

ANALISIS KEKERABATAN 22 GALUR KACANG BOGOR (*Vigna subterranea* L. Verdcourt.) MENGGUNAKAN TEKNIK RAPD (RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA)

ANALYSIS OF GENETIC RELATIONSHIP IN 22 BOGOR GROUNDNUT (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt) LINES USING RAPD (RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA) TECHNIQUE

Ika Dyah Saraswati^{*)}, Kuswanto, Damanhuri dan Arifin Noor Sugiharto

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia
^{*)}E-mail: saraswathibrids@gmail.com

ABSTRAK

Kacang Bogor (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt) dapat digunakan sebagai salah satu alternatif diversifikasi pangan dalam kelompok kacang-kacangan karena nilai gizinya tidak kalah dengan jenis kacang-kacangan lainnya. Pengembangan dan perbaikan produksi kacang bogor dapat dilakukan salah satunya melalui perbaikan potensi genetik. Keragaman genetik yang tinggi penting dalam perakitan varietas. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis kekerabatan 22 galur kacang bogor menggunakan teknik RAPD. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan primer polimorfik dan mengklarifikasi adanya hubungan kekerabatan antar aksesori-aksesori kacang bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 22 galur kacang bogor yang berasal dari Lamongan, Cianjur, Bangkalan, Gresik dan Sumedang dan 31 primer RAPD. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2013-September 2014 di Laboratorium Sentral Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Hasil analisis polimorfisme primer tunggal menunjukkan persentase yaitu OPA-07 16,67%, OPD-20 23,08%, OPL-12 7,14%, dan primer gabungan OPA-07xOPL-12 36,36%, OPD-20xOPC-02 11,11%. Rata-rata polimorfisme 18,87%. Koefisien kemiripan terkecil 0,9492 antara galur CCC1.5 dengan galur lainnya. Koefisien kemiripan terbesar 1,0 terdiri atas

empat kelompok yaitu antara galur BBL6.1.1, BBL6.2.1, BBL6.3.1, dan BBL10.1, antara galur JLB-1, TKB-1 dan GSG3.2.1, antara galur SS3.1.2, SS3.2.2 dan SS4.3.2 dan antara galur CCC1.4.1 dan SS6.3.2. Primer terpilih yaitu 3 primer tunggal dan 2 primer campuran menunjukkan polimorfisme sekitar 18,87%. Koefisien kemiripan 22 galur kacang Bogor yang diteliti antara 0,9492-1,00. Hal ini menunjukkan bahwa keragaman antar galur yang diujikan rendah.

Kata kunci: RAPD, Polimorfisme, Kekerabatan, Keragaman

ABSTRACT

Bogor groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt) can be used as one of alternative food diversification in legumes because of the nutrition value. Since then, it is not inferior to the other legumes. Development and improvement bambaara groundnut production can be begun by manipulate the genetic potency. Genetic variability is important in plant breeding activities. This research had been done to analyze genetic relationship among 22 lines of bogor groundnut by RAPD technique. The purposes of this research were to find polymorphic primers and to clarify the genetic relationship between all the accession of bogor groundnut. The materials used in this research were 22

bambara groundnut lines from Lamongan, Cianjur, Bangkalan, Gresik and Sumedang and 31 RAPD primers. This research had been conducted on October 2013 until September 2014 in Central Biotechnology Laboratory Agriculture Faculty University of Brawijaya. The result showed that polymorphism from single primers are OP1-07 16,67%, OPD-20 23,08%, OPL-12 7,14% and polymorphism from combined primers are OPA-07xOPL-12 36,36%, OPD-20xOPC-02 11,11%. The average of polymorphism was 18,87%. The lowest similarity coefficient was 0,9492 between CCC1.5 lines and the other lines. The highest similarity coefficient is 1,0 that grouped into four group, between BBL6.1.1, BBL6.2.1, BBL6.3.1, and BBL10.1, between JLB-1, TKB-1 and GSG3.2.1, between SS3.1.2, SS3.2.2 and SS4.3.2 and between CCC1.4.1 and SS6.3.2. Three selected single primers and 2 selected combined primer showed polymorphism in about 18,87%. Similarity coefficient of 22 bambara groundnut lines is between 0,9492-1,00. The result showed that the lines tested here were quite low.

Keywords: RAPD, Polymorphism, Similarity, Diversity

PENDAHULUAN

Kacang Bogor atau Kacang Bambara (*Vigna subterranea* L. Verdcourt) adalah kultivar subterranea yang berasal dari Afrika sub sahara. Kultivar subterranea menyebar di beberapa negara Asia termasuk Indonesia. Di Indoensia, kacang Bogor banyak menyebar di beberapa daerah seperti Bogor, Sukabumi, Bandung, Pati, Lampung, NTB dan NTT (Basu *et al.*,2004).

Kacang bogor dapat digunakan sebagai salah satu alternatif diversifikasi pangan dalam kelompok kacang-kacangan karena nilai gizinya tidak kalah dengan kacang kedelai, lentil, buncis dan kacang-kacangan lainnya (Rachie and Silvester, 1977). Meski demikian kacang bogor masih kurang mendapatkan perhatian karena rendahnya hasil produksi dan masa panen yang terlalu panjang.

Rendahnya produksi dan lamanya umur panen dapat disebabkan oleh banyak hal, salah satunya adalah belum tersedianya varietas unggul. Kelebihan dan kelemahan kacang Bogor merupakan tantangan bagi para pemulia tanaman untuk memperbaiki potensi genetik kacang Bogor sehingga diperoleh varietas yang berdaya hasil tinggi dan berumur genjah.

Keragaman genetik sangat penting fungsinya dalam pemuliaan tanaman. Keragaman yang tinggi memungkinkan pemulia untuk memilih plasma nutfah dengan karakter yang diinginkan sehingga seleksi lebih efektif dan perakitan varietas menjadi lebih mudah untuk dilakukan karena sumber gen tersedia (Doku dan Karikari, 1971).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menganalisis kekerabatan antar galur adalah dengan menggunakan teknik amplifikasi RAPD (*Random Amplified Poliorphic DNA*), (Amadou *et al*, 2001). Beberapa penelitian terdahulu membuktikan bahwa teknik RAPD dapat memberikan informasi yang berarti tentang kekerabatan antar galur-galur yang diujikan.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 22 galur kacang bogor dari beberapa daerah di Indonesia yang dianalisis menggunakan teknik RAPD. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kekerabatan antar galur sehingga akan didapatkan data-data karakter genetik yang bermanfaat dalam kegiatan pemuliaan selanjutnya untuk perbaikan genetik kacang bogor.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2013 hingga September 2014 di laboratorium pemuliaan tanaman untuk perkecambahan dan laboratorium bioteknologi untuk ekstraksi, PCR dan elektroforesis.

Penyediaan Sampel

Bahan yang digunakan adalah benih dari masing-masing galur 10 benih per galur dari total 22 galur, galur yang digunakan dalam penelitian ini adalah berasal dari Lamongan (BBL), Cianjur (CCC), Bangkalan

(JLB dan TKB), Gresik (GSG dan PWBG), dan Sumedang (SS), tissue, kertas merang, dan air. Alat yang dibutuhkan adalah cawan petri dan *hand sprayer*.

Perkecambahan ini ditujukan untuk mengecambahkan benih sampai muncul daun yang cukup untuk digunakan sebagai bahan ekstraksi DNA. Sampel daun yang digunakan dalam tahap selanjutnya diambil dari 1 tanaman yang telah memiliki daun yang cukup untuk digunakan sebagai bahan ekstraksi DNA hasil perkecambahan sebagai perwakilan.

Ekstraksi DNA

Bahan yang digunakan dalam ekstraksi DNA adalah nitrogen cair dan kit ekstraksi DNA *Thermo scientific geneJet plant genomic DNA Purification mini kit*. Alat yang digunakan dalam ekstraksi adalah timbangan, piring untuk timbangan, mortar dan penumbuk, spatula, pipet, gelas ukur, tips dan microsentrifuge tube, vortex, sentrifuge, oven dan *freezer*.

Ekstraksi DNA dilakukan dengan mengacu pada protokol yang ada pada produk *GeneJet Plant Genomic DNA Purification Mini Kit*.

Pelaksanaan PCR

Bahan yang digunakan dalam proses PCR adalah Taq polimerase, dd H₂O, 31 primer tunggal RAPD dan 8 primer campuran digunakan dalam optimasi atau screening primer dan DNA template dari masing-masing galur. Primer yang terpilih adalah OPA07, OPL12, OPD20, primer gabungan terpilih adalah OPA07xOPL12 dan OPD20XOPC02. Alat yang digunakan adalah mesin PCR, tube PCR, tip dan micropipet. Pencampuran primer merujuk pada Hu et al. (1995).

Elektroforesis

Bahan yang digunakan dalam elektroforesis adalah DNA marker, sampel DNA hasil amplifikasi, gel agarosa 1,5% (0,6 gram), larutan *buffer TAE* 1x yang telah diencerkan, *loading dye*, dan larutan *Etidium Bromid* (EtBr) sebagai pewarna.

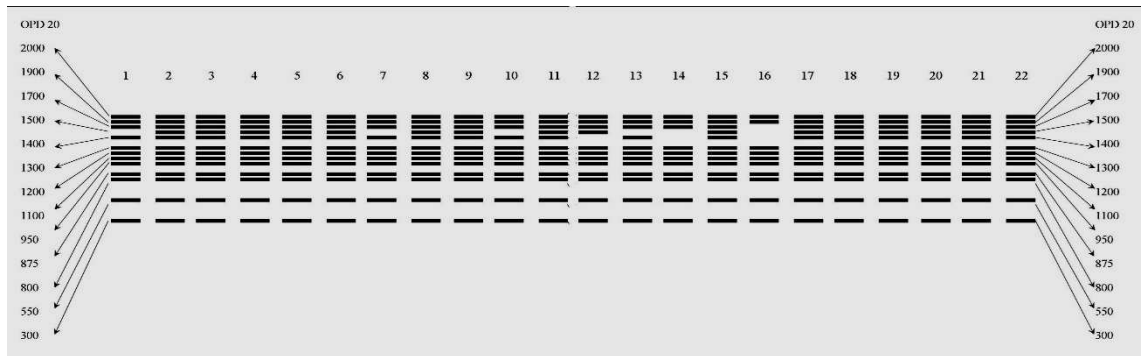
Alat yang digunakan dalam elektroforesis adalah timbangan, spatula, gelas ukur, labu erlenmeyer, sarung tangan, oven, seperangkat mikropipet beserta tipnya, kertas parafilm, cetakan agarose, sisir agarose, baki elektroforesis, *gel doc*, dan kamera digital.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan primer yang Sesuai

Penilaian ada atau tidaknya pita DNA hasil amplifikasi dinilai sangat subjektif meskipun intensitasnya dapat secara kuantitatif dibedakan berdasarkan berat molekulnya. Hasil seleksi 31 primer tunggal dan 8 primer gabungan terpilih 5 primer yang memiliki jumlah pita teramplifikasi paling banyak dan terdapat beberapa pita polimorfik yaitu 3 primer tunggal dan 2 primer gabungan untuk digunakan pada 22 sampel kacang Bogor. Salah satu hasil elektroforesis dengan menggunakan primer tunggal OPD20 menunjukkan beberapa pita polimorfik yaitu pada 1700, 1500 dan 1400 bp tidak teramplifikasi pada beberapa galur sementara pada galur lain teramplifikasi (gambar 1).

Hasil amplifikasi DNA menunjukkan bahwa presentase polimorfik tertinggi pada primer gabungan OPL 07 x OPL 12 yaitu 36,36% dan terendah yaitu 7,14% OPL 12. Pencampuran primer dilakukan untuk memperbanyak jumlah primer yang mungkin untuk digunakan karena primer tunggal memiliki polimorfisme yang rendah. Persentase pita polimorfik dari hasil penelitian dengan menggunakan primer OPA 07 adalah 16,67% dan OPL 12 adalah 7,14%. Persentase ini termasuk rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian pada beberapa aksesori kacang Bogor dari beberapa negara di Afrika. Penelitian Amadou *et. al* (2001) menggunakan primer OPA 07 menghasilkan polimorfisme 75% dan OPL 12 menghasilkan polimorfisme 60%, Mukakalisa (2010) menggunakan OPA 07 menunjukkan polimorfisme 100% dan OPL 12 memiliki polimorfisme 75%.



Gambar 1 Zymogram Amplifikasi 22 sampel dengan primer OPD 20

Tabel 1 Persentase Polimorfisme

Primer	Pita	Pita polimorfik	(%) polimorfik
OPA 07	12	2	16,67 %
OPD 20	13	3	23,08%
OPL 12	14	1	7,14%
OPA 07 x OPL 12	11	4	36,36%
OPD 20 x OPC 02	9	1	11,11%
Jumlah	59	11	18,87%

Persentase polimorfisme primer OPD 20 adalah sebesar 23,08% yang lebih rendah jika dibandingkan hasil penelitian Rungnoi *et., al* (2012) menggunakan primer OPD 20 menunjukkan polimorfisme 50%. Perbedaan tingkat polimorfisme yang dihasilkan dari beberapa penelitian yang telah dilakukan tersebut dengan penelitian ini dapat dimungkinkan karena perbedaan susunan genetik pada aksesori kacang Bogor Afrika dan Asia sehingga menghasilkan pola amplifikasi yang berbeda.

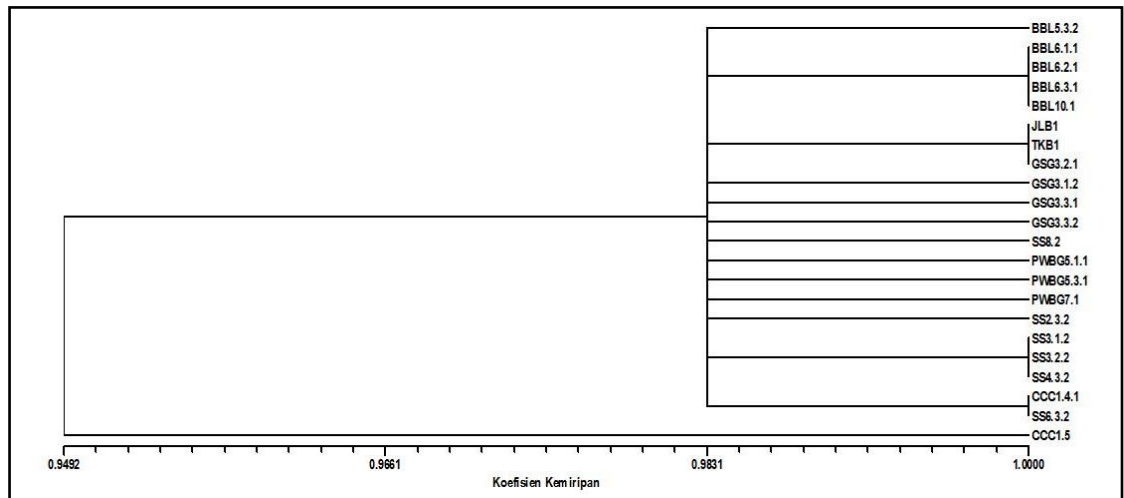
Primer RAPD tidak didesain untuk mengamplifikasi sekuens target yang spesifik, lokus yang teramplifikasi tidak diketahui dan kemungkinan tersebar pada genom. Kumar dan Gurusubramanian (2011) menjelaskan bahwa keseluruhan materi genetik disebut sebagai genom, sementara gen adalah segmen dari molekul DNA. Kumari dan Thakur (2014) menambahkan bahwa primer menempel pada daerah penempelan tidak spesifik pada sekuens gen sehingga penempelan primer bersifat random dan produk yang dihasilkan tidak diketahui identitasnya. Amplifikasi dengan primer random seperti RAPD terjadi pada keseluruhan genom yang artinya semua materi genetik akan diamplifikasi berdasarkan penempelan

primer secara random sehingga tidak diketahui produk yang dihasilkan, karena pada kromosom terdapat susunan nukleotida yang menyandikan banyak gen, sehingga kita tidak bisa memastikan apakah hasil amplifikasi tersebut pada gen atau bukan gen.

Keragaman Antar Galur

Hasil analisis kekerabatan dengan menggunakan marka RAPD menunjukkan koefisien kemiripan antara 0,9492-1,00. Pengelompokan galur menunjukkan terdapat 2 kelompok besar dengan koefisien kemiripan 0,9492 yaitu CCC 1.5 dengan genotip lainnya. Pada kelompok kedua terdiri atas galur-galur dengan koefisien kemiripan 0,9831 dan terdapat beberapa galur yang memiliki koefisien kemiripan 1,00 yaitu BBL6.1.1, BBL6.2.1, BBL6.3.1, dan BBL10.1, JLB 1, TKB 1 dan GSG 3.2.1, lalu SS 3.1.2, SS 3.2.2 dan SS 4.3.2 dan juga CCC 1.4.1 dan SS 6.3.2.

Koefisien kemiripan dari 22 galur yang digunakan berdasar asal galur yaitu 5 galur BBL (Lamongan) memiliki nilai kemiripan antara 0,9831-1,00, 2 galur CCC (Cianjur) memiliki nilai kemiripan 0,9492, JLB dan TKB (Labang dan Kamal Bangkalan) memiliki nilai kemiripan 1,00, 4



Gambar 2 Dendrogram 22 Galur Kacang Bogor Berdasar Marka RAPD

Tabel 2 Koefisien Kemiripan 22 Galur Kacang Bogor

Kode Galur	BBL 5.3.2	BBL 6.1.1	BBL 6.2.1	BBL 6.3.1	BBL 10.1	CCC 1.4.1	CCC 1.5	JLB1	TKB1	GSG 3.1.2	GSG 3.2.1	GSG 3.3.1	GSG 3.3.2	PWBG 5.1.1	PWBG 5.3.1	PWBG 7.1	SS 2.3.2	SS 3.1.2	SS 3.2.2	SS 4.3.2	SS 6.3.2	SS 8.2
BBL 5.3.2,	1																					
BBL 6.1.1,	0,98	1																				
BBL 6.2.1,	0,98	1	1																			
BBL 6.3.1,	0,98	1	1	1																		
BBL 10.1,	0,98	1	1	1	1																	
CCC 1.4.1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1																
CCC 1.5,	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	1															
JLB 1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	1														
TKB 1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	1	1													
GSG 3.1.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	1												
GSG 3.2.1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	1	1	0,98	1											
GSG 3.3.1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	1										
GSG 3.3.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1									
PWBG 5.1.1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1								
PWBG 5.3.1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1							
PWBG 7.1,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1						
SS 2.3.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1					
SS 3.1.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1				
SS 3.2.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1	1		
SS 4.3.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1	1	1
SS 6.3.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1
SS 8.2,	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	1

galur GSG (Sedayu Gresik) memiliki nilai kemiripan antara 0,9831, 3 galur PWBG (Bungah Gresik) memiliki nilai kemiripan antara 0,9831 dan 6 galur SS (Sumedang) memiliki nilai kemiripan antara 0,9831-1,00.

Nuryati *et al.* (2014) dalam penelitian menunjukkan bahwa dari 22 galur kacang Bogor yang digunakan sebagai bahan penelitian ini memiliki koefisien kemiripan antara 0,695-0,950 Berdasarkan hasil analisis kekerabatan dengan menggunakan

penanda morfologi menunjukkan bahwa koefisien kemiripan tertinggi 0,950.

Hal ini menunjukkan bahwa dengan menggunakan materi genetik yang sama dapat memberikan hasil analisis yang berbeda nilai koefisien kemiripan dan keragaman dengan menggunakan metode analisis yang berbeda.

Pada hasil RAPD koefisien kemiripan antara 0,9495-1,00, koefisien kemiripan hasil morfologi antara 0,695-0,950 dan pada hasil gabungan menunjukkan koefisien

kemiripan antara 0,90-0,97. Hal ini dapat dikatakan bahwa semua galur berkerabat dekat. Meskipun ada beberapa galur yang memiliki nilai koefisien yang relatif sama baik pada penanda RAPD, morfologi ataupun gabungan, akan tetapi dengan koefisien kemiripan yang tinggi tersebut sulit untuk dapat dilakukan pengelompokan untuk galur-galur yang memiliki nilai koefisien yang konstan pada berbagai penanda yang digunakan karena urutan nilai koefisien yang berubah-ubah dan relatif tinggi pada semua galur.

Rendahnya keragaman yang ada antar galur kacang Bogor dapat terjadi karena kacang Bogor yang dianalisis berasal dari latar belakang genetik yang sama. Analisis yang dilakukan oleh Pasquet *et al.* (1999) menunjukkan bahwa baik pada kacang Bogor liar atau yang telah didomestikasi memiliki keragaman genetik yang rendah, hal ini menunjukkan bahwa semua galur domestikasi berawal dari galur liar yang sama. Selain itu, Nuryati *et al.* (2014) juga menjelaskan bahwa selama eksplorasi benih kacang Bogor telah didapatkan informasi dari petani-petani bahwa benih yang ditanam di lahan mereka juga dibeli dari daerah lain, misalnya petani di daerah Gresik Jawa Timur juga membeli benih yang berasal dari Jawa Barat. Austi *et al.* (2014) menambahkan bahwa galur lokal kacang bamba yang dikoleksi dilakukan usaha penggaluran.

Rendahnya keragaman genetik dapat pula terjadi karena jenis tanaman autogami. Penyebarluasan oleh manusia dari satu tempat ke tempat lain dan rendahnya tingkat peningkatan keragaman secara seksual dapat menyebabkan rendahnya variasi antar populasi. Menurut Ren *et al.* (2004) tidak ada korelasi yang nyata antara jarak secara geografis dengan jarak genetik pada populasi beberapa jenis tanaman karena persebaran yang terjadi disebabkan karena introduksi yang dilakukan oleh manusia.

KESIMPULAN

Hasil optimasi 31 primer tunggal dan 8 primer campuran menghasilkan 5 primer terpilih dengan umlah band yang paling

banyak dan memiliki beberapa pita polimorfik yaitu 3 primer tunggal dan 2 primer campuran yang digunakan dalam amplifikasi. Hasil elektroforesis dengan menggunakan 5 primer terpilih dari screening primer menunjukkan beberapa pita polimorfis meskipun rata-rata persentase polimorfisme hanya 18,87 %. Tingginya homologi antar galur dapat disebabkan karena primer yang bersifat random. Koefisien kemiripan antar galur berkisar antara 0,9492-1,00. Koefisien kemiripan terkecil adalah 0,9492 antara kelompok 2 (galur CCC1.5) dengan 21 galur yang lain. Koefisien kemiripan dalam kelompok 2 adalah 0,983. Sementara koefisien kemiripan tertinggi dengan koefisien kemiripan 1 yaitu antara BBL6.1.1, BBL6.2.1, BBL6.3.1, dan BBL10.1, antara JLB 1, TKB 1 dan GSG 3.2.1, antara SS3.1.2, SS3.2.2 dan SS4.3.2 dan antara CCC1.41 dan SS6.3.2. Kemiripan yang tinggi dapat dimungkinkan karena galur-galur tersebut memiliki latar belakang genetik yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Kuswanto, MS. atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk dapat ikut serta dalam penelitian evaluasi keragaman kacang Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- Amadou, H.I., P.J. Bebeli, and P.J. Kaltsikes. 2001.** Genetic diversity in Bambara groundnut (*Vigna subterranea* L.) germplasm revealed by RAPD markers. *Canada J. Agriculture Science.* 44(6): 995-999.
- Austi, I.R., Damanhuri dan Kuswanto. 2014.** Keragaman dan Kekerbatan pada Proses Penggaluran Kacang Bogor (*Vigna subterranea* L. Verdcourt) Jenis Lokal. *J. Produksi Tanaman.* 2(1):73-79.
- Basu, SM, JA. Roberts, M. R. Davey, S. N. Azam-Ali, F.R. Mithen. 2004.** Towards genetic linkage mapping in bambara groundnut (*Vigna*

- subterranea* (L.) Verdc.). Proceedings of the Int. Symposium on Bambara Groundnut, Botswana College of Agriculture.
- Doku, E.V. and S.K. Karikari. 1971.** Bambara Groundnut. *J. Agriculture Science*. 25(3):225-262.
- Hu, J., J.V. Eysden, and C.F. Quiros. 1995.** Generation of DNA-based Markers in Specific Genome Regions by Two-primer RAPD Reactions. *Genome Research*. 4(10): 346-351.
- Kumar, N.S. and G. Gurusubramanian. 2011.** Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers and Its Application. *Science Vision*. 11(3):116-124.
- Kumari, N. and S.K. Thakur. 2014.** Randomly Amplified Polymorphic DNA: A Brief Review. *American J. Animal and Veterinary Science*. 9(1):6-13.
- Mukakalisa, C., 2010.** Molecular, Environmental And Nutritional Evaluation Of Bambara Groundnut (*Vigna Subterranea* (L.) Verdc.) For Food Production In Namibia. Ph.D. Thesis. The University Of Namibia. Namibia
- Nuryati, A. Soegianto and Kuswanto, 2014.** Genetic Relationship and Variability Among Indonesian Purified Local Lines of Bambara Groundnut (*Vigna Subterranea* (L.) Verdc.) Based on Morphological Characters. *African J. of Science and Research*. 5(3):18-24.
- Pasquet. R.S., S. Schwedes., and P. Gepts. 1999.** Isozyme Diversity in Bambara Groundnut. *Crop Science*. 39(10):1228-1236.
- Rachie, K.O and P. Silvester. 1977.** Grain Legumes. In: Food crop of the lowland Tropics, Leakey, C.L A, and T.B. Wiliany (eds), Oxford University Press, U.K. pp. 41-74.
- Ren, M.X., Q.G. Zhang and D.Y. Zhang. 2005.** Random amplified polymorphic DNA markers reveal low genetic variation and a single dominant genotype in *Eichhornia crassipes* populations throughout China. *European Weed Research Society Weed Research*. 45(5):236–244.
- Rungnoi, O., J. Suwanprasert, P. Somta and P. Srinives. 2012.** Molecular Genetic Diversity Of Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.) Revealed By Rapd and Issr Marker Analysis. *Sabrao J. Breeding Genetic*. 44 (1) 87-101.