

# Karakterisasi Morfologis dan Molekuler Varietas Kedelai (*Glycine max*) untuk Identifikasi Bahan Baku Obat Tradisional

Fuad Soegibudiono Wiradjaja<sup>1</sup>, Oeke Yunita<sup>1\*</sup>

## Artikel Penelitian

**Abstract:** Many nutrients and active medicinal compounds in soybean (*Glycine max*) reduce the risk of cancer, cardiovascular disease, postmenopausal issues, diabetes, and some neurodegenerative disorders. Soybean protein causes several allergic reactions, which necessitates quality control for traditional medicines and herbal products. Morphological and molecular characterization using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) method were used to control soybean quality. Morphological characterization of 35 soybean varieties from the Research Institute for Various Beans and Tubers (BALITKABI), Malang, East Java, included photos of each variety and seed size, color, hilum color, weight, and special characteristics. RAPD with OPF-3 and OPF-16 primers characterized 35 soybean seed varieties. This study found that morphological characteristics like seed color, hilum color, seed shape, and seed weight are difficult to use to distinguish between varieties, especially if there are no specific features that predominate in these varieties. However, molecular authentication with RAPD can distinguish 35 soybean varieties by the presence of specific polymorphic bands that can only be found in certain varieties.

**Keywords:** characterization, *Glycine max*, morphology, polymorphism, RAPD

**Abstrak:** Kedelai (*Glycine max*) mengandung banyak nutrisi dan senyawa aktif berkhasiat obat yang berperan penting dalam mengurangi resiko berbagai jenis kanker, penyakit kardiovaskular, masalah pascamenopause, diabetes, dan beberapa gangguan neurodegeneratif. Beberapa kejadian alergi yang disebabkan oleh protein di dalam kedelai menjadi salah satu pemicu perlunya kontrol kualitas kedelai sebagai bahan baku obat tradisional atau produk herbal. Upaya kontrol kualitas kedelai dilakukan dengan karakterisasi morfologis dan karakterisasi molekuler dengan metode Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Karakterisasi morfologis biji kedelai dilakukan pada 35 varietas kedelai dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI), Malang, Jawa Timur, yang mendokumentasikan foto tiap varietas dan karakteristik biji yaitu ukuran dan warna biji, warna hilum, berat biji, dan ciri khusus biji. Karakterisasi molekuler 35 varietas biji kedelai dilakukan dengan menggunakan metode RAPD dengan primer OPF-3 dan OPF-16. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan ciri morfologis antar varietas, seperti warna biji, warna hilum, bentuk biji, dan bobot biji sulit digunakan untuk mengidentifikasi antar varietas terutama jika tidak ada ciri spesifik yang menonjol pada varietas tersebut, sedangkan autentikasi molekuler dengan RAPD lebih mampu membedakan 35 varietas kedelai yang ditunjukkan dengan adanya pita polimorfik spesifik yang hanya dapat ditemukan pada varietas tertentu.

<sup>1</sup> Laboratory of  
Pharmaceutical Biology,  
Faculty of Pharmacy,  
University of Surabaya.

### Korespondensi:

Oeke Yunita  
oeke@staff.ubaya.ac.id

**Kata kunci:** *Glycine max*, karakterisasi, morfologi, polimorfisme, RAPD

## Pendahuluan

Kedelai (*Glycine max*) sebagai salah satu bahan baku obat tradisional telah dibuktikan mengandung senyawa isoflavon, fenolik, soyasapogenol, tokoferol (1,2), dengan berbagai aktivitas farmakologis misalnya sebagai antioksidan, antimikroba, immuno-modulator, menurunkan kadar kolesterol (2,3). Bahkan kedelai sebagai “pangan fungsional” dikenal dapat mengurangi risiko berbagai penyakit berbahaya seperti aterosklerosis, osteoporosis, berbagai jenis kanker (kanker payudara, kanker rahim, dan kanker prostat) (4).

Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa kedelai mengandung minimal 37 molekul protein yang dapat menimbulkan reaksi alergi pada anak-anak dan perbedaan komposisi protein penyebab alergi (allergen) dapat berasal dari 20 varietas kedelai yang berbeda (5). Penelitian terdahulu menyatakan bahwa 90 kultivar kedelai Brazil menunjukkan adanya perbedaan komposisi protein penyebab alergi yaitu  $\beta$ -conglycinin (6). Hal tersebut menimbulkan adanya kebutuhan kontrol kualitas kedelai yang digunakan sebagai bahan baku obat tradisional atau produk herbal.

Upaya kontrol kualitas bahan baku herbal (tanaman) merupakan upaya krusial dalam menjamin autentikasi atau kebenaran identitas bahan baku yang dapat berpengaruh selanjutnya pada kualitas, keamanan dan efikasi produk herbal. Upaya tersebut dapat dilakukan dengan pengujian sensoris (pengujian makroskopis-mikroskopis) dan pengujian analitis menggunakan teknik instrumental yang diklasifikasikan menjadi pengujian kandungan kimia menggunakan senyawa penanda (marker) dan/atau pengujian profil senyawa dengan pendekatan metabolomik serta pengujian dengan penanda molekuler genetik (DNA) (7,8).

Pengujian dengan penanda molekuler (DNA) yang menggunakan teknik DNA *fingerprinting*, atau dikenal dengan istilah DNA *profiling*, *genetic fingerprinting*, dan DNA *typing*. DNA *fingerprinting* adalah teknik analisis molekuler yang digunakan untuk membedakan individu dari spesies yang sama menggunakan marker/penanda pada DNA. Pada awalnya aplikasi plant DNA *fingerprinting* untuk melakukan identifikasi varietas dan/atau kultivar serta mempertahankan galur *breeding* tanaman, namun pada produksi herbal, pengujian tersebut

juga dapat digunakan untuk kontrol kualitas bahan baku produk herbal, kontrol kualitas bahan herbal selama proses produksi dan identifikasi bahan herbal dalam produk herbal (9).

Polimorfisme DNA tumbuhan dapat dianalisis dengan berbagai metode, salah satunya dengan metode berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR). Metode berbasis PCR menghasilkan penanda yang melibatkan amplifikasi *in vitro* dari sebagian urutan DNA dengan bantuan primer spesifik atau acak dan enzim DNA polymerase yang termotabil. Teknik dalam metode ini yang menggunakan primer acak diantaranya Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) (7,8).

RAPD adalah modifikasi teknik dari PCR yang menggunakan primer acak tunggal pendek (10 bp) untuk mengamplifikasi DNA genomik total pada suhu annealing yang rendah (37-40°C). Produk amplifikasi (amplikon) yang diperoleh, dipisahkan dan divisualisasikan dengan metode elektroforesis hingga menunjukkan adanya pola larik DNA yang karakteristik (7). Penanda RAPD telah digunakan untuk mengidentifikasi tanaman sebagai bahan baku obat tradisional misalnya *Strychnos ligustrina* (10), *Sauropus androgynus* (11), *Eurycoma longifolia* (12), *Aloe sp.* (13), dan *Strychnos minor* (14). RAPD juga dapat mendeteksi mutasi genetik beberapa tanaman misalnya sorghum (15), dan kedelai (16).

Keunggulan RAPD adalah metode ini merupakan analisis kualitatif yang sensitif, cepat dan tidak membutuhkan informasi urutan DNA maupun isotopnya. Metode ini juga tidak membutuhkan DNA dalam jumlah yang banyak dan lebih murah dibandingkan metode lain. Keterbatasan RAPD terletak pada reproduksibilitasnya, namun keterbatasan RAPD tersebut dapat diatasi dengan melakukan optimasi pada metode RAPD (7,9).

Penelitian ini telah melakukan karakterisasi morfologis dan identifikasi penanda RAPD untuk memperoleh pola larik polimorfisme DNA dari beberapa varietas kedelai di Indonesia, yang merupakan tahap awal dari penelitian yang bertujuan untuk memperoleh varietas kedelai hipoalergenik, sehingga kedelai dapat secara aman dikonsumsi sebagai bahan baku dalam obat tradisional.

## Bahan dan Metode

### Bahan

Varietas kedelai diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI), Malang, Jawa Timur. Seluruh sampel biji kedelai (*Glycine max*) berasal dari BALITKABI pada hari yang sama. BALITKABI menyediakan 35 varietas kedelai, di mana hanya enam varietas yang merupakan hasil budidaya di BALITKABI, yaitu: Grobogan, Wilis, Burangrang, Anjasmoro, Sinabung dan Ijen, sementara 29 varietas lainnya merupakan koleksi BALITKABI yang diperoleh dari berbagai lokasi di Indonesia, misalnya kedelai varietas Kipas Putih didapatkan dari Aceh. Ekstraksi DNA memerlukan satu set pereaksi dalam kit Nucleospin Plant II, etanol 70%, Water for Injection, buffer TBE, agarosa, etidium bromida, sedangkan amplifikasi DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR) memerlukan GoTaq® Green Master Mix 2x, primer RAPD OPF F1-20, loading buffer dan marker 100 bp ladder.

### Metode

#### Karakterisasi Morfologis Biji Kedelai

Sampel biji kedelai diambil pada hari dan lokasi yang sama. Setelah pengambilan sampel, sampel diberi kode yang menunjukkan lokasi dan tanggal pengambilan sampel, dikemas dalam plastik klip, dimasukkan ke dalam box, dan dibawa menuju laboratorium. Selanjutnya sampel disimpan dalam kondisi kering dan tertutup rapat pada lemari pendingin 4°C hingga waktu analisis selanjutnya.

Karakterisasi morfologis biji kedelai dilakukan pada 35 varietas kedelai dengan mendokumentasikan foto tiap varietas dan karakteristik biji yaitu ukuran dan warna biji, warna hilum, berat biji, dan ciri khusus biji.

#### Karakterisasi Molekuler Biji Kedelai

Sebelum analisis kualitas dan kuantitas DNA dari biji kedelai yang memadai untuk proses amplifikasi PCR – RAPD, dilakukan optimasi dan uji keterulangan, terhadap metode isolasi DNA, baik pada metode CTAB maupun pada kit (17), kemudian dilakukan isolasi DNA dengan metode terpilih, yang diadaptasi dari penelitian sebelumnya (11,18). Isolat diukur kualitas dan kuantitasnya dengan instrumen Nanodrop

Selanjutnya isolat DNA diamplifikasi dengan PCR-RAPD menggunakan primer hasil skrining. PCR-RAPD diawali dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 35°C selama 1,5 menit dan *extension* pada suhu 72°C selama 1,5 menit. Tahapan-tahapan tersebut dilakukan sebanyak 44 siklus. Setelah siklus selesai, amplifikasi memasuki tahapan *final extension* dengan menjaga suhu tetap 72°C selama 1,5 menit.

Hasil amplifikasi dielektroforesis dengan gel agarosa dan diamati dengan UV transluminator dan BioDocAnalyze Biometra. Setiap pita DNA yang dihasilkan selanjutnya diberi skor 1 untuk kehadiran pita dan diberi 0 untuk ketidakhadiran pita DNA, kemudian diolah untuk konstruksi dendrogram.

### Hasil dan Diskusi

Biji kedelai telah ditanam di BALITKABI pada suhu berkisar 29,3°-29,4°C sesuai dengan suhu optimal untuk pertumbuhan kedelai, yaitu 20°-35°C. Kelembapan udara juga berpengaruh terhadap pertumbuhan biji. Kelembapan yang terukur pada lokasi penanaman di Balitkabi masih kurang optimal untuk pertumbuhan kedelai. Kelembapan optimal berkisar antara 75-90%. Pemberian pupuk dilakukan berdasarkan kondisi tanah untuk memberikan input hara yang sesuai dengan kebutuhan (19).

Berdasarkan hasil wawancara, BALITKABI menggunakan pupuk berjenis pupuk kimia Ponska yang diberikan secara merata pada seluruh varietas yang dibudidayakan untuk meminimalkan keragaman produktivitas tiap tanaman, terutama yang digunakan untuk persilangan yang menghasilkan varietas unggul baru. Sampel biji kedelai yang diperoleh memiliki kondisi lingkungan dan perlakuan yang homogen, sehingga dapat meminimalisasi terjadinya variasi akibat faktor lingkungan dan perlakuan, meski pada penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa tidak ada pengaruh signifikan antara lokasi penanaman daun katuk dengan pola larik DNA yang diperoleh (11).

Seluruh sampel biji kedelai yang diambil dari BALITKABI, diberi kode untuk menghindari terjadinya kemungkinan sampel tertukar. Selain itu, biji dari tiap varietas dikemas secara terpisah untuk meminimalkan terjadinya kontaminasi baik oleh serangga maupun kontaminan lain serta

mencegah terjadinya kontaminasi silang. Sampel biji kedelai juga dikemas dalam wadah tertutup untuk menghindari paparan suhu tinggi pada sampel secara langsung, baik yang disebabkan karena panas dari mesin kendaraan maupun cahaya matahari. Seluruh biji kedelai disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C untuk mencegah kontaminasi serangga serta mempertahankan suhu penyimpanan agar sesuai dengan kondisi penyimpanan pada BALITKABI, di mana seluruh biji disimpan dalam ruang penyimpanan dengan suhu berkisar antara 4°-5°C. Sampel biji kedelai disimpan pada lemari pendingin suhu 4°C juga untuk mempertahankan potensi tumbuh biji serta mencegah perkecambahan biji (20).

Perbedaan ciri morfologis antar varietas, seperti warna biji, warna hilum, bentuk biji, dan bobot biji pada **Gambar 1** dan **Tabel 1**, sulit digunakan untuk mengidentifikasi antar varietas.

Warna biji kedelai sebagian besar adalah kuning dan kuning kehijauan sehingga sangat sulit untuk membedakan antar varietas melalui warna biji (21), kecuali pada varietas tertentu misalnya Cikuray yang berwarna hitam. Perbedaan varietas kedelai berdasarkan pengamatan terhadap hilum juga sulit dilakukan

karena meski beberapa varietas memiliki warna hilum yang berbeda mulai dari kuning kecoklatan, coklat, coklat tua, dan putih, namun ukuran hilum cukup kecil, dan cukup banyak varietas dengan warna hilum yang memiliki warna hilum serupa. Ukuran berat biji kedelai juga tidak dapat digunakan untuk membedakan antar varietas kedelai, karena beberapa varietas seperti Cikuray dan Sinabung memiliki bobot yang hampir sama. Hasil optimasi isolasi DNA menunjukkan bahwa metode yang paling optimal untuk isolasi DNA adalah dengan kit Nucleospin yang memberikan kualitas  $2,23 \pm 0,012$  dan kuantitas  $269,57 \text{ ng}/\mu\text{l} \pm 6,853$ .

Isolasi DNA dilakukan dengan kit Nucleospin Plant II. Kualitas DNA biji kedelai kedelai yang didapatkan berkisar antara 2,041- 2,651, dengan kualitas DNA paling murni diperoleh pada varietas Anjasmoro. Kualitas DNA hasil isolasi yang didapatkan masih kurang murni karena DNA hasil isolasi dikatakan murni apabila hasil perbandingan absorbansi  $\lambda 260 \text{ nm}/\lambda 280 \text{ nm}$  memberikan nilai berkisar antara 1,8-2,0, namun orientasi penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa isolat DNA masih dapat digunakan untuk PCR-RAPD.



**Gambar 1.** Ragam karakter morfologis biji dari 35 varietas kedelai (*Glycine max*)

- 1: (a) Anjasmoro, (b) Gumitir, (c) Gepak Hijau, (d) Sinabung, (e) Cikuray, (f) Ringgit, (g) Kipas Putih  
 2: (a) Ijen, (b) Merbabu, (c) Tanggamus, (d) Lokon, (e) Muria, (f) Kerinci, (g) Burangrang  
 3: (a) Argomulyo, (b) Dieng, (c) Kawi, (d) Tidar, (e) Jaya Wijaya, (f) Manalagi, (g) Argopuro  
 4: (a) Detam 1, (b) Detam 2, (c) Lumajang Bewok, (d) Mahameru, (e) Panderman, (f) Wilis, (g) Kaba  
 5: (a) Davros, (b) Krakatau, (c) Gepak Kuning, (d) Malabar, (e) Petek, (f) Sindoro, (g) Bromo

**Tabel 1.** Karakteristik morfologis biji dari 35 varietas kedelai (*Glycine max*)

No	Varietas	Umur panen (hari)	Karakteristik Biji Kedelai				Ciri-ciri Khusus
			Ukuran Biji (mm)	Warna Biji	Warna Hilum	Berat 5 biji (mg)	
1	Anjasmoro	82,5-92,5	7-9	Kuning	Kuning kecoklatan	738,2	Bulat agak gepeng
2	Gumitir	81	5-7	Kuning agak hijau	Coklat	508,1	Agak bulat
3	Gepak Hijau	76	5-7	Kuning muda kehijauan	Coklat	306,9	Agak bulat gepeng
4	Sinabung	88	8-10	Kuning	Coklat	553,6	Lonjong
5	Cikuray	82-85	6-7	Hitam mengkilat	Putih	532,1	Bulat
6	Ringgit	85-90	4-7	Kuning	Coklat tua	407,4	Bulat gepeng
7	Kipas Putih	85-90	7-8	Kuning	Coklat muda	607,6	Bulat telur
8	Ijen	83	7-8	Kuning agak mengkilat	Coklat	584,1	Lonjong
9	Merbabu	85	5-8	Coklat	Coklat	551,7	Lonjong
10	Tanggamus	88	7-9	Kuning	Coklat tua	461,5	Lonjong
11	Lokon	75-80	6-8	Kuning jerami	Coklat	618,9	Bulat telur agak pipih
12	Muria	88	8-9	Kuning	Coklat tua	875,8	Bulat telur agak pipih
13	Kerinci	87	4-6	Kuning	Coklat tua	408,7	Agak bulat, pipih
14	Burangrang	80-82	9-11	Kuning	Putih terang	659,7	Bulat telur
15	Argomulyo	80-82	8-11	Kuning	Putih terang	873,4	Lonjong
16	Dieng	74-78	5-6	Kuning kehijauan	Coklat tua	226,7	Agak bulat
17	Kawi	88	7-8	Kuning	Putih	536,1	Bulat telur
18	Tidar	75	5-7	Kuning kehijauan	Coklat tua	308,1	Lonjong
19	Jaya Wijaya	84-87	6-8	Kuning pucat	Coklat kehitaman	411,5	Bulat telur
20	Manalagi	84	7-8	Kuning	Putih	445,9	Bulat telur
21	Argopuro	84	8-10	Kuning	Coklat muda	770,7	Bulat
22	Detam 1	84	7-8	Hitam	Putih	548,7	Agak bulat mengkilat
23	Detam 2	82	6-8	Hitam	Coklat	628,6	Lonjong kusam
24	Lumajang Bewok	75-80	7-8	Kuning	Coklat	450,6	Lonjong
25	Mahameru	83,5-94,8	8-11	Kuning	Kuning kecoklatan	746,9	Bulat telur pipih
26	Panderman	85	9-10	Kuning muda	Coklat tua	891	Agak bulat
27	Wilis	87	5-8	Kuning	Coklat tua	438,1	Lonjong agak pipih
28	Kaba	85	7-8	Kuning	Coklat	548,6	Lonjong
29	Davros	80-85	6-8	Kuning pucat	Coklat muda	368,2	Lonjong agak pipih
30	Krakatau	82-85	7-8	Kuning	Coklat muda	535,1	Bulat telur pipih
31	Gepak Kuning	73	7-8	Kuning muda kehijauan	Coklat	335,4	Bulat telur
32	Malabar	70	8-10	Kuning mengkilat	Coklat	675,8	Bulat telur agak pipih
33	Petek	75	7-8	Kuning bersih	Coklat	524,7	Bulat telur
34	Sindoro	86	5-7	Coklat	Hitam	340,2	Bulat
35	Bromo	85	9-11	Kuning mengkilat	Coklat muda	758,7	Bulat telur

Konsentrasi DNA biji kedelai yang diperoleh bervariasi dari 214,167 ng/ $\mu$ l pada varietas Kerinci hingga 863,067 ng/ $\mu$ l yang diperoleh dari varietas Cikuray. Konsentrasi DNA tersebut dapat digunakan untuk PCR-RAPD, karena PCR memerlukan 5-25 ng DNA, sementara template DNA yang digunakan sebanyak 9  $\mu$ l (22).

Kuantitas DNA isolat yang diperoleh menggunakan Kit Nucleospin secara keseluruhan lebih tinggi dibandingkan isolasi DNA yang menggunakan metode konvensional (10, 18). Hal ini diduga karena adanya kolom Nucleospin hijau pada kit. Nucleospin hijau ini terdiri dari kolom dengan fase diam silika yang dapat menahan DNA melalui terbentuknya ikatan antara DNA dengan silika (23).

Tingginya kuantitas isolat DNA juga disebabkan karena tahapan elusi dengan penambahan buffer elusi yaitu PE. Berdasarkan hasil optimasi penambahan PE dilakukan dua tahap elusi masing-masing 25  $\mu$ l. Tahapan elusi yang dilakukan dua kali biasanya menghasilkan DNA yang lebih banyak dibandingkan dengan elusi yang dilakukan satu kali dengan volume total yang sama (17, 23).

Amplifikasi DNA biji kedelai dilakukan untuk memperbanyak fragmen DNA yang berkomplemen dengan primer RAPD yang digunakan. Larutan isolat DNA diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan arbitrary primer atau Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Teknik ini dipilih karena cukup sederhana dan dapat dikerjakan dalam waktu yang relatif singkat (7, 9).

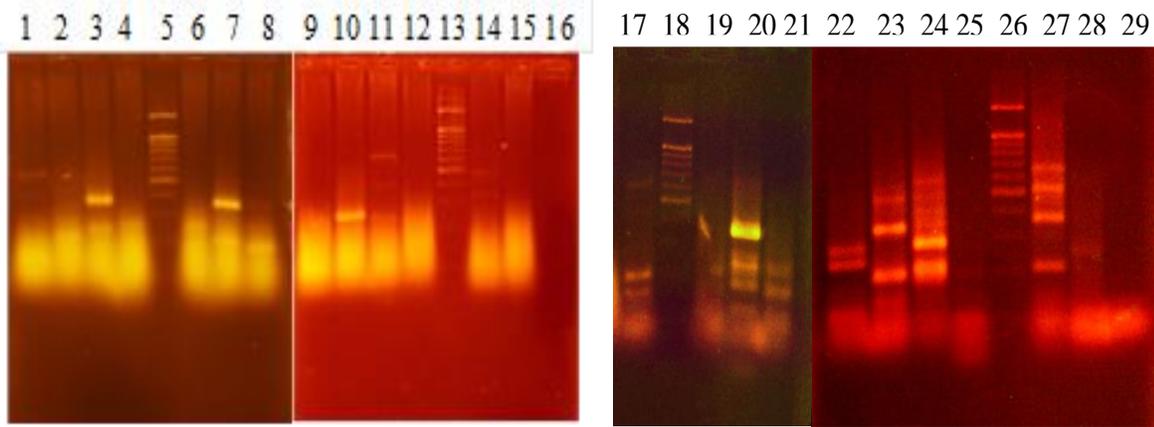
Sebelum melaksanakan amplifikasi DNA, dilakukan tahap skrining primer RAPD dalam kit OPF F1-20 dengan hasil pada **Gambar 2**. Hal ini

dilakukan untuk memilih primer mana yang dapat menempel secara optimal pada DNA biji kedelai sehingga mampu melakukan amplifikasi DNA kedelai dan memberikan pola larik pita DNA (DNA *fingerprint*) yang mampu menunjukkan pola polimorfisme antar sampel. Berdasarkan hasil skrining primer yang telah dilakukan, salah satu primer yang terpilih adalah OPF-3 (5'-CCT GAT CAC C-3') dan OPF-16 (5'-GGA GTA CTG G-3'). Hal ini melengkapi studi terkait RAPD pada mutan kedelai pada penelitian dengan metode serupa dengan kit primer OPA (16).

Primer OPF-3 dan OPF-16 menjadi salah satu primer yang dipilih, karena menghasilkan cukup banyak pita (4-12 pita) di mana penelitian serupa (16) menunjukkan adanya 3-8 pita hasil amplifikasi DNA mutan kedelai dengan primer kit OPA. Pemilihan primer juga berdasarkan adanya variasi ukuran molekul DNA yang diduga sebagai pita polimorfik.

Pita polimorfik dapat digunakan untuk membedakan kedelai varietas yang satu dengan varietas yang lain, serta menjadi penanda (biomarker) yang spesifik bagi varietas tertentu. Selain itu, pita yang dihasilkan cukup tebal atau jelas, yang menunjukkan bahwa hasil amplifikasi DNA terdapat dalam jumlah yang cukup banyak (11).

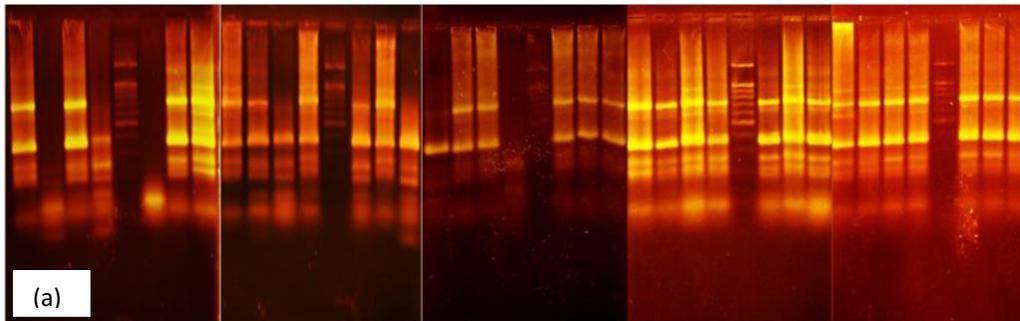
Ketiga puluh lima varietas yang diamplifikasi memberikan beberapa larik DNA dengan berbagai ukuran pasang basa. Keanekaragaman ukuran pasang basa pada primer yang sama dapat terjadi karena perbedaan panjang dan urutan primer RAPD yang digunakan untuk mengamplifikasi fragmen DNA kedelai, yaitu OPF-3 dan OPF-16.



**Gambar 2.** Hasil skrining primer PCR RAPD

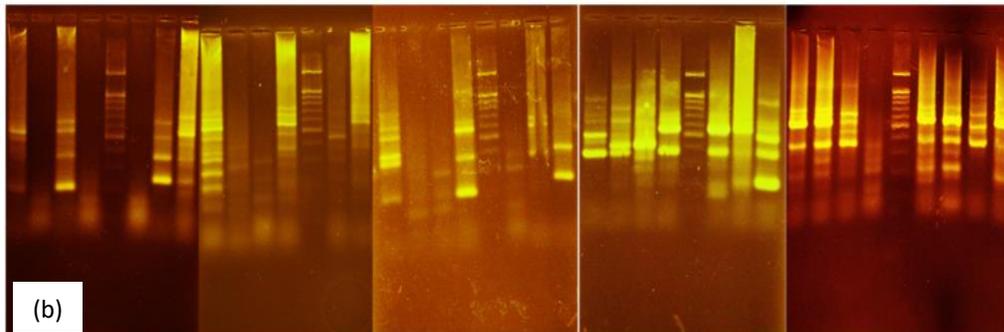
- |             |             |              |             |             |             |
|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| 1 = OPF-01  | 2 = OPF-01  | 3 = OPF-03   | 4 = OPF-04  | 5 = marker  | 6 = OPF-05  |
| 7 = OPF-06  | 8 = OPF-07  | 9 = OPF-08   | 10 = OPF-09 | 11 = OPF-10 | 12 = OPF-11 |
| 13 = marker | 14 = OPF-13 | 15 = OPF-14  | 16 = OPF-15 | 17 = OPF-01 | 18 = marker |
| 19 = OPF-02 | 20 = OPF-03 | 21 = OPF-04z | 22 = OPF-05 | 23 = OPF-06 | 24 = OPF-07 |
| 25 = OPF-15 | 26 = marker | 27 = OPF-16  | 28 = OPF-17 | 29 = OPF-18 |             |

1 2 3 4 m 5 6 7 8 9 10 11 m 12 13 14 15 16 17 18 m 19 20 21 22 23 24 25 m 26 27 28 29 30 31 32 m 33 34 36



(a)

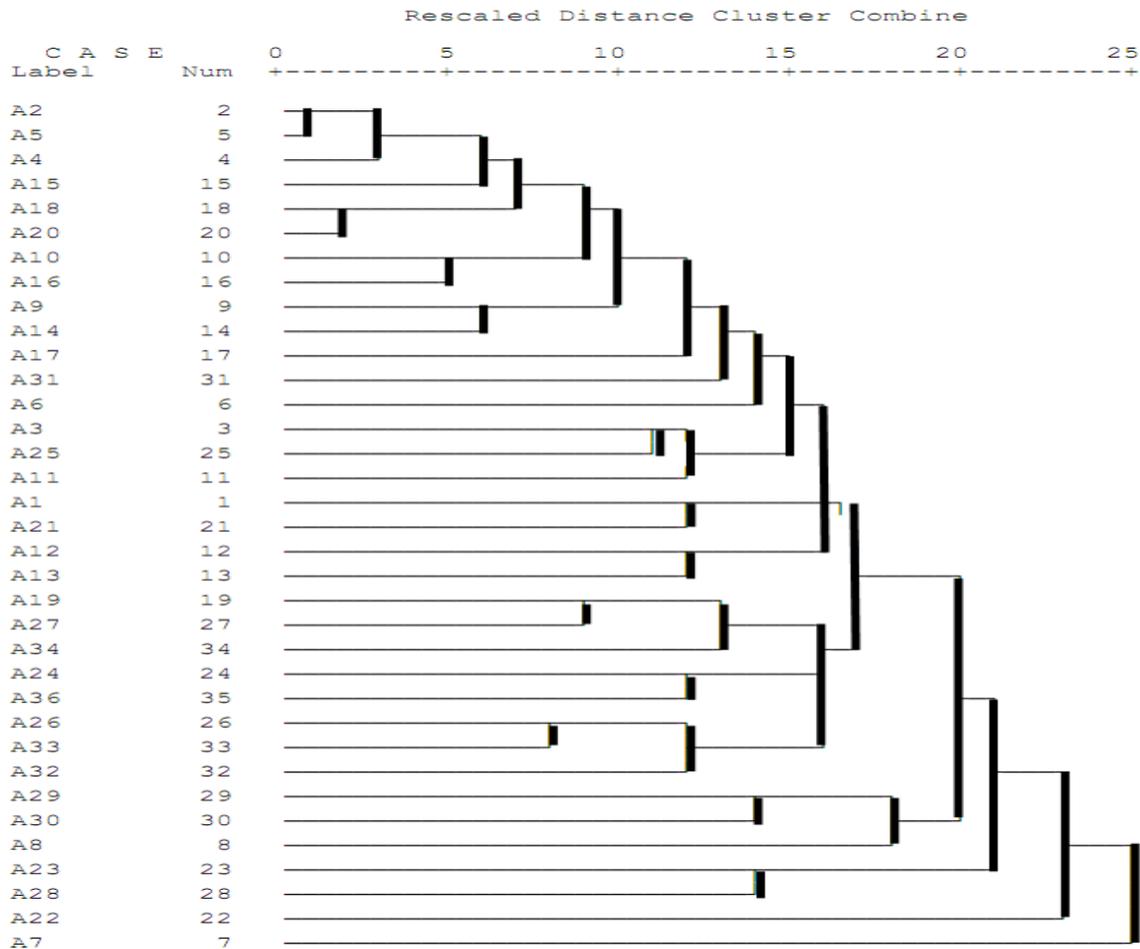
1 2 3 4 m 5 6 7 8 9 10 11 m 12 13 14 15 16 17 m 18 19 20 21 22 23 24 m 25 26 27 28 29 30 31 m 32 33 34 36



(b)

**Gambar 3.** Hasil amplifikasi PCR 35 varietas biji kedelai dengan primer (a) OPF-3 dan (b) OPF-16

- |                 |                 |                 |                  |                     |                   |
|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|---------------------|-------------------|
| 1 = Anjasmoro   | 6 = Ringgit     | 12 = Muria      | 18 = Tidar       | 24 = Lumajang Bewok | 30 = Krakatau     |
| 2 = Gumitir     | 7 = Kipas Putih | 13 = Kerinci    | 19 = Jaya Wijaya | 25 = Mahameru       | 31 = Gepak Kuning |
| 3 = Gepak Hijau | 8 = Ijen        | 14 = Burangrang | 20 = Manalagi    | 26 = Panderman      | 32 = Malabar      |
| 4 = Sinabung    | 9 = Merbabu     | 15 = Argomulyo  | 21 = Argopuro    | 27 = Wilis          | 33 = Petek        |
| m = marker      | 10 = Tanggamus  | 16 = Dieng      | 22 = Detam 1     | 28 = Kaba           | 34 = Sindoro      |
| 5 = Cikuray     | 11 = Lokon      | 17 = Kawi       | 23 = Detam 2     | 29 = Davros         | 36 = Bromo        |



**Gambar 4.** Dendrogram 35 varietas biji kedelai

A1 = Anjasmoro, A2 = Gunitir, A3 = Gepak Hijau, A4 = Sinabung, A5 = Cikuray, A6 = Ringgit, A7 = Kipas Putih, A8 = Ijen, A9 = Merbabu, A10 = Tanggamus, A11 = Lokon, A12 = Muria, A13 = Kerinci, A14 = Burangrang, A15 = Argomulyo, A16 = Dieng, A17 = Kawu, A18 = Tidar, A19 = Jaya Wijaya, A20 = Manalagi, A21 = Argopuro, A22 = Detam 1, A23 = Detam 2, A24 = Lumajang Bewok, A25 = Mahameru, A26 = Panderman, A27 = Wilis, A28 = Kaba, A29 = Davros, A30 = Krakatau, A31 = Gepak Kuning, A32 = Malabar, A33 = Petek, A34 = Sindoro, A36 = Bromo

Perbedaan jenis primer yang digunakan akan mengamplifikasi DNA pada lokasi yang berbeda-beda pada genom, sehingga menimbulkan berbagai pita dalam pola larik DNA

Primer RAPD yang berukuran pendek, memungkinkan terjadinya proses amplifikasi di berbagai lokasi genom. Semakin pendek urutan fragmen DNA yang diamplifikasi, maka produk hasil amplifikasi memiliki ukuran molekul yang relatif kecil, sehingga saat dielektroforesis dengan gel agarosa, akan cenderung berada mendekati daerah anoda. Apabila fragmen DNA yang diamplifikasi semakin panjang, maka hasil amplifikasi akan memiliki ukuran molekul DNA

yang relatif besar, yang ditunjukkan dengan adanya pita DNA yang masih terletak pada daerah katoda. Primer yang tidak dapat mengamplifikasi DNA cenderung bergerak ke muatan positif (anoda) lebih cepat, sehingga ketika diwarnai dengan etidium bromide tampak mengelompok ke arah anode (9).

PCR-RAPD terhadap 35 varietas kedelai dengan primer OPF-3 dan OPF-16 mampu menunjukkan adanya pita polimorfik spesifik (5,6%) yang hanya dapat ditemukan pada varietas tertentu. Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis primer tersebut masih mampu memberikan pola larik polimorfisme, yang

mampu membedakan beberapa sampel varietas kedelai di Indonesia.

Pita monormofik, yang dapat menjadi marker spesifik untuk spesies kedelai, belum dapat dijumpai pada hasil PCR-RAPD dari 35 varietas kedelai. Hal ini disebabkan karena keterbatasan jenis primer RAPD yang digunakan dalam mengamplifikasi fragmen DNA sampel kedelai.

Dendrogram pada **Gambar 4.** yang dikonstruksi dari pita-pita DNA dalam pola larik yang dihasilkan dari PCR-RAPD ke-35 varietas kedelai menunjukkan adanya kemampuan metode PCR-RAPD dalam membedakan berbagai varietas kedelai, sehingga metode ini dapat mendukung autentikasi varietas kedelai secara morfologis. Hasil PCR-RAPD yang disajikan dalam dendrogram tersebut, mampu menunjukkan tingkat kemiripan antara satu varietas kedelai dengan varietas kedelai lainnya secara lebih teliti pada level genomik, yang relatif tidak dipengaruhi oleh kondisi geografis dan lingkungan tempat tumbuh serta perlakuan paska panen.

Hasil penelitian ini berdampak positif terhadap upaya kontrol kualitas bahan baku herbal dan bahan alam sebagai tahap krusial dalam menjamin autentikasi atau kebenaran identitas bahan baku yang dapat berpengaruh selanjutnya pada kualitas, keamanan dan efikasi produk herbal. Karakterisasi molekuler terhadap bahan baku obat tradisional dapat bersifat species-specific walaupun bahan baku tersebut awalnya sulit dibedakan dengan pengujian berdasarkan karakteristik morfologi, anatomi maupun kandungan kimia, tidak dipengaruhi kondisi lingkungan, pengujian dalam waktu relatif singkat pada sampel dalam jumlah minimal, dan pengujian dapat dilakukan pada bahan baku yang telah diproses menjadi serbuk (7, 8). Pada penelitian selanjutnya terhadap komposisi protein yang bersifat alergenik pada berbagai varietas kedelai, identifikasi varietas kedelai pada level genomik sangat diperlukan dalam upaya mendeteksi varietas-varietas kedelai yang bersifat hipoalergenik, baik dalam bentuk bahan baku (*raw material*) maupun dalam bentuk produk olahan. Identifikasi tersebut dapat menunjang upaya deteksi varietas kedelai secara morfologis dan kimia karena stabilitas molekul DNA yang relatif tinggi, sehingga DNA kedelai masih dapat terdeteksi pada produk kedelai, yang telah mengalami berbagai proses pengolahan (7).

## Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode RAPD mampu memberikan pola larik polimorfisme DNA pada 35 varietas biji kedelai di Indonesia. Selain itu, penanda RAPD mampu menunjukkan pola larik polimorfisme pada ke-35 varietas biji kedelai, yang mampu membedakan berbagai varietas, misalnya varietas Gepak Hijau, Cikuray, Ringgit, Kipas Putih, Merbabu, Kerinci, Burangrang, Dieng, Manalagi, Argopuro, Detam-1, Lumajang-bewok, Panderman, Kaba, Gepak Kuning, Sindoro dan Bromo.

Penelitian ini dapat dilanjutkan pada varietas-varietas kedelai yang belum digunakan pada penelitian kali ini. Selain itu, dapat pula digunakan primer-primer jenis kit yang berbeda untuk memperoleh primer yang paling optimal dalam melakukan amplifikasi DNA biji kedelai sehingga diperoleh pola larik baik polimorfik maupun monomorfik.

Pada penelitian selanjutnya untuk skrining hipoalergenik, maka dapat dilakukan isolasi protein pada kedelai yang diduga bertanggungjawab sebagai alergen sehingga mRNA dapat diisolasi dan dapat diperoleh urutan pasang basa yang mengkode protein yang dapat menimbulkan reaksi alergi pada biji kedelai.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada PT. Indofood Sukses Makmur, Tbk. atas dukungan penelitian melalui Indofood Riset Nugraha serta kepada BALITKABI yang telah mendukung dalam penyediaan 35 sampel varietas kedelai.

## Referensi

1. Kim EH, Ro HM, Kim SL, Kim HS, Chung IM. 2012. Analysis of Isoflavone, Phenolic, Soyasapogenol, and Tocopherol Compounds in Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Germplasms of Different Seed Weights and Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 60(23): 6045-6055.
2. Menaria J, Vaghela JS, Agarwal P, Singune SL, Choudhary A. 2020. Phytoconstituents and Antioxidant Activity of Extracts of *Glycine Max* Seeds. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*; 10(1): 178-183.

3. Ahmad A, Hayat I, Arif S, Masud T, Khalid N, Ahmed. 2014. Mechanisms Involved in the Therapeutics Effects of Soybean (*Glycine max*). *International Journal of Food Properties*; 17: 1332-1354.
4. Ponnusha BS, Subramaniyam S, Pasupathi P, Subramaniyam B, Virumandy R. 2011. Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Glycine max* – A Review. *International Journal of Current Biological and Medical Science*; 1(2): 49-62.
5. Houston NL, Lee DG, Stevenson SE, Ladics GS, Bannon GA, McClain S, et al. 2010. Quantitation of Soybean Allergens using Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Proteome Research*; 1-44.
6. Carrao-Panizzi MC, Kwanyuen P, Erhan SZ, Lopes ION. 2008. Genetic Variation and Environmental Effects on Beta – Conglycinin and Glycinin Content in Brazilian Soybean Cultivars. *Pesq. agropec. bras., Brasília*; 43 (9): 1105-1114.
7. Sheorey RR, Tiwari A. 2011. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) for Identification of Herbal Materials and Medicines – A Review. *Journal of Scientific and Industrial Research*; 70: 319-326.
8. Pourmohammad A. 2013. Application of Molecular Markers in Medicinal Plant Studies. *Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment*; 5: 80-90.
9. Kumari N, Thakur SK. 2014. Randomly Amplified Polymorphic DNA-A Brief Review. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*; 9(1): 6-13.
10. Yunita O, Kresnamurti A. 2005. Identifikasi Tanaman yang Dijual sebagai *Strychnos ligustrina* di Pasar Tradisional Surabaya dengan Metode Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Berkala Penelitian Hayati*; 11(1): 19-24.
11. Yunita O, Sulisetiorini. 2013. DNA Fingerprinting on ITS Region of *Sauropus androgynus*' nrDNA from East Java, by Random Amplified Polymorphic DNA Method. *Proceeding of The International Conference on Natural Sciences, Shaker-Verlag, Germany*, 1-6.
12. Rosmaina Zufahmi. 2013. Genetic Diversity of *Eurycoma longifolia* Jack Based on Random Amplified Polymorphic DNA Marker. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*; 19(2): 138-144.
13. Ezzat SM, El Sayed AM, Salama MM. 2016. Use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Technique to Study the Genetic Diversity of Eight *Aloe Species*. *Planta Medica*; 82(15): 1381-1386.
14. Arumugam T, Jayapriya G, Sekar T. 2018. Molecular Fingerprinting of the Indian Medicinal Plant *Strychnos minor* Dennst. *Biotechnology Reports*; 21, 1-7.
15. Taryono, Cahyaningrum P, Human S. 2011. The Detection of Mutational Changes in Sorghum using RAPD. *Indonesian Journal of Biotechnology*; 16(1): 66-70.
16. Wahyudi D, Hapsari L, Sundari. 2014. RAPD Analysis for Genetic Variability Detection of Mutant Soybean (*Glycine max* (L.) Merr). *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*; 5(1): 68-77.
17. Machery-Nagel. 2010. Genomic DNA from Plant User Manual, Neumann-Neander: Machery-Nagel.
18. Yunita O, Setiawan B, Evelyn. 2013. Optimization of DNA Extraction from Seeds and Fresh Leaves of Soybean (*Glycine max*). *Proceeding of International Biology Conference (IBOC) 2012: Science for Energy, Food, and Environmental Sustainability, Department of Biology, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, Institut Teknologi Sepuluh November*, 141-145.
19. Pitojo S. 2003. Benih Kedelai, Yogyakarta: Kanisius
20. Szczerba A, Plazek A, Pastuszek J, Przemyslaw K, Hornyak M, Dubert F. 2021. Effect of Low Temperature on Germination, Growth, and Seed Yield of Four Soybean (*Glycine max* L.) Cultivars. *Agronomy*; 11(800): 1-17.
21. Putri PP, Adisyahputra Asadi. 2014. Keragaman Karakter Morfologi, Komponen Hasil, dan Hasil Plasma Nutfah Kedelai (*Glycine max* L.). *Bioma*; 10(2), 1-8.

22. Prana TK, Hartati NS. 2003. Identifikasi Sidik Jari DNA Talas (*Colocasia esculenta* L, Schott) Indonesia dengan teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA): Skrining Primer dan Optimalisasi Kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia*; 5(2): 107-112.
23. Yunita O, Rochmawati ID, Fadhilah NA, Benarkah N. 2016. Molecular study of intraspecific differences among *Sauropus androgynus* (L.) Merr. from Indonesia revealed by ITS region variability. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*; 30(6): 1212-1216.