

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Sejarah Kacang Bogor (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt)

Kacang Bambara mulanya berasal dari daerah Bambara, Niger Afrika dan dikenal sebagai kacang tanah dengan bentuk polong yang bulat. Menurut Rukmana dan Oesman (2000), nama yang diberikan oleh para ahli botani bermacam macam, misalkan Linnaeus di tahun 1763 memberikan nama *Glycine subterra* selanjutnya Du Patit Thouars tahun 1806 memberikan nama *Voandzria subterranea* dan saat ini berkembang dengan nama ilmiah *Vigna subterranea* atas peran (Verdcourt, 1970) yang menyatakan bahwa kacang bogor atau kacang Bambara ini lebih cenderung memiliki kemiripan dengan genus *Vigna*. Meskipun secara hasil kacang ini berpotensi panen lebih rendah dari genus *Vigna* yang lain, menurut Rungnoi *et al.* (2012) hal ini dimungkinkan karena kacang bogor termasuk dalam kacang-kacangan yang sering ditanam di lahan marginal atau sering disebut sebagai *landrace crop* atau tanaman galur lokal. Mukakalisa (2010) juga menambahkan bahwa bambara yang ditanam di daerah semi-arid Afrika berdaya hasil rendah dengan rata-rata hasil hanya 300-800 kg/ha, hal ini berhubungan dengan distribusi hujan, temperatur udara yang ekstrim, tanah yang miskin hara, serangan hama penyakit, dan teknik budidaya yang buruk.

Tanaman asli Nigeria ini selanjutnya tersebar di berbagai negara misalkan Srilanka, Brasil, India, Malaysia, Indonesia, dan Australia. Di Indonesia, kacang Bambara untuk pertamakali dapat beradaptasi dengan baik di Bogor sehingga saat ini disebut sebagai kacang Bogor. Perkembangan kacang Bogor di Indonesia tidak terbatas di Bogor saja tetapi juga berkembang di daerah lain seperti Sukabumi dan Bandung sehingga terkadang juga disebut sebagai kacang Bandung, Liu (2010) menambahkan terkadang kacang Bogor juga dikenal dengan nama kacang manila, kacang genge, kacang baleud, dan kacang banten. Menurut Rukmana dan Oesman (2000), kacang Bogor juga berkembang di daerah Pati, Kudus, Lampung, NTB dan NTT. Menurut Chomchalow (1993), kacang bogor termasuk dalam jenis kacang-kacangan yang toleran terhadap keadaan tanah yang kurang subur sehingga banyak ditanam di daerah dengan kesuburan rendah dan kering.

Meskipun pengembangan untuk kacang bogor masih jauh dari harapan, namun konservasi untuk pengumpulan sumber genetik demi perbaikan genetik

kacang bogor di masa mendatang telah banyak dilakukan. Konservasi banyak dilakukan dengan mengumpulkan aksesori-aksesori kacang bogor dari daerah sub-sahara Afrika yang kemudian disimpan di bank gen dan saat ini mencapai 2000 aksesori dan 972 aksesori disimpan oleh IITA di Nigeria dan SADC (*Southern Africa Development Community*). Banyaknya keragaman yang terkumpul dapat mendukung untuk program pemuliaan untuk perbaikan genetik di masa mendatang (Massawe *et al.* 2005).

Dalam pengembangan dan peningkatan kacang bogor (bambara groundnut) dalam ketahanan pangan maka beberapa penelitian banyak dilakukan, Mshelia (2012) menyebutkan beberapa riset yang harus dilaksanakan untuk meningkatkan potensi kacang bogor sebagai bahan pangan pendukung ketahanan pangan di masa mendatang sebagai berikut:

- mengoleksi dan membandingkan plasma nutfah kacang bogor dari seluruh Afrika yang memungkinkan untuk dilakukan persilangan
- menghitung potensi hasil yang dapat diperoleh melalui budidaya kacang bogor secara komersial dengan mempertimbangkan kondisi agronomi yang marginal
- peningkatan usaha manajemen dalam budidaya kacang bogor di lahan misalkan dengan menggunakan metode yang tepat guna
- penggunaan alat-alat mekanisasi dalam penanaman, perawatan hingga panen
- identifikasi kultivar yang resisten terhadap hama penyakit dan efektifitas simbiosis dengan Rhizobium, dan
- pengujian nutrisi yang terkandung dalam biji.

## **2.2 Anatomi dan Morfologi Kacang Bogor (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt)**

Kacang bambara atau bogor membutuhkan waktu paling tidak 7-15 hari untuk berkecambah. Benih yang disimpan paling lama adalah 12 bulan saja, selebihnya benih dapat kehilangan viabilitasnya. Setelah tanaman melewati masa vegetatif selanjutnya masa pembungaan terjadi antara 30-35 hst dan termasuk dalam tanaman berhari pendek. Polong dan biji terbentuk sekitar 30-40 hari setelah terjadinya fertilisasi. Polong terbentuk di atas permukaan tanah, sekitar 30

hari setelah fertilisasi lalu 10 hari berikutnya biji mulai terbentuk. Biji masak saat jaringan parenkim yang menutupi embrio hilang dan polong berubah warna menjadi coklat cerah. Sementara Nishitani *et al.* (1981 dalam Ratih, 1991) dalam Hamid (2009) menambahkan bahwa pembungaan pada kacang bogor terjadi pada 55 hst pada musim hujan dan 45 hst pada musim kemarau. Pemanenan biasanya dapat dilakukan saat 80% dari polong masak dan siap dipanen (Swanevelde, 1998). Berchie *et al.* (2010) menambahkan bahwa siklus hidup secara lengkap kacang bogor memerlukan waktu selama 110 hingga 150 hari untuk pertumbuhan dan perkembangannya, meskipun pernah tercatat di Ghana semua siklus hanya membutuhkan 90 hari dari tanam hingga panen, sedangkan Karikari *et al.* (1995 dalam Hamid, 2009) menambahkan bahwa biji masak fisiologis pada umur antara 120-155 hst.

Rukmana dan Oesman (2000) menjelaskan bahwa tanaman kacang bogor termasuk dalam famili kacang-kacangan yang berbunga kupu-kupu (Papilionaceae). Secara morfologi, kacang bogor memiliki bagian akar, batang, daun, dan polong.

Menurut Rukmana dan Oesman (2000), akar tanaman menyebar ke segala arah, rata-rata kedalaman sebaran akar adalah 30 cm. Kacang bogor termasuk dalam kacang-kacangan sehingga akar tanaman dapat bersimbiosis dengan bakteri penambat N *Rhizobium* dan membentuk bintil-bintil pada akar dan merupakan pengganti pupuk nitrogen. IPGRI (2000) menambahkan bahwa akar kacang bogor adalah perakaran lateral yang menyebar dan bersifat geotropikal.

Kacang bogor memiliki batang yang pendek dan berjumlah banyak. Cabangnya ada yang berwarna merah muda, ungu atau hijau kebiruan (Doku dan Karikari, 1971). Cabang tanaman kacang bogor merupakan salah satu bagian yang mendukung potensi hasil kacang bogor, rata-rata cabang tanaman kacang bogor terdiri atas ruas-ruas, rata-rata jumlah ruasnya 12 ruas. Ezedinma dan Maneke (1985) mengelompokkan kacang bogor menjadi tiga kelompok didasarkan pada diameter tutupan kanopi yaitu bunch 40 cm, semi bunch 40-80 cm dan open lebih dari 80 cm.



**Gambar 1.** Penampilan tanaman kacang bogor (kiri) dan batang kacang bogor (kanan), (Anonymous, 2015)

Daun kacang bogor berbentuk lonjong dan berwarna hijau muda hingga hijau tua, setiap tangkai daun terdiri dari 3 helai daun disebut sebagai trifoliat. Rata-rata panjang daun 6 cm dan rata-rata lebar daun 3 cm (Rukmana dan Oesman, 2000).

Kacang bogor termasuk dalam tanaman menyerbuk sendiri dan kelamin jantan dan betina berada dalam satu bunga yang sama, susunan kromosomnya yaitu dengan rumus  $2n=2x=22$  kromosom. Bunga kacang bogor muncul dari ketiak daun sehingga dalam satu rumpun kacang bogor akan muncul banyak bunga. Bunganya terdiri atas 5 kelopak dengan 4 kelopaknya terletak di atas dan hampir bergabung sementara 1 kelopak terletak di bawah (IPGRI, 2000). Bunga kacang bogor berwarna putih kekuningan saat pagi dan berubah menjadi kuning kecoklatan saat menjelang malam. Doku dan Karikari (1971) menjelaskan bahwa kematangan pollen dan reseptifitas stigma terjadi sebelum hingga saat sayap petal atau petal standart telah terbuka. Saat petal standart terbuka  $\frac{1}{2}$  atau lebih dari lebar bunga maka pollinasi terjadi. Meskipun termasuk tanaman menyerbuk sendiri, tanaman kacang bogor dapat kawin silang dengan bantuan serangga semut. Saat bunga membuka, semut akan masuk dengan membawa pollen. Selanjutnya setelah pembungaan dan pembuahan, tangkai bunga akan memanjang ke dalam tanah, membentuk genofor dan membentuk buah yang berupa polong (Fachruddin, 2000). Menurut Duke *et al.* (1977) dan Mergeai (1986) kultivar kacang bogor dapat dibedakan berdasarkan morfologinya yaitu meliputi ukuran polong, adanya kerutan pada polong, ukuran biji, warna biji, jumlah polong per tanaman dan warna daun.



**Gambar 2.** Bunga kacang bogor (kiri) dan polong kacang bogor di atas tanah (kanan), (Anonymous, 2015)

Polong melekat pada tangkai panjang dan berbentuk bulat. Setiap polong berisi satu biji meskipun ada beberapa yang berbiji dua hingga tiga biji per polong. Polong kacang bogor saat masih muda berwarna putih susu dan berubah putih kecoklatan saat tua. Polongnya berbentuk membulat dan berkerut-kerut dengan panjang berkisar antara 1-1,5 cm. Umumnya dalam satu polong terisi satu hingga dua biji (Rukmana dan Oesman, 2000).

Biji kacang bogor umumnya membulat, halus dan keras jika telah masak dan kering. Warna bijinya bervariasi yaitu putih, kuning, ungu (Linneman dan Azam-Ali, 1993), krem, coklat, kehitaman, merah atau ada juga yang bercorak tutul-tutul (Rukmana dan Oesman, 2000). Kacang bogor adalah tanaman berkeping dua atau dycotiledone dengan struktur bijinya seperti kebanyakan kacang-kacangan yang terdiri dari kulit biji (spermodermis), tali pusat (feniculus) berwarna keputih-putihan, dan inti biji (nucleus seminis) yang merupakan cadangan makanan (Rukmana dan Oesman, 2000).



**Gambar 3.** Penampilan polong kacang bogor (kiri) dan penampilan biji kacang bogor (kanan), (Anonymous, 2015)

Meskipun kacang bogor termasuk dalam tanaman landrace yang dapat bertahan hidup pada kondisi kekurangan hara dan air namun menurut Astawan (2009), kacang bogor memiliki syarat tumbuh optimum yaitu ketinggian tempat 1600 meter di atas permukaan laut, suhu udara 19-27°C, pH tanah 5,0-6,5 dan curah hujan antara 500- 3500 mm per tahun.

### 2.3 Keragaman Kacang Bogor (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt)

Keragaman genetik dilakukan untuk mengetahui adanya variasi genetik pada individu-individu dalam populasi untuk konservasi populasi ataupun jenisnya, hal ini dijelaskan oleh Kusumadewi *et al.* (2010) bahwa dengan mengetahui variasi yang ada dalam populasi maka dapat membantu untuk pengembangan potensi genetik selanjutnya. Hubungan karakter yang dikendalikan oleh faktor genetik dan non genetik dapat ditunjukkan dengan koefisien korelasi, Adebisi *et al.* (2004 dalam Jonah, 2011) menyebutkan bahwa kemajuan genetik suatu tanaman dipengaruhi oleh metode seleksi yang digunakan, korelasi antara sifat genetik dengan hasil diduga merupakan prosedur yang efektif dalam seleksi.

Massawe *et al.* (2002) menambahkan bahwa untuk mengetahui genotip kacang bogor dapat juga dilakukan dengan melihat pada morfologi dan agronomi. Informasi genetik berdasarkan morfologi kacang bogor dapat diperoleh dengan mengelompokkan atau menggolongkan morfologi berdasarkan penciri kekerabatan yang ada. Keragaman yang luas berguna untuk perakitan varietas unggul baru, karena dengan keragaman yang tinggi tersebut memungkinkan pemulia untuk memilih sifat yang diinginkan dalam perakitan (Bari *et al.* 1974). Poespodarsono (1988) menambahkan bahwa keragaman genetik yang luas dapat meningkatkan efisiensi dalam seleksi, sementara keragaman genetik ini didapat dari sumber genetik, budidaya tanaman, tanaman liar, tanaman introduksi, koleksi, hibridisasi, poliploid, persilangan antar spesies dan mutasi.

Eksplorasi potensi dari kacang bambara di lahan marginal untuk mengevaluasi kemungkinan ditanam pada lokasi yang berbeda dengan mempertimbangkan adanya interaksi antara lingkungan dengan pertumbuhan dan perkembangan tanaman karena pada beberapa penelitian disebutkan bahwa lingkungan dapat mempengaruhi rata-rata pertumbuhan dan perkembangan

(Karunaratne dan Steduto, 2009). Pengujian secara morfologi keragaman kacang bogor dapat dibandingkan dengan panduan deskripsi kacang bogor (bambara groundnut) yang berasal dari IPGRI/ *The International Plant Genetic Resources Institute* (2000).

Redjeki (2007) berpendapat bahwa keragaman yang terjadi menjadi masalah utama dalam peningkatan hasil tanaman kacang bogor, salah satunya karena tanaman yang berumur panjang yaitu dengan rata-rata 4-5 bulan dengan produktifitas yang rendah, hal ini tentu merugikan petani. Seleksi pada galur lokal merupakan salah satu langkah yang dapat diambil untuk mendapatkan galur harapan dengan karakter berumur lebih pendek, seragam dan berdayahasil tinggi.

Menurut Steenis (2013 *dalam* Canda, 2011), kekerabatan tanaman penting dalam pembentukan varietas unggul, kekerabatan ini dapat dinilai dengan identifikasi morfologi, meskipun hasil identifikasi tersebut tidak dapat langsung digunakan untuk menduga kekerabatan antar individu dan keragaman genetiknya. Identifikasi tanaman secara tidak langsung akan memperoleh informasi mengenai keragaman genetik dan hubungan kekerabatan suatu individu tanaman yang didasarkan pada kemiripan karakter yang diamati. Karakter tanaman dapat dianalisis menggunakan software dan menghasilkan koefisien kemiripan dan koefisien jarak genetik. Makin besar koefisien kemiripan, makin banyak kesamaan karakter, makin rendah keragaman maka koefisien jarak genetik makin kecil, makin dekat kekerabatannya, sebaliknya jika makin kecil koefisien kemiripan, makin sedikit kesamaan karakter, makin tinggi keragaman maka koefisien jarak genetik makin besar, makin jauh kekerabatannya. Moritz dan Hillis (1996), menambahkan bahwa untuk mengetahui kekerabatan dari suatu populasi dapat digunakan penanda untuk karakter genetik. Namun dengan alasan efektifitas maka identifikasi banyak dilakukan di lapang saja.

Baudoin dan Mergeai (2001) menjelaskan bahwa penelitian selama ini berhubungan dengan seleksi massa dari varietas lokal diikuti dengan pemurnian dengan didasarkan dari karakter agronomis. International Institute of Tropical Agriculture (IITA) telah mengevaluasi banyak koleksi galur lebih dari 1000 galur introduksi bambara atau kacang bogor dari semua daerah Afrika. Sementara pemurnian dapat juga dilakukan berdasar karakter genetik, menurut Ayala (1982)

dan Nei (1978 dalam Pasquet *et al.* 1999) estimasi dari keragaman genetik dapat dilakukan dengan melakukan screening pada beberapa aksesori yang diambil dari koleksi spesies untuk menunjukkan lokus.

Apabila telah tersedia data-data tentang keragaman dan kekerabatan maka pemulia dapat melakukan pemuliaan tanaman. Di Indonesia pemuliaan tanaman untuk kacang bogor perlu dilakukan dengan tujuan untuk perbaikan hasil secara genetik, memperpendek umur panen, meningkatkan mutu biji (warna, ukuran dan mutu simpan), memperbaiki ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit penting dan meningkatkan kemampuan untuk bertahan dalam kondisi cekaman abiotik misalkan pH rendah, kekeringan, naungan. Kasno (1992) menjelaskan bahwa pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan introduksi dan seleksi untuk jangka pendek (3 tahun), persilangan dan seleksi untuk jangka panjang (5 tahun) dan mutasi.

#### **2.4 Uji Kekerabatan dengan Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD)**

Menurut Amadou *et al.* (2001), Rungnoi *et al.* (2012), taksonomi dari kacang bogor pada dasarnya berbeda berdasarkan morfologinya namun sering kali penampilannya dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga untuk menghindari adanya pengaruh lingkungan dalam melihat keragaman kacang bogor maka dilakukan pelacakan keragaman kacang bogor dengan menggunakan pengujian secara molekular, salah satunya adalah teknologi RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) dan didasarkan pada marker atau penanda genetik.

RAPD (*Random Ampified Polymorphic DNA*) adalah teknik hasil modifikasi dari teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan mengamplifikasi genom dengan menggunakan primer acak dan menghasilkan perbedaan urutan DNA antara sampel-sampel DNA yang diambil dari individu-individu yang diuji. Perbedaan urutan basa pada DNA disebabkan karena pengikatan primer oligonukleotida berbeda sehingga menyebabkan pola larik hasil amplifikasi yang berbeda pula yang disebut polimorfisme. Polimorfisme inilah yang kemudian dijadikan penanda adanya keragaman genetik (Kusumawaty, 2007).

Kusumadewi *et al.* (2010), RAPD dapat menghasilkan polimorfisme yang cukup tinggi sehingga hal ini akan lebih menguntungkan, sedangkan itu RAPD juga dinilai lebih cepat dan mudah dilakukan. Selain kelebihan tersebut, kelemahan RAPD salah satunya adalah hanya mengamplifikasi alel dominan dan keberulangnya rendah sehingga amplifikasi dengan PCR perlu dilakukan lebih dari satu kali agar dapat memastikan konsistensi hasil RAPD. RAPD dapat dilakukan untuk berbagai bidang contohnya analisis keragaman, hubungan antar filogenetik, identifikasi dan verifikasi galur, kesehatan dan epidemiologi, teknologi pangan dan ekologi molekular. Kemampuan RAPD dalam mendeteksi adanya keragaman intra-spesifik dapat digunakan untuk melihat derat inbreeding (silang dalam) yang mungkin dapat dilakukan untuk tanaman dan hewan secara komersial sehingga dapat menghilangkan alel resesif dalam populasi (Bardacki, F. 2001).

Aryani dan Diah (2007) menambahkan bahwa RAPD adalah modifikasi dari PCR dan dilakukan dalam mesin amplifikasi PCR. Secara umum ada tiga tahap dalam amplifikasi yaitu denaturasi (denaturation), penempelan (annealing) dan pemanjangan (extension). Tahap denaturasi terjadi pada suhu tinggi 94°C sehingga utas ganda DNA terpisah menjadi utas tunggal. Tahap penempelan sekuens primer dinamakan annealing dalam suhu berkisar 60°C yaitu peristiwa saat primer menempel pada DNA utas tunggal sebagai cetakan. Sintesis DNA berlangsung dari arah sekuens 5' menuju 3'. Dalam tahap ini ditambahkan reaktor berupa DNA polymerase contohnya Taq polymeras dan MgCl<sub>2</sub> dan untuk kebutuhan energi ditambahkan dNTPs terdiri atas dTTP, dGTP, dATP dan dCTP. Tahap ekstensi atau pemanjangan utas DNA terjadi pada suhu 72°C dilakukan hingga terbentuk utas DNA ganda yang baru.

Teknik analisis DNA dengan RAPD secara umum terdiri atas empat tahapan yaitu ekstraksi DNA, pengujian kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi, amplifikasi DNA dengan teknik RAPD dan pengujian kualitas dan kuantitas hasil amplifikasi.

Berdasarkan Zulkifli *et al.* (2009), hasil DNA yang diamplifikasi dengan teknik RAPD kemudian diberikan skor sebelum diproses ke dalam software untuk mengetahui kedekatan antar sampel. Cara untuk pemberian skor adalah dengan

memasukkan hasil RAPD-PCR ke dalam gel agarose 2,0% dan dilakukan elektroforesis dibawah UV transluminator dan difoto menggunakan gel dokumentation system. Pemberian skor dalam penilaian saat elektroforesis adalah nilai 1 jika terdapat pita yang jelas dan 0 jika tidak muncul pita yang jelas, Kusumadewi *et al.* (2010) menambahkan bahwa agar pemberian skor lebih standart maka skoring dengan berpatokan pada marker atau penanda sebagai penanda untuk menetapkan ukuran pita DNA. Data hasil skoring kemudian dimasukkan ke dalam software dan menghasilkan file dendrogram yang menunjukkan jarak genetik dari sampel.

Melalui sumber Anonymous (2013), setelah didapatkan skor data biner maka selanjutnya dilakukan analisis. Filogenetik adalah cabang ilmu genetika yang berhubungan dengan penilaian kekerabatan dan kedekatan genetik antar individu dalam satu atau lebih populasi. Organisme yang berkerabat dekat maka akan cenderung menunjukkan sekuens yang sama lebih tinggi, sementara jika jarak kekerabatannya jauh maka jumlah sekuens yang sama akan lebih sedikit. Filogenetik memiliki fungsi untuk menunjukkan hubungan evolusioner spesies divergen antar dua organisme sejak keduanya terpisah dari tetua yang sama (asal mula). Dalam pelaksanaannya, filogenetik terbagi atas dua metode yaitu metode fenetik yang berfungsi untuk menunjukkan pohon filogeni dengan memperhitungkan kemiripan sekuens yang dihasilkan. Pohon filogeni disebut dengan dendrogram. Metode kedua adalah metode kladistik yaitu pembentukan pohon filogeni dengan dihitung dengan pertimbangan adanya jalur evolusi yang variatif. Pohon filogeninya disebut dengan cladogram.

Sekuens yang mirip diartikan sebagai sekuens yang memiliki kekerabatan yang lebih dekat. Jarak sekuens dapat ditunjukkan dengan matriks jarak (*distance matrix*) selanjutnya filogeni dilakukan kalkulasi algoritma untuk didapatkan cluster. Metode filogeni dapat mengkonstruksi taxa paling jauh hingga taxa yang paling dekat kekerabatannya. Manfaat dari pembentukan pohon filogeni salah satunya adalah untuk menunjukkan UPGMA.

Perkembangan kacang bogor di bidang molekular masih sedikit atau jarang dilakukan, seperti yang dilakukan oleh Posquet *et al.* (1999) menggunakan Isozim dan Amadou *et al.* (2001) menggunakan RAPD merupakan salah contoh

pengembangan penelitian kacang bogor di bidang molekular. Namun demikian, Saleh (2012) menyebutkan bahwa hasil amplifikasi dengan menggunakan RAPD dalam Amadou *et al.* (2001) menunjukkan polimorfisme yang lebih tinggi jika dibandingkan amplifikasi dengan metode AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) dalam Massawe *et al.* (2002) dan dengan metode isozyme dalam Pasquet *et al.* (1999). Molosiwa (2012) juga melakukan penelitian mengenai kacang bambara, dalam penelitiannya menunjukkan bahwa persentase polimorfisme dengan menggunakan teknik RAPD berkisar antara 57% hingga 100% dengan rata-rata dari 7 primer 85%, sementara dengan mikrosatelit menunjukkan polimorfisme antara 0% hingga 100% dengan rata-rata 29% polimorfis, hal ini menunjukkan bahwa RAPD memiliki tingkat polimorfis tinggi dan banyak digunakan karena lebih mudah. Karakter RAPD sebagai teknik amplifikasi dapat ditunjukkan melalui tabel berikut ini:

**Tabel 1.** Perbandingan beberapa teknik pengujian molekular (Ahmad, 2012).

Karakteristik	RFLP	SSR	AFLP	RAPD	SNP
Nomer Lokus terdeteksi	Satu lokus	Satu lokus	Multi lokus	Multi lokus	Satu lokus
Alel	Co-dominan	Co-dominan	dominan	Dominan	Co-dominan
Level polimorfisme	Baik	Sangat baik	baik	Baik	Sangat baik
Polimorfisme lokus	2-5 alel	Banyak alel	-	-	4 alel
Kuantitas DNA yang dipakai	Banyak	Sedikit	sedikit	Sedikit	Sedikit
Kualitas DNA yang dipakai	Sangat baik	Sedang	baik	sedang	Sedang
Reproduktibilitas	Baik	Baik	Baik	Rendah	Baik
Waktu	Lama	Cepat, jika sudah ditemukan marker	cepat	Cepat	Cepat, jika sudah ditemukan marker
Biaya	Mahal	Rata-rata	Murah	Murah	Mahal
Teknik	Sulit	Mudah	Medium	Medium	Sulit

Keunggulan RAPD dibandingkan dengan teknik yang lainnya seperti misalkan teknik mikrosatelit seperti yang pernah diteliti oleh Mukakalisa (2010) terletak pada persentase polimorfiknya. Mukakalisa menunjukkan bahwa dari 7 primer RAPD yang digunakan yaitu OPA07 100%, OPAI15 68%, OPB08 100%,

OPL12 75%, OPP04 57%, OPP15 100%, dan OPP19 100%, sehingga didapatkan rata-rata persentase polimorfisme 85%. Mukakalisa juga menunjukkan dalam penelitian yang sama menggunakan bahan kacang bogor menggunakan primer mikrosatelit persentase polimorfik yaitu MARA001 0%, MARA020 0%, MARA037 100%, MARA038 14%, MARA043 14%, MARA046 0%, MARA052 0%, dan MARA065 50%, sehingga rata-rata persentase polimorfisme 29%. Hasil persentase polimorfisme dari dua teknik tersebut, RAPD dan mikrosatelit menunjukkan bahwa polimorfisme yang paling besar ditunjukkan oleh teknik RAPD sehingga teknik tersebut menurut pendapat Mukakalisa (2010) merupakan teknik yang cocok untuk dijadikan sebagai marker untuk kacang bambara.

Berbeda dengan hasil persentase polimorfisme Mukakalisa (2010), Rungnoi *et al.* (2012) menyatakan bahwa persentase polimorfisme dari 14 primer RAPD adalah 70,1% lebih rendah dibandingkan dengan persentase polimorfisme 3 primer ISSR yaitu 72,37%, meskipun demikian, polimorfisme pada teknik RAPD sangat ditentukan oleh kesesuaian antra nomer primer yang digunakan dengan sampel, sehingga pada nomer primer yang tidak sesuai akan menunjukkan polimorfisme yang lebih rendah. Sementara Amadou *et al.* (2001) dalam penelitiannya tentang eksplorasi keragaman plasma nutfah kacang bogor menggunakan teknik RAPD menunjukkan bahwa persentase polimorfisme dari 17 primer RAPD yang digunakan menunjukkan persentase 51% dan telah mampu menghasilkan informasi mengenai keragaman beberapa aksesori kacang bogor yang ditelitinya, sehingga RAPD dapat dijadikan sebagai teknik marker untuk kacang bogor seperti yang dikemukakan oleh Mukakalisa (2010).

RAPD dapat digunakan sebagai marker penanda gen antar populasi genetik yang spesifik. Ranade *et al.* (2001) menunjukkan strategi gene-tagging menggunakan RAPD dengan menggunakan RAPD yang dilanjutkan dengan mengorelasikan hasil elektroforesis dengan perbedaan karakter pada sampel. Mishra *et al.* (2014) mengatakan bahwa marka molekuler dan marka fungsional sangat berguna sebagai marka seleksi karena dapat menunjukkan gen untuk ekspresi karakter tertentu. Pengumpulan data sekuens DNA secara berkelanjutan akan dapat membantu dalam pengumpulan referensi gen dan genom dalam sekuensing dan pemetaan. Polimorfisme adalah masalah utama pada sebagian

besar spesies. SSR dan SNP dianggap sebagai marka molekular yang berguna dalam pengembangan genetika dan pemuliaan tanaman. Pembentukan alel spesifik dan marka fungsional gen penyandi karakter tertentu sangat penting untuk kemajuan pemuliaan tanaman jangka panjang.

Pengembangan marka molekular berdasarkan Mishra *et al.* (2014) harus didasarkan pada karakter marka molekular yang ideal yaitu memiliki polimorfisme yang baik sehingga dapat digunakan sebagai dasar perhitungan keragaman genetik, mampu membedakan antara alel homozigot dan heterozigot, marker dapat menyebar pada semua genome, tidak terpengaruh lingkungan, harus mudah, cepat dan murah untuk digunakan, reproduksi tinggi dan mudah untuk ditukar antar laboratorium.

## 2.5 Terminologi dan Sejarah Kacang Bogor (*Vigna subterranea* L. Verdcourt) yang Digunakan

Penelitian yang dilakukan oleh Nuryati *et al.* (2014) dimulai dengan mengoleksi benih dari petani pada sentra penanaman kacang bamba di Indonesia terutama di provinsi Jawa Timur dan Jawa Barat. Pengelompokan hasil koleksi didasarkan dari daerah asal benih. Pemurnian tahap awal dilakukan berdasarkan karakter polong seperti bentuk polong, tekstur polong, warna dan jumlah biji per polong, bentuk biji, warna dan tekstur biji. Berdasarkan pemurnian tahap awal tersebut didapatkan 50 aksesori yang digunakan dalam evaluasi lapangan.

Terdapat beberapa terminologi yang dapat digunakan dalam penamaan hasil koleksi yang digunakan dalam penelitian yaitu aksesori, ekotipe, genotipe, landrace dan galur. Secara terminologi, istilah tersebut penting untuk menunjukkan status kacang bamba dalam tahapan program pemuliaan.

Merujuk pada IPGRI (2000) bahwa yang disebut aksesori adalah plasma nutfah hasil koleksi yang terdaftar dalam daftar koleksi dengan dilengkapi data-data aksesori yang berfungsi untuk mengidentifikasi aksesori ketika telah dimasukkan dalam koleksi plasma nutfah. Aksesori dilengkapi dengan data paspor meliputi deskripsi aksesori dan deskripsi koleksi. Aksesori yang dikoleksi dapat diperoleh dari berbagai sumber plasma nutfah, salah satunya adalah galur lokal. Galur lokal atau landrace menurut Rungnoi *et al.* (2012) adalah genotip yang lama berkembang di masyarakat petani pada suatu daerah yang telah melalui beberapa tahapan seleksi

pemilihan dari tanaman liar menjadi tanaman yang dibudidayakan selama bertahun-tahun oleh masyarakat petani lokal.

Menurut Ren *et al.* (2004) introduksi genetik dari satu daerah ke daerah lain banyak dilakukan oleh manusia. Sehingga plasma nutfah dari satu lokasi dapat berpindah ke lokasi lain. Terjadinya perubahan kondisi lingkungan dapat memacu tanaman untuk beradaptasi dengan lingkungannya yang baru, hal ini menyebabkan terjadi perubahan respon morfologi dan fisiologi plasma nutfah akibat pengaruh lingkungan yang disebut dengan ekotipe. Austi *et al.* (2014) menjelaskan bahwa galur atau jenis lokal kacang bambara atau kacang bogor yang dikoleksi dilakukan usaha penggaluran yaitu dengan melakukan persilangan, seleksi dan evaluasi daya hasil. Sehingga galur dapat dikatakan sebagai jenis yang telah dilakukan upaya perbaikan genetik melalui program pemuliaan tanaman.

Berdasarkan keterangan Nuryati *et al.* (2014) bahwa sebelum dilakukan evaluasi di lahan, hasil koleksi plasma nutfah kacang bogor yang diperoleh dari petani terlebih dulu dilakukan pengelompokan berdasarkan asal benih. Tahap selanjutnya adalah dilakukan pemurnian dengan menggunakan karakter polong dan biji sehingga telah dilakukan seleksi awal untuk pemilihan jenis lokal yang akan ditanam. Jenis lokal yang telah dipilih dan dimurnikan sejumlah 50 kemudian ditanam yang selanjutnya disebut sebagai galur.

