris-EDTA (TE) pada pH netral-basa dapat memutus ikatan DNA-membran sehingga DNA terelusi (Boom *et al.*, 1990).
- g. RNase A sebagai enzim endonuklease digunakan untuk mendegradasi RNA, sehingga diperoleh sampel DNA yang murni (Brown, 2016).

3.4.2.3 Analisis Kuantitatif dan Kualitatif DNA

Analisis kuantitatif DNA dilakukan untuk menentukan konsentrasi DNA dalam satuan ng/ μ L, sedangkan analisis kualitatif dilakukan untuk menilai kemurnian DNA berdasarkan rasio absorbansi 260/280 nm. Kedua pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer NanoDrop sesuai prosedur operasional standar.

3.4.2.4 Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA 30 genotipe ubi kayu menggunakan teknik PCR-RAPD dilakukan dengan 15 primer berbeda. Setiap primer diamplifikasi secara terpisah. Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 15 μL per sampel. Campuran reaksi PCR (*master mix*) dibuat secara aseptik dalam mikrotube PCR steril dengan komposisi yang disajikan pada Tabel 3. Profil siklus PCR yang digunakan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Komposisi dan volume pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA

Pereaksi	Volume (μL)
MyTaq HS Red Mix	7,5
Primer RAPD	0,5
DNA <i>template</i> (100 ng/ μL)	1
ddH ₂ O	6
Total volume	15

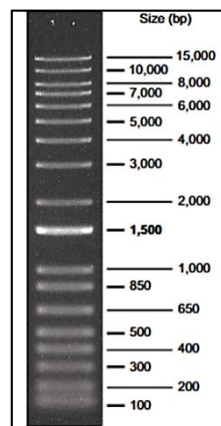
Tabel 4. Profil PCR untuk amplifikasi DNA dengan teknik RAPD

Tahapan	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Waktu (detik)
<i>Pre-denaturation</i>	94	180
1. <i>Denaturation</i>	94	30
2. <i>Annealing</i>	35	30
3. <i>Elongation</i>	72	120
Tahap 1–3 diulang sebanyak 44 siklus		
<i>Final elongation</i>	72	600

3.4.2.5 Elektroforesis dan Visualisasi

Elektroforesis dilakukan untuk memastikan bahwa primer telah menempel secara akurat. Visualisasi produk PCR dilakukan dengan elektroforesis pada gel agarosa 2% dalam buffer TAE 1 \times yang mengandung *RedSafe Nucleic Acid Staining Solution* (iNtRON Biotechnology, Korea Selatan). Gel dibiarkan memadat

sebelum elektroforesis pada tegangan 100 V selama 60 menit. Sebanyak 5 μ L produk PCR setiap sampel dicampur dengan 1 μ L 6x DNA *Loading Dye* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan) dan dimuat ke dalam sumur gel bersama dengan Invitrogen 1 Kb *Plus DNA Ladder* (Thermo Fisher Scientific, USA) sebagai penanda ukuran (*size marker*) (Gambar 10). Pita DNA divisualisasikan menggunakan UV *transilluminator* dan didokumentasikan dengan *Gel Documentation System*.



Gambar 10. Profil Invitrogen 1 Kb *Plus DNA Ladder* (Thermo Fisher Scientific, USA) sebagai penanda ukuran DNA.

3.4.2.6 Seleksi Primer RAPD

Seleksi primer dilakukan berdasarkan evaluasi pola pita hasil elektroforesis produk PCR pada gel agarosa 2%. Kriteria seleksi meliputi: (1) pita DNA jelas, dan (2) pola polimorfik. Primer yang menghasilkan pita samar atau monomorfik tidak digunakan untuk analisis data.

3.4.3 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini terdiri atas tiga tahap, yaitu (1) analisis data morfologi, (2) analisis data molekuler dan (3) analisis korelasi antara data morfologi dan molekuler.

3.4.3.1 Analisis Data Morfologi

1) Deskripsi 30 Genotipe Ubi Kayu

Data morfologi dari 30 genotipe ubi kayu diamati berdasarkan enam karakter vegetatif, meliputi warna daun apikal, jumlah lobus daun, bentuk daun sentral, warna urat daun, warna tangkai daun, dan warna kulit batang tua (Fukuda *et al.*, 2010). Seluruh hasil pengamatan dicatat secara sistematis untuk penyajian dalam bentuk tabel deskripsi. Pendekatan ini memungkinkan identifikasi awal variasi fenotipik antar genotipe ubi kayu sebagai dasar karakterisasi morfologi.

2) Skoring dan Pembentukan Matriks Biner

Data morfologi yang dicatat sebelumnya kemudian diskoring sesuai panduan Fukuda *et al.* (2010) dan hasil skoring *multistate* dikonversi ke dalam format biner (0/1) untuk analisis komputasi. Setiap karakter *multistate* dipecah menjadi beberapa karakter biner sesuai jumlah keadaan karakter (*state*), mengikuti prinsip bahwa setiap keadaan karakter diperlakukan setara (Sneath dan Sokal, 1973). Pendekatan ini memastikan bahwa interpretasi jarak numerik antar kode karakter kategoris tidak bias.

3) Pembentukan Matriks Similaritas

Matriks biner hasil konversi selanjutnya digunakan untuk menghitung koefisien similaritas antar genotipe menggunakan metode *Simple Matching* (SM) pada perangkat lunak NTSYS-pc versi 2.10e. Koefisien similaritas tersebut menggambarkan tingkat kesamaan karakter morfologi antar genotipe berdasarkan kesesuaian keadaan karakter yang diamati. Matriks similaritas yang diperoleh kemudian divisualisasikan dalam bentuk *heatmap* untuk memperjelas pola kedekatan fenotipik antar genotipe ubi kayu.

4) **Konstruksi Dendrogram Kekerabatan**

Matriks similaritas yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menyusun dendrogram hubungan kekerabatan menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) pada perangkat lunak R Studio versi 4.4.0.

3.4.3.2 Analisis Data Molekuler

1) **Skoring dan Pembentukan Matriks Biner**

Data molekuler diperoleh dari pola pita DNA hasil amplifikasi primer RAPD yang divisualisasikan melalui elektroforesis gel agarosa. Setiap pita DNA yang muncul pada masing-masing genotipe diidentifikasi berdasarkan ukuran fragmen dengan menggunakan DNA *ladder* sebagai acuan. Selanjutnya, setiap pita DNA yang terdeteksi dilakukan proses skoring dalam format biner, yaitu nilai 1 menunjukkan keberadaan pita DNA dan nilai 0 menunjukkan ketiadaan pita DNA pada posisi fragmen tertentu. Proses skoring ini menghasilkan matriks data biner yang menggambarkan variasi genetik antar genotipe berdasarkan pola pita DNA yang dihasilkan oleh primer RAPD. Matriks biner tersebut digunakan sebagai dasar dalam analisis performa primer serta perhitungan similaritas genetik antar genotipe.

2) **Evaluasi Performa Primer**

Parameter yang digunakan dalam evaluasi ini meliputi persentase pita polimorfik (*percentage of polymorphism, %PP*) dan *polymorphic information content* (PIC).

A. *Percentage of Polymorphism (%PP)*

Nilai %PP digunakan untuk menggambarkan tingkat keragaman genetik yang dapat dideteksi oleh suatu primer, yang dihitung dengan rumus:

$$(\%PP) = \frac{\text{Number of Polymorphic Bands}}{\text{Total Number of Bands}} \times 100\%$$

Nilai %PP kemudian diklasifikasikan untuk menggambarkan tingkat polimorfisme primer, yaitu rendah (<25%), sedang (25–50%), dan tinggi (>50%).

B. Polymorphic Information Content (PIC)

Nilai PIC dihitung untuk menilai kemampuan suatu marka dalam mendeteksi variasi genetik antar genotipe (Nei, 1973).

$$PIC = 2f(1 - f)$$

$$\text{dengan } f = \frac{\text{Number of Accessions with Band Presence}}{\text{Total Number of Accessions}}$$

Setelah nilai PIC untuk setiap pita diperoleh, kemudian nilai rata-rata PIC untuk setiap primer dihitung dengan rumus:

$$PIC_{\text{average}} = \frac{\sum PIC \text{ per Band}}{\text{Total Number of Bands}}$$

Nilai PIC kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat keinformatifan marka, yaitu rendah (<0,25), moderat (0,25–0,50), dan tinggi (>0,50) (Botstein *et al.*, 1980).

3) Pembentukan Matriks Similaritas

Matriks biner hasil skoring pita DNA selanjutnya digunakan untuk menghitung koefisien similaritas genetik antar genotipe menggunakan metode *Simple Matching* (SM) melalui perangkat lunak NTSYS-pc versi 2.10e. Matriks similaritas yang diperoleh kemudian divisualisasikan dalam bentuk *heatmap* untuk memperjelas pola kedekatan genetik antar genotipe ubi kayu berdasarkan data marka molekuler RAPD.

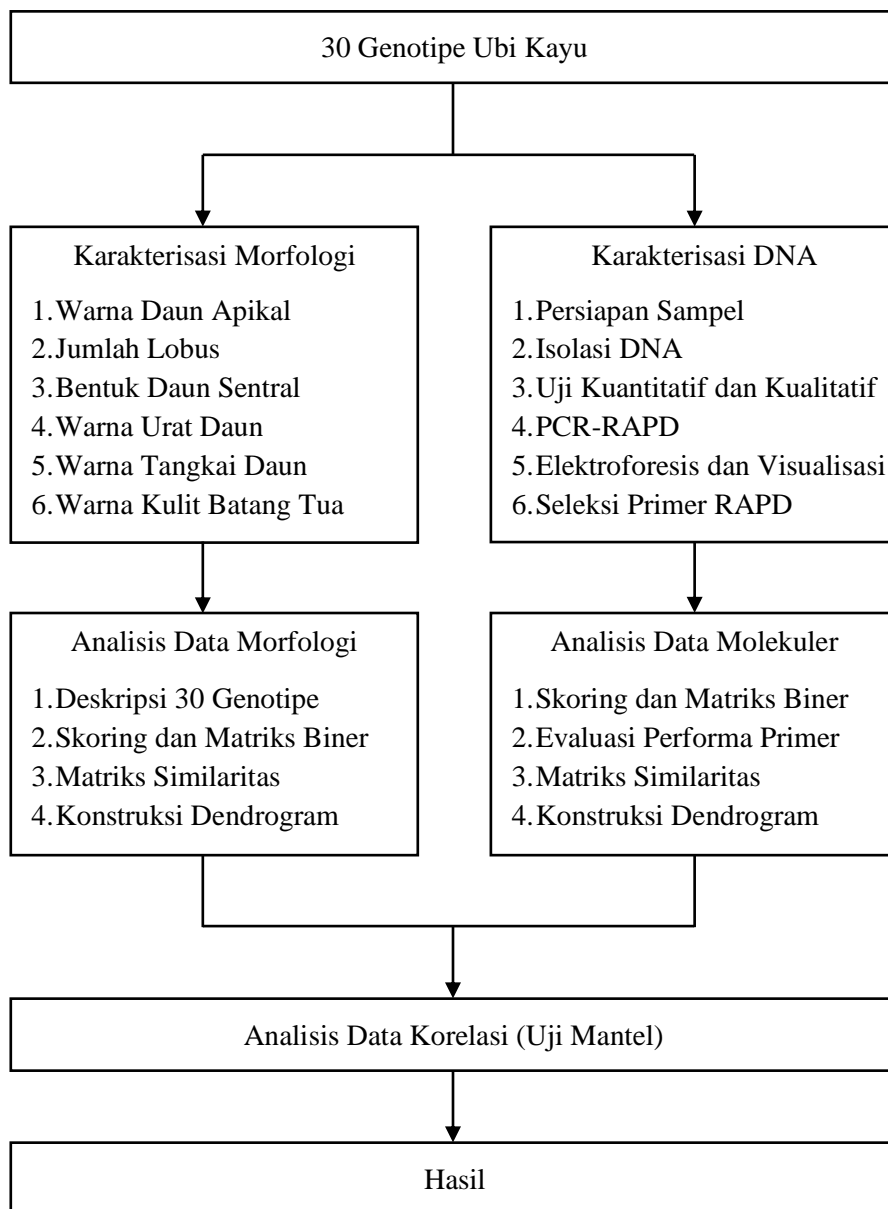
4) Konstruksi Dendrogram Kekerbatan

Matriks similaritas yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menyusun dendrogram hubungan kekerabatan menggunakan metode UPGMA pada R Studio versi 4.4.0.

3.4.3.3 Analisis Korelasi

Analisis korelasi antara data morfologi dan molekuler dilakukan menggunakan uji Mantel pada perangkat lunak R Studio versi 4.4.0. Prinsip uji ini adalah mengukur tingkat korelasi antara dua matriks jarak atau similaritas untuk mengetahui sejauh mana pola keragaman fenotipik sejalan dengan pola keragaman genetik antar genotipe.

Untuk memudahkan pembaca memahami keseluruhan alur penelitian dari karakterisasi hingga analisis korelasi, metodologi pelaksanaan penelitian dirangkum pada Gambar 11 berikut.



Gambar 11. Diagram alir pelaksanaan penelitian.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Analisis morfologi menunjukkan variasi fenotipik antar 30 genotipe ubi kayu dengan nilai similaritas berkisar antara 0,67–1,00. Pasangan genotipe Garuda–Celeng memiliki nilai similaritas tertinggi (1,00), sedangkan nilai terendah (0,67) ditemukan pada 51 pasangan genotipe seperti Waxy–Garuda. Namun, karakter morfologi memiliki keterbatasan dalam membedakan genotipe karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sehingga hanya memberikan gambaran umum hubungan kekerabatan.
2. Analisis molekuler menggunakan 6 primer RAPD polimorfik hasil seleksi (OPA-01, OPA-03, OPA-16, OPAA-01, OPB-18, dan OPC-06) menunjukkan bahwa pasangan genotipe dengan kedekatan genetik tertinggi adalah TDSS–TDSL (0,93), Vamas-1–Vati-1 (0,92), KP–MRT (0,91), dan Garuda–Celeng (0,90), sedangkan pasangan dengan kedekatan genetik terendah adalah TDSL–BW-1 (0,60). Selain itu, beberapa pasangan dan kelompok genotipe, yaitu TDSS–TDSL; Garuda–Celeng; KP, GSP, Klenteng; serta Vati-1, Vamas-1, SN, dan Adira-4 menunjukkan pola kluster yang relatif konsisten antara analisis morfologi dan molekuler.
3. Analisis korelasi menunjukkan tidak adanya hubungan yang signifikan antara data morfologi dan molekuler ($r = 0,0963$; $p > 0,05$) dalam mengungkap hubungan kekerabatan genotipe ubi kayu di Lampung. Hal ini menunjukkan bahwa pendekatan morfologi tidak sepenuhnya merepresentasikan variasi genetik yang diungkap melalui pendekatan molekuler.

5.2 Saran

Berdasarkan temuan dan keterbatasan dalam penelitian ini, diajukan beberapa rekomendasi untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Perluasan cakupan karakter morfologi yang diamati sehingga dapat memberikan gambaran fenotipik yang lebih komprehensif dan relevan dengan tujuan pemuliaan tanaman.
2. Pengamatan karakter morfologi perlu menggunakan standar warna seperti *Munsell Color Chart* atau *RHS Colour Chart* untuk meningkatkan objektivitas penilaian, khususnya pada karakter warna daun, tangkai, dan batang yang bersifat subjektif.
3. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan pendekatan sekuensing untuk meningkatkan akurasi dalam mengkaji kekerabatan genetik. Metode sekuensing mampu memberikan informasi genetik yang lebih detail karena dapat mengungkap urutan basa nukleotida secara langsung, sehingga variasi genetik dapat diamati pada tingkat yang lebih presisi dibandingkan marka RAPD yang memiliki keterbatasan dalam reproduibilitas serta tidak mampu membedakan alel secara jelas.

DAFTAR PUSTAKA

- Affek, K., Kucharska, M., Doskocz, N., and Załęska-Radziwiłł, M. 2025. Assessing short and long-term genotoxic effects of disinfected effluents in *Daphnia magna* using RAPD-PCR. *Desalination and Water Treatment*. 322: 101081.
- Akshitha, H. J., Prasath, D., Umesha, K., Mohammed Faisal, P., and Venkataravanappa, V. 2022. Molecular characterization of ginger genotypes using RAPD and SSR markers. *Journal of Horticultural Sciences*. 17(1): 95–102.
- Al-Hassnwy, S. H. H., and Al-Nomani, R. M. H. 2021. Comparative genetic study for some species of the family Poaceae using the RAPD molecular indicator. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 13(1): 2198–2205.
- Al-Kiyyam, M., Shibli, R. A., and Zatimeh, A. 2024. Evaluation of genetic diversity in *Solanum nigrum* plants and genetic stability of in vitro grown plant using AFLP technique. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 17(1): 123–128.
- Alsharksi, A. N., Sirekbasan, S., Gürkök-Tan, T., and Mustapha, A. 2024. From tradition to innovation: Diverse molecular techniques in the fight against infectious diseases. *Diagnostics*. 14(24): 2876.
- An, X., Liu, Q., Ying, J., Wei, J., Dong, G., Luo, X., Li, W., Liu, T., Zhou, H., Zou, L., and Chen, C. 2023. Development of Expressed Sequence Tag–Simple Sequence Repeat markers related to the salt-stress response of kenaf (*Hibiscus cannabinus*). *Agronomy*. 13: 1946.
- Aristya, G. R., Permadani, C. G., Ariesta, C., Larasati, B., Kasiamdari, R. S., Prabowo, H., Musthofa, A., and Arif, M. F. 2019. Evaluation of pest control based on morphological character variation on 20 varieties and genetic variation based on RAPD of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) in Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 347: 012103.

- Arum, L. S., Ramadhan, M. A. R., Hazmi, M., dan Murtiyaningsih, H. 2024. Identifikasi keragaman genetik sorgum lokal hasil iradiasi menggunakan penanda molekuler RAPD. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 24(1): 111–118.
- Ashar, J. R., Farhanah, A., Firmansyah., Hamzah, A., Indriatama, W. M., Rini, I., Friska, M., dan Fitrahtunnisa. 2023. *Pengantar Pemuliaan Tanaman*. Penerbit Haura Utama. Sukabumi. 189 hlm.
- Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. 2016. *Deskripsi Varietas Unggul Aneka Kacang dan Umbi*. Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Malang. 214 hlm.
- Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. 2019. *Laporan Tahunan 2019: Hasil Utama Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*. Kementerian Pertanian, Malang. 10 hlm.
- Belalia, N., Lupini, A., Djemel, A., Morsli, A., Mauceri, A., Lotti, C., Khelifi-Slaoui, M., Khelifi, L., and Sunseri, F. 2018. Analysis of genetic diversity and population structure in Saharan maize (*Zea mays* L.) populations using phenotypic traits and SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66. 243–257.
- Bhat, T. A., and Al-Khayri, J. M. 2023. *Genetic Engineering: Volume 1: Principles, Mechanism, and Expression*. CRC Press. 328 pp.
- Boom, R., Sol, C. J. A., Salimans, M. M. M., Jansen, C. L., Wertheim-van Dillen, P. M. E., & van der Noordaa, J. 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*. 28(3): 495–503.
- Boombalagan, P., Subramanian, S. R., Rajasekharan, P. E., Karpakal, S., Veeranan, U., Saminathan, E., Narayanan, V., and Kathiresan, D. 2021. Genetic relationship and polymorphism of selected medicinal plants of Asclepiadaceae using RAPD molecular analysis method. *Ecological Genetics and Genomics*. 21: 100101.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32: 314–331.
- Brown, T. A. 2016. *Gene cloning and DNA analysis: An introduction, 7th Edition*. Wiley-Blackwell. Oxford, United Kingdom. 353 pp.
- Carluccio, A., David, L. C., Claußen, J., Sulley, M., Adeoti, S. R., Abdulsalam, T., Gerth, S., Zeeman, S. C., Gisel, A., and Stavelone, L. 2022. Set up from the beginning: The origin and early development of cassava storage roots. *Plant, Cell and Environment*. 45(6): 1779–1795.

- Chiteri, K. O., Chiranjeevi, S., Jubery, T. Z., Rairdin, A., Dutta, S., Ganapathysubramanian, B., and Singh, A. 2023. Dissecting the genetic architecture of leaf morphology traits in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wiczek) using genome-wide association study. *The Plant Phenome Journal*. 6: e20062.
- Danquah, A., Otwe, E. P., Galyuon, I. K. A., Atiah, K., and Napo, C. 2025. Growth and tuberization in seed-propagated cassava. *American Journal of Agriculture*. 7(1): 22–28.
- Dellaporta, S. L., Wood, J., and Hicks, J. B. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1(4): 19–21.
- Ekasari, T. W. D., Retnoningsih, A., and Widiyanti, T. 2012. Analisis keanekaragaman kultivar pisang menggunakan penanda PCR-RFLP pada *Internal Transcribed Spacer* (ITS) DNA ribosom. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 35(1).
- Ennami, M., Khouya, K., Taimourya, H., Benbya, A., Kaddi, M., Khayi, S., Diria, G., Abdelwahd, R., Gaboun, F., and Mentag, R. 2025. Genetic diversity and population structure of saffron (*Crocus sativus* L.) in Morocco revealed by sequence-related amplified polymorphism markers. *Horticulturae*. 11(2): 174.
- Fathima, M. A., Geetha, S., Amudha, K., and Uma, D. 2021. Genetic variability, frequency distribution and association analysis in rice. *Electronic Journal of Plant Breeding*. 12(1): 270–276.
- Ferguson, M. E., Shah, T., Kulakow, P., and Ceballos, H. 2019. A global overview of cassava genetic diversity. *PLoS One*. 14(11): e0224763.
- Fitriyanti, R. I., Yuniastuti, E., dan Nadariyah. 2023. Hubungan kekerabatan genetik rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) berdasarkan lima marka RAPD. *Jurnal Agrikultura*. 34(2): 264–273.
- Fukuda, W. M. G., Guevara, C. L., Kawuki, R., and Ferguson, M. E. 2010. *Selected Morphological and Agronomic Descriptors for the Characterization of Cassava*. International Institute of Tropical Agriculture (IITA). Ibaand, Nigeria. 19 pp.
- Gusmiaty., Sari, N. A., Safira, T. N., Budiman, A., dan Larekeng, S. H. 2021. Polimorfisme penanda RAPD untuk analisis keragaman genetik kemiri *Aleurites mollucana* di Kabupaten Maros. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*. 6(1): 22–30.
- Herman, Nainggolan, M., dan Indriyani, D. 2019. Optimasi suhu annealing untuk empat primer RAPD pada kacang hijau (*Vigna radiata* L.). *Dinamika Pertanian*. 34(1): 41–46.

- Hikmah, R. U., Retnoningsih, A., dan Habibah, N. A. 2016. Keragaman durian berdasarkan fragmen Internal Transcribed Spacers (ITS) DNA ribosomal melalui analisis PCR-RFLP. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 39(1).
- Hu, S., Wang, M., Yan, X., and Cheng, X. 2024. Genetic diversity and population structure of endangered orchid *Cypripedium flavum* in fragmented habitat using fluorescent AFLP markers. *Plants*. 13(20): 2851.
- Karakaş, İ. 2024. Molecular marker techniques and genotypic characterization approaches in plant breeding. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*. 12(8): 1487–1498.
- Karim, K. Y., Ifie, B., Dzidzienyo, D., Andquah, E. Y., Blay, E. T., Whyte, J. B. A., Kulakow, P., Rabbi, I., Parkes, E., Omoigui, L., Norman, P. E., and Iluebbey, P. 2019. Genetic characterization of *Manihot esculenta* Crantz genotypes using agro-morphological and single nucleotide polymorphism markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 26(2): 317–330.
- Kusmiyati, F., Sutarno, and Herwibawa, B. 2019. Selection in M2 generation of black soybean using RAPD markers associated with salt tolerance. *International Journal of Advances in Scientific Research and Engineering*. 5(6): 85–91.
- Lalong, P. R. F., Naben, M. N., Soru, J. P. G., Lengur, E. R. A., dan Taek, M. M. 2025. Physicochemical and functional characteristics of analog rice made from local cassava and red kidney bean. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*. 14(3): 846–857.
- Larekeng, S. H., Dermawan, R., Iswoyo, H., dan Mustari, K. 2019. RAPD primer screening for amplification on Katokkon pepper from Toraja, South Sulawesi, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 270: 012023.
- Li, R., Huang, Y., Yang, X., Su, M., Xiong, H., Dai, Y., Wu, W., Pei, X., and Yuan, Q. 2023. Genetic diversity and relationship of shanlan upland rice revealed based on 214 upland rice SSR markers. *Plants*. 12: 2876.
- Lizawati, Nusifera, S., Neliyati., Alia, Y., and Antony. 2019. RAPD-PCR primer selection to analyze genetic diversity of cinnamon plan. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 391: 012002.
- Lodhi, M. A., Ye, G.-N., Weeden, N. F., and Reisch, B. I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant Molecular Biology Reporter*. 12(1): 6–13.
- Mahanama, A., and Wilson-Davies, E. 2021. Insight into PCR testing for surgeons. *Surgery (Oxford)*. 39(11): 759–768.

- Manikandan, S.K., Jenifer, D.A., Gowda, N.K., Nair, V., Al-Ruzouq, R., Gibril, M.B.A., Lamghari, F., Klironomos, J., Al Hmoudi, M., Sheteiwy, M., and El-Keblawy, A. 2025. Advancing date palm cultivation in the Arabian Peninsula and beyond: Addressing stress tolerance, genetic diversity, and sustainable practices. *Agricultural Water Management*. 307: 109242.
- Martin, C., Nagel, M., Ibáñez, M.A., Senula, A., Pirredda, M., and González-Benito, M.E. 2025. Genetic and epigenetic fidelity of garlic cryopreserved plant material compared to field collections. *Scientia Horticulturae*. 345: 114132.
- Mohammadi, S. A., Abdollahi Sisi, N., and Sadeghzadeh, B. 2020. The influence of breeding history, origin and growth type on population structure of barley as revealed by SSR markers. *Scientific Reports*. 10: 19165.
- Mohidin, S. R. N. S. P., Moshawih, S., Hermansyah, A., Mohd Ikmal, A., Shafqat, N., and Ming, L. C. 2023. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz): A systematic review for the pharmacological activities, traditional uses, nutritional values, and phytochemistry. *Journal of Evidence Based Integrative Medicine*. 28.
- Muhammad, N., Khan, S. A., Ahmad, S., Ahmed, S., and Khan, Z. 2023. Gene mapping of the mustard aphid (*Lipaphis erysimi* (Kalt.) Hemiptera: Aphididae) linkages of resistance gene in canola genotypes associated with RAPD markers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 22: 309–317.
- Nasution, F., Theanhom, A. A., Sukartini., Bhuyar, P., and Chumpookam, J. 2021. Genetic diversity evaluation in wild *Muntingia calabura* L. based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *Genomics Reports*. 25: 101335.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 70(12): 3321–3323.
- Ocampo, J., Ovalle, T., Labarta, R., Le, D. P., de Haan, S., Vu, N. A., Kha, L. Q., and Lopez-Lavalle, L. A. B. 2022. DNA fingerprinting reveals varietal composition of Vietnamese cassava germplasm (*Manihot esculenta* Crantz) from farmers' field and genebank collections. *Plant Molecular Biology*. 109: 215–232.
- Oluwasanya, D., Esan, O., Hyde, P. T., Kulakow, P., and Setter, T. L. 2021. Flower development in cassava is feminized by cytokinin, while proliferation is stimulated by anti-ethylene and pruning: Transcriptome responses. *Frontiers in Plant Science*. 12: 666266.

- Orek, C. O., Owuor, B. O., Were, H. K., Arama, P. F., Githiri, S. M., and Orek, B. 2023. Genotyping-by-sequencing reveals genetic relatedness and duplicates among local *Manihot esculenta* Crantz landraces and improved genotypes in Kenya. *Biotechnology Journal International*. 27(3): 1–15.
- Palupi, R., Lubis, F. N. L., and Pratama, A. N. T. 2022. The effect of the use of cassava tuber (*Manihot esculenta*) and *Indigofera zollingeriana* leaf flour combination as a source of energy supplemented with citric acid in ration on broiler small intestine characteristics and productivity. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 9(3): 471–480.
- Pinem, A. M., Ardiansah, Y., Nafisah, N. R., Azzahra, A., Hartutik, and Huda, A. N. 2025. The potential of cassava leaves as a component of complete ruminant feed formulated with odot grass. *Journal of Agriprecision and Social Impact*. 2(2): 220–239.
- Poeaim, S., Sansanee, S., Chantaraprasit, T., Chareonsap, P. P., and Tangthirasunun, N. 2024. Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars using ISSR molecular marker. *International Journal of Agricultural Technology*. 20(3): 1185–1196.
- Pranowo, D., Setiawan, K., Hadi, S., dan Yuliadi, E. 2021. Deskripsi genotipe tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang ditanam petani di enam kabupaten di Provinsi Lampung. *Jurnal Kelitbangan*. 9(3): 271–280.
- Probojati, R. T., Wahyudi, D., and Hapsari, L. 2019. Clustering analysis and genome inference of pisang raja local cultivars (*Musa* spp.) from Java Island by random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 4(2): 42–53.
- Puri, F. E., Mawardi, R. H., Darmawan, M. F., and Kurniawan, M. F. 2022. Biobriket limbah kulit singkong (*Manihot esculenta*) inovasi sumber energi alternatif di Wonogiri. *Jurnal Jarlitbang*. 8(2): 113–122.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2025. *Analisis Kinerja Perdagangan Ubi Kayu*. Sekretariat Jenderal, Kementerian Pertanian. Jakarta. 64 hlm.
- Putra, L. A. G., Yonathan, C. J., Niedhatrata, N. I., Firdaus, M. H. R., and Yoewono, J. R. 2020. A review of the development of polymerase chain reaction technique and its uses in scientific field. *Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 2(1): 17–30.
- Putri, N. S. R., Rosanti, N., dan Abidin, Z. 2022. Daya saing ekspor pati ubi kayu Provinsi Lampung. *Journal of Food System and Agribusiness*. 6(2): 192–200.
- Rahman, S. 2025. The utilization of cassava leaves as a functional food based on local wisdom. In *Advances in Functional Foods - New Perspectives and Sustainable Practices*. IntechOpen. London.

- Reuben-Kalu, J. I., Eswaran, K., Muthurajan, R., Doraiswamy, U., and Venkatasamy, B. 2023. Precise isolation of high-quality RNA from leaves and storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) for gene expression studies. *Bulletin of the National Research Centre*. 47: 84.
- Rüscher, D., Vasina, V. V., Knoblauch, J., Bellin, L., Pommerrenig, B., Alseekh, S., Fernie, A. R., Neuhaus, H. E., Knoblauch, M., Sonnewald, U., and Zierer, W. 2024. Symplasmic phloem loading and subcellular transport in storage roots are key factors for carbon allocation in cassava. *Plant Physiology*. 196(2): 1322–1339.
- Saengprajak, J., Thanyasiriwat, T., Saengprajak, A., and Sangdee, A. 2026. Development of ISSR-derived SCAR markers for precise identification and conservation of *Rhynchosyilis gigantea* and its variety rubrum in Thailand. *South African Journal of Botany*. 189: 551–564.
- Saleh, N., Taufiq, A., Widodo, Y., Sundari, T., Gusyana, D., Rajagukguk, R. P., dan Suseno, S. A. 2016. *Pedoman Budi Daya Ubi Kayu di Indonesia*. Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Press. 76 hlm.
- Sandhya, Y., Kumar, M. R., Madhusudhan, P., Sudhakar, P., and Kumari, P. L. 2026. Cultural, pathogenic and genetic variability of *Rhizoctonia solani* isolates incitant of rice sheath blight disease. *Vegetos*.
- Satmalawati, E. M., Paramita, B. L., dan Nino. 2024. Karakteristik fisikokimia dan sifat fungsional pati alami ubi kayu hasil ekstraksi secara sederhana. *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*. 13(1): 55–64.
- Sawitri, A. D., Yuniastuti, E., Purwanto, E., and Nandariyah. 2025. Screening of RAPD primers in genetic diversity analysis of Criwik local durian. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 1515: 012003.
- Sharma, P., Nath, A. K., Dhiman, S. R., Dogra, S., and Sharma, V. 2022. Characterization of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) genotypes and gamma irradiated mutants using RAPD, ISSR and SSR markers. *South African Journal of Botany*. 148: 67–77.
- Sheela, M. N., Hegde, V., Senthilkumar, K. M., Abhilash, P. V., and Amalnath, S. 2022. Floral biology and its manipulation for successful breeding programs in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) - A review. *Journal of Root Crops*. 48(1 and 2): 3–12.
- Sholihin, S. 2022. Vamas 1: A new early root bulking high-yielding cassava variety. *Indonesian Journal of Agricultural Research*. 361: 04014.
- Silalahi, K. J. A., Utomo, A. D., Edy, A., and Sa'diyah, N. 2019. Evaluasi karakter morfologi and agronomi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) 13 populasi F1 di Bandar Lampung. *Jurnal Agrotek Tropika*. 7(1): 281–289.

- Singh, A.K., Ram, C., Meena, R., Yadav, L.P., Kaldappa, G., Gora, J.S., and Berwal, M.K. 2025. Morpho-biochemical characterization and molecular diversity analysis of bael (*Aegle marmelos* (L.) Correa.) germplasm using gene-targeted molecular markers. *Scientia Horticulturae*. 339: 113900.
- Sivan, S., Arya, K., Sheela, M. N., Revathi, B. S., Prakash, K. B. S., and Muthusamy, S. K. 2023. Genetic diversity analysis of Indian Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) accessions using morphological and molecular markers. *South African Journal of Botany*. 161: 347–357.
- Sneath, P. H. A., and Sokal, R. R. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. W. H. Freeman and Company. San Francisco. 573 pp.
- Tasliyah. 2021. Pemanfaatan markah molekuler untuk pemuliaan tanaman. *Jurnal Agrobiogen*. 17(1): 45–62.
- Tiwari, N., Tiwari, S., and Tripathi, N. 2018. Genetic characterization of Indian little millet (*Panicum sumatrense*) genotypes using random amplified polymorphic DNA markers. *Agriculture and Natural Resources*. 6(2): 434–442.
- To, K.N., Powell, O., Jamrozy, D., Kopunova, R., Anastasiadou, K., Faal, A., Secka, O., Chalker, V., Le Doare, K., and Jauneikaite, E. 2021. RAPD PCR detects co-colonisation of multiple group B streptococcus genotypes: A practical molecular technique for screening multiple colonies. *Journal of Microbiological Methods*. 190: 106322.
- Toni, M., and Pane, Y. S. 2025. Antibacterial efficacy of cassava (*Manihot esculenta*) leaf and pirdot (*Saurauia vulcani*) leaf extract combination against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 16(2): 61–65.
- Utomo, S. D., Setiawan, K., Yelli, F., Ardian, A., Novpriansyah, H., Yanto, I., Syaifudin, A., Saifulloh, A. A., dan Noerwijati, K. 2025. Pertumbuhan and produksi tiga genotipe ubi kayu genjah pada tanah Ultisol yang diberi cacahan batang singkong di Lahan Riset PT GGP Lampung Tengah. *Jurnal Agrotek Tropika*. 24(1): 115–124.
- Valencia-Ledezma, O. E., Castro-Fuentes, C. A., Duarte-Escalante, E., Frías-De-León, M. G., and Reyes-Montes, M. R. 2022. Selection of polymorphic patterns obtained by RAPD-PCR through qualitative and quantitative analyses to differentiate *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Fungi*. 8(3): 296.
- Wang, L., Zheng, Y., Zhang, H., Wang, D., Wang, M., Wang, H., Duan, L., Li, H., Wang, W., Geng, H., Cheng, H., An, C., Han, R., and Li, R. 2023. Genetic characterization of cotton varieties and genetic threshold value determination for similar variety selection in cotton DUS testing. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 70: 2463–2477.

- Widodo, W. T. 2024. Komponen, tahapan, dan variasi polymerase chain reaction: Artikel review. *Jurnal Kesehatan Tambusai*. 6(1): 3350–3360.
- Wooding, S. P., and Peña, C. R. 2023. Genetic diversity of yuca (*Manihot esculenta esculenta*; Cassava, Manioc): an indigenous crop in the Peruvian Amazon. *Diversity*. 15(12): 1158.
- Xu, X., Duan, Z., Su, J., Li, X., Wu, J., and Yao, Z. 2021. QTL mapping of adult plant resistance to leaf rust based on SSR markers and SNP sequencing of Chinese wheat landrace Xu'ai (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 68: 1359–1373.
- Xu, Y., Li, D., Afzal, M. Z., Yao, J., Xu, J., Lin, L., Qi, J., and Zhang, L. 2021. Genome-wide analysis and polymorphism evaluation of microsatellites involved in photoperiodic flowering-time genes in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). *Journal of Natural Fibers*. 19: 8332–8344.
- Yang, S., Guo, N., and Ge, H. 2016. Morphological and AFLP based genetic diversity in *Rosa platyacantha* populations in the Eastern Tianshan Mountains of Xinjiang, China. *Horticultural Plant Journal*. 2(1): 55–60.
- Ye, Y., Ouyang, Z., Guo, C., Wu, Y., Li, J., Abdoulaye, A. H., Tang, L., Xia, W., and Chen, Y. 2023. Identification of two cassava receptor-like cytoplasmic kinase genes related to disease resistance via genome-wide and functional analysis. *Genomics*. 115: 110626.
- Yelli, F., Edy, A., Giannini, T. K., dan Utomo, S. D. 2021. Pengaruh komposisi media tanam terhadap pertumbuhan setek empat genotipe ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Agrotektropika*. 9(2): 271–277.
- Yuliadi, E. 2018. *Cassava: Bibit, Produksi, Manfaat, and Pasca Panen: Beberapa Varietas atau Genotipe Cassava*. LPPM Universitas Lampung. Bandar Lampung. 104 hlm.
- Zhang, J., Yang, J., Lv, Y., Zhang, X., Xia, C., Zhao, H., and Wen, C. 2023. Genetic diversity analysis and variety identification using SSR and SNP markers in melon. *BMC Plant Biology*. 23: 39.
- Zheng, L., Hamidou, A. A., Zhao, X., Ouyang, Z., Lin, H., Li, J., Zhang, X., Luo, K., and Chen, Y. 2023. Superoxide dismutase gene family in cassava revealed their involvement in environmental stress via genome-wide analysis. *iScience*. 26: 107801.