

**Analisis Keragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)
Sumatera Utara Menggunakan Marka RAPD
(*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

*Genetic diversity analysis of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) germplasm in North
Sematera using RAPD Marker*

Ayu Oshin Yap Sinaga, Lollie Agustina P. Putri*, Luthfi Aziz M. Siregar

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan, 20155

**Corresponding author*: lollie_agustina@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of the research was to analyze the genetic diversity of the endemic andaliman in North Sumatera based on RAPD markers. A total of 30 accessions andaliman originated from the various region in North Sumatera, i.e.: Dairi, Karo Highland, Simalungun. The RAPD analyse was used with 3 random primer: OPH-06, OPC-12 and OPN-03. These three primers showed 32 bands, on which 31 were polymorphic (95.23%). Further genetic diversity coefficient and the filogenetic dendogram were obtained using the Darwin 5.05 software. The results showed that 30 accessions of andaliman were clustered in three groups. Each group consisted of the accessions of three regions from different altitudes. There were 30 accessions of three regions studied showed a high genetic diversity.

Keywords: Andaliman, genetic diversity, random amplified polymorphic DNA

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui keragaman genetik andaliman Sumatera Utara berdasarkan marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Sebanyak 30 aksesi andaliman, yang berasal dari berbagai daerah di Sumatera Utara, terdiri dari 3 Kabupaten yaitu Dairi, Tanah Karo dan Simalungun. Analisis RAPD dilakukan dengan menggunakan 3 primer acak: OPH-06, OPC-12 dan OPN-03. Ketiga primer tersebut menghasilkan 32 pola pita DNA, dimana 31 dari pita tersebut adalah polimorfik (95,23%). Selanjutnya koefisien keragaman genetik dan dendogram filogenetik diperoleh menggunakan *software* Darwin 5.05. Hasil ini menunjukkan bahwa 30 aksesi andaliman tersebut dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Dalam setiap kelompok terdapat aksesi andaliman yang berasal dari tiga kabupaten tersebut dan dari ketinggian yang berbeda. Artinya setiap aksesi andaliman tidak mengelompok berdasarkan daerah dan ketinggian tempatnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 30 aksesi dari tiga lokasi menunjukkan keragaman genetik yang tinggi.

Kata Kunci : Andaliman, keragaman genetik, *random amplified polymorphic DNA*

PENDAHULUAN

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.), famili Rutaceae, adalah tanaman yang khas dijumpai di

Sumatera Utara, Indonesia. Buahnya umum digunakan sebagai bumbu masakan tradisional suku Batak (Siregar, 2003).

Andaliman lebih terkenal di negara Cina, Jepang, Korea dan India. Di Cina,

masyarakat muslim Sin Jiang menggerus buah andaliman, lada, ketumbar, dan garam, lalu disangrai, dan dijadikan sebagai cocolan daging. Masyarakat Jepang dan Korea menjadikan buah andaliman sebagai hiasan atau penambah rasa pedas pada sup dan mie. Di India, buah andaliman digunakan sebagai bumbu ikan. Selain dijual di pasar tradisional, seperti pasar Senen Jakarta dengan harga Rp 50.000/kg, buah andaliman juga diekspor ke Amerika Serikat, dengan harga US\$ 14,99/ons atau setara dengan Rp 140.990/ons (Miftakhurohmah dan Sintha, 2009).

Populasi andaliman masih sangat terbatas, kira-kira 1000 – 2000 pohon, dengan produksi 7 – 10 kg per pohon/tahun pada tanaman dewasa. Bibit yang diperoleh petani berasal dari hutan, karena benih andaliman tidak mau berkecambah walau pun kondisi tempat tumbuhnya sudah optimal. Dibudidayakan dengan sistem pekarangan. Rata-rata petani yang menanam andaliman 1 - 5 batang (Napitupulu, *et al.*, 2004).

Untuk mempelajari keanekaragaman genetik pada tanaman dapat dilakukan dengan cara analisis langsung terhadap sifat morfologi-agronomi, melalui penggunaan penanda tertentu baik pada tingkat sitologi maupun molekuler, ataupun melalui analisis kimiawi jaringan tanaman. Penanda adalah karakter yang dapat diturunkan dan berasosiasi dengan genotipe tertentu. Penanda molekuler meliputi penanda isozim dan penanda DNA. Penanda isozim bermanfaat untuk melihat adanya polimorfisme enzim. Sedangkan penanda DNA dapat digunakan untuk menganalisis keanekaragaman genetik dengan lebih baik karena penanda DNA mampu menampakkan polimorfisme pola pita DNA dalam jumlah banyak, konsisten dan tidak dipengaruhi lingkungan (Sumarsono, 2000).

Andaliman merupakan tanaman rempah yang biasanya digunakan sebagai bumbu masakan bagi kalangan suku Batak

di Sumatera Utara. Selain manfaatnya sebagai bumbu dan rempah, menurut Wijaya (1999) andaliman memiliki kandungan minyak atsiri yang tinggi yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidasi dan antimikroba alami. Karena manfaatnya yang banyak, andaliman dari Sumatera Utara biasanya diekspor ke luar negeri dengan harga yang tinggi. Namun, belum terdapat pertanian andaliman yang cukup luas yang dijumpai di Indonesia. Hal ini selain disebabkan oleh tanamannya yang tumbuh liar, menurut Siregar (2003) andaliman juga memiliki daya perkecambahan yang sangat rendah dan daya adaptasi yang rendah. Untuk mengembangkan tanaman andaliman ini, diperlukan suatu informasi-informasi penting tentang tanaman tersebut, seperti keanekaragaman genetik tanaman andaliman yang dapat dimanfaatkan sebagai langkah awal dalam pemuliaan tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik andaliman Sumatera Utara berdasarkan marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan, dimulai pada Maret 2014 hingga Agustus 2014.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun andaliman yang masih muda dari Kabupaten Dairi pada 3 kecamatan yaitu Kecamatan Parbuluan (desa Siarung-arung, Sitohang, dan Sigalingging), Kecamatan Sidikalang (desa Hutarakyat), Kecamatan Sumbul (desa Tigabaru) dan dari Kabupaten Simalungun yaitu Kecamatan Pematang Raya (desa Sigonting dan desa Bintang) sebanyak 30 aksesori. Bahan lain yang digunakan yaitu *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) (*Promega* H6269),

Polyvinilpolypirrolidone (PVPP) (*Promega* 77627), buffer ekstraksi CTAB (2 g NaCl, 5 g CTAB, 100 ml aquades), buffer TAE (Tris-acetate-EDTA) (pembuatan buffer dapat dilihat pada Lampiran 1.), buffer TE (Tris-EDTA), 24 ml Kloroform : 1 ml Isoamil-alkohol (KIAA), NaCl, NaOH, Na-EDTA, HCl p.a, alkohol 100 % dan 70 %, Isopropanol dingin, aquadest, β -mercaptoethanol 2 %, *agarose LE Analytical Grade* (*Promega*, V3121), *primer oligonukleotida* (*Sigma Aldrich*), *Go Tag Green Master Mix* (*Promega*, M7122), 100 bp *DNA ladder* (*Promega*, G2101), kertas tissue.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, timbangan digital, *hot plate*, mortar, *centrifuge* (*Eppendorf* 5415), *vortex*, *freezer*, tabung *ependorf* 2,0 ml dan 1.5 ml, mikropipet ukuran 1-50 μ l, 100-500 μ l dan 200-1000 μ l, pinset, sarung tangan karet, tip pipet (warna kristal, kuning dan biru), autoklaf, kamera, penangas air (*water Bath*, *Biosan*), oven, pH meter, pengaduk magnetik, alat-alat gelas (*baker glass*, *erlenmeyer*, dll), *UV-transilluminator* (*UV Tec Cambridge* 20 UV), elektroforesis (*Power PAC* 3000, *Biorad*), PCR (*Therma Cycler*), *Gel-Doc* (*UV Cambridge*), *power supply*, alat tulis.

Isolasi DNA genomik dilakukan menggunakan metode Orozco-Castillo *et al.* (1994) yang telah dimodifikasi yaitu dengan penambahan β -mercaptoethanol dan *polyvinilpolypirrolidone* (PVPP) pada saat ekstraksi. Pengujian integritas DNA secara kualitatif dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 0,8%.

Sebanyak 5 primer polimorfik dari *Sigma-Aldrich* yaitu OPD-16, OPH-06, OPH-19, OPC-12, dan OPN-03 digunakan untuk mengamplifikasi sampel, namun hanya 3 primer yang terpilih untuk analisis keragaman yaitu -06, OPC-12 dan OPN-03. Reaksi PCR dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: satu siklus denaturasi awal pada suhu 94 $^{\circ}$ C selama 2 menit, kemudian diikuti oleh 45 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94 $^{\circ}$ C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 36 $^{\circ}$ C

selama 1 menit, dan eksistensi pada suhu 72 $^{\circ}$ C selama 1 menit, dilanjutkan dengan eksistensi akhir pada suhu 72 $^{\circ}$ C selama 10 menit dan pendinginan pada suhu 4 $^{\circ}$ C selama 30menit (*Setiyo*, 2001). Hasil amplifikasi kemudian diseparasi dengan elektroforesis gel agarose 1,5% dalam *buffer* TAE selama 90 menit pada 65 volt, kemudian divisualisasikan dengan UV transiluminator.

Untuk menentukan keragaman genetik, produk PCR – RAPD diskoring berdasarkan muncul tidaknya pita DNA. Pita yang muncul pada gel diasumsikan sebagai alel RAPD. Keragaman alel RAPD ditentukan dari perbedaan migrasi alel pada gel dari masing- masing individu sampel. Berdasarkan ada atau tidaknya pita, profil pita diterjemahkan kedalam data biner. Pita yang muncul diberi kode - 1 (ada) dan -0 (tidak ada) (*Ferreira dan Grattapaglia*, 1994)

Ukuran fragmen basa (pasangan basa = bp) produk PCR ditentukan dengan menggunakan *software* UVITEC *Cambridge FireReader*. Fragmen DNA yang digunakan yaitu 1 kb *DNA ladder*. Dengan menggunakan *software* UVITEC *Cambridge FireReader* maka ukuran pita DNA hasil amplifikasi dapat terukur seperti pada Gambar 28 dan 29 (Lampiran 6). Ukuran pita DNA (*base pairs*) ini akan berpacuan dari *ladder* yang kita gunakan. Program ini akan mengukur pita yang muncul berdasarkan ukuran *ladder* dimana data ukurannya harus diinput terlebih dahulu melihat panduan ukuran *ladder* yang digunakan. Pengukuran pola pita yang terbentuk ini dengan pendar cahaya DNA yang terbentuk saat proses elektroforesis dengan sinar UV.

Matriks jarak atau ketidaksamaan genetik untuk semua kombinasi pasangan individu dapat dilakukan dengan dua tipe analisis deskriptif dari keragaman : (1) *Principal Coordinates Analysis* (PCoA), suatu jenis analisis faktorial pada tabel ketidaksamaan untuk mendapatkan group origin utama dan (ii) *Neighbor-Joining Tree* (NJtree) berdasarkan Saitou dan Nei

(1978) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu. Perhitungan dan analisis deskriptif ini

menggunakan *software* DARwin5.05 (Perrier dan Jacquemoud-Collet, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiga puluh aksesi andaliman dari tiga Kabupaten (Dairi, Tanah Karo dan

Simalungun) memiliki data nomor aksesi, asal, ketinggian tempat, tinggi tanaman, lilit batang dan umur tanaman sebagai berikut pada Tabel 1.

Tabel 1. Data geografis dan morfologis 30 aksesi andaliman dari 3 kabupaten Sumatera Utara

No. Aksesi	Kabupaten/Kecamatan/Desa	Ketinggian Tempat (mdpl.)	Tinggi Tanaman (cm)	Lilit Batang (cm)	Umur Tanaman (Tahun)
D1	Dairi/Sidikalang/Hutarakyat	1001	330	13	2
D2	Dairi/Sidikalang/Hutarakyat	978	80	3	0.5
D3	Dairi/Sumbul/Parbuahan	1254	308	21	2.5
D4	Dairi/Sumbul/Parbuahan	1253	294	17	2
D5	Dairi/Sumbul/Lae Tanggiang	1357	170,1	12,6	1
D6	Dairi/Parbuluan/Sigalingging	1518	265	28	1.5
D7	Dairi/Parbuluan/Sigalingging	1518	156	10	1
D8	Dairi/Parbuluan/Sihotang	1317	430	28	3
D9	Dairi/Parbuluan/Sihotang	1317	320	15	1.5
D10	Dairi/Parbuluan/Sihotang	1317	128	7	1.5
D11	Dairi/Parbuluan/Siarung-arung	1290	190	20	3
D12	Dairi/Parbuluan/Siarung-arung	1292	200	25	2.5
D13	Dairi/Sumbul/Pegagan Julu 7	1109	300	15	1.5
D14	Dairi/Sumbul/Pegagan Julu 7	1109	310	18	2
D15	Dairi/Pegagan Hilir/Tiga Baru	1202	294	20	2
D16	Dairi/Pegagan Hilir/Tiga Baru	1206	192	9	1
D17	Dairi/Pegagan Hilir/Tiga Baru	1217	177	7	1
D18	Dairi/Pegagan Hilir/Tiga Baru	1276	203	14	1
K1	Tanah Karo/Merek/Garingging	1483	333	20	4
K2	Tanah Karo/Merek/Garingging	1483	400	22	4.5
K3	Tanah Karo/Merek/Nagara	1495	248	10	1.5
S1	Simalungun/Purba/Purba Hinalang	1423	240	15	1.5
S2	Simalungun/Purba/Purba Hinalang	1423	238	14	1
S3	Simalungun/Purba/Purba Hinalang	1423	144	9	1
S4	Simalungun/Purba/Purba Hinalang	1408	370	18	1
S5	Simalungun/Purba/Kampung Baru	1211	290	22	1.5
S6	Simalungun/Purba/Kampung Baru	1211	198	21	2
S7	Simalungun/Purba/Kampung Baru	1211	155	10	1
S8	Simalungun/Purba/Kampung Baru	1213	290	23	2
S9	Simalungun/Purba/Kampung Baru	1214	310	24,8	1

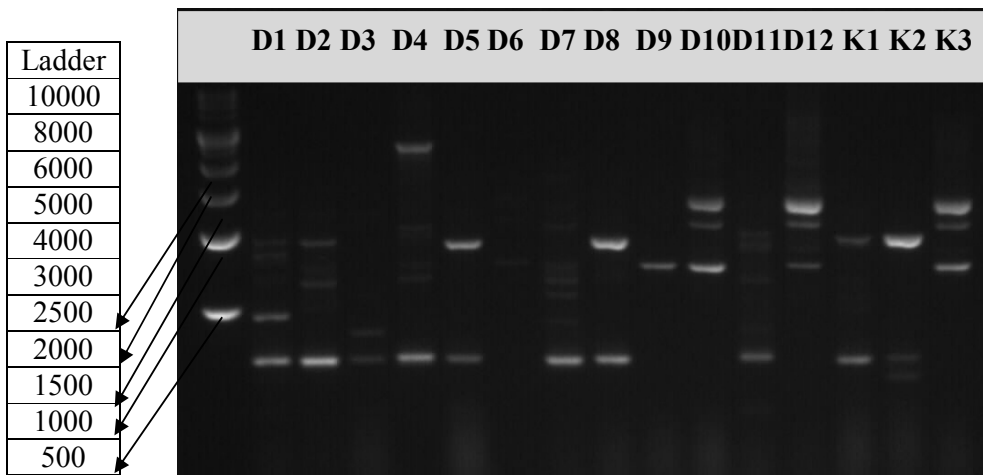
Lima primer acak (OPD-16, OPH-06, OPH-19, OPC-12, dan OPN-03) yang digunakan dalam amplifikasi DNA andaliman hanya menghasilkan pola pita hasil amplifikasi yang jelas pada 3 primer

yaitu OPH-06, OPC-12 dan OPN-03. Persentase polimorfisme ketiga primer tersebut yaitu 95,23%, dapat dilihat pada Tabel 2.

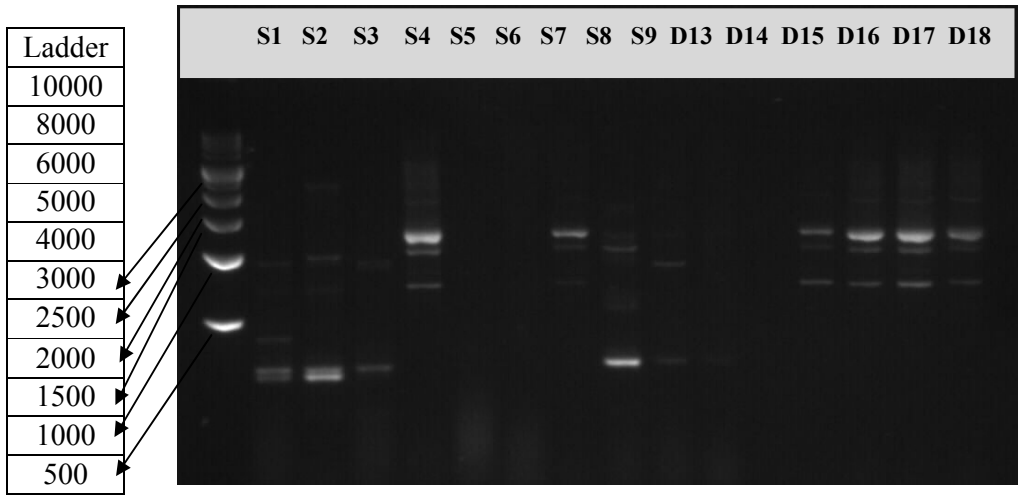
Tabel 2. Jumlah fragmen DNA dari masing-masing andaliman dan tingkat keinformatifan masing-masing primer RAPD

No.	Jenis Primer RAPD	Sequens Primer (5' - 3')	Suhu Annealing (°C)	Total Pola Pita	% Polimorfik	Ukuran Fragmen (bp)	
						Terendah	Tertinggi
1.	OPH-06	ACGCATCGCA	36	14	100 %	62	2443
2.	OPC-12	TGTCATCCCC	36	11	100%	126	2069
3.	OPN-03	GGTACTCCCC	36	6	85.7%	88	1927
		Total		31			
		Rataan		10.3	95.23%	92	2146

Amplifikasi primer OPH-06 pada 30 aksesi andaliman yang diuji menghasilkan 14 pola pita yang berukuran 62 – 2443 bp. Empat belas pola pita (100%) adalah polimorfik (Gambar 1 dan 2).



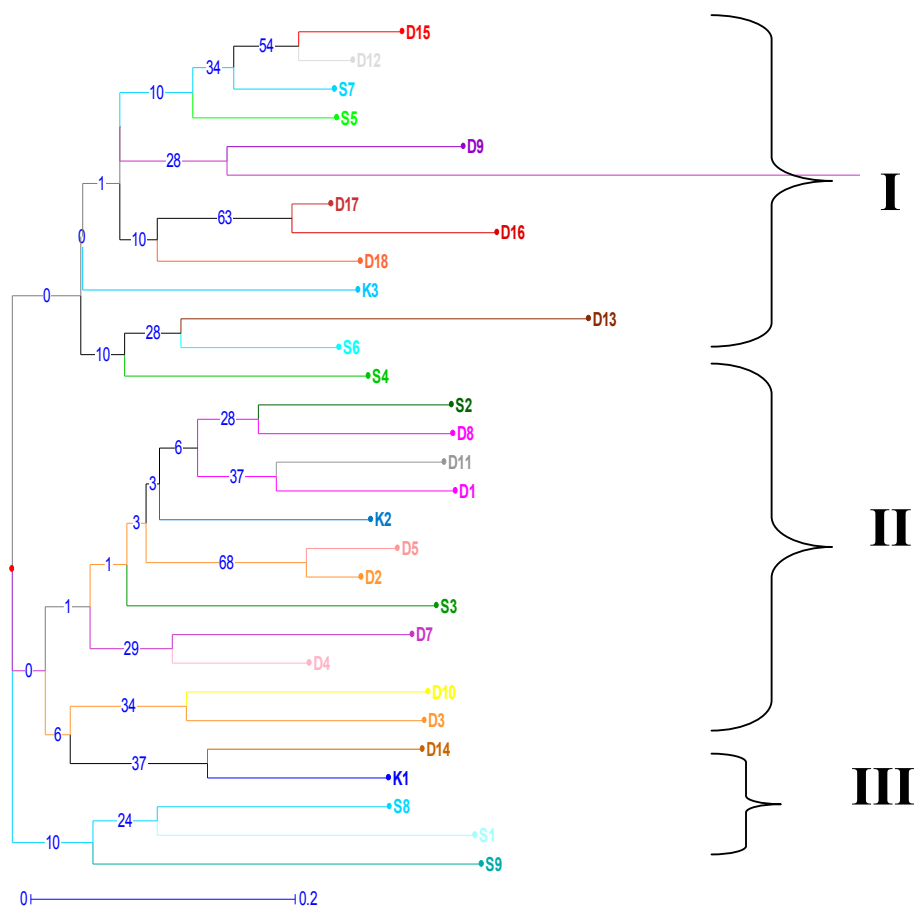
Gambar 1. Profil hasil PCR dengan primer OPH-06 pada sampel aksesi andaliman D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, K1, K2, K3



Gambar 2. Profil hasil PCR dengan primer OPH-06 sampel aksesi andaliman S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, D13, D14, D15, D16, D17, D18

Berdasarkan elektroforesis hasil amplifikasi dengan menggunakan 3 primer, diperoleh hasil pengelompokan menggunakan program DARwin 5.05

diperoleh 3 kelompok besar pada 30 aksesi andaliman Sumatera Utara yang tertera pada Gambar 3.



Gambar 3. Pohon filogenetik 30 aksesi andaliman dari 3 kabupaten (Dairi, Tanah Karo dan Simalungun) yang dianalisis berdasarkan *Matrix Dissimilarity Simple Matching*

Pembahasan

Amplifikasi DNA andaliman dengan menggunakan 3 primer yang polimorfik menghasilkan beberapa pita DNA, dimana pada primer OPH-06 terbentuk 14 pola pita yang polimorfik secara keseluruhan. Pada primer OPC-12 terbentuk 11 pola pita yang polimorfik 100%. Sedangkan pada primer OPN-03 terbentuk pola pita sebanyak , dimana salah satu dari pola pita tersebut adalah monomorfik, sehingga persentase polimorfik primer OPN-03 terhadap 30 sampel andaliman adalah 85,7%.

Pada tanaman aren menurut penelitian Harahap (2013) primer OPH-06 polimorfik sebesar 38,89% untuk aksesi aren, sedangkan pada andaliman polimorfik 100%, pada primer OPC-12 menghasilkan pita polimorfik 27,39% pada aren, sedangkan pada andaliman polimorfik 100%. Pada primer OPN 03 yang polimorfik 85,7% pada andaliman, pada aren primer ini polimorfik 42,13%.

Perbandingan lain untuk primer OPN-03 dan OPH-06 yang digunakan yaitu pada tanaman kedelai penelitian Saragih (2014) menunjukkan bahwa primer OPN-03 membentuk 6 pola pita pada kedelai, sedangkan pada andaliman, primer OPN-03 ini membentuk 7 pola pita. Sedangkan pada primer OPH-06 membentuk 6 pola pita pada tanaman kedelai, sedangkan pada tanaman andaliman membentuk 11 pola pita. Hal ini menunjukkan bahwa setiap primer mampu membentuk pola pita yang berbeda-beda pada setiap tanaman tergantung bahan genetik tanaman tersebut.

Ukuran basa pola pita yang muncul pada setiap primer berbeda-beda. Pada primer OPH-06 ukuran basa pita bersikisar antara 62 – 2443 bp (*base pair*). Primer OPC-12 memiliki ukuran basa 126 - 2069 bp. Sedangkan pada primer OPN-03 ukuran basa pitanya 88 – 1927 bp. Ukuran pita pada ketiga primer yaitu pada 62 – 2443 bp. Menurut Grattapaglia *et al* (1992)

jumlah pasang basa yang dapat diamplifikasi pada DNA genom tanaman berkisar antara 200-2.000 bp bahkan terkadang mencapai 5.000 bp. Namun pada ketiga primer yang digunakan pada aksesi andaliman ini terlihat bahwa ukuran bsa pita DNA yang didapat yaitu 62 bp yaitu dibawah 200 bp. Menurut Sumarsono (2000) perbedaan ukuran basa ini disebabkan oleh sebaran lokasi nukleotida di dalam genom yang menjadi tempat pelekatan primer.

Data biner hasil skoring amplifikasi 3 primer yang diolah dengan *software* DARwin dihasilkan *radial filogenetik* yang menunjukkan kekerabatan aksesi andaliman dimana 30 aksesi andaliman yang dikelompokkan menjadi 3 *clustering*. Kelompok pertama terdiri dari aksesi D15, D12, S7, S5, D9, D6, D17, D16, D18, K3, D13, S6, S4 sedangkan kelompok kedua terdiri dari aksesi S2, D8, D11, D1, K2, D5, D2, S3, D7, D4, D10, D3, D14, K1 dan kelompok ketiga terdiri dari 3 aksesi yaitu S8, S1 dan S9. Hasil *clustering* ini menunjukkan bahwa keragaman genetik dari andaliman pada 3 kabupaten tersebut adalah tinggi.

Keragaman 30 sampel aksesi andaliman secara molekuler yaitu sebesar 31,90 % yaitu keragaman yang didapat pada axis 1 dan 2, yang dapat dilihat pada Faktorial analisis (*Principal Coordinate Analysis*) aksis 1 (horizontal) dan aksis 2 (vertikal) dengan 3 primer marka RAPD. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa 30 aksesi andaliman tersebut menyebar pada beberapa daerah pada keempat zona tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa aksesi andaliman tersebut memiliki keragaman genetik yang tinggi, setiap aksesi tidak mengelompok pada satu sisi.

Pengelompokan tersebut menunjukkan bahwa *cluster* tersebut tidak berdasarkan warna bagian belakang daun andaliman yang beberapa berwarna hijau, hijau kemerahan dan merah. Setiap jenis andaliman yang berbeda berwarna daun sama menyebar pada ketiga kelompok tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa

perbedaan secara morfologi tidak menentukan bahwa perbedaan tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik.

Hasil pengelompokan aksesori andaliman berdasarkan marka RAPD tersebut yang menghasilkan 3 kelompok menunjukkan bahwa setiap aksesori dalam suatu kelompok tidak dipengaruhi oleh letak geografis dan ketinggian tempat setiap aksesori. Setiap aksesori dalam kelompok tersebut berada pada ketinggian 978 – 1518 mdpl. Setiap kelompok tidak dipengaruhi oleh ketinggian tempat dilihat dari beragamnya ketinggian tempat setiap aksesori pada suatu kelompok tersebut dan setiap aksesori pada umumnya tumbuh pada ketinggian tempat di atas 1000 mdpl.

Hasil *clustering* 30 aksesori andaliman, dapat dilihat bahwa pada kelompok ketiga, yang terdiri dari S8, S1 dan S9 merupakan aksesori yang berasal dari 1 kabupaten yaitu kabupaten Simalungun. Pada kelompok ketiga ini tidak terdapat aksesori yang berasal dari kabupaten lain, meskipun aksesori dari kabupaten Simalungun yang lainnya menyebar pada kelompok yang lainnya. Pada *cluster* ketiga, terbentuk 2 *subcluster*. *Subcluster* pertama yaitu S8 dan S1, dan *subcluster* kedua yaitu aksesori S9. Aksesori S8 yang mengelompok dengan aksesori S1 berasal dari desa yang berbeda, namun kecamatan yang sama. Aksesori S9 berasal dari desa yang sama dengan S8 dan memiliki jarak lokasi yang lebih dekat dibandingkan dengan S1. Namun aksesori S8 dan S9 yang memiliki jarak tempat yang sangat dekat tidak mengelompok pada *subcluster* yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa aksesori S8 dan S9 yang lokasi tumbuhnya sangat dekat memiliki perbedaan genetik yang mungkin disebabkan oleh beberapa faktor seperti asal tetua yang berbeda atau faktor lingkungan yang tidak dapat diketahui dan membutuhkan penelitian lanjut untuk mengetahuinya.

Menurut Sitanggang dan Habeahan (1999) ada tiga jenis andaliman yang terdapat di kawasan danau Toba yaitu: Sihorbo (buah besar, kurang aromatis dan

produksi rendah, Simanuk (buah kecil, aroma dan rasa lebih tajam dari Sihorbo, produksi lebih tinggi) dan jenis Sitanga (aroma sangat tajam sehingga mirip bau keping alias *tanga*. Produksi tinggi namun kurang disenangi masyarakat). Ketiga jenis andaliman ini merupakan pengelompokan masyarakat secara morfologi dan pengamatan visual yang tidak terukur. Dari hasil filogenetik andaliman dengan marka RAPD ini juga dapat dilihat bahwa andaliman dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar, namun tidak dapat dihubungkan dengan pengelompokan secara morfologi tersebut karena tidak dilakukan pengamatan morfologi secara spesifik untuk setiap sampel aksesori andaliman tersebut.

SIMPULAN

Tiga primer (OPH-06, OPC-12 dan OPN-03) yang digunakan dalam mengamplifikasi DNA aksesori andaliman persentase polimorfiknya adalah 95,23%, dengan ukuran basa fragmen 62 – 2443 bp. Untuk 30 aksesori andaliman dari Kabupaten Dairi, Tanah Karo dan Simalungun menunjukkan keragaman molekuler yang tinggi, dengan nilai faktorial analisis (PCoA) yaitu 31,90%. Dilihat dari penyebaran aksesori andaliman, 30 aksesori andaliman tersebut tersebar rata pada Kabupaten Dairi, Tanah Karo dan Simalungun tersebut. Dari *bootstrap* 1000 yang digunakan dalam penentuan filogenetik andaliman tersebut dapat diketahui bahwa 30 aksesori andaliman tersebut membentuk 3 kelompok (*cluster*) secara genetik dan ke-30 aksesori andaliman memiliki keragaman genetik yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Harahap, M. K. 2013. Analisis genetik tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr) di tapanuli selatan dengan menggunakan marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Tesis. Universitas Sumatera Utara. Medan, hlm. 21-60.
- Miftakhuromah dan Sintha, S. 2009. Potensi Andaliman Sebagai Sumber Antioksidan dan Antimikroba alami. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 15(2).
- Napitupulu, B., Sortha, S., dan Mery, S., 2004. Potensi andaliman sebagai *Food Additive* tradisional etnis batak Sumatera Utara. BPTP Sumatera Utara. Medan, hlm. 53-56.
- Orozco–Castillo, K.J. Chalmers, R. Waugh & W. Powell, 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87. 934–940.
- Perrier X. dan Jacquemoud-Colled J.P., (2006). DARwin Software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>
- Setiyo, I. E. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit Pancur (RISPA). Tesis. PPS IPB. Bogor. (Tidak dipublikasikan).
- Sitanggang, J.M. dan R. Habeahan. 1999. Tanaman rempah kawasan Danau Toba dan sekitarnya. Makalah Seminar Sehari Tanaman Berdaya Guna Tinggi di Kawasan Danau Toba dan Sekitarnya. Medan, hlm. 19.
- Siregar, B. L., 2003. Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodicum* DC.) di Sumatera Utara: Deskripsi dan perkecambahannya. *J. Hayati* hlm. 38-40
- Sumarsono. 2000. Keanekaragaman genetik lima populasi kelapa Dalam dari Jawa berdasarkan penanda RAPD. Tesis. PPS IPB. Bogor, hlm. 12-18.
- Wijaya, C. H. 1999. Andaliman, Rempah Tradisional Sumatera Utara Dengan Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba. *Bul. Teknol. dan Industr Pangan.* 10(2).
- Wijaya, C. H., Irene, T., dan Anton, A., 2001. Komponen volatil karakterisasi komponen kunci aroma buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *J. Teknol. dan Industri Pangan.* 12(2).