

**SELEKSI MARKA *Simple Sequence Repeats* (SSR) UNTUK
MENGANALISIS KERAGAMAN GENETIK VARIETAS UNGGUL KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) di PARUNGKUDA,
KABUPATEN SUKABUMI, JAWA BARAT**

(Skripsi)

Oleh

Elisabeth Christella Vanessa Jayanti

2117061036



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

**SELEKSI MARKA *Simple Sequence Repeats* (SSR) UNTUK
MENGANALISIS KERAGAMAN GENETIK VARIETAS UNGGUL KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) di PARUNGKUDA,
KABUPATEN SUKABUMI, JAWA BARAT**

Oleh

Elisabeth Christella Vanessa Jayanti

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

SELEKSI MARKA *Simple Sequence Repeats* (SSR) UNTUK MENGANALISIS KERAGAMAN GENETIK VARIETAS UNGGUL KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) di PARUNGKUDA, KABUPATEN SUKABUMI, JAWA BARAT

Oleh
Elisabeth Christella Vanessa Jayanti

Kopi Robusta memiliki keragaman genetik yang tinggi karena sifatnya menyerbuk silang. Keragaman ini penting untuk mendukung program pemuliaan dan pengembangan varietas unggul melalui analisis genetik yang akurat pada tingkat DNA. Kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi sangat menentukan keberhasilan analisis genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kuantitas dan kualitas DNA dari 25 varietas unggul kopi Robusta menggunakan metode isolasi KIT Promega dan CTAB serta menguji keberhasilan amplifikasi dengan primer SSR. Hasil NanoDrop menunjukkan metode CTAB menghasilkan DNA dengan kuantitas dan kemurnian lebih tinggi sebagian besar berada antara 1,7–2 dibandingkan KIT Promega. Elektroforesis gel agarosa menunjukkan DNA dari KIT Promega membentuk smear, sedangkan beberapa sampel CTAB tidak membentuk pita jelas akibat kehilangan pelet atau kontaminasi. Uji PCR dengan 28 primer SSR menunjukkan hanya DNA hasil CTAB yang berhasil diamplifikasi; 12 primer menghasilkan pita pada 25 varietas unggul yang mengindikasikan adanya polimorfisme genetik. Hasil ini menunjukkan bahwa metode CTAB lebih efektif untuk ekstraksi DNA kopi Robusta dalam analisis molekuler berbasis SSR.

Kata kunci: *Coffea canephora*, keragaman genetik, *Simple Sequence Repeats* (SSR), Varietas

ABSTRACT

SELECTION OF *Simple Sequence Repeat* (SSR) MARKERS FOR ANALYZING GENETIC DIVERSITY OF SUPERIOR ROBUSTA COFFEE VARIETIES (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) in PARUNGKUDA, SUKABUMI REGENCY, WEST JAVA

By

Elisabeth Christella Vanessa Jayanti

Robusta coffee exhibits high genetic diversity due to its cross-pollinating nature. This diversity is essential for supporting breeding programs and the development of superior varieties through accurate genetic analysis at the DNA level. The quality and quantity of extracted DNA greatly influence the success of genetic analysis. This study aimed to determine the quantity and quality of DNA from 25 superior Robusta coffee varieties using the Promega KIT and CTAB isolation methods, as well as to evaluate amplification success using SSR primers. NanoDrop results showed that the CTAB method produced higher DNA quantity and purity, with most values ranging between 1.7–2.0, compared to the Promega KIT. Agarose gel electrophoresis indicated that DNA extracted using the Promega KIT formed smears, while some CTAB samples did not produce clear bands due to pellet loss or contamination. PCR testing with 28 SSR primers demonstrated that only DNA obtained from the CTAB method was successfully amplified; 12 primers produced bands across the 25 superior varieties, indicating the presence of genetic polymorphism. These results suggest that the CTAB method is more effective for extracting Robusta coffee DNA in SSR-based molecular analysis.

Keywords: *Coffea canephora*, genetic diversity, *Simple Sequence Repeats* (SSR), variety.

Judul Skripsi : SELEKSI MARKA *Simple Sequence Repeats* (SSR) UNTUK MENGANALISIS KERAGAMAN GENETIK VARIETAS UNGGUL KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) di PARUNGKUDA, KABUPATEN SUKABUMI, JAWA BARAT

Nama Mahasiswa : Elisabeth Christella Vanessa Jayanti

Nomor Pokok Mahasiswa : 2117061036

Program Studi : Biologi/ S1 Biologi Terapan

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Eti Ernawati, M.P.
NIP. 196408121990032001

Dr. Drs. Budi Martono, M.Si.
NIP. 196506071992031001

2. Ketua Jurusan Biologi

Dr. Jami Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Eti Ernawati, M.P.**

Sekretaris : **Dr. Drs. Budi Martono, M.Si.**

Penguji Utama : **Rochmah Agustrina, Ph.D**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Telah Lulus Ujian Skripsi : 11 Mei 2026

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elisabeth Christella Vanessa Jayanti
NPM : 2117061036
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya bahwa skripsi saya berjudul “Seleksi Marka *Simple Sequence Repeats* (SSR) Untuk Menganalisis Keragaman Genetik Varietas Unggul Kopi Robusta (*Coffea Canephora* Pierre Ex A. Froehner) Di Parungkuda, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat”

Baik gagasan dan pembahasannya adalah karya seni sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Jika dikemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 11 Mei 2026
Yang menyatakan



Elisabeth Christella Vanessa Jayanti
NPM. 2117061036

PERSEMBAHAN

Dengan mengucap rasa syukur kepada Tuhan Yesus Kristus, Juru Selamat yang setia, yang telah memberikan kasih, karunia, berkat, hikmat dan kebijaksanaan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Saya persembahkan skripsi ini untuk:

Kedua orang tua yang sangat saya cintai dan sayangi, Bapak Sarwoko dan Ibu Kristina Puji Hastuti yang selalu memberikan kasih sayang dan cintanya, dukungan dengan sepenuh hati, motivasi yang tiada henti, pengorbanan waktu, tenaga dan materi yang tak terganti, serta doa yang tiada henti dalam mengiringi perjalanan hidup yang saya lalui.

Adik-adikku yang selalu memberikan dukungan dan motivasi serta kasih sayang setiap waktu.

Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing dan mengarahkan saya dengan sangat sabar.

Seluruh teman-teman seperjuanganku yang telah kebersamai dan berjuang dari awal, saat ini dan seterusnya dalam perjalanan hidup saya.

Almamaterku yang menjadi kebanggaan saya dimanapun saya berada, Universitas Lampung.

Serta diri sendiri, Elisabeth Christella Vanessa Jayanti yang tetap semangat dan berani melangkah, berjuang dan menyelesaikan apa yang telah dimulainya.

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Kota Pangkalpinang pada tanggal 04 Januari 2004. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, dari Bapak Sarwoko dan Ibu Kristina Puji Hastuti.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Theresia 1 Pangkalpinang pada tahun 2009. Penulis melanjutkan tingkat pendidikan di Sekolah Menengah Pertama di SMP Theresia Pangkalpinang pada tahun 2015. Pada tahun 2018 penulis melanjutkan tingkat Sekolah Menengah Atas di SMA Santo Yosef Pangkalpinang. Penulis resmi diterima sebagai mahasiswa Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2021.

Selama menjadi mahasiswa di jurusan Biologi FMIPA Unila, penulis pernah menjadi Mentor Agama katolik pada tahun 2023. Pada bulan Januari – Februari 2024 penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Pusat Riset Tanaman Perkebunan – Organisasi Riset Pertanian dan Pangan BRIN dengan judul “Hubungan Kekerabatan 7 Klon Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Berdasarkan Karakter Kuantitatif”. Kemudian, pada bulan Juli-Agustus 2024 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Jepara, Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung.

MOTTO

“Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan, yang menaruh harapannya pada Tuhan.”

(Yeremia 17: 7)

“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku”

(Fillipi 4: 13)

“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apa pun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur”

(Fillipi 4: 6)

SANWACANA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kasih, yang telah memberi kesabaran, kekuatan, kelancaran dan kemudahan, serta petunjuk dan tuntunan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi dengan judul “**SELEKSI MARKA *Simple Sequence Repeats* (SSR) UNTUK MENGANALISIS KERAGAMAN GENETIK VARIETAS UNGGUL KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) di PARUNGKUDA, KABUPATEN SUKABUMI, JAWA BARAT**” ditulis sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana sains (S.Si) di jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1-Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Bapak Priyambodo, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik, yang telah dianggap seperti orang tua sendiri oleh penulis atas bantuan, bimbingan, nasihat baik, serta dukungan ketika penulis mengalami kendala dalam perkuliahan.
5. Ibu Dr. Eti Ernawiati, M.Si., selaku Pembimbing I yang telah sabar dan ikhlas dalam memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik/saran, dan bantuan baik secara moril atau materil selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Drs. Budi Martono, M.Si., selaku Pembimbing II yang telah sabar dan ikhlas dalam memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik/saran, dan bantuan baik secara moril atau materil dalam penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Rochmah Agustina, Ph.D., selaku Pembahas yang telah sabar dan senantiasa memberikan masukan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.

8. Seluruh Bapak dan Ibu dosen serta staf karyawan Jurusan Biologi atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan kepada penulis selama menuntut ilmu.
9. Ibu Dr. Juwartina Ida Royani, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing Lapangan yang telah banyak membantu dan memberikan saran kepada penulis.
10. Para pegawai dan staff BRIN KST BJ Habibie Serpong dan Laboratorium BRMP Tanaman Industri dan Penyegar, Kabupaten Sukabumi yang telah banyak membantu di laboratorium selama penulis melakukan penelitian.
11. Kedua orang tuaku, Bapak Sarwoko dan Ibu Kristina Puji Hastuti, yang senantiasa bekerja keras untuk mengasuh, membesarkan, dan memberi kasih sayang yang tulus kepadaku. Dukungan, motivasi, serta doa yang terucap selalu terselip namaku di dalamnya.
12. Kepada adikku Laurensius Krisandroew Saputra dan Eufemia Ozora Chrissabel Trijayanti, terima kasih atas kasih sayang, canda tawa, semangatnya dan selalu mendoakanku, semoga kalian sehat, bahagia selalu, semangat sekolahnya untuk mencapai cita-cita dan Impian di masa depan.
13. Kepada Bapak Yosep Anton Budi Santoso, Ibu Purnami Iswandar, dan Adik Dionisius Arkananta Danu Santoso, terima kasih atas kasih sayang, doa, bantuan, motivasi, dan dukungan dari awal penulis memulai perkuliahan sampai saat ini.
14. Kepada keluarga kecilku “happy-happy aja” Adelina Putri Ndola Mari, Rista Evatia Br Sihaloho, Angeline Sekar Ningrum, Sevyra Indra Pratiwi, dan Yafia Kayla N. K, yang selalu menjadi tempat untuk berkeluh kesah. Terima kasih telah kebersamai setiap proses perkuliahan dan membantu penulis dalam menuntaskan karya ilmiah. Semoga kalian selalu dilancarkan dan sukses dalam menggapai cita-cita dan impian kalian.
15. Teman-teman seperjuangan Biologi Terapan angkatan 2021, terima kasih atas waktu, kebersamaan baik suka dan duka, pengalaman, bantuan, dukungan dan kisah yang telah kita lewati selama perkuliahan di Jurusan Biologi.

Semoga Tuhan selalu memberkati dan membalas kebaikan kepada semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 11 Mei 2026

Elisabeth Christella Vanessa Jayanti

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
PERSEMBAHAN	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTTO	ix
SANWACANA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Kerangka Pemikiran.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Kopi.....	5
2.1.1. Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	6
2.1.2. Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.3. Habitat.....	7
2.2. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA).....	8

2.3. Analisis Molekuler	8
2.3.1. Ekstraksi DNA	8
2.3.2. Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	9
2.3.3. Elektroforesis DNA	11
2.4. Marka	12
III. METODE PENELITIAN	14
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	14
3.3. Prosedur Penelitian	15
3.3.1. Pengambilan Sampel	15
3.3.2. Pembuatan Stok	16
3.3.3. Isolasi DNA Metode CTAB	17
3.3.4. Isolasi DNA Metode KIT Promega	18
3.3.5. Amplifikasi	19
3.3.6. Elektroforesis dan Visualisasi DNA	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1. Uji Kuantitas dan Kualitas DNA	23
4.2. Elektroforesis dan Visualisasi DNA	25
4.2.1. Hasil Isolasi DNA Metode KIT Promega	25
4.2.2. Hasil Isolasi DNA Metode CTAB	26
4.3. Amplifikasi Primer SSR	27
V. KESIMPULAN DAN SARAN	31
5.1. Kesimpulan	31
5.2. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Visualisasi Hasil Isolasi DNA Metode KIT Promega.....	25
2. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul menggunakan primer CCESSR 03.....	27
3. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CCESSR 12..	27
4. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul menggunakan primer CCESSR 14.....	27
5. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CCESSR 21..	27
6. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CCESSR 44..	28
7. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CCRM 16	28
8. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CCRM 19	28
9. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CCRM 34	28
10. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer CMA 198....	28
11. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer KR 3	28
12. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer KR 4	28
13. Hasil elektroforesis gel agarosa varietas unggul dengan primer KR 14	29

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data sampel 25 varietas kopi Robusta di Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat...	15
2. <i>Sequence Primer</i>	20
3. Komponen master mix PCR	21
4. Proses amplifikasi	21
5. Data hasil kualitas dan kuantitas DNA pada metode Promega dan CTAB	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Dokumentasi lokasi pengambilan sampel
2. Dokumentasi sampel daun
3. Dokumentasi kegiatan penelitian

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kopi merupakan komoditas perkebunan strategis yang memberikan kontribusi besar terhadap perekonomian nasional. Selain sektor migas, komoditas kopi menjadi penyumbang devisa yang cukup besar karena peluang ekspor yang terus berkembang serta besarnya potensi pasar domestik. Indonesia dikenal sebagai salah satu negara produsen kopi terbesar di dunia. Berdasarkan data *International Coffee Organization (ICO)*, Indonesia menempati peringkat ketiga sebagai negara penghasil kopi terbesar, setelah Brazil dan Vietnam. Produksi kopi nasional tahun 2024 mengalami peningkatan sebesar 7,19% dibandingkan tahun 2023, naik dari 758,73 ribu ton menjadi 813,34 ribu ton (Badan Pusat Statistik 2025).

Salah satu kopi yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah kopi Robusta (*Coffea canephora*). Kopi Robusta memiliki ketahanan yang tinggi terhadap penyakit, serta karakteristik rasa yang lebih pahit, sedikit asam, penampilan biji yang khas, dan kandungan kafein yang lebih tinggi dibandingkan kopi Arabika (Riswandi dan Sari, 2021). Selain itu, kopi Robusta memiliki sebaran terluas di Indonesia (Hidayat ddk., 2024). Sifatnya yang menyerbuk silang menyebabkan tingkat keragaman genetik yang tinggi dalam populasinya, sehingga berpotensi menghasilkan varietas atau hibrida unggul.

Analisis keragaman genetik dapat dilakukan melalui pendekatan morfologi maupun analisis marka molekuler (Sari, 2017). Informasi genetik yang diperoleh sangat penting untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar spesies maupun populasi serta sebagai dasar acuan dalam perencanaan program pemuliaan dan konservasi tanaman (Rosmayati dkk., 2012).

Pendekatan morfologi merupakan salah satu metode yang umum digunakan dalam identifikasi tumbuhan dan tanaman (Simangunsong dkk., 2017). Kopi Robusta memiliki ciri morfologi yang khas antara lain tajuk yang lebar, habitus tanaman yang besar, ukuran daun yang lebih besar dibandingkan daun kopi Arabika, serta memiliki bentuk pangkal daun yang tumpul. Daunnya tersusun berhadapan pada batang, cabang, dan ranting (Najiyatih dan Danarti, 2012). Pendekatan morfologi memiliki kelebihan berupa biaya relatif murah, jumlah sampel yang dapat dianalisis lebih banyak, dan tidak merusak spesimen (Zubaidah, 2011). Namun demikian, pendekatan morfologi memiliki keterbatasan karena hasilnya seringkali dipengaruhi oleh faktor lingkungan, memerlukan waktu yang relatif lama, bersifat subjektif, sehingga dianggap kurang akurat (Probojati *et al.*, 2019). Sebagai alternatif, penggunaan marka molekuler berbasis DNA diperlukan untuk memperoleh data yang lebih valid (De Jesus *et al.*, 2013).

Marka molekuler berbasis DNA dapat menggambarkan keragaman genetik antar individu secara lebih akurat (Langga dkk., 2012). Metode ini dapat digunakan untuk menganalisis hubungan kekerabatan dan mengidentifikasi adanya polimorfisme dalam suatu jenis. Marka molekuler memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi, jumlah marka yang tidak terbatas, dan tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (Anggraeni, 2008; Yono dkk., 2017). Dengan demikian, identifikasi menggunakan marka molekuler dapat mengkonfirmasi identitas suatu tumbuhan secara akurat.

Salah satu marka molekuler yang banyak digunakan adalah marka *simple sequence repeat* (SSR). Marka SSR bersifat kodominan, tingkat polimorfisme yang tinggi, dan aplikasinya relatif mudah karena berbasis teknik *polymerase chain reaction* (PCR) (Lightfoot and Iqbal, 2013). Marka SSR telah dimanfaatkan untuk membedakan *Coffea arabica*, dan *Coffea canephora* (Combes *et al.*, 2000). Pada tanaman kopi marka SSR telah digunakan untuk mempelajari keragaman genetik dan menyusun peta keterpautan genetik pada plasma nutfah kopi Robusta (Hendre and Aggarwal, 2014).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa klon-klon lokal kopi Robusta di wilayah Bengkulu memiliki keragaman genetik relatif sempit, meskipun tingkat polimorfisme yang tinggi. Keragaman genetik merupakan suatu variasi di dalam populasi yang terjadi akibat adanya keragaman di antara individu anggota populasi. Oleh karena itu, informasi keragaman genetik sangat diperlukan sebagai langkah awal dalam mendukung kegiatan pemuliaan dan pengembangan varietas unggul (Monalisa dkk., 2019).

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui kualitas dan kuantitas DNA kopi Robusta (*Coffea canephora*) berdasarkan metode KIT Promega dan CTAB
2. Mengetahui marka *Simple Sequence Repeats* (SSR) yang dapat mengamplifikasi DNA kopi Robusta (*Coffea canephora*).

1.3. Kerangka Pemikiran

Kopi merupakan komoditas strategis yang berkontribusi besar terhadap perekonomian nasional dengan tren produksi yang terus meningkat. Indonesia menempati posisi ketiga sebagai negara penghasil kopi terbesar dunia setelah

Brazil dan Vietnam. Diantara jenis yang dibudidayakan, kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki sebaran terluas serta potensi genetiknya tinggi karena sifatnya yang menyerbuk silang. Keragaman genetik tersebut menjadi modal penting dalam program pemuliaan dan pengembangan varietas unggul dengan kualitas lebih baik dan stabil secara komersial.

Upaya pemanfaatan sumber daya genetik kopi Robusta memerlukan informasi keragaman genetik yang akurat. Pendekatan morfologi dinilai kurang memadai karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan bersifat subjektif sehingga diperlukan pendekatan molekular yang lebih akurat. Marka *Simple Sequence Repeats* (SSR) dipilih karena bersifat kodominan, memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi, serta efektif digunakan dalam analisis keragaman genetik dan seleksi berbantuan marka.

Namun demikian, keberhasilan analisis menggunakan marka SSR sangat ditentukan oleh kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi. Perbedaan metode ekstraksi dengan menggunakan KIT Promega dan CTAB, dapat menghasilkan karakteristik DNA yang berbeda, sehingga perlu dilakukan evaluasi untuk menentukan metode yang paling efektif.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kopi

Tanaman kopi merupakan komoditas perkebunan yang berasal dari Benua Afrika, tepatnya dari negara Ethiopia, dan telah dikenal sejak abad ke-9. Suku Ethiopia memanfaatkan biji kopi sebagai bahan pangan yang dikonsumsi bersama dengan makanan pokok lainnya, seperti daging dan ikan. Tanaman ini mulai diperkenalkan di dunia pada abad ke-17 di India. Selanjutnya, tanaman kopi menyebar ke Benua Eropa oleh seorang yang berkebangsaan Belanda dan terus dilanjutkan ke negara lain termasuk ke wilayah jajahannya yaitu Indonesia (Panggabean, 2011).

Penyebaran tanaman kopi di Indonesia sudah terjadi sejak tahun 1700-an, khususnya di Pulau Jawa. Selain di Pulau Jawa, penyebaran tanaman kopi juga dilakukan di Pulau Sumatera dan Sulawesi. Jenis kopi yang pertama kali dibudidayakan di Indonesia adalah kopi jenis Arabika. Namun, akibat merebaknya penyakit karat daun pada tahun 1869 di Srilangka, pemerintah Belanda mendatangkan jenis kopi baru, yaitu Liberika. Kopi Liberika dipilih karena memiliki ketahanan terhadap serangan penyakit karat daun yang disebabkan oleh patogen *Hemelia vastatrix*. Meskipun demikian, produktivitas kopi Liberika lebih rendah dibandingkan kopi Arabika, sehingga pemerintahan Belanda kemudian mendatangkan jenis kopi Robusta sebagai alternatif (Panggabean, 2011).

2.1.1. Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi Robusta lebih tahan terhadap serangan penyakit karat daun dengan produksi yang lebih baik dibandingkan kopi jenis Liberika. Pada Tahun 1920-an, pemerintah mendirikan Balai Penelitian Tanaman Kopi di Pulau Jawa yang bertugas mengembangkan dan meneliti kopi jenis Arabika dan Robusta. Seiring berjalannya waktu serta kemajuan teknologi, varietas kopi Robusta dan Arabika yang asli telah mengalami berbagai proses penyilangan sehingga menghasilkan beberapa hibrida atau genotipe unggul (Panggabean, 2011).

Pertumbuhan kopi Robusta sangat dipengaruhi oleh kondisi tanah, iklim, dan teknik pengolahannya. Kopi Robusta memiliki kandungan kafein yang relatif tinggi, cita rasa yang lebih netral, dan aroma kopi yang lebih kuat. Kandungan kafein pada kopi Robusta mencapai 2,8% dengan jumlah kromosom diploid ($2n$) sebanyak 22 kromosom (Susanti dkk., 2017). Dalam perdagangan kopi dunia, Indonesia merupakan pemasok kopi Robusta terbesar di dunia setelah Vietnam dan Brasil. Lebih dari 80% perkebunan kopi di Indonesia ditanami kopi Robusta, sekitar 17% ditanami kopi Arabika, sedangkan sisanya ditanami kopi Liberika dan Ekselsa dengan jumlah yang sangat terbatas (Anam dkk., 2023).

2.1.2. Klasifikasi dan Morfologi

Kopi Robusta merupakan tanaman dengan biji berkeping dua (dikotil), berakar tunggang, batang berkambium, tumbuh tegak bercabang, dan dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 10 m. Tanaman kopi memiliki dua tipe percabangan yaitu cabang orthotrop dan plagiotrop. Cabang orthotrop merupakan cabang yang tumbuh tegak lurus dan berperan seperti batang utama, sehingga apabila batang utama mati atau tumbuh tidak sempurna,

maka perannya dapat digantikan oleh cabang orthotrop. Cabang plagiotrop adalah cabang reproduksi pada batang utama yang berasal dari tunas utama (Rahmawati dkk., 2024).

Kopi Robusta memiliki daun berbentuk oval dengan ujung meruncing, tumbuh pada batang, cabang, dan ranting. Daun pada batang dan cabang tumbuh secara berselang-seling, sedangkan daun pada bagian ranting tumbuh sejajar pada bidang yang sama. Buah kopi Robusta berukuran lebih kecil dibandingkan kopi Arabika, dengan warna hijau saat muda yang berubah menjadi merah ketika matang. Biji kopi Robusta umumnya berbentuk membulat dengan ukuran yang lebih besar dari biji kopi Arabika (Hidayat dkk., 2021). Kopi Robusta memiliki tipe perakaran tunggang yang tumbuh tegak lurus sampai kedalaman 45 cm. Batang dan cabang kopi Robusta dapat tumbuh hingga 2 – 5 m dari permukaan tanah (Saefudin dkk., 2020).

Menurut Umbara dkk., (2023) menyatakan bahwa kopi Robusta memiliki daun berwarna hijau berbentuk oval, bunga berwarna putih, dan biji-nya dilapisi kulit tanduk (*parchment skin*). Biji kopi Robusta berbentuk agak bulat, dengan lengkungan biji yang lebih tebal dibandingkan Arabika dan memiliki garis tengah yang relatif lurus dari ujung atas hingga bawah. Kopi Robusta memiliki rasa yang lebih pahit dibandingkan kopi Arabika, yang dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia seperti kafein, asam klorogenat, trigonelin, lemak, asam amino, asam organik, asam volatil, dan mineral.

2.1.3. Habitat

Kopi Robusta umumnya tumbuh pada ketinggian antara 400 – 700 mdpl dan memiliki keunggulan lebih resisten terhadap serangan hama maupun penyakit (Anggara dan Marini, 2011). Tanaman ini dapat berkembang

secara optimal pada suhu udara harian berkisar 24 – 30°C dengan pH tanah 5.5 – 6.5 dan curah hujan 1.500 – 3.000 mm/th (Ernawati dkk., 2008).

2.2. Deoxyribonucleic Acid (DNA)

Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan rangkaian nukleotida yang tersusun dari fosfat, gula pentosa dan basa nitrogen. Fosfat berfungsi sebagai pengikat antara molekul gula. Gula pentosa (deoksiribosa) berfungsi sebagai sumber kekuatan struktur *double helix* DNA dengan membentuk rangkaian gula fosfat. Basa nitrogen yang terikat pada atom C nomor 1 molekul gula. Berdasarkan struktur cincinnya, basa nitrogen dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu purin dan pirimidin. Basa purin memiliki struktur cincin ganda yang terdiri dari adenin (A) dan guanin (G). Basa pirimidin memiliki struktur cincin tunggal yang terdiri dari timin (T) dan Sitosin (S). Susunan basa – basa nitrogen dengan gula pentosa dapat membentuk nukleosida. Nukleosida kemudian berikatan dengan gugus fosfat membentuk rantai panjang nukleotida menjadi DNA (Widiastuti, 2019). DNA berfungsi sebagai penyimpan seluruh informasi genetik dari setiap genom sel, sehingga berperan penting dalam pewarisan sifat serta pengaturan pertumbuhan, perkembangan dan metabolisme tubuh (Primandiri dan Santoso, 2020).

2.3. Analisis Molekuler

2.3.1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan proses pemisahan DNA dari komponen – komponen sel lainnya. Ekstraksi menjadi tahap awal yang penting dalam penelitian molekuler karena menentukan keberhasilan tahapan analisis selanjutnya. Proses ekstraksi dilakukan melalui tiga tahapan yaitu penghancuran atau lisis membran sel, pemisahan DNA dari komponen sel lainnya, dan presipitasi DNA (Ariyanti dan Sianturi, 2019). Penghancuran

membran sel (lisis) merupakan tahap awal dalam isolasi DNA yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel. Selanjutnya, proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan senyawa tertentu yang menyebabkan protein kehilangan kelarutannya dan mengendap, sehingga dapat dipisahkan dari DNA melalui proses sentrifugasi. Tahap presipitasi dilakukan dengan penambahan alkohol absolut agar DNA terpresipitasi dan membentuk pelet setelah disentrifugasi. Pada tahap ini, DNA yang terpresipitasi akan terpisah dari residu-residu RNA dan protein yang masih tersisa (Nova dkk., 2024). Keberhasilan ekstraksi DNA dapat diketahui melalui terbentuknya pita DNA. Konfirmasi keberadaan pita DNA yang terbentuk dapat dilakukan menggunakan metode elektroforesis, sedangkan konsentrasi DNA terlarut dapat diukur dengan metode spektrofotometri (Sjafaraenan dkk., 2018).

Ekstraksi DNA dapat dilakukan menggunakan metode konvensional dan kit komersil. Secara konvensional, ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan metode *Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB), NaCl dan fenol kloroform. Saat ini, penggunaan kit komersil semakin umum digunakan karena dinilai lebih praktis dan efisien dalam proses ekstraksi DNA (Sirait dan Sulistiawati, 2024).

2.3.2. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan metode yang digunakan untuk menggandakan DNA target tertentu. Metode ini dilakukan secara *in vitro* melalui proses sintesis molekul DNA baru yang bersifat komplementer terhadap DNA target, dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *thermocycler*. DNA target umumnya memiliki panjang ratusan hingga ribuan nukleotida yang diapit sepasang primer (Mulando, 2010).

Reaksi PCR terdiri atas tiga tahap utama yaitu denaturasi, *annealing* (penempelan primer), dan *extention* (pemanjangan) (Lorenz *et al.*, 2014).

Denaturasi adalah tahap awal dimana rantai ganda DNA terbuka menjadi rantai tunggal. *Annealing* adalah tahap menempelnya primer pada rantai tunggal DNA. *Extension* adalah tahap bekerjanya enzim polimerase dalam memperpanjang sekuens DNA dari ujung 3' ke 5' (Amanda dkk., 2019).

PCR melibatkan 4 komponen utama yaitu DNA cetakan atau *template* DNA, oligonukleotida primer, deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), dan DNA polimerase. DNA *template* berfungsi sebagai cetakan dalam pembentukan molekul DNA baru yang identik. Primer oligonukleotida merupakan sekuens oligonukleotida pendek dengan panjang berkisar 15-25 basa nukleotida yang berfungsi untuk mengawali sintesis rantai DNA. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) merupakan bahan yang terdiri dari deoksiadenosin trifosfat (dATP) deoksisitidina trifosfat (dCTP), deoksiguanosin trifosfat (dGTP), dan deoksitimidin trifosfat (dTTP) yang berfungsi untuk mensintesis molekul nukleotida. DNA *polymerase* merupakan enzim yang berfungsi mengkatalis reaksi sintesis rantai DNA (Joko dkk., 2011).

Keberhasilan deteksi DNA menggunakan PCR dipengaruhi oleh berbagai faktor, di antaranya konsentrasi primer dan suhu *annealing* yang digunakan. Konsentrasi primer yang tidak sesuai dapat memberikan hasil negatif yang palsu karena primer berpengaruh terhadap sensibilitas reaksi (Siswanto dkk., 2019). Primer berpengaruh besar terhadap sensitivitas reaksi PCR sehingga menjadi penentu keberhasilan PCR. Desain primer yang tidak optimal dapat menghasilkan produk PCR yang tidak spesifik dan terbentuk dimer primer (Sawitri *et al.*, 2024).

Menurut Hidayah dkk., (2021) suhu PCR saat *denaturation*, *annealing* dan *extension* serta interaksi antara komponen pereaksi PCR sangat menentukan keberhasilan penempelan primer pada gen target. Proses amplifikasi DNA menggunakan PCR sangat bergantung pada faktor seperti jumlah DNA sampel, kemurnian DNA sampel, primer oligonukleotida gen,

kemurnian dan konsentrasi komponen dalam larutan *premix* serta faktor teknis dan non teknis lainnya.

Penggunaan PCR memiliki beberapa keunggulan, antara lain mampu memperbanyak DNA secara spesifik, memiliki sensitivitas yang tinggi, memerlukan waktu relatif singkat, dapat digunakan untuk pengujian DNA, mendeteksi sampel yang terkontaminasi, menyeleksi sampel negatif, mengidentifikasi organisme hingga tingkat spesies, serta dapat mendeteksi materi genetik dari berbagai jenis sel. Namun demikian, metode PCR juga memiliki keterbatasan, seperti kemampuannya mendeteksi DNA dari sel bakteri yang telah mati, membutuhkan biaya yang mahal dan memerlukan keahlian khusus dalam pengoperasiannya (Aminah dkk., 2019).

2.3.3. Elektroforesis DNA

Elektroforesis merupakan metode analisis kimiawi yang didasarkan pada pergerakan molekul bermuatan dalam medan listrik. Bergeraknya molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, dan besar muatan dari molekul. Teknik elektroforesis yang menggunakan gel agarosa atau akrilamid merupakan metode pemisahan yang sederhana, cepat, dan spesifik dengan molekul yang diinginkan (Maryam dkk., 2022). Elektroforesis digunakan untuk mengevaluasi kualitas DNA dalam produk PCR. Fragmen DNA dalam elektroforesis divisualisasikan menggunakan pewarna *fluorescent* yang spesifik terhadap DNA, seperti etidium bromida. Gel yang digunakan dalam proses elektroforesis adalah agarosa yang dapat menunjukkan pita atau ukuran fragmen pasangan basa yang dapat dilihat dengan bantuan sinar ultraviolet (Aisyah dkk., 2020).

Prinsip kerja elektroforesis didasarkan pada migrasi partikel bermuatan melalui matriks gel. Molekul DNA memiliki muatan negatif, sehingga apabila dilakukan elektroforesis molekul DNA akan bergerak ke kutub positif (anoda) (Aminah dkk., 2019). Kurniawati dkk., (2019) menyatakan elektroforesis adalah perpindahan molekul negatif ke kutub positif dan

sebaliknya. Molekul bermuatan negatif (anion) akan bergerak menuju kutub positif (anoda), sedangkan molekul bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif (katoda). Kecepatan pergerakan fragmen DNA bergantung pada panjang fragmen DNA. Semakin panjang fragmen DNA maka semakin lambat migrasi fragmen DNA melewati gel.

2.4. Marka

Marka molekuler merupakan bagian kecil dari sekuens DNA yang dapat mencirikan perbedaan pada tingkat genome (Zulfahmi, 2013). Pada dasarnya, marka ini digunakan untuk mempermudah dalam melakukan proses identifikasi. Melalui penggunaan sekuens yang pendek, taksa suatu sampel dapat ditentukan sekaligus mengungkap tingkat keragaman atau variasi genetik pada jenis yang sebelumnya belum diketahui (Sunaryo, 2015). Selain itu, marka molekuler juga digunakan dalam seleksi karakter yang diinginkan karena mampu menandai gen secara langsung, sehingga dapat memudahkan dalam proses pemuliaan tanaman (Nugroho dkk., 2015).

Simple Sequence Repeats (SSR) merupakan marka molekuler berdasarkan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dikembangkan dari DNA genom. Marka SSR atau disebut juga dengan mikrosatelit memiliki panjang 1-5 pasang basa yang berulang secara berurutan (Yuliasti and Reflinur, 2015). Kelebihan marka SSR antara lain bersifat kodominan dan memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi sehingga banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik (Dosssett *et al.*, 2012). Namun demikian, marka SSR juga memiliki keterbatasan yaitu pada tahap pemilihan primer diperlukan proses *screening* dan optimasi terlebih dahulu sebelum diaplikasikan karena setiap tanaman memiliki karakteristik spesifik yang berbeda. Selain itu, selama proses amplifikasi PCR dapat terjadi fenomena *slippage* yang menyebabkan ukuran produk hasil amplifikasi berbeda dari ukuran sebenarnya (Zulfahmi, 2013).

Marka SSR dapat dibedakan berdasarkan jenis sekuens yang digunakan, yaitu genomik SSR dan EST-SSR. Marka genomik SSR memiliki beberapa kekurangan dibandingkan marka EST-SSR, antara lain marka genomik SSR berasal dari daerah intergenik pada pustaka genome *bacterial artificial chromosome* (BAC) yang diketahui tidak mempunyai fungsi gen, memerlukan biaya yang tinggi serta prosedur pengembangannya yang sulit dan kompleks (Izzah *et al.*, 2014). Sebaliknya, EST-SSR bersifat lebih *conserved* karena berasal dari daerah pengkode (*Coding regions*) sehingga memiliki tingkat transferabilitas yang lebih tinggi (Wei *et al.*, 2011). Pengembangan marka SSR yang berasal dari *Expressed Sequence Tags* atau EST secara *in silico* diketahui lebih efisien dan ekonomis karena memanfaatkan data sekuens yang telah tersedia di *database* dan tidak perlu melakukan tahapan sekuensing, serta perkembangan datanya yang pesat di dalam *database* publik selama beberapa tahun terakhir menjadikan EST-SSR sebagai alternatif yang menarik dalam pengembangan marka SSR (Sen *et al.*, 2017).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 7 bulan, yaitu dari bulan Maret hingga September 2025. Pengambilan sampel daun kopi Robusta dilakukan di Instalasi Kebun Percobaan Balai Perakitan dan Pengujian Tanaman Industri dan Penyegar (BRMP TRI), Kabupaten Sukabumi. Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Agroindustri dan Biomedika LAPTIAB, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Serpong.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam pengambilan sampel meliputi gunting, spidol, plastik. Alat yang digunakan dalam analisis molekuler antara lain mikropipet (volume 200 - 1000 μ l, 20-200 μ l, dan 10 - 100 μ l), mikrotip (volume 1000 μ l, 200 μ l, dan 100 μ l), *microtube* (volume 1,5 ml dan 2 ml), spatula, gelas ukur, mortar alu, sisir *agarose*, *vortex*, *freezer*, *microwave*, timbangan analitik, *sentrifuge*, *water bath*, *magnetic stirrer*, *plate spinner*, *cooling block*, spektrofotometer NanoDrop, elektroforesis, UV *Transilluminator*, dan komputer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel daun muda tanaman kopi Robusta, alkohol 70%, *buffer* isolasi, kit isolasi DNA (Promega), isopropanol, chloroform isoamil alkohol (CIA), NaOAC, PVP, Mercaptoetanol, alkohol 70%, TE *buffer*, RNase, *Water free nuckelase*,

primer, MIX PCR, *agarose*, TBE 10x, *loading dye*, gel red, DNA *marker*, primer *forward* dan *reverse*.

3.3. Prosedur Penelitian

Prosedur kerja yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun kopi dilakukan di Instalasi Kebun Percobaan Balai Perakitan dan Pengujian Tanaman Industri dan Penyegar (BRMP TRI) kabupaten Sukabumi, Jawa Barat (Tabel 1). Bagian daun yang diambil merupakan daun muda dari 25 varietas kopi Robusta.

Tabel 1. Data sampel 25 varietas kopi Robusta di Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat

No.	Nama Sampel	Asal			Titik Koordinat	
		Desa	Kecamatan	Kabupaten	Lat	Long
1.	BP 939	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.830926°	106.743893°
2.	BP 534	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.830921°	106.743891°
3.	BP 436	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.830854°	106.743824°
4.	SA 203	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.830966°	106.743917°
5.	BP 308	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.83097°	106.743944°
6.	BP 42	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.830964°	106.743929°
7.	Besemah 1	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.831062°	106.74404°
8.	Besemah 2	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.831081°	106.744049°

9.	Besemah 3	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.831096°	106.744057°
10.	Besemah 4	Cibodas	Bojong Genteng	Sukabumi	-6.831099°	106.744075°
11.	BP 358	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834856°	106.743132°
12.	BP 409	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834965°	106.743269°
13.	BP 936	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834991°	106.743269°
14.	SA 237	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.835094°	106.743402°
15.	Korolla 1	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834081°	106.740333°
16.	Korolla 2	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834153°	106.74025°
17.	Korolla 3	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834217°	106.740178°
18.	Korolla 4	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834923°	106.742329°
19.	R1-2017	Parungkuda	Parungkuda	Sukabumi	-6.843183°	106.749501°
20.	R2-2017	Parungkuda	Parungkuda	Sukabumi	-6.842865°	106.749038°
21.	BP 935	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834991°	106.743269°
22.	BP 234	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834991°	106.743269°
23.	BP 430	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834991°	106.743269°
24.	BP 913	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834991°	106.743269°
25.	BP 239	Langensari	Parungkuda	Sukabumi	-6.834991°	106.743269°

3.3.2. Pembuatan Stok

a. Larutan Tris HCl 1 M PH 8

Sebanyak 53 g Trizma base dan 88,8 g Trizma HCl dilarutkan dalam 700 ml aquades, larutan kemudian ditambahkan *aquades* sampai 1 liter dan disesuaikan pH menjadi pH 8.

b. Larutan NaCl 5 M

Sebanyak 292,2 g NaCl, dilarutkan menggunakan *aquades* hingga mencapai volume 1 liter.

c. *Buffer* ekstrak (stok 1000 mL/1L)

Campurkan 100 ml 1 M Tris HCl pH 8+280 ml 5 M NaCl + 40 ml EDTA PH 8 dan 20 g CTAB (*Cetyltrimethyl ammonium bromit*), kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter.

d. Larutan NaOAC 3 M

Campurkan 408,24 g NaOAC dengan 700 ml H₂O, dilarutkan menggunakan aquades hingga mencapai volume 1 liter.

e. TE *Buffer* 10X

Campurkan 10 ml 1 M Tris pH 8 + 2 mL 0,5 M EDTA dilarutkan menggunakan aquades hingga mencapai volume 1 liter.

f. TE *buffer* 1X

TE *buffer* 1X dilarutkan dari stok TE *buffer* 10X. Pembuatan TE *buffer* sebanyak 50 mL, dilakukan pencampuran 5 mL TE *buffer* 10X kemudian ditambahkan aquades hingga volume 50 mL (45 mL).

g. Kloroform isoamil alkohol (CIA)

Dibuat dengan perbandingan kloroform (24): isoamil alkohol (1). Untuk CIA sebanyak 500 mL dibutuhkan 480 mL kloroform dan 20 mL isoamil alkohol. Kemudian Simpan pada botol gelap.

3.3.3. Isolasi DNA Metode CTAB

Isolasi DNA dimulai dengan menyiapkan mortar dan pestel yang dibersihkan hingga kering, disemprot menggunakan alkohol 70% dan dibiarkan mengering. Sebanyak 0,300 gram daun kopi ditimbang, dipotong kecil-kecil, kemudian dimasukkan ke dalam mortar. Sampel ditambahkan *buffer* isolasi, 0,05 gram PVP, dan 5 µL mercapto etanol. Sampel kemudian digerus sampai halus. Setelah homogen, material daun yang telah halus dipindahkan ke dalam tube berkapasitas 2 mL dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 65 °C selama 1 jam sambil digoyang setiap 15 menit untuk membantu proses lisis sel. Setelah inkubasi, sampel disentrifugasi pada kecepatan 13.500 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. Sebanyak 800 µL supernatan dipindahkan ke tube baru (2 mL), dan ditambahkan 800 µL CIA

dengan perbandingan 1:1 terhadap supernatan. Campuran dihomogenkan secara perlahan dengan cara membolak-balik *tube* selama 10–15 menit untuk mengikat kotoran pada larutan DNA. Kemudian disentrifugasi kembali selama 15 menit pada 13.500 rpm. Sebanyak 800 μ L supernatan hasil sentrifugase dipindahkan ke *tube* baru berkapasitas 1,5 mL, kemudian ditambahkan 8 μ L NaOAc (1/100 volume supernatan) dan 400 μ L isopropanol (setengah volume supernatan). *Tube* ditutup rapat dan dibolak-balik perlahan hingga terlihat benang-benang DNA, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit agar DNA mengendap. Selanjutnya sampel disentrifugasi pada 13.500 rpm selama 10 menit dan supernatan dibuang

Pellet DNA yang muncul kemudian diberi RNase (sekitar 1/100 volume larutan DNA) dan ditambahkan 250 μ L TE *buffer*. Larutan diinkubasi pada 37 °C selama 30 menit untuk menghilangkan sisa RNA. Setelah inkubasi, ditambahkan 25 μ L NaOAc (1/10 volume DNA) dan 600 μ L etanol 95% dingin, kemudian campuran dibolak-balik perlahan dan diinkubasi pada -20 °C semalaman untuk presipitasi DNA. Pada hari berikutnya, sampel disentrifugasi selama 10 menit pada 13.500 rpm, supernatan dibuang, dan pellet dicuci dengan 500 μ L etanol 70% dingin. Sentrifugasi kembali selama 10 menit pada 13.500 rpm, buang supernatan dan pellet dikeringkan pada suhu ruang semalaman. Setelah kering, pellet disuspensi dengan 200 μ L TE *buffer* dan diinkubasi semalaman hingga DNA terlarut sempurna. DNA yang telah larut kemudian disimpan di dalam freezer untuk keperluan analisis selanjutnya.

3.3.4. Isolasi DNA Metode KIT Promega

Daun kopi terlebih dahulu ditimbang sebanyak 0,200 gram, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil. Potongan daun tersebut ditempatkan ke dalam mortar yang sudah steril dan ditambahkan nitrogen cair hingga jaringan tanaman membeku. Setelah daun menjadi getas, material tanaman tersebut dihancurkan dengan cepat hingga diperoleh serbuk halus. Sampel

yang telah dihaluskan selanjutnya dipindahkan ke dalam tube yang sesuai dan diberi label untuk proses analisis selanjutnya. Sebanyak 600 μl *nucleic lysis solution* ditambahkan ke dalam *tube* yang berisi sampel, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah tercampur, sampel diinkubasi pada suhu 65°C selama 15 menit. Setelah inkubasi, ditambahkan 3 μl *RNase solution*, kemudian mikrotube dibolak-balik secara perlahan agar larutan tercampur merata, lalu diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah inkubasi, ditambahkan 200 μl *protein precipitation solution*, kemudian sampel divorteks dengan kecepatan tinggi selama 20 detik. Sampel selanjutnya disentrifugasi pada 16.000 xg selama 3 menit sehingga protein mengendap menjadi pellet. Supernatan yang terbentuk diambil dengan hati-hati dan dipindahkan ke mikrotube baru yang telah berisi 600 μl isopropanol dingin, kemudian tabung digoyangkan perlahan sampai terlihat terbentuknya benang-benang DNA. Sampel kemudian disentrifugasi kembali pada 16.000 xg selama 1 menit, kemudian supernatan dibuang. Pellet yang tersisa dicuci dengan menambahkan 600 μl etanol 70%, lalu disentrifugasi kembali pada 16.000 xg selama 1 menit. Setelah supernatan dibuang, pellet dikeringkan dengan cara dibiarkan terbuka selama ± 15 menit hingga sisa alkohol menguap. Pellet yang telah kering kemudian ditambahkan 100 μl *DNA dehydration solution* dan diinkubasi pada 65°C selama 60 menit untuk proses rehidrasi DNA. Terakhir, semua sampel disimpan pada suhu 4°C agar kualitas DNA tetap terjaga.

3.3.5. Amplifikasi

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan primer SSR. Sekuen primer SSR kopi Robusta yang digunakan dalam penelitian ini ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. *Sequence Primer*

Nama Primer	SSR Repeat	Primer Sequence	
		Forward	Reverse
CCESSR02	(AT)11	AAGATATGTTTTAGCCCAAG TAGTGAC	ATTGGTTGGTACTGTTTAGCTGTT AT
CCESSR03	(TC)10	CAGCCGTATCAGCACCAGCA T	TTCCCAACCCGTCAAAGTCCT
CCESSR09	(TTC)8	CCCCACCCACTTCTCTTTG	ACAACAAACGAACGCTCTCTGATA A
CCESSR12	(CCA)6	CGCCATCCCTTTTGCTTTC	ACGGCAGCAGAAGTGGAGGTGTT
CCESSR13	(TTA)6- (TTC)6	GCGGGGTAGTTTTGGGAATA TGG	TTTGGGGTCTTTTTCTTTCACACA T
CCESSR14	(CT)10	CTTGCCCCCTTCCCTCCCACT C	TTCGGCTCCTTGTTGTTGGGTA
CCESSR21	(AG)17	CGAGCTAGTGCAGACAGATT GAGAT	GTCCTTGGCGAAATCCCTCAG
CCESSR44	(CTT)7	AGGAATAATGGAGGAGACGT TGTTG	GCACAAATCCCAGTACTTCTCAT AGA
CCRM16	(TC)26	TCCTATAGCAGAAACACAAA ATGACACAG	GGTTTTGGGTCTTTTTAGCATAT ACA
CCRM19	(GA)26	GTTTTTTTTTCTTTTTCTTT TTGAGCT	AAGGCAATGTTGGTCAGCAGTGG
CCRM34	(GA)10	CCCCAGAACGAAAGGCAATC AT	TTGGGACTATTTATACTGGGGAAG AA
CCRM38	(CA)10	TGAGAATTAAAGCAGCAGGG GTATG	GCAAAAAAAGGCAAAAGCATTAC ATC
CMA198	(TG)9(AG) 18	AGCAACTCCAGTCTCAGGT	TGGAAGCCCGCATATAGTTT
CMA199	(CT)11	CATGCCATCATCAATTCCAT	CTAGCTAGCTGGATCAGTACCC
KR1	(CTC) ₈	AGTCAGGTATGCTGCCATTG	AGGCAGCTAAATCAGCCAAG
KR3	(CT) ₁₂	TCGGCTCCCAAATATTCATC	TTCTCAATGGTTTCGCATG
KR4	(AGGA) ₈	CTTCTGGAGTGAAAGCTTC	CCAATCGGGACACTCAC
KR5	(TTTA)5	TTTTGTGCCAAAGGGAAGAG	GACCGGAGAAGTCATTGG
KR6	(GA) ₁₀	GCAGGCTTCACCGGTTTG	ACTGGGATGATGTCTGGCTC
KR7	(CA) ₈	ACCCAAAACCTGCCTCC	TGTAGAAGCACCCGGAGAG
KR8	(AGA) ₁₀	AAACAGCAGGGAAAGCTG	AACCAAGGTCCATAAACCCC
KR9	(TG)9	CAGCAACCAAACCTGCTG	GGGCATACATGAAAAGCC
KR10	(CTT)6	AAGGTTTCGAGCCAGGAAG	ATCCTTTGCCTTGGTTGATG
KR11	(A)19	AGCCAAGGATCTTCCC	GGCCTAGATAGCAGAATCGC
KR12	(AC) ₈	TTATTGACGCAATCCCATG	TCCAGGCGTCTGTCTG
KR13	(TTC)6	GGCACGAGGCTTTCTCTC	TGCTATGGCACAAGTTTC
KR14	(TCGT)7	AGGAGCAATTCGTTCAATCG	GTAGGTTGGTGGAGACTGGC
KR15	(TCA)6	GGCTCTGGAGAGCTCAGG	CCCATCTGCTGACTCTGG

Amplifikasi dilakukan menggunakan alat *thermal cycler* dengan metode PCR. Volume total reaksi setiap tabung PCR adalah sebanyak 15 μL dengan komponen Primer sebanyak 0,3 μL , DNA sebanyak 4 μL , dan NFW sebanyak 3,2 μL , dan PCR Mix sebanyak 7,5 μL (Tabel 3).

Tabel 3. Komponen master mix PCR

Komponen	Volume (μL)
Primer SSR (terdiri atas <i>forward</i> dan <i>reverse</i> konsentrasi 0,2 μM)	0,3 μL
DNA <i>template</i>	4 μL
<i>Nuclease Free Water</i>	3,2 μL
PCR Mix	7,5 μL
Total Volume	15 μL

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada alat *thermal cycle* melalui tiga tahapan utama yaitu *denaturation* pada suhu 95 °C selama 15 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 15 detik dan *extension* pada suhu 72 °C selama 15 detik. Seluruh tahapan dalam proses amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus, diawali dengan tahap pradenaturasi dan diakhiri dengan tahap *extention* akhir (Tabel 4).

Tabel 4. Proses amplifikasi

Tahapan	Profil
<i>Pre-denaturation</i>	95°C, 3 menit
<i>Denaturation</i>	95°C, 15 detik
<i>Annealing</i>	52°C, 15 detik
<i>Extention</i>	72°C, 15 detik
<i>Final Extention</i>	72°C, 10 menit

3.3.6. Elektroforesis dan Visualisasi DNA

Elektroforesis dan visualisasi DNA dilakukan setelah proses isolasi dan amplifikasi untuk mengetahui hasil dari proses ekstraksi dan amplifikasi. Elektroforesis gel agarose dilakukan dengan menimbang agarose bubuk sebanyak 1 gram yang kemudian dilarutkan dalam larutan *buffer* TBE hingga volume mencapai 100 mL di dalam labu Erlenmeyer. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* kemudian dipanaskan menggunakan *microwave* selama 4 menit. Larutan panas tersebut diaduk menggunakan *stirrer* sampai mencapai suhu yang lebih rendah. Setelah larutan agak dingin, larutan diberi pewarna gelred sebanyak 5 μ L untuk mempermudah visualisasi DNA. Tray gel dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%, kemudian larutan agarose dituangkan secara perlahan ke dalamnya dan dipasang sisir pembentuk sumuran sampai gel mengeras. Setelah gel memadat, tray ditempatkan ke dalam chamber elektroforesis yang telah berisi larutan *buffer*. Sisir kemudian dilepas perlahan untuk menghasilkan sumuran tempat masuknya sampel DNA. Sebanyak 2 μ L sampel DNA dicampurkan dengan dye mix 1 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel secara hati-hati. Setelah seluruh sampel dimasukkan, chamber ditutup dan dihubungkan dengan perangkat suplai daya yang kemudian dijalankan pada tegangan 100 volt selama 45 menit. Proses elektroforesis dijalankan hingga pemisahan DNA selesai, alat dimatikan dan gel divisualisasikan menggunakan alat dokumentasi gel untuk mengamati pola pita dan kualitas DNA yang diperoleh.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Isolasi DNA kopi Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode CTAB menghasilkan kualitas dan kuantitas DNA yang lebih tinggi daripada isolasi menggunakan metode KIT Promega.
2. Terdapat 12 primer yang dapat mengamplifikasi gen target dari 28 primer yang uji.

5.2. Saran

DNA hasil amplifikasi yang telah terkonfirmasi melalui elektroforesis gel agarosa sebaiknya dianalisis lebih lanjut dengan pemisahan menggunakan gel poliakrilamid non denaturasi 6% (*dual triple-wide miniverticals*).

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S., Hidawati, R., Supratman, O., dan Syarif, A.F. 2020. DNA *Barcoding* dan Status Konservasi Ikan Hiu (*Hemiscylliidae* dan *Charcharhinidae*) Yang di daratkan di PPN Sungailiat Bangka. *Journal of Fisheries and Marine Research*. 4(3). 316-323.
- Amanda, K., Sari, R., dan Apridamayanti, P. 2019. Optimasi Suhu *Annealing* Proses PCR Amplifikasi Gen *shv* Bakteri *Escherichia Coli* Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4(1).
- Aminah, Ramadini, R., dan Naid, T. 2019. Analisis Cemaran DNA Tikus pada Bakso Daging Sapi yang Beredar di Makassar Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Farmasi Gelanika (Gelanika Journal of Pharmacy)*. 5(1): 93-100.
- Anam, K., Sirappa, M.P., Sangkala., Nirwahyuningsih., Meilin, A., Marda, A.B., Irawan, N.C., Handayani, H.T., dan Masrika, N.U.E. 2023. *Budidaya Tanaman Kopi dan Olahannya Untuk Kesehatan*. Tohar Media.
- Anggara, A., dan Marini, S. 2011. *Kopi Si Hitam Menguntungkan Budidaya dan Pemasaran ANIES ANGGARA*. Cahaya Atma Pustaka. Yogyakarta.
- Anggereini, E. 2008. *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*, Suatu Metode Analisis DNA dalam Menjelaskan Berbagai Fenomena Biologi. *Biospecies*. 1(2): 73-36.
- Ariyanti, Y., dan Sianturi, S. 2019. Ekstraksi DNA Total dari Sumber Jaringan Hewan (Ikan Kerapu) Menggunakan Metode *Kit For Animal Tissue*. *Journal of Science and Applicative Technology*. 3(1): 40-43.
- Badan Pusat Statistik. 2025. *Statistik Tanaman Perkebunan Tahunan Indonesia Vol. 1*.
- Combes, M. C., Andrzejewski. S. L., Anthony, F., and Bertrand, B. 2000. Characterization of Microsatellite Loci In *Coffea Arabica* and Coffee Species. *Molecular Ecology*. 9: 1178–1180.
- De Jesus, O.N., Silva, S.d.O.e., Amiron, E.P., Ferreira, C.F., Campos, J.M.S.d., Silva, G.d.G., and Figueira, A. 2013. Genetic Diversity and Population Structure of Musa Accessions in ex Situ Conservation. *BMC Plant Biology*. 13:41.
- Dosset, M., Bassil, N.V., Lewers, K.S., and Finn, C.E. 2012. Genetic Diversity in Wild and Cultivated Black Raspberry (*Rubus Occidentalis L.*) Evaluated by

- Simple Sequence Repeat Markers. *Genet Resour Crop.* 59: 1849-1865.
- Ernawati, R., Arief, R. W., dan Slameto. 2008. *Teknologi Budidaya Kopi Poliklonal*. Seri Buku Inovasi: BUN/14/2008. Bogor: Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian
- Fatchiyah, Arumingtyas, E. L., Widyarti, S., dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekuler: Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Hendre, P.S. and Aggarwal, R.K. 2014. Development of Genic and Genomic SSR Markers of Robusta Coffea (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner). *PLoS ONE*. 9(12): e113661.
- Hidayah, A.S.A., Utomo, B., dan Mustofa, I. 2021. Profil Gen Reseptor *Follicle Stimulating Hormone* (rFSH) pada Sapi Silangan Madrasin. *Jurnal Medik Veteriner*. 4(1): 91-97.
- Hidayat, D. R., Fisdiana, U., Sugiyarto, S., dan Cahyaningrum, D. G. 2024. Pertumbuhan Bibit Kopi Robusta (*Coffea canephora* Var. Robusta) Varietas Hibiro 1 pada Beberapa Media Tanam Kompos Kopi. *Agropross : National Conference Proceedings of Agriculture*, 546–554.
- Hikmatyar, F., Royani, J.I., Matsunaga, K., Inoue, H., dan Indarto, A. 2015. Isolasi dan Amplifikasi DNA Keladi Tikus (*Thyponium Flagelliform*) untuk Identifikasi Keragaman Genetik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 2(2): 88-94.
- Izzah, N. K., Lee, J., Jayakodi, M., Perumal, S., Jin, M., Park, B. S., Ahn, K., and Yang, T. J. 2014. Transcriptome sequencing of two parental lines of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata L.) and construction of an EST-based genetic map. *BMC Genomics* 15:149.
- Joko, T., Kusumandari, N., dan Hartono, S. 2011. Optimasi Metode PCR untuk Deteksi *Pectobacterium carotovorum*, Penyebab Penyakit Busuk Lunak Angrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 17(2): 54-59.
- Kurniawati, M. D., Sumaryam, dan Hayati, N. 2019. Aplikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Konvensional dan *Real Time-PCR* Untuk Deteksi Virus VNN (*Viral Nervous Necrosis*) Pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Techno-Fish*. 3(1): 19-30.
- Langga, I. F., Restu, M., dan Kuswinanti, T. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex cofassus Reinw*) serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik RAPD-PCR. *J Sains dan Teknologi*. 12(3): 265–276.
- Lightfoot, D. A., and Iqbal, M. J. 2013. Molecular Mapping and Breeding With Microsatellite Markers. *Methods In Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1006: 297–317.
- Lorenz, S. C., Fischer, M., and Kase, J. A. 2014. Improved PCR-RFLP Method For the Identification of *Escherichia coli* Enterohemolysin (ehxa) Subtypes. *Journal of Microbiological Methods*, 100(1), 24–26.
- Madesis, P., Ganopoulos, I., and Tsiftaris, A. 2013. Microsatellites: Evolution and Contribution. *Methods In Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. 1006: 1–13.

- Maryam, S., Nuryanti, S., dan Rahbuddin, K.E.F. 2022. Karakterisasi Makroskopik dan Mikroskopik serta Isolasi DNA Isolat Fungi Endofit Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* L.F Schott). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 14(2): 139-147.
- Monalisa, E., Mantiri, F. R., dan Lengkong, H. J. 2019. Kajian Variasi *Sekuens Interspecies* dan Filogeni Kelelawar *Pteropus* sp. menggunakan Gen COI. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 8(2): 71.
- Mulando. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika (Second)*. IPB Press.
- Nova, B., Wardi, E. S., Rahmi, M., dan Zikri, F. 2024. Desain Primer dan Deteksi Gen CHS (*Chalcone Synthase*) pada Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) Tipe Riau Mancik. *Baselang*, 4(1), 1–12.
- Nugroho, K., Terryana, R.T., dan Lestari, P. 2015. Optimisasi Metode Isolasi DNA pada *Jantrapha* spp. *Jurnal Agroteknologi*. 5(2): 15-22.
- Panggabean, E. (2011). *Buku Pintar Kopi*. Agro Media Pustaka.
- Primandari, P.R., dan Santoso, A.M. 2020. *Genetika Prinsip dasar Berbasis Penelitian di Perguruan Tinggi*. Kepel Press.
- 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.
- Rahmawati, M., dan Hayati, E. 2013. Pengelompokan Berdasarkan Karakter Morfologi Vegetatif Pada Plasma Nuftah Pisang Asal Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Agrista*, 17(3): 111–117.
- Rahmawati, N.D., Historiawati, dan Iftitah, S.N. 2024. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Gel Lidah Buaya Terhadap Pertumbuhan Stek Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Agrisaintifika*. 8(2): 286-291.
- Riswandi, R., dan Sari, W.K. 2021. Pengaruh Pemberian Kompos Kulit Buah Kopi Terhadap Pertumbuhan Bibit Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Jurnal Riset Perkebunan*. 2(2): 107-117.
- Rosmayati., Jamil, A., dan Parhusip, D. 2012. Karakterisasi Keragaman Aksesori Bawang Merah Lokal Samosir Sekitar Danau Toba untuk Mendapatkan Populasi Bibit Unggul. *Prosiding Seminar dan Kongres Nasional Sumber Daya Genetik Medan* (pp. 12-43).
- Saefudin, B. R., Deanier, A. N., dan Rasmikayati, E. 2020. Kajian Perbandingan Preferensi Konsumen pada Dua Kedai Kopi di Cibinong, Kabupaten Bogor. *AGROVITAL : Jurnal Ilmu Pertanian*, 5(1): 39-46.
- Sari, V., Miftahudin, dan Sobir. 2017. Keragaman Genetik Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Berdasarkan Marka Morfologi dan ISSR. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 45(2): 175–181.
- Sawitri, D., Dewangga, V.S., and Qurrohman, M.T. 2024. Detection *fimH* Gene in the Urine of UTI Patients at the Puskesmas Banyuwangi, as a Marker for the

- Presence of *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Tropis*. 24(2): 406-413.
- Sen, S., Dehury, B., Sahu, J., Rathi, S., and Yadav, R.N.S. 2017. In Silico Mining and Characterization of Simple Sequence Repeats (SSRs) from Euphorbia Esula Expressed Sequence Tags (ESTs): A Potential Crop for Biofuel. *Plant Omics Journal*. 10(02): 53-63.
- Siburian, R.H.S., Siregar, U.J., and Siregar, I.Z. 2017. Genetic Variation of *Gyrinops Versteegii* Originated from Papua Based on RAPD. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*. 19(3): 1-5.
- Simangunsong, A.D., Respatijarti., dan Damanhuri. 2017. Eksplorasi dan Karakterisasi Pisang Mas (*Musa spp*) di Kabupaten Nganjuk, Mojokerto, Lumajang dan Kediri. *Jurnal Produksi Tanaman*. 5(3): 363-367.
- Sirait, P.S., dan Sulistiawati, S. 2024. Pengaruh Perbedaan Metode Isolasi Terhadap Kualitas DNA Ikan Gabus (*Ophiocephalus sp.*). *Journal of Global Sustainable Agriculture*. 4(1): 96-100.
- Siswanto, P.Y., Merdekawati, F., Ernawati., Hardiana, A.T., dan Kurniawan, E. 2019. Optimasi Suhu Annealing dan Konsentrasi Primer untuk Deteksi *Brugia malayi* Menggunakan Real-Time PCR. *Jurnal Riset Kesehatan*. 11(1): 314-321.
- Sjafaraenan., Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., dan Sabran, A. 2018. Profil DNA Gen *Follicle Stimulating Hormone Reseptor* (FSHR) Pada Wanita Akne Dengan Teknik PCR dan Sekuensing DNA. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*. 3(1): 1-11.
- Sulistiyorini, I., Dani, Izzah, N.K., dan Martono, B. 2021. Keragaman Genetik Klon Lokal Kopi Robusta Asal Temanggung Berdasarkan Marka SSR. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 8(3): 141-150.
- Sunaryo, W. 2015. Aplikasi DNA Barcoding Untuk Analisis Keragaman Genetik Lai-Durian (*Durio Zibethinus x Kutejensis*) Asal Kalimantan Timur. *Pros Semnas Biodiversitas Indonesia*. 1(6): 1273-1277.
- Syafaruddin, Dani, dan Pabendon, M.B. 2017. Keragaman Genetik Antar Klon Kopi Robusta Lokal Pagar Alam Berdasarkan Analisis Marka SSR. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 4(3): 133-144.
- Umbara, N.R., Yuwana, A., Heriyanto, W., Ladesi, V.K., dan Sahara, S. 2023. Proses Ekspor Biji Kopi Robusta Indonesia PT Swakarya Kreatif Asia Ke Amerika Serikat beserta Penerapan Manajemen Risikonya. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*. 9(1): 1-10.
- Utami, A., Meryalita, R., Prihatin, N.A., Ambarsari, L., Asri, P., dan Kurniatin, W. N. 2012. Variasi Metode Isolasi DNA Daun Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*, 25.
- Walker, J.M., dan Rapley, R. 2008. *Molecular Biomethods Handbook: Second Edition*. Humana Press.
- Wardi, E.S., Verawati, V., Irma Juita, A., dan Nova, B. 2023. Desain Primer dan Deteksi Gen Chs (*Chalcone Synthase*) pada Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) Tipe Udang. *FAKES : Jurnal Farmasi, Kesehatan,*

dan Sains. 1(3): 150-163.

Wei, W., Qi, X., Wang, L., Zhang, Y., Hua, W., Li, D., Lv, H., and Zhang, X. 2011. Characterization of the Sesame (*Sesamum Indicum L.*) Global Transcriptome Using Illumina Paired-End Sequencing and Development Of EST-SSR Markers. *BMC Genomics*. 12(1): 451.

Widiastuti, N.L.G.K. 2019. Pendidikan Sains Terintegrasi Keterkaitan Konsep Ikatan Kimia dengan Berbagai Bidang Ilmu. *Jurnal Kajian Pendidikan Widya Accarya FKIP Universitas Dwijendra*. 10(2).

Yono, D., Wahyu, Y., dan Toruan-Mathius, N. 2017. Identifikasi Penanda SSR yang Berasosiasi dengan Bobot Tandan Buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis Jacq.*). *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 45(1): 79–85.

Yuliasti and Reflinur. 2015. Evaluation Of Mungbean Mutant Lines To Drought Stress and Their Genetic Relationships Using SSR Markers. *Atom Indonesia*. 41(3): 161–167.

Zubaidah, S. 2011. Integrasi Pendekatan Morfologi dan Molekuler DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) Dalam Taksonomi. *Universitas Negeri Malang*.

Zulfahmi. 2013. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi*. 3(2): 41–52.