



## **Analysis of Genetic Variant Of NADH Dehydrogenase Subunit 4-Like Gene Sequences of *Aedes Aegypti* Popset: 1831566147 Using In Silico RFLP**

### **Analisis Variasi Genetik Sekuen Gen NADH Dehydrogenase Subunit 4-Like Pada *Aedes aegypti* Popset : 1831566147 Menggunakan RFLP In Silico**

Serli Febri Anggraini, Ayunda Rahmadani Kusuma, Deratih Bunga, Marisa Pela,  
Vira Fill Jannah, Wulan Purnama Putri, Afifatul Achyar

*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang  
Jl. Prof. Dr. Hamka. Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara. Kota Padang, Sumatera Barat*

Email: [afifatul.achyar@fmipa.unp.ac.id](mailto:afifatul.achyar@fmipa.unp.ac.id).

---

#### **ABSTRAK**

Studi *in silico* berpotensi untuk mempercepat penemuan sekaligus mengurangi kebutuhan akan pekerjaan laboratorium yang mahal. Analisis RFLP dilakukan untuk melihat variasi genetik dari gen NADH *dehydrogenase* subunit 4-like. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik urutan gen NADH *dehydrogenase* subunit 4-like pada *Aedes aegypti* PopSet: 1831566147 dengan menggunakan RFLP *in silico*. Variasi genetik populasi *Aedes aegypti* dianalisis secara RFLP *in silico* yaitu secara *online* di situs [www.benchling.com](http://www.benchling.com). Restriksi dilakukan dengan menggunakan enzim *AseI*. Hasil yang diperoleh dari 27 sampel sekuens DNA, 24 di antaranya terpotong oleh enzim *AseI* membentuk dua fragmen dengan ukuran 114 dan 125 bp (alel A1). Adapun 3 sampel lainnya tidak terpotong, masih berukuran 339 bp (alel A2). Hasil RFLP *in silico* pada penelitian ini menunjukkan bahwa sekuens gen NADH *dehydrogenase* 4-like pada *Aedes aegypti* pada Popset 1831566147 memiliki dua variasi genetik pada sisi pengenalan enzim restiksi *AseI*. Frekuensi alel A1 (0,89) dan A2 (0,11) menunjukkan tingkat keragaman genetik untuk sekuens gen NADH *dehydrogenase* subunit 4-like nyamuk *Aedes aegypti* PopSet: 1831566147 yang sangat rendah.

**Keywords:** variasi genetik, NADH *dehydrogenase* subunit 4-like, *Aedes aegypti*, RFLP, in *silico* studies.

---

#### **PENDAHULUAN**

Genetika Populasi merupakan salah satu cabang ilmu genetika yang menelaah tentang bagaimana susunan genetik dalam suatu populasi. Pengetahuan tentang keragaman genetik populasi dapat dijadikan informasi untuk mengetahui diskursus evolusi tingkat mikro yang terjadi pada level genetik (Arisuryanti & Daryono, 2007;

Campbell dkk., 2003). Keragaman genetika pada tingkat populasi/ individu/jenis dapat analisis melalui profil berbagai marka, baik molekuler maupun protein. Marka yang umum digunakan dalam mengkaji keragaman genetika antara lain Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Random Fragment Length Polymorphism (RFLP), Simple Sequence Repeats (SSRs), isozyme dan allozyme. Analisis Random Fragment Length Polymorphism (RFLP) merupakan teknik yang umum digunakan untuk deteksi variasi genetik pada tingkat sekuen DNA. Deteksi secara RFLP dilakukan dengan membandingkan profil pita-pita yang dihasilkan setelah dilakukan pemotongan dengan enzim restriksi terhadap DNA target/dari individu yang berbeda (Zulfahmi, 2013).

*Aedes aegypti* adalah nyamuk yang termasuk dalam subfamili Culicinae, famili Culicidae, ordo Diptera, kelas Insecta (Gambar 1). Nyamuk ini berpotensi untuk menularkan penyakit demam berdarah dengue (DBD). DBD adalah suatu penyakit yang ditandai dengan demam mendadak, perdarahan baik di kulit maupun di bagian tubuh lainnya serta dapat menimbulkan syok dan kematian. Penyakit DBD ini terutama menyerang anak-anak termasuk bayi, meskipun sekarang proporsi penderita dewasa meningkat (Rahayu dkk., 2012). *Aedes aegypti* berkerabat dekat dengan *Anopheles gambiae* dan *Drosophila melanogaster*. Data terbaru yang dikemukakan oleh Nene dkk., (2020) urutan genom *Aedes aegypti* terdiri dari 1,38 miliar pasangan basa, lima kali lebih besar daripada ukuran genom *Anopheles gambiae*. Hampir 50% dari genom *Ae. aegypti* terdiri dari unsur-unsur transposable sehingga berkontribusi pada faktor peningkatan 4 sampai 6 kali panjang gen rata-rata dan ukuran daerah antargenik relatif terhadap *An. gambiae* dan *Drosophila melanogaster*.

Kingdom	<a href="#">Animalia</a> – Animal, animaux, animals
Subkingdom	<a href="#">Bilateria</a>
Infrakingdom	<a href="#">Protostomia</a>
Superphylum	<a href="#">Ecdysozoa</a>
Phylum	<a href="#">Arthropoda</a> – Artrópode, arthropodes, arthropods
Subphylum	<a href="#">Hexapoda</a> – hexapods
Class	<a href="#">Insecta</a> – insects, hexapoda, inseto, insectes
Subclass	<a href="#">Pterygota</a> – insects ailés, winged insects
Infraclass	<a href="#">Neoptera</a> – modern, wing-folding insects
Superorder	<a href="#">Holometabola</a>
Order	<a href="#">Diptera</a> – mosca, mosquito, gnats, mosquitoes, true flies
Suborder	<a href="#">Nematocera</a> – long-horned flies
Infraorder	<a href="#">Culicomorpha</a>
Family	<a href="#">Culicidae</a> – mosquitoes, maringouins, moustiques
Subfamily	<a href="#">Culicinae</a>
Tribe	<a href="#">Culicini</a>
Genus	<a href="#">Aedes</a> Meigen, 1818
Species	<i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) – yellow fever mosquito, stégomyie, yellowfever mosquito

**Gambar 1** Taksonomi *Aedes agypti* (<http://www.itis.gov>)

Nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa memiliki tubuh berwarna hitam kecokelatan. Ukuran tubuh nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa antara 3-4 mm dengan

mengabaikan panjang kakinya. Tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Di bagian punggung (dorsal) tubuhnya tampak dua garis melengkung vertikal di bagian kiri dan kanan yang menjadi ciri dari nyamuk spesies ini (Ginjar, 2008). Bentuk abdomen nyamuk betinanya lancip pada ujungnya dan memiliki cerci yang lebih panjang dari cerci pada nyamuk-nyamuk lainnya (Gillot, 2005). Biasanya, nyamuk jantan memiliki tubuh lebih kecil dari pada betina dan 9 terdapat rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan. Kedua ciri dapat di amati dengan mata telanjang (Ginjar, 2008).

Gen ND4 menyediakan instruksi untuk membuat protein yang disebut NADH dehidrogenase 4. Protein ini merupakan bagian dari enzim besar kompleks yang dikenal sebagai kompleks I, yang aktif dalam mitokondria dan berfungsi untuk Mengontrol glikemik pada tubuh serta merangsang metabolisme glukosa pada otot rangka dan jaringan adiposa.. Mitokondria adalah struktur di dalam sel yang mengubah energi dari makanan menjadi bentuk yang dapat digunakan sel. Struktur sel ini menghasilkan energi melalui proses yang disebut fosforilasi oksidatif, yang menggunakan oksigen dan gula sederhana untuk membuat adenosin trifosfat (ATP), sumber energi utama sel. Diantara gen mitokondria, NADH dehidrogenase subunit 4 (ND4) telah terbukti menjadi penanda yang sangat baik untuk menganalisis struktur populasi genetik dan peristiwa kolonisasi di *Ae. aegypti* (Gorrochotegui dkk., 2002; Bosio dkk., 2005; Costa-da-Silva dkk., 2005; Herrera dkk., 2006; Bracco dkk., 2007; Paduan & Ribolla, 2008; Urdaneta-Marquez dkk., 2008).

Studi *in silico* merupakan suatu istilah untuk percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. Studi *in silico* berpotensi untuk mempercepat tingkat penemuan sekaligus mengurangi kebutuhan akan pekerjaan laboratorium yang mahal. Analisis RFLP untuk melihat variasi genetik gen NADH dehidrogenase subunit 4-like ini dapat dilakukan secara online salah satunya melalui halaman web [www.benchling.com](http://www.benchling.com).

## **METODE PENELITIAN**

Pada penelitian ini menggunakan beberapa metode yang pertama mengunduh sekuen gen di situs NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/popset>) sebagai bahan penelitian. Setelah itu menu popset di NCBI dipilih dan nomor popsetnya yaitu 1831566147 dimasukkan. Setelah data sekuennya muncul, menu “*send to*” diklik dan format *file* diganti dengan FASTA dan opsi “*create file*” dipilih, sehingga data sekuen gen berhasil diunduh.

Metode yang kedua yaitu melakukan skrining kandidat enzim restriksi yang akan dipakai pada RFLP *in silico*. Skrining dilakukan dengan *tools* pada situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>. *Tools* ini akan membandingkan pola restriksi dari banyak sekuen DNA yang diuji serta enzim restriksi yang memotongnya. Pada situs

---

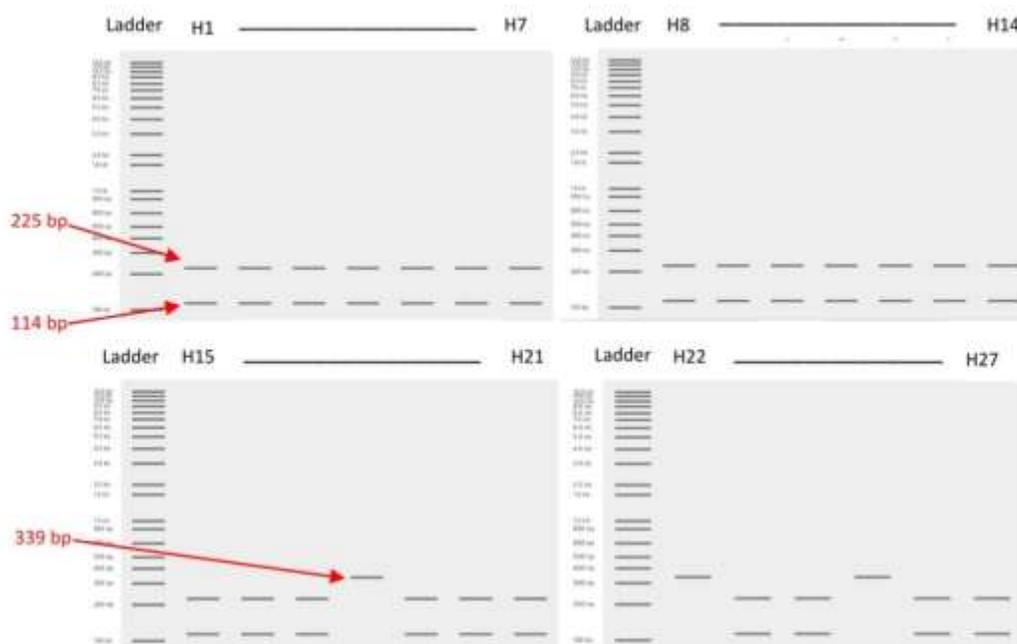
tersebut, *tools* yang dipilih adalah “*compare restriction pattern of many sequences*”. Sekuen gen yang sudah diunduh dalam bentuk fasta, diunggah pada kolom yang disediakan. Pada langkah selanjutnya akan terlihat hasil *alignment* masing-masing sekuen dan sekuen yang sama akan dibuang untuk mempermudah analisis. Langkah selanjutnya, opsi “*only restriction enzymes with known bases (no N,R,Y...)*” dipilih agar mendapatkan enzim restriksi dengan sisi pengenalan restriksi yang pasti. Kemudian tombol “*get the list restriction enzyme*” dipilih untuk memperoleh kandidat enzim restriksi yang akan digunakan pada tahap berikutnya.

Metode yang terakhir yaitu melakukan RFLP secara *in silico*. *Restriction-Fragment Length Polymorphism* (RFLP) secara *in silico* atau restriksi secara virtual dilakukan menggunakan *tools* pada situs <https://www.benchling.com/>. Situs ini gratis tetapi harus melakukan registrasi untuk membuat akun menggunakan email. Tahap awal yang dilakukan adalah melakukan *import* 27 sekuen DNA gen NADH dehydrogenase subunit 4-like yang sudah diunduh dari NCBI ke dalam folder project di situs Benchling. Restriksi *in silico* dilakukan dengan mengklik simbol gunting pada pojok kanan layar. Kemudian *tools* “*find enzyme*” dipilih dan nama enzim restriksi yang sudah ditentukan sebelumnya pada saat skrining, diketikkan pada kolom yang tersedia. Selanjutnya, menu “*run digest*” diklik untuk melakukan restriksi. Adapun gambar elektroforegram diperoleh dengan mengklik menu “*virtual digest*” (Achyar *et al.*, 2021).

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Variasi genetik adalah variasi yang terjadi pada genom suatu organisme baik pada basa nukleotida, gen ataupun kromosom. Variasi genetik pada tingkat dasar ditunjukkan oleh perbedaan pada urutan basa nukleotida (adenin, timin, guanin dan sitosin) yang membentuk DNA di dalam sel (Harrison, Lavery, dan Sterling, 2004). Sumber terjadinya variasi genetik antara lain, mutasi, migrasi dan rekombinasi (Griffiths *et al.*, 2000). Parameter yang digunakan untuk menganalisis variasi genetik adalah dengan diversitas haplotip, diversitas nukleotida dan jarak genetik (Nei, 1973; Nei dan Li, 1979; Nei dan Tajima, 1980). Analisis variasi genetik dapat dilakukan dengan penanda molekuler.

Produk PCR yang dipotong sesuai situs pemotongan akan menghasilkan perbedaan ukuran fragmen DNA yang disebut alel. RFLP merupakan perbedaan pada homolog urutan DNA yang dapat dideteksi dengan menggunakan adanya perbedaan fragmen DNA yang telah dipotong dengan menggunakan enzim endonuklease tertentu. RFLP digunakan sebagai marker molekuler karena spesifik untuk setiap tunggal atau kombinasi dari enzim restriksi. Aplikasi dari RFLP dapat digunakan untuk pemetaan genom, *genotyping*, tes paternitas, forensik dan diagnostik hereditas penyakit.



**Gambar 2.** Virtual elektroforesis hasil restriksi sekuen gen NADH dehydrogenase subunit 4-like *Aedes aegypti* oleh enzim restriksi *AseI* dengan metode RFLP *in silico*

Jumlah isolat yang dipakai pada studi ini adalah 27 isolat yaitu H1-H27. DNA yang digunakan adalah DNA mitokondria dari *Aedes aegypti*. Enzim restriksi yang digunakan yaitu enzim *AseI*. Enzim ini memotong pada sekuen pengenalannya yaitu pada sekuen AT↓TA↑AT. Dari hasil RFLP *in silico* yang telah dilakukan (Gambar 2), sekuen gen NADH dehydrogenase subunit 4-like pada DNA mitokondria *Aedes aegypti* direstriksi pada sekuen ke-114 bp sehingga hasil elektroforesis akan menampilkan 2 fragmen pita DNA. Panjang fragmen yang dihasilkan yaitu 114 dan 225 bp. Namun, pada isolat 18, 22 dan 25 hanya terbentuk 1 fragmen pita DNA menandakan bahwa tidak terjadi pemotongan oleh enzim restriksi tersebut sehingga panjang fragmen tetap utuh yaitu 339 bp.

**Tabel 1.** Ukuran fragmen berdasarkan analisa dengan metode RFLP *in silico* pada *Aedes aegypti*

Enzim Restriksi	Sisi Pengenalan Restriksi	Alel	Ukuran fragmen (bp)
<i>AseI</i>	AT↓TA↑A T	A1	114 dan 225
		A2	339

Tabel 1 memperlihatkan hasil pemotongan dengan genetik metode RFLP in silico pada *Aedes aegypti* dengan menggunakan enzim *AseI*. Dari ukuran awal sekuen gen NADH dehydrogenase subunit 4-like *Aedes aegypti* sebelum dipotong sebesar 339 bp, enzim *Ase I* hanya memotong pada nukleotida ke-114 bp. Dari hasil terlihat enzim restriksi ini tidak memotong pada isolat *Aedes aegypti* dengan terlihat adanya pita DNA dengan ukuran 339 bp (Gambar 2).

**Tabel 2.** Persentase variasi genetik *Aedes aegypti*

Jumlah variasi genetik	Alel	Ukuran fragmen (bp)	Total isolat	Jumlah kehadiran fragmen	Persentase kehadiran fragmen (%)	Frekuensi Alel
2	A1	114 dan 225	27	24	88,9	0,89
	A2	339		3	11,1	0,11

Gambaran variasi genetik *Aedes aegypti* dapat dilihat pada tabel 2. Tabel memperhatikan dari 27 isolat *Aedes aegypti*, jumlah DNA yang dipotong adalah 24 sampel, sedangkan 3 sampel lainnya tidak terpotong. Persentase fragmen yang dipotong adalah 88,9%, dan fragmen yang tidak dipotong 11,1%. Dari total keseluruhan fragmen dapat diketahui bahwa jumlah variasi genetik yang ditemukan yaitu 2 variasi yaitu alel A1 dan A2 dengan frekuensi alel 0,89 dan 0,11 secara berurutan. Alel A1 mendominasi populasi pada Popset 1831566147. Nilai persentase dan frekuensi alel A1 dan A2 ini menunjukkan tingkat variasi genetik *Aedes aegypti* sangat rendah.

Persentase variasi genetik akan menunjukkan level keragaman. Keragaman genetik suatu organisme akan menunjukkan rentang toleransi suatu organisme untuk beradaptasi dengan habitatnya. Organisme yang memiliki keanekaragaman tinggi akan memiliki kelangsungan hidup yang baik dibandingkan dengan keanekaragaman yang lebih rendah. Vektor yang memiliki kelangsungan hidup rendah akan berdampak sedikit pada jumlah populasi, hal ini akan mengurangi vektor Demam Berdarah Dengue yang dapat menginfeksi manusia. Serangga yang memiliki keragaman genetik rendah lebih rentan terhadap gangguan lingkungan (Hoch, 1996). Menurut Passarge (2007), populasi yang homogen secara genetik memiliki kemampuan adaptasi yang lebih rendah terhadap perubahan lingkungan, sedangkan populasi dengan variasi genetik yang tinggi memiliki kemampuan adaptasi yang baik.

Variabilitas ini terjadi karena migrasi vektor ini dan sebagian melalui aktivitas manusia. Transportasi dianggap sebagai sumber utama penyebaran penyakit yang

dibawa nyamuk, namun faktor lain seperti penggunaan insektisida dan penghapusan habitat larva di dalam dan sekitar tempat tinggal berdampak pada aliran gen dan struktur genetik populasi *Ae. aegypti*. Keragaman genetik atau polimorfisme genetik dalam suatu populasi disebabkan oleh keragaman materi genetik (DNA) dalam suatu populasi atau individu. Dua sumber utama variasi genetik adalah mutasi dan rekombinasi gen sebagai hasil reproduksi seksual dan aliran gen (Asraf, *et. al.*, 2016; Paupy, *et. al.*, 2000). Mutasi adalah perubahan permanen pada DNA di dalam gen. Beberapa mutasi, yang memengaruhi semua sel dalam suatu organisme, diturunkan dari induknya. Mutasi lain berkembang selama hidup suatu organisme dan terjadi hanya pada beberapa sel. Variasi genetik populasi nyamuk *Aedes aegypti* terjadi pada polimorfisme isoenzim dan DNA (Mousson, *et. al.*, 2002; Yebakima, *et. al.*, 2004). Intensitas penggunaan insektisida merupakan faktor penting yang menyebabkan terjadinya keragaman atau polimorfisme genetik pada populasi *Ae. aegypti*.

## **PENUTUP**

Hasil RFLP *in silico* pada penelitian ini menunjukkan bahwa sekuen gen NADH dehydrogenase 4-like pada *Aedes aegypti* pada Popset 1831566147 memiliki dua variasi genetik pada sisi pengenalan enzim restriksi *AseI*, dengan variasi genetik yang tergolong rendah.

## **REFERENSI**

- Achyar, A., Hindayageni, A., Humaira, F., Wijaya, N.N., Aqsha, N., Zultsatunni'mah, Z. 2021. Analysis of Genetic Variations in Poly Gene Sequences in Dengue Virus 2 Using In-Silico RFLP. *Bioscience*, 5(1): 80-86.
- Arisuryanti T & Daryono BS. (2007). *Genetika Populasi*. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Asraf HM, Zahoor MK, Nasir S, Majeed HN, Zahoor S. 2016. Genetic analysis of *Aedes aegypti* using RAPD marker from dengue outbreak in Pakistan. *J. Arthropod-Borne Dis*, 10 (4) : 546-559.
- Bosio CF, Harrington LC, Jones JW, Sithiprasasna R, Norris DE & Scott TW (2005) Genetic structure of *Aedes aegypti* populations in Thailand using mitochondrial DNA. *Am J Trop Med Hyg* 72:434-442.
- Bracco JE, Capurro ML, Lourenço-de-Oliveira R & Sallum MAM (2007) Genetic variability of *Aedes aegypti* in the Americas using a mitochondrial gene: Evidence of multiple introductions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102:573-580.
- Campbell R & Mitchell. (2003). *Biologi Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.

- 
- Costa-da-Silva AL, Capurro ML & Bracco JE (2005) Genetic lineages in the yellow fever mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) from Peru. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100:539-544.
- Gillot, C., 2005. *Entomology*. New York : Plenum Press.
- Ginanjjar G. 2008. *Demam Berdarah*. Yogyakarta : PT Bentang Pustaka.
- Gorochotegui-Escalante N, Gomez-Machorro C, Lozano-Fuentes S, Fernandez-Salas I, Munoz ML, Farlan-Ale JA, Garcia-Rejon J, Beaty BJ and Black IVth WC (2002) Breeding structure of *Aedes aegypti* populations in Mexico varies by region. *Am J Trop Med Hyg* 66:213-222.
- Griffiths, A. J. F., J. H. Miller., R. C. Lewontin & W. M. Gelbart. 2000. *An Introduction to Genetic Analysis*, 7th Edition. New York : W. H. Freeman.
- Harrison, I., M. Lavery & E. Sterling. 2004. Genetic Diversity. *Connexions module*: m12158.
- Herrera F, Urdaneta L, Rivero J, Zoghbi N, Ruiz J, Carrasquel G, Martínez JA, Pernalet M, Villegas P and Montoya A (2006) Population genetic structure of the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101:625-633.
- Hoch, H. 1996. DNA based methods for identification and characterization : The identification and characterization of pest organism, Wallingford. *The Systematics Association*, 1994, 427-433.
- Mirhendi H, Makimura K, Khoramizadeh M, Yamaguchi H. 2006. A One-Enzyme PCR-RFLP Assay for Identification of Six Medically Important Candida Species. *Jpn. J. Med. Mycol*, 47:225-229.
- Mousson L, Vazeille M, Chawprom S, Prajakwong S, Rodhain F, Filloux AB. 2002. *Tropical Medicine and International Health*, (7) : 865-872.
- Nene, V., Wortman, J., Lawson D., Hass, B., Hass, D., odra, ., Tuzhijian, Loftus, B. 2007. Genome Sequence of *Aedes aegypti*, a Major Arbovirus Vektor. *Sciecemag*, 316.
- Nei, M. 1973. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proc Natl cad. Sci*, 70(12):3321-3323. Nei, M & W-H. Li. 1979. Mathematical Model for studying Genetic Variation in Terms of restriction Endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76(10):5268- 5273.
- Nei, M & F. Tajima. 1980. DNA Polymorphism Detectable by Restriction Endonucleases. *Genetics*, 97(1):146-163.
-

- Paduan KS and Ribolla PEM (2008) Mitochondrial DNA polymorphism and heteroplasmy in population of *Aedes aegypti* in Brazil. *J Med Entomol* 45:59-67.
- Passarge, E. 2007. *Color Atlas of Genetics*. Thieme, 1994, 156160.
- Paupy C, MV Falcoz, L Mousson, F Rodhain, AB Failloux. 2000. *Aedes aegypti* in Tahiti and Moorea (French Polynesia) : Isoenzyme differentiation in the mosquito population according to human population density. *Am. J. Trop. Hyg.*, 62 (2) : 217-224.
- Rahayu Dian, Wiwiek Setya Winahju & Adatul Mukarromah. 2012. Pemodelan Pengaruh Iklim Terhadap Angka Kejadian Demam Berdarah Dengue di Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 1 : 69-74.
- Retrieved [Januari, 18rd , 2021], from the Integrated Taxonomic Information System on-line database, <http://www.itis.gov>
- Urdaneta-Marquez L, Bosio C, Herrera F, Rubio-Palis Y, Salasek M and Black IVth WC (2008) Genetic relationships among *Aedes aegypti* collections in Venezuela as determined by mitochondrial DNA variation and nuclear single nucleotide polymorphisms. *Am J Trop Med Hyg* 78:479-491.
- Yebakima A, C Charles, L Mousson, M Vazeille, MM Yp-Tcha, AB Failloux. 2004. Genetic heterogeneity of the dengue vector *Aedes aegypti* in Martinique. *Tropical Medicine & International Health*, 9 (5) : 581-587.
- Zulfahmi, 2013. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi* 3.2: 41-52.