

Aplikasi Penanda Lima Primer RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) untuk Analisis Keragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Sumatera Utara

The Application of Five RAPD Primers for Genetic Diversity Analysis of North Sumatera's Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC)

Indriani Maya Sari Sembiring, Lollie Agustina P.Putri*, Hot Setiado
Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU, Medan 20155
*Corresponding author : lollie_agustina@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of the research was to determine the genetic diversity of the North Sumatera andaliman plants based on the RAPD using the OPD-13, OPI-20, OPH-09, OPN-10, OPM-01 primers. The research was conducted at the Integrated Laboratory, Faculty of Medicines, North Sumatera University from April 2015 to September 2015. Thirty accessions of North Sumatera andaliman plants were observed which originated from three districts i.e: Dairi, Karo, Simalungun. The DARwin 5.05 software was used to calculate and descriptive analysis. The results showed that a totally 25 DNA bands were obtained from the amplification of 26 accessions of andaliman using 5 random primers. The size of DNA bands were varied from 400 bp to 2400 bp. The percentage of polymorphic bands were also varied from 75% to 100%. From the 30 accessions there were 26 accessions enabled analyze by the software. The cluster analysis of the 26 accessions of the North Sumatera andaliman plants showed the highly genetic diversity and showed the closely genetic diversity with 3 main cluster and 6 subcluster. Several accessions were grouped based on the population and the others were dispersed.

Keyword : Andaliman , genetic diversity, RAPD

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola pita DNA pada andaliman Sumatera Utara berdasarkan marka Random Amplified Polymorphic DNA dengan primer OPD-13, OPI-20, OPH-09, OPN-10, OPM-01. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU pada April – September 2015. Individu yang diamati meliputi 30 aksesi tanaman andaliman yang berasal dari Sumatera Utara terdiri dari 3 lokasi yaitu Kabupaten Dairi, Kabupaten Karo, dan Kabupaten Simalungun. Perhitungan dan analisis deskriptif dari penelitian ini menggunakan software DARwin 5.05. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 5 primer yang digunakan dalam penelitian ini telah diperoleh total 25 pola pita DNA. Ukuran pita DNA yang dihasilkan bervariasi berkisar antara 400 bp sampai 2400 bp. Persentasi pita yang polimorfik bervariasi berkisar antara 75 % sampai 100 %. Dari 30 aksesi yang dianalisis, 26 aksesi yang bisa diproses oleh software, karena ada beberapa aksesi yang tidak teramplifikasi sehingga tidak memenuhi persentasi yang distandarkan. Analisis kelompok dari 26 aksesi andaliman asal Sumatera Utara menunjukkan tingkat keragaman genetik yang tinggi dan memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan membentuk 3 kelompok utama dan 6 subkelompok, sebagian mengelompok berdasarkan populasinya dan sebagian lainnya mengelompok secara acak.

Kata Kunci : Andaliman, keragaman genetik, RAPD.

PENDAHULUAN

Andaliman merupakan rempah liar yang tumbuh di kawasan Danau Toba Provinsi Sumatera Utara. Andaliman banyak digunakan masyarakat suku Batak Toba sebagai bumbu masakan yang khas Sumatera Utara, seperti naniarsik, naniura, natinombur. Umumnya masakan-masakan khas Sumatera Utara yang menggunakan andaliman memiliki daya simpan yang cukup lama. Daya awet andaliman diduga karena adanya antimikroba yang terkandung di dalamnya (Parhusip *et al.*, 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 walaupun kondisi tempat tumbuhnya sudah optimal, dibudidayakan dengan sistem pekarangan. Rata-rata petani yang menanam andaliman 1-5 batang (Napitupulu *et al.*, 2004).

Keanekaragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini mungkin dapat mempengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dilihat secara langsung atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu. Secara umum keanekaragaman genetik dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain (Suryanto, 2003).

Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu dari beberapa teknik pembuatan penanda berbasis DNA dengan melibatkan penggunaan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Teknik PCR-RAPD dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan genotip normal dan abnormal, berdasarkan perbedaan pada pita DNA yang dapat teramplifikasi dengan random primer. Pita DNA yang berbeda akan dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan urutan basa DNA antara genotip normal dan abnormal (Azizah, 2009).

Keragaman dalam populasi tanaman mempunyai arti yang sangat penting untuk pengembangan sumber genetik yang diperlukan dalam pemuliaan tanaman (Karsinah, 2002). Tingkat keragaman individu dalam populasi menggambarkan status keberadaan spesies tersebut di alam. Populasi dengan keragaman genetik yang tinggi mempunyai peluang hidup yang lebih baik karena mempunyai kemampuan yang lebih baik untuk beradaptasi dengan lingkungannya (Crowder, 2000).

Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu faktor penting untuk merakit varietas unggul baru. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan memanfaatkan plasma nutfah yang tersedia di alam dan dapat pula dengan melakukan persilangan. Sifat-sifat tertentu sering tidak ditemukan pada sumber gen yang ada sehingga teknologi lainnya perlu diterapkan (Hutami *et al.*, 2005).

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk mengetahui keragaman genetik dengan 5 Primer RAPD pada tanaman andaliman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan dimulai pada bulan April 2015 sampai dengan bulan September 2015.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun andaliman yang masih muda dari Kabupaten Dairi pada 3 Kecamatan (Desa Siarung-arung, Sitohang dan Sigalinging), 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 kimia yang digunakan adalah *cetyl trimethylammonium bromide* (CTAB) 5%, NaCl, Tris, HCl, NaOH, isopropanol, *ethylenediamine tetraacetic* (EDTA), asam asetat glasial, agarose,

Ethidium Bromide (EtBr), kloroform, isoamilalkohol, β -mercaptoethanol, *polyvinilpolypyrrolidone* (PVPP), etanol 70%, etanol absolut, DNA Marker 100bp Ladder, Go Taq[®] Green Master Mix, nitrogen cair, loading dye, aquades, aquabidestila dan Primer OPD-13, OPI-20, OPH-09. OPM-01 dan OPN-10.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, timbangan digital, hotplate, mortar, *centrifuge*, freezer, vortex, freezer, tabung eppendorf 2 ml dan 1,5 ml, mikropipete 1-50 μ l, 100-500 μ l dan 200-1000 μ l, sarung tangan karet, tips pipet kristal, kamera, oven, pH meter, pengaduk magnetik, alat-alat gelas (beaker gelas, erlenmeyer, dll), *UV Transluminator* (*UV Tec Cambridge 20 UV*), elektroforesis (*Power PAC 3000, Biorad*), PCR (*Therma Cycler*), *Gel-Doc* (*UV Cambridge*), *power supply*, alat tulis.

Isolasi DNA dilakukan menggunakan β -mercaptoethanol dan *polyvinilpolypyrrolidone* (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-13, OPI-20, OPH-09, OPN-10, OPM-01. Reaksi PCR dilakukan dengan tahap sebagai berikut : satu siklus denaturasi awal pada suhu 94^oC selama 2 menit, kemudian diikuti oleh 45 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94^oC selama 1 menit, annealing pada suhu 36^oC selama 1 menit. Dan eksistensi pada suhu 72^oC selama 1 menit, dilanjutkan dengan eksistensi akhir pada suhu 72^oC selama 10 menit dan pendinginan pada suhu 4^oC selama 30 menit. Hasil amplifikasi kemudian diseparasi dengan elektroforesis gel agarose 2% dalam buffer TAE selama 65 menit pada 80 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 masing-

masing individu sampel. Berdasarkan ada atau tidaknya pita, profil pita diterjemahkan ke dalam 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 100 bp DNA ladder. Dengan menggunakan software *UVITEC Cambridge FireReader* maka ukuran pita DNA hasil amplifikasi dapat terukur seperti pada gambar. Ukuran pita DNA (base pairs) ini akan berpacuan dari ladder yang kita gunakan. Program ini akan mengukur pita yang muncul berdasarkan 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 tipe analisis deskriptif dari keragaman yaitu *Neighbour-Joining Tree* (NJtree) berdasarkan Saitou dan Nei (1978) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu. Perhitungan dan analisis deskriptif ini menggunakan software *DARwin 5.05* (Perrier dan Jacquemoud-Collet, 2009).

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. DNA yang digunakan dalam penelitian ini adalah DNA yang sudah diisolasi oleh peneliti sebelumnya Sinaga (2014).

Primer OPD-13 menunjukkan pola pita yang berjumlah 4 pita dengan ukuran pita berkisar 540 – 2310 bp. Persentase pita polimorfis sebesar 75% dan persentase monomorfis sebesar 25 % sesuai dengan Gambar 1.

Primer OPI-20 menunjukkan pola pita yang berjumlah 5 pita dengan ukuran pita berkisar 430 – 1710 bp. Persentase pita polimorfis sebesar 80% dan persentase monomorfis sebesar 20% sesuai dengan Gambar 2.

Primer OPH-09 menunjukkan pola pita yang berjumlah 4 pita dengan ukuran pita berkisar 540 bp – 2400 bp. Persentase pita polimorfis sebesar 100 % dan persentase monomorfis sebesar 0 % sesuai dengan Gambar 3.

Primer OPN-10 menunjukkan pola pita yang berjumlah 6 pita dengan ukuran pita berkisar 400 - 1290 bp. Persentase pita polimorfis sebesar 83 % dan persentase monomorfis sebesar 17% sesuai dengan Gambar 4.

Primer OPM-01 menunjukkan pola pita yang berjumlah 6 pita dengan ukuran pita berkisar 430 - 1430 bp. Persentase pita polimorfis sebesar 83 % dan persentase monomorfis sebesar 17 % sesuai dengan Gambar 5.

Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pola pita yang dihasilkan oleh lima primer yang digunakan memperlihatkan pola pita yang berbeda. Ukuran pita-pita yang dihasilkan bervariasi antara 400 - 2400 bp. Total pola pita dari kelima primer yang tampak sebanyak 25 dengan rata-rata 5 pita per primer dengan pita polimorfik sebanyak 21 pita dan pita yang monomorfik sebanyak 4 pita. Persentase pita yang polimorfik bervariasi sebesar 75% sampai 100% dengan rata-rata 84.20% untuk seluruh primer.

Jumlah pola pita tertinggi terdapat pada primer OPM 01 dan OPN 10 yang berjumlah 6 pola pita sedangkan jumlah pola pita terendah terdapat pada primer OPD 13 dan OPH 09 yang berjumlah 4 pola pita. Ukuran pita tertinggi terdapat pada primer OPH 09 sebesar 2400 bp sedangkan ukuran pita terendah terdapat pada primer OPN 10 sebesar 400 bp.

Keberhasilan suatu primer dalam mengamplifikasi DNA cetakan ditentukan oleh ada tidaknya homologi sekuen

nukleotida primer dengan sekuen nukleotida DNA cetakan. Selain itu juga dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas DNA, konsentrasi $MgCl_2$, enzim *Taq* DNA polimerase, dan suhu pelekatan primer (Wibowo, 2010).

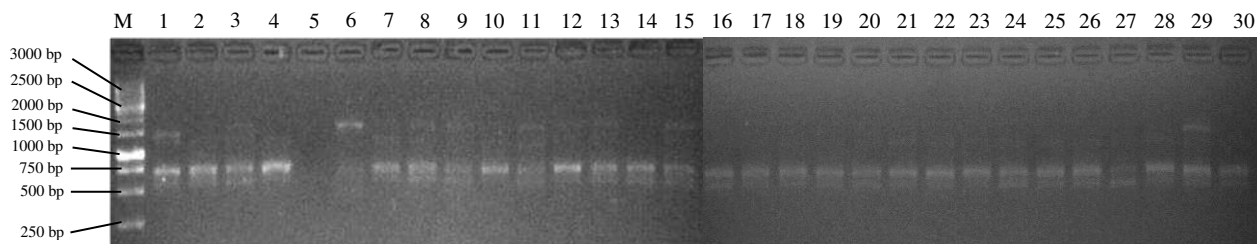
Keberhasilan teknik ini lebih didasarkan kepada kesesuaian primer dan efisiensi dan optimasi proses PCR. Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Optimasi PCR juga diperlukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan. Optimasi ini menyangkut suhu denaturasi dan *annealing* DNA dalam mesin PCR. Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya DNA utas ganda sehingga tidak dimungkinkan terjadinya polimerisasi DNA baru. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya; akibatnya dapat teramplifikasi banyak daerah tidak spesifik dalam genom tersebut. Suhu penempelan (*annealing*) ini ditentukan berdasarkan primer yang digunakan yang dipengaruhi oleh panjang dan komposisi primer (Suryanto, 2003).

Konsentrasi primer berpengaruh terhadap intensitas produk PCR-RAPD. Menurut Padmalatha dan Prasad (2006) konsentrasi primer yang terlalu rendah atau yang terlalu tinggi menyebabkan tidak terjadinya amplifikasi. Rasio yang rendah antara primer dan DNA cetakan dapat menyebabkan produk RAPD yang dihasilkan tidak konsisten. Magnesium merupakan komponen yang penting dalam reaksi PCR dan mempengaruhi kualitas profil RAPD yang dihasilkan (Pharmawati, 2009). Magnesium mempengaruhi penempelan primer serta aktifitas enzim (Padmalatha dan Prasad, 2006). Konsentrasi $MgCl_2$ yang tinggi juga mempengaruhi jumlah band yang

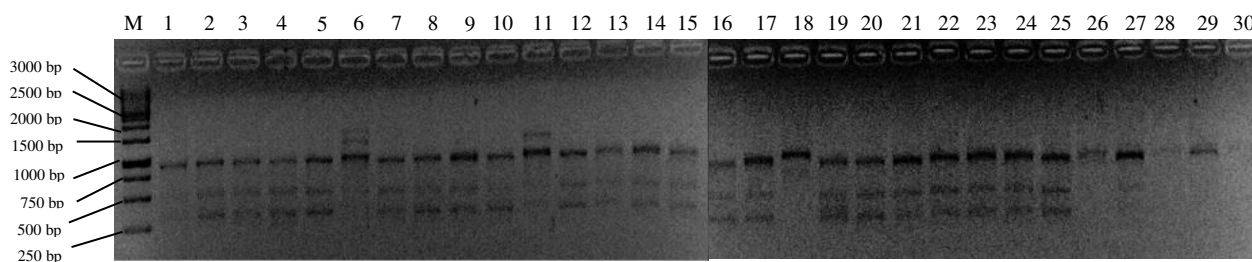
dihasilkan dan mengakibatkan penurunan intensitas band tertentu.

Tiap primer menghasilkan jumlah pita DNA yang berbeda. Pita yang muncul memiliki ukuran basa dan intensitas pita yang bervariasi. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi. Banyaknya pita yang dihasilkan oleh setiap primer

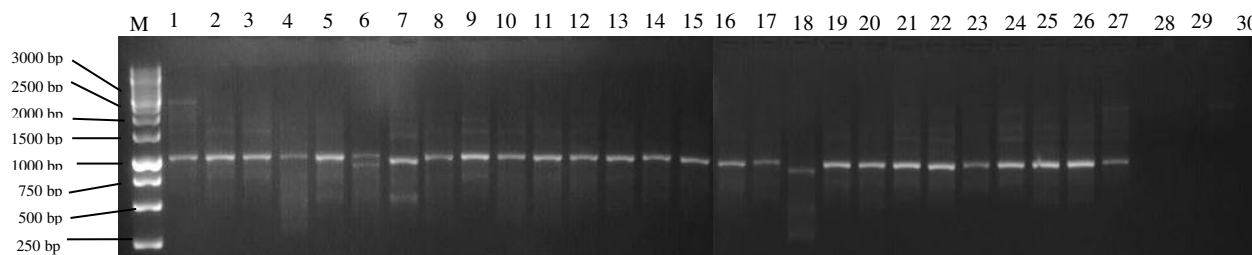
tergantung pada sebaran situs yang homolog pada genom (Williams *et al.*, 1990). Adanya perbedaan pola pita yaitu berdasarkan jumlah dan ukuran pita menggambarkan adanya genom tanaman yang sangat kompleks (Grattapaglia *et al.*, 1992).



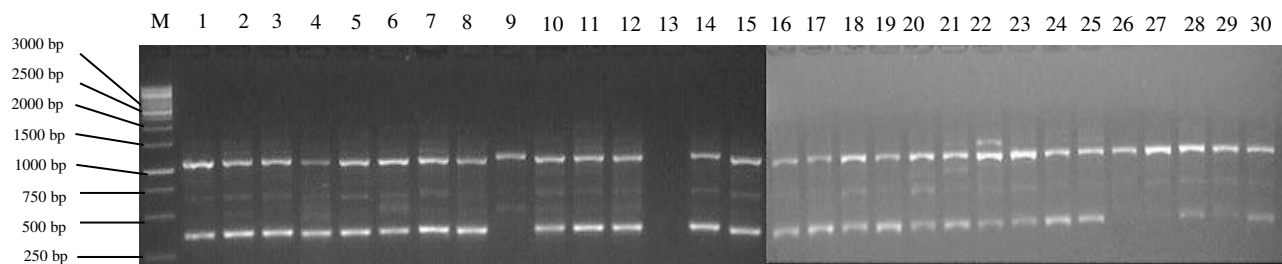
Gambar 1. Elektroforegram amplifikasi 30 DNA Andaliman dengan primer OPD-13, ket ; M = marker ladder 100 bp , Kab Dairi : (1-18), Kab Karo : (19-21), dan Kab Simalungun (22-30)



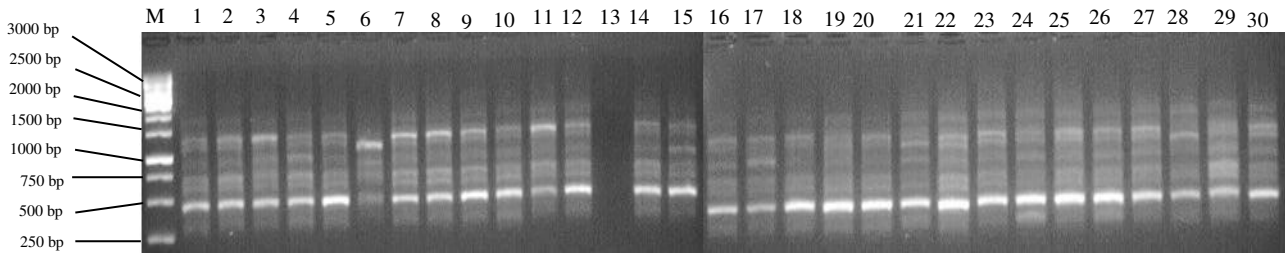
Gambar 2. Elektroforegram amplifikasi 30 DNA Andaliman dengan primer OPI-20, ket ; M = marker ladder 100 bp , Kab Dairi : (1-18), Kab Karo : (19-21), dan Kab Simalungun (22-30).



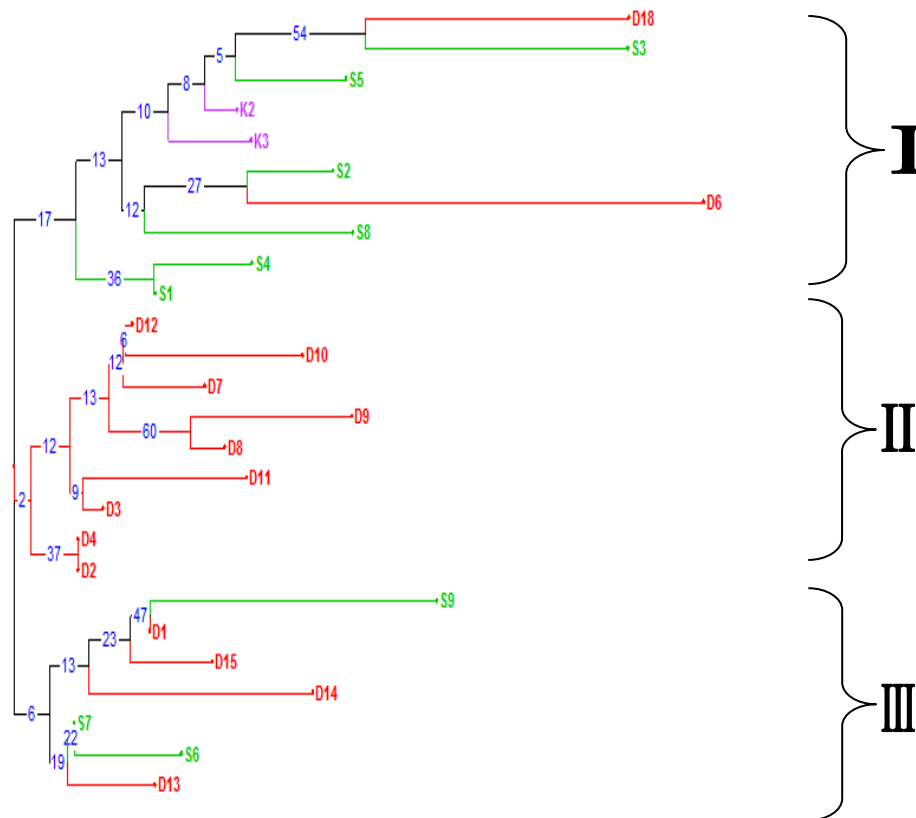
Gambar 3. Elektroforegram amplifikasi 30 DNA Andaliman dengan primer OPH-09, ket ; M = marker ladder 100 bp , Kab Dairi : (1-18), Kab Karo : (19-21), dan Kab Simalungun (22-30)



Gambar 4. Elektroforegram amplifikasi 30 DNA Andaliman dengan primer OPN-10, ket ; M = marker ladder 100 bp , Kab Dairi : (1-18), Kab Karo : (19-21), dan Kab Simalungun (22-30)



Gambar 5. Elektroforegram amplifikasi 30 DNA Andaliman dengan primer OPM-01, ket ; M = marker ladder 100 bp , Kab Dairi : (1-18), Kab Karo : (19-21), dan Kab Simalungun (22-30)



Gambar 6. Pohon filogenik 26 aksesori andaliman dari 3 kabupaten (Dairi,Tanah Karo dan Simalungun) yang dianalisis berdasarkan *Matrix Dissimilarity Simple Matching*.

Berdasarkan elektroforesis hasil amplifikasi dengan menggunakan 3 primer, diperoleh hasil pengelompokan menggunakan program DARwin 5.05 diperoleh 3 kelompok besar pada 30 aksesori andaliman Sumatera Utara yang tertera pada Gambar 3.

Data biner hasil skoring amplifikasi 5 primer yang diolah dengan software DARwin

dihasilkan radial filogenetik yang menunjukkan kekerabatan aksesori andaliman dimana 26 aksesori andaliman yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Kelompok I terbagi lagi menjadi 2 subkelompok yaitu : subkelompok IA dan subkelompok IB. subkelompok IA terdiri dari aksesori yang berasal dari Dairi (D18), Karo (K2 dan K3) , dan Simalungun (S2, S3, S5

dan S8) yang mengelompok secara acak (D, K dan S). Subkelompok IB terdiri dari aksesori yang berasal dari Simalungun (S1 dan S4).

Kelompok II terbagi lagi menjadi 2 subkelompok yaitu subkelompok IIA dan IIB. Subkelompok IIA terdiri atas aksesori yang berasal dari Dairi (D3, D7, D8, D9, D10, D11, dan D12), dan subkelompok IIB terdiri dari aksesori yang berasal dari Dairi (D2 dan D4).

Kelompok III terbagi lagi menjadi 3 subkelompok yaitu subkelompok IIIA dan IIIB. subkelompok IIIA terdiri atas aksesori yang berasal dari Dairi (D1, D14 dan D15), Simalungun (S9). Dan subkelompok IIIB terdiri dari aksesori yang berasal dari Dairi (D13) dan Simalungun (S6 dan S7). Hasil kelompok menunjukkan bahwa keragaman genetik dari andaliman pada 3 kabupaten tersebut adalah tinggi.

Hasil pengelompokan 3 aksesori andaliman, dapat dilihat bahwa pada kelompok kedua, yang terdiri dari subkelompok IIA dan IIB merupakan aksesori yang berasal dari 1 Kabupaten yaitu Kabupaten Dairi. Pada kelompok kedua ini tidak terdapat aksesori yang berasal dari kabupaten lain, meskipun aksesori dari kabupaten Dairi lainnya menyebar pada kelompok yang lainnya.

Pengelompokan aksesori tersebut menunjukkan bahwa pengelompokan tidak berdasarkan warna 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.

Keragaman yang tinggi di dalam populasi memberikan dasar yang luas untuk program pengembangan. Dasar untuk seleksi dalam proses ini sama seperti konservasi *ex-situ* tetapi lebih difokuskan pada tingkat tertinggi dari heterozigositas. Untuk menghasilkan program seleksi yang efektif, seleksi dengan individu yang lebih

banyak dilakukan di dalam populasi sehingga variasi genetik yang tinggi dapat dijaga (Lim *et al.*, 2002).

SIMPULAN

Dari 5 primer yang digunakan dalam mengamplifikasi DNA aksesori andaliman persentase rata-rata polimorfik primer tersebut adalah 84,20%. Ukuran basa fragmen kelima primer tersebut berkisar antara 400 - 2400 bp. Dalam penentuan filogenetik andaliman tersebut dapat diketahui bahwa aksesori andaliman tersebut membentuk 3 pengelompokan secara genetik, dimana pada kelompok I terdiri dari (D18, S3, S5, K2, K3, S2, D6, S8, S4, S1), kelompok II terdiri dari (D12, D10, D7, D9, D8, D11, D3, D4, D2), dan kelompok III terdiri dari (S9, D1, D15, D14, S7, S6, D13) dan memiliki keragaman genetik yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, A. 2009. Perbandingan Pola Pita Amplifikasi Dna Daun, Bunga Kelapa Sawit Normal dan Abnormal. Institut Pertanian Bogor . Bogor
- Crowder, L.V., 1990. Genetika Tumbuhan, penerjemah Lilik Kusdiarti, Penerbit Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ferreira, M.E dan D. Gratapaglia.1998. Introducao ao uso de marcadores em analise genetic. *Embrapa-Cenargen*.Brasilia.
- Hutami,S., I.Mariska, dan Y.Supriati. 2005 . Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman melalui Keragaman Somaklonal. *J. Agro. Biogen*.2(2):81-88.
- Karsinah, Sudarsono, Setyobudi, L., dan Aswidionnoor,H. 2002. Keanekaragaman Genetik Plasma Nutfah jeruk berdasarkan AnalisisPenanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 7 (1) : 8-16
- Lim, L.S, R. Wickneswari, S. L. Lee and A. Latif. 2002. Genetic variation of

- Dryobalanops aromatica* Gaertn. F. (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia using microsatellite DNA markers. *Forest Genetics* 9 (2) : 125-136.
- Napitupulu, B., Sorth,S., dan Mery, S., 2004. Potensi andaliman sebagai Food Additive tradisional etnis batak Sumatera Utara. BPTP Sumatera Utara. Medan, Hlm. 53-56
- Parhusip, A.J., Posman S., Adelina T. 1999. Studi Tentang Aktifitas Antimikroba Alami pada Andaliman. Seminar Nasional Teknologi Pangan.
- Perrier X dan Jacquemoud-Colled J.P., 2016. DARwin Software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>
- Sinaga, A.O.Y., 2014. Analisis Keragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC)Sumatera Utara Menggunakan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Suryanto D. 2003. Melihat Keanekaragaman organisme melalui beberapa teknik genetika molekuler . USU Digital Library [terhubung berkala]. <http://www.library.usu.ac.id/modules.php> [07 Maret 2015.
- Wibowo, C. H. 1999. Andaliman, Rempah Tradisional Sumatera Utara Dengan Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba. *Bul. Teknol. Dan Industri Pangan*. 10(2).