

# ANALISIS KERAGAMAN GENETIK TANAMAN JARAK PAGAR LOKAL (*JATROPHA CURCAS* L.) BERDASARKAN PENANDA MOLEKULER *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA*

Maftuchah<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Pertanian dan Peternakan, Pusat Pengembangan Bioteknologi, Universitas Muhammadiyah Malang  
Alamat korespondensi : Jl. Raya Tlogomas Km. 8 Malang - 65144  
Telp. 0341. 464318-464319 (Ext. 165), Faximile (0341) 460782  
E-mail : maftuchah@telkom.net

## ABSTRACT

DNA based RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) markers have been used extensively to study genetic relationships in a number of fruit crops. A wide genetic diversity exists in the *Jatropha curcas* in Indonesia. Three accession of *Jatropha curcas* were selected to assess genetic relatedness. Total genomic DNA were extracted and subjected to RAPD analysis using 10 primers. Of these, 27 primers amplified *Jatropha curcas* genomic DNA. Cluster analysis clearly showed two groups, the first consisting ..... *Jatropha curcas* and the second groups consisting .....

Keywords : *Jatropha curcas*, RAPD, molecular marker

## PENDAHULUAN

Kebutuhan terhadap minyak bumi yang cenderung meningkat mengakibatkan semakin perlunya pemanfaatan sumber energi terbarukan sebagai bagian penting dalam program diversifikasi energi. Sebagai minyak nabati yang diperoleh dari tumbuhan, biodiesel memiliki beberapa keunggulan dibandingkan sumber energi lain yaitu lebih ramah lingkungan, efisiensi pembakaran lebih tinggi, *biodegradable*, dapat diperbarui serta meningkatkan independensi suplai bahan bakar karena dapat diproduksi secara lokal (BPPT, 2006). Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) termasuk famili Euphorbiaceae. Genus *Jatropha* memiliki 175 spesies dan lima spesies ada di Indonesia yaitu *Jatropha curcas* L., *Jatropha gossypifolia*, *Jatropha integerrima* Jacq., *Jatropha multifida* dan *Jatropha podagrica* Hook (Puslitbang Perkebunan, 2006). Kandungan minyak *Jatropha curcas* L. cukup tinggi sehingga dapat digunakan untuk substitusi minyak diesel atau solar (Puslitbang Perkebunan, 2006).

Dalam upaya penyediaan biji jarak pagar sebagai bahan baku biodiesel perlu tersedia teknologi budidaya dan varietas unggul, namun hingga saat ini belum ada varietas unggul yang memadai (Dwimahyani, 2005 ; Sudarmo *et.al.*, 2007). Di Indonesia belum ada varietas maupun klon unggul jarak pagar yang dihasilkan sehingga sumber benih masih mengandalkan pengumpulan dari berbagai daerah (Hariyadi, 2005). Indonesia memiliki keragaman plasma nutfah jarak pagar yang sangat tinggi, namun variasi tersebut diduga hanya disebabkan oleh perbedaan wilayah yang melahirkan ekotipe-ekotipe tertentu (Hasnam, 2006).

Perbaikan varietas tanaman dapat dilaksanakan jika ada sumber plasma nutfah yang memadai. Keragaman plasma nutfah jarak pagar lokal akan dapat dimanfaatkan untuk perbaikan varietas apabila telah tersedia informasi tentang keragaman genetik dan pola hubungan kekerabatan antara varietas jarak pagar yang satu dengan lainnya baik secara fenotipik maupun molekuler. Disamping itu penggunaan penciri molekuler dapat membantu pemilihan tetua persilangan yang memiliki perbedaan tinggi secara genetik (Correa,

1999) dan melalui pemakaian penciri molekuler diharapkan ketepatan proses seleksi dapat ditingkatkanserta efisiensi waktu seleksi (Jianhua, *et al.*, 1996 ; Arus and Morino- Gonzales, 1993). Teknik molekuler telah memberikan peluang pengembangan dan identifikasi peta genetik species tanaman. Pendekatan genetika molekuler menggunakan penciri DNA telah berhasil membentuk penanda molekuler yang mampu mendeteksi gen dan sifat-sifat tertentu, evaluasi keragaman, kekerabatan serta adanya evolusi pada tingkat genetik (Hoon-Lim *et al.* 1999).

Analisis RAPD menggunakan primer sepuluh basa sering digunakan untuk studi kekerabatan dan identifikasi varietas (CIMMYT, 1998) pemetaan genetik, analisis struktur DNA organisme dan *fingerprinting* suatu individu (Maftuchah, 2001). Liu dan Furnier (1993) melaporkan penggunaan RAPD selalu memperlihatkan keragaman lebih tinggi daripada alozim dan RFLP, sehingga sangat mendukung upaya analisis keragaman genetik jika latar belakang genomnya belum diketahui. Teknik RAPD telah digunakan untuk meningkatkan efisiensi seleksi dini pada tanaman tahunan (Grattapaglia *et al.* 1992). Analisis molekuler RAPD juga telah dipergunakan untuk mengembangkan sidik jari dan hubungan genetik (Maftuchah, 2001).

Berbagai penelitian awal telah dilaksanakan di Pusbang Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang bekerja sama dengan Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (BALITTAS) Karangploso Malang. Dari berbagai penelitian pendahuluan telah diperoleh prosedur isolasi DNA yang menghasilkan DNA genom jarak pagar dengan kualitas cukup baik untuk proses PCR (Zainudin dan Maftuchah 2006), rangkaian suhu PCR yang optimal serta beberapa primer RAPD yang sesuai dalam proses amplifikasi DNA tanaman jarak pagar (Maftuchah dan Zainudin, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang keragaman genetik tiga aksesori jarak pagar lokal (Karangtengah, Nusa Tenggara Barat serta Lamongan) dengan menggunakan penanda molekuler *Random Amplified Polymorphic DNA*.

## METODE PENELITIAN

Kegiatan penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Pengembangan Bioteknologi - Universitas Muhammadiyah Malang pada bulan Desember 2006 – Juli 2007. Dalam penelitian ini dipergunakan tiga aksesori tanaman jarak pagar lokal (Karangtengah, Nusa Tenggara Barat serta Lamongan) yang diperoleh dari kebun koleksi tanaman jarak pagar Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (BALITTAS) – Karangploso Malang.

Ekstraksi DNA dilaksanakan dengan menggunakan metode Zheng *et.al.*, (1995) menggunakan bufer pengektak SDS (*sodium dodecyl sulphate*) yang dimodifikasi (Zainudin & Maftuchah, 2006). DNA yang diperoleh selanjutnya diukur konsentrasinya dan diamati dengan menggunakan 0,8 % gel agarose.

Sampel DNA dari masing-masing aksesori jarak pagar selanjutnya dipergunakan sebagai *template* dalam reaksi PCR - RAPD menggunakan serangkaian suhu PCR dengan total reaksi 45 siklus (Maftuchah dan Zainudin, 2006). Dalam penelitian ini proses PCR - RAPD dilaksanakan dengan menggunakan empat belas primer hasil seleksi awal (Maftuchah dan Zainudin, 2006), dimana masing-masing primer berukuran sepuluh basa (OPA 2, OPA 9, OPA 10, OPA 13, OPA 15, OPA 18, OPA 19, OPA20, OPF 6, OPF 8, OPF 10, OPF 13, OPF 15 dan OPF 18) (Operon Technol). Produk amplifikasi PCR yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1,2 % dan pola pita sidik jari DNA hasil PCR yang diperoleh dibandingkan dengan menggunakan standard penanda 100 bp. Gell hasil elektroforesis divisualisasikan di atas transiluminator ultra violet dan didokumentasikan dengan film Polaroid 665.

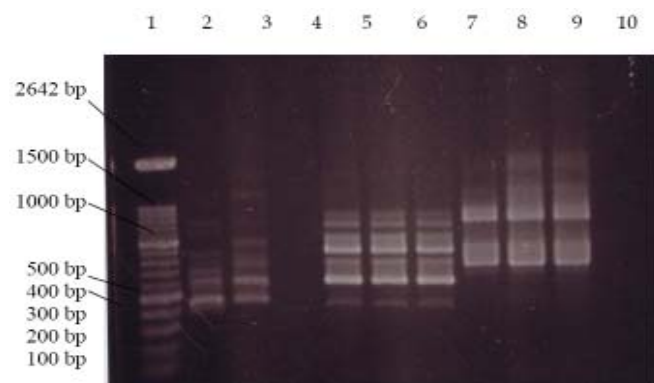
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman plasma nutfah jarak pagar lokal akan dapat dimanfaatkan untuk perbaikan varietas apabila telah tersedia informasi tentang keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antara aksesori tanaman jarak pagar yang satu dengan lainnya baik secara fenotipik maupun molekuler. Dalam



Primer OPA 15 dan primer OPA 19 memberikan pola pita DNA yang serupa pada aksesori Karangtengah dan Lamongan (Gambar 3). Gambar 4 menunjukkan bahwa primer OPA 10 memberikan sejumlah 7 pita pada tanaman jarak pagar aksesori Karangtengah dan 9 pita pada tanaman aksesori

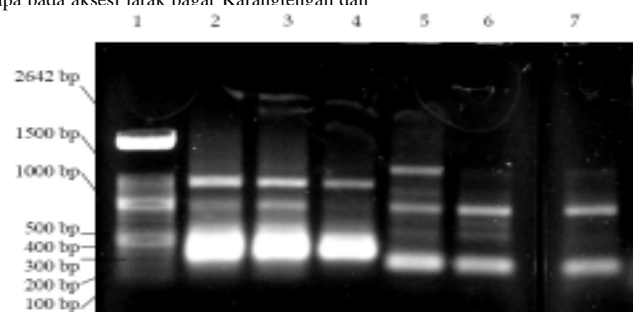
Lamongan. Dua primer lainnya (OPA 18 ; OPA 20) memberikan pola pita DNA yang serupa pada ketiga aksesori tanaman jarak pagar Karangtengah, Lamongan dan NTB dengan sebaran ukuran pita-pita DNA yang dihasilkan antara 400 bp – 2642 bp.



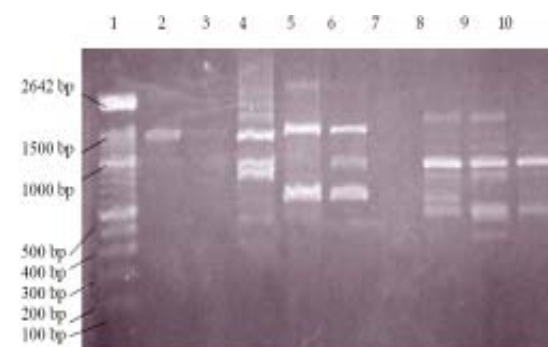
Gambar 4. Sidik jari DNA jarak pagar lokal dengan menggunakan primer RAPD : Penanda 100 bp ladder (Baris 1), Karangtengah - OPA 10 (Baris 2), Lamongan-OPA 10 (Baris 3), NTB-OPA 10 (Baris 4), Karangtengah-OPA 18 (Baris 5), Lamongan- OPA 18 (Baris 6), NTB- OPA 18 (Baris 7), Karangtengah-OPA 20 (Baris 8), Lamongan- OPA 20 (Baris 9), NTB-OPA 20 (Baris 10).

Gambar 5 menunjukkan bahwa pemakaian primer OPF 8 menghasilkan pola pita DNA yang serupa pada aksesori jarak pagar Karangtengah dan

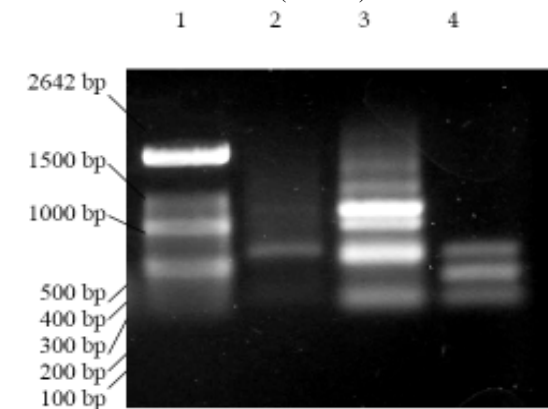
aksesi Lamongan dengan ukuran pita DNA berkisar antara 200 bp – 1500 bp.



Gambar 5. Sidik jari DNA jarak pagar lokal dengan menggunakan primer RAPD : Penanda 100 bp ladder (Baris 1), Karangtengah – OPF 8 (Baris 2), Lamongan-OPF 8 (Baris 3), NTB - OPF 8 (Baris 4), Karangtengah - OPF 10 (Baris 5), Lamongan - OPF 10 (Baris 6), NTB - OPF 10 (Baris 7)

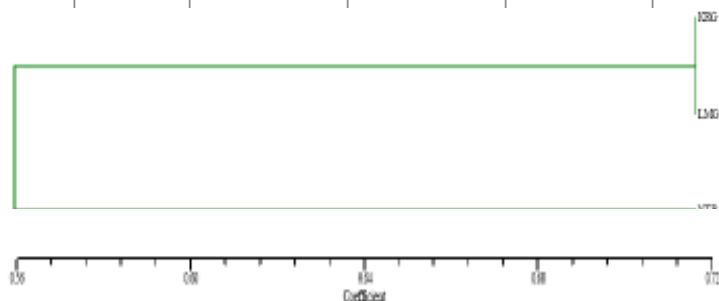


Gambar 6. Sidik jari DNA jarak pagar lokal dengan menggunakan primer RAPD : Penanda 100 bp ladder (Baris 1), Karangtengah – OPF 6 (Baris 2), Lamongan-OPF 6 (Baris 3), NTB - OPF 6 (Baris 4), Karangtengah - OPF 13 (Baris 5), Lamongan - OPF 13 (Baris 6), NTB - OPF 13 (Baris 7), Karangtengah - OPF 15 (Baris 8), Lamongan - OPF 15 (Baris 9), NTB - OPF 15 (Baris 10).



Gambar 7. Sidik jari DNA jarak pagar lokal dengan menggunakan primer RAPD : Penanda 100 bp ladder (Baris 1), Karangtengah – OPF 16 (Baris 2), Lamongan-OPF 16 (Baris 3), NTB - OPF 16 (Baris 4)

	Karangtengah	Lamongan	NTB
OPA 2	7	9	3
OPA 9	-	11	9
OPA 10	7	9	1
OPA 13	9	9	7
OPA 15	5	5	4
OPA 18	7	7	7
OPA 19	7	7	-
OPA 20	6	6	6
OPF 6	1	-	7
OPF 8	5	5	4
OPF 10	6	6	5
OPF 13	5	4	-
OPF 15	7	7	5
OPF 16	3	6	3
OPA 2	7	9	3



**Gambar 8. Kurva analisis kekerabatan antara tanaman jarak pagar aksesi NTB, Karang tengah dan Lamongan dengan menggunakan penanda molekuler RAPD**

Analisis *RAPD* menggunakan primer sepuluh basa telah banyak dipergunakan dalam analisis keragaman genetik dan identifikasi variasi genetik berbagai varietas tanaman (CIMMYT, 1998), pemetaan genetik, analisis struktur DNA organisme dan *fingerprinting* suatu individu tanaman (Maftuchah, 2001). Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan pola pita dari ketiga aksesi jarak pagar yang diuji melalui pemakaian primer OPF 6,

OPF 13, OPF 15 (Gambar 6) dan primer OPF 16 (Gambar 7). Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan adanya variasi genetik dari ketiga aksesi jarak pagar lokal yang diuji dengan menggunakan primer OPA maupun OPF. Namun ada dua primer (OPA 18 dan OPA 20) yang tidak mampu menunjukkan adanya perbedaan diantara ketiga aksesi tersebut dalam reaksi PCR.

Gambar 12 menunjukkan hasil analisis kekerabatan aksesi Lamongan dan Karangtengah memiliki tingkat kekerabatan yang lebih dekat (dengan nilai koefisien 0,72) dan kedua aksesi tersebut memiliki kekerabatan dengan koefisien 0,56 jika dibandingkan terhadap aksesi NTB.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

1. Dari 14 primer RAPD yang diuji (OPA 2, OPA 9, OPA 10, OPA 13, OPA 15, OPA 18, OPA 19, OPA 20, OPF 6, OPF 8, OPF 10, OPF 13, OPF 15, dan OPF 16) telah diperoleh total sejumlah 75 pita DNA pada jarak pagar Karangtengah, 91 pita pada aksesi Lamongan dan 60 pita pada aksesi NTB, dengan ukuran pita DNA yang dihasilkan antara 200 bp sampai 2642 bp.
2. Secara umum pemakaian primer OPA memberikan jumlah pita DNA yang lebih banyak daripada primer OPF.
3. Pemakaian primer OPA 13, OPA 15, OPA 19 dan OPF 8 tidak memberikan perbedaan pola pita DNA antara jarak pagar aksesi Karangtengah dan jarak pagar aksesi Lamongan, namun menunjukkan adanya perbedaan pola pita DNA pada jarak pagar aksesi NTB.
4. Primer OPA 18 dan OPA 20 memberikan pola pita DNA yang serupa pada ketiga aksesi tanaman jarak pagar yang diuji
5. Aksesi Lamongan dan Karangtengah memiliki tingkat kekerabatan yang lebih dekat (dengan nilai koefisien 0,72) dan kedua aksesi tersebut memiliki tingkat kekerabatan dengan koefisien 0,56 terhadap aksesi NTB.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arus, P. And J. Moreno-Gonzales. 1993. Marker assisted selection. In: Hayward, MD., NO. Bosemark, and I. Romagosa (Eds). *Plant Breeding : Principles and Prospects*. Chapman and Hall. London. P. 314-331
- BPPT. 2006. Biodiesel. <http://ec.bppt.go.id/biodiesel/index.htm>
- CIMMYT. 1998. Molecular Marker Applications to Plant Breeding. In: *Amboinet's First*

*Training Workshop*, 9 November-4 Desember, El Batan, Mexico. 76 p.

Correa, R. X., Ricardo V. A., Fabio G. F. Cosme D. C., Maurilio A. M., dan Everaldo G. B., 1999. *Genetic Distance in Soybean Based on RAPD Markers*. <http://www.scielo.br/scielo.php> diakses 22 April 2004.

Dwimahyani, I. 2005. Pemuliaan mutasi tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). <http://www.ristek.go.id/index.php?mod=News&conf=v&id=972>. Diakses 6 Desember 2006

Grattapaglia D., J. Chaparro, P. Wilcox, S. McCord, D. Werner, H. Amerson, S. McKeand, F. Bridgwater, R. Whetten, D. O'Malley and R. Sederoff. 1992. Mapping in woody plants with RAPD markers : Application to breeding in forestry and horticulture. P. 37-40. in. *Application of RAPD technology to plant breeding Symposia Series*. Minneapolis, 1 Nov 1992.

Hariyadi. 2005. Budidaya Tanaman jarak (*Jatropha curcas* L.) sebagai sumber bahan alternatif biofuel. Lokakarya prospektif sumberdaya lokal bioenergi. KNRT-Puspittek Serpong. Jakarta 14-15 September 2007. <http://www.ristek.go.id/index.php?mod=News&conf=v&id=968>. Diakses 6 Desember 2006.

Hasnam. 2006. Variasi *Jatropha curcas* L. Infotek Jarak Pagar. Volume 1, No. 2, Februari 2006. [http://perkebunan.litbang.deptan.go.id/index.php?Option=com\\_content&task=view&id=38&Itemid=7](http://perkebunan.litbang.deptan.go.id/index.php?Option=com_content&task=view&id=38&Itemid=7)

Hoon-Lim S, Peng Teng PC, Lee YH, and Goh CJ. 1999. RAPD analysis of some species in the genus vanda (orchidaceae). *Annals of Botany*. 83:193-196.

Jianhua, Z., M. B. McDonald dan P. M. Sweeney, 1996. Soybean cultivar identification using RAPD. *Seed Science Technology*, 24:589-592.

Liu Z and Furnier GR. 1993. Comparison of allozyme, RFLP and RAPD markers for revealing genetic variation within and between Trembling Aspen and Bigtooth Aspen. *Theor. Appl. Genet.* 87:97- 105.

Maftuchah dan Zainudin, A. 2006. Optimasi proses *Polimerase Chain Reaction* DNA genom tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L). Laporan Penelitian. Program Penelitian Dasar Keilmuan (PDK). DPP-Universitas Muhammadiyah Malang. 76 hal.

Maftuchah. 2001. Strategi pemanfaatan penanda molekuler dalam perkembangan bidang hortikultura. Makalah Sarasehan Pemanfaatan Penanda Molekuler di Bidang Hortikultura. IndoBIC. Bogor.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2006. Infotek Jarak Pagar Volume 1, Nomor 2, Februari 2006. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.

Sudarmo, Heliyanto, B., Suwarso, dan Sudarmadji. 2007. Aksesibilitas potensial jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Prosiding Lokakarya II: Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar di Bogor, 29 Nopember 2006. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.

Zainudin dan Maftuchah. 2006. Pengembangan metode isolasi DNA genom pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L). *GAMMA Jurnal Ilmu Eksakta*, Volume 2 Nomor 1.

Zheng K, Huang N, Bennet P. and Khush GS. 1995. PCR-based marker assisted selection in rice breeding. *IRRI news lett* 2.