

# Analisis Keragaman Genetik Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Menggunakan Penanda Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

Dini Damayanti<sup>1)</sup>, Teuku Tajuddin<sup>2)</sup>, Devit Purwoko<sup>3)</sup>, Imam Civi Cartealy<sup>4)</sup>, Siti Zulaeha<sup>5)</sup>, Suharsono<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Bioteknologi Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor, Jawa Barat.

<sup>2)</sup>Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT, Gedung 630, Kawasan Puspiptek, Tangerang Selatan, Banten.

<sup>3)</sup> Staf Pengajar Program Studi Bioteknologi IPB, Bogor, Jawa Barat.

E-mail: vito@biotek.bppt.go.id

## Abstract

*Curcuma xanthorrhiza* Roxb, which is well-known as Java turmeric, has been extensively used in pharmaceutical industries in Indonesia. In spite of this commercial value, the identity of this species is commonly mistaken from other similar orange rhizomes *Curcuma*. Correct identity of these species is vital in pharmaceutical industries. The objective of the study was to determine genetic diversity of 32 accession *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Genomic DNA was extracted from leaf using Sodium Dodesyl Sulphate (SDS) modification. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) was carried out according to the protocol of AFLP™ plant mapping kit and the final polymerase chain reaction (PCR) products were separated using The Agilent 2100 Bioanalyzer. The number of fragment produced by 12 pairs primer combination of AFLP ranged from 42 to 60 with an average of 52. Data obtained was analyzed by the NTSys program. From the AFLP amplification on 32 DNA samples, it was proven that the accession of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. had a high degree of diversity. Based on analysis of AFLP and unweighted pair group with arithme average (UPGMA) it was shown that the accession of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. could be grouped into two cluster at relative ecludian distance of 0.10 (10%). Cluster I for accession from Palembang, Pacitan and Ciamis 2. Cluster II for accession from Makale, Pontianak, Kulonprogo, Mataram, Boyolali, Salatiga, Sumberejo, Bali, P. Seram, Sentolo, Purworejo, Samas Bantul, Ciamis1, Blora, Semarang, Poso, Kalsesl, Tagari, Merapi Farm, Salakaria, NTB, Menoreh, Karang Anyar, Mangunan, Medan, Toraja, dan Solok.

**Kata Kunci:** aksesi Lokal, AFLP, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., marker molekuler, variasi genetik

## 1. PENDAHULUAN

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman obat yang dikenal sebagai *Java tumeric* dan secara tradisional digunakan di negara-negara Asia Tenggara untuk makanan dan obat. Temulawak memiliki aroma khusus dan sedikit rasa pahit. Rimpang temulawak ini yang digunakan sebagai bahan baku utama obat-obatan karena mengandung minyak atsiri, resin, kurkumin, lemak, kamfer, serat kasar dan kalsium klorida. Tanaman ini termasuk dalam famili Zingiberaceae yang potensial untuk dikembangkan. Disamping memiliki prospek pasar regional maupun internasional, tanaman ini juga menempati urutan pertama sebagai tanaman yang dibutuhkan dalam jumlah besar sebagai

bahan baku industri obat tradisional, fitofarmaka, bahan makanan, minuman penyegar dan lain sebagainya.

Penelitian temulawak telah banyak dilakukan, baik di Indonesia maupun di negara lain, mulai dari kandungan senyawa aktif hingga khasiatnya yang telah terbukti secara empiris dan medis. Manfaat temulawak diantaranya sebagai sistem imunitas atau pertahanan tubuh (Hargono 1996), sebagai komponen pengatur haid (Nurendah *et al.* 1996), mengatasi keputihan, dan sebagai bahan kosmetika (Dzulkarnain & Wahjoedi 1996).

Tanaman Temulawak di Indonesia tersebar di Jawa, Sumatera, Kalimantan, Bali, Sulawesi, Maluku, dan Nusa Tenggara. Tanaman dengan asal daerah yang berbeda cenderung memiliki persentase kandungan metabolit (misal kurkumin,

demetoksikurkumin dan xanthorrhizol) yang berbeda pula (Tajuddin *et al.* 2008). Temulawak yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia tersebut, secara morfologi sulit dibedakan. Menurut Istafid (2006), temulawak sulit dibedakan secara fenotipik, sehingga karakterisasi dilakukan secara molekuler. Metode biologi molekuler dapat digunakan untuk analisis keragaman, karena masing-masing individu memiliki urutan DNA yang berbeda (polimorfisme). Informasi urutan DNA dapat digunakan untuk mempelajari perbedaan genetik dan hubungan kekerabatan antara individu dan jenis organisme (Weising *et al.* 2005).

Informasi keragaman genetik temulawak ini diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi temulawak Indonesia (Poerba & Yuzammi 2008) dan salah satu cara untuk melindungi plasma nutfah Indonesia khususnya tanaman obat temulawak. Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, temulawak telah ditentukan sebagai salah satu dari Sembilan tanaman unggulan Indonesia (Sembiring *et al.* 2006).

Ada beberapa metode penanda DNA yang dapat digunakan, diantaranya adalah AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). Teknik AFLP merupakan suatu teknik untuk membuat sidik jari DNA genom. Menurut Mueller dan Wolfenbarger (1999), AFLP dapat mendeteksi variasi dan keragaman genetik pada makhluk hidup pada tingkat antar individu, spesies, dan populasi berdasarkan kesamaan atau perbedaan pola pita. Prinsip dasar teknik AFLP adalah mengamplifikasi secara selektif fragmen hasil pemotongan dengan dua enzim restriksi. Polimorfisme dapat dideteksi dari perbedaan letak situs pemotongan dua enzim restriksi (*EcoRI* dan *MseI*) dan komposisi basa pada primer selektif (Invitrogen 2003).

Teknik AFLP sangat efisien untuk identifikasi polimorfisme DNA karena banyak fragmen restriksi yang dapat terdeteksi (Vos *et al.* 1995). Hasil AFLP berupa fragmen yang terseleksi, kurang lebih 50-100 fragmen per reaksi. Fragmen tersebut dihasilkan dari pemotongan enzim restriksi yang diikuti ligasi adaptor dan amplifikasi. Teknik AFLP telah banyak dipergunakan untuk

keperluan identifikasi keragaman genetik berbagai tanaman seperti pisang (Nadiya AA *et al.* 2010), temulawak (ELIŠKA ZÁVESKÁ *et al.* 2011), walnut (Zheng Xu *et al.* 2012).

Keunggulan teknik AFLP adalah dapat mendeteksi polimorfisme pada tanaman tanpa memerlukan informasi urutan basa genom. Selain itu, teknik AFLP memiliki tingkat *reproducible* yang tinggi berdasarkan amplifikasi selektif fragmen hasil digesti genom, yaitu bila diulang cenderung menghasilkan hasil yang sama (Mueller & Wolfenbarger 1999). Teknik AFLP mampu menganalisis genom secara menyeluruh sehingga dihasilkan informasi yang memadai untuk menganalisis polimorfisme tanaman (Mba & Tohme 2005). Penanda AFLP terdiri atas susunan basa-basa situs pengenalan enzim, primer selektif yang tersebar luas pada seluruh bagian genom. Hasil pita polimorfis yang didapatkan relatif banyak. Sedangkan kelemahan dari teknik AFLP adalah pita yang didapatkan tidak dapat diinterpretasikan dalam alel atau lokus tertentu.

Beberapa penelitian mengenai keragaman genetik temulawak telah dilakukan. Penelitian Santiana (2010) menunjukkan bahwa berdasarkan sekuen daerah *matK* dan *intergenic spacer* (IGS) *trnS-trnfM* sampel temulawak dari beberapa daerah di Indonesia mempunyai keragaman genetik. Penelitian mengenai eksplorasi genetik temulawak dengan metode AFLP juga telah dilakukan oleh Tajuddin *et al.* (2011) pada 13 aksesori dari berbagai daerah. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian Tajuddin *et al.* (2011) yang bertujuan untuk melihat keragaman genetik terhadap 32 aksesori temulawak yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia menggunakan marka AFLP.

## 2. BAHAN DAN METODE

**Waktu dan Tempat.** Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2011 sampai Februari 2012 di Laboratorium Teknologi Gen, Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT, Serpong.

**Bahan.** Sampel Temulawak yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari beberapa daerah di Indonesia (Tabel 1).

Tabel 1. Aksesori temulawak yang digunakan

No.	Kode	Aksesori	Lokasi
1.	A	Solok	Padang, Sumatera Barat
2.	B	Medan	Sumatera Utara
3.	C	Palembang	Sumatera Selatan
4.	D	Ciamis1	Ciamis, Jawa Barat
5.	E	Ciamis2	Ciamis, Jawa Barat
6.	F	Salakaria	Ciamis, Jawa Barat
7.	G	Kalisanta	Ciamis, Jawa Barat
8.	H	Karang Anyar	Karang Anyar, Jawa Barat
9.	I	Merapi Farm	Jogjakarta
10.	J	Semarang	Semarang, Jawa Tengah
11.	K	Salatiga	Salatiga, Jawa tengah
12.	L	Sumberejo	Sumberejo, Jawa Timur
13.	M	Blora	Blora, Jawa Tengah
14.	N	Mangunan	Jogjakarta
15.	O	Samas Bantul	Jogjakarta
16.	P	Tagari	Jawa Tengah
17.	Q	Boyolali	Jawa Tengah
18.	R	Purworejo	Jawa Tengah
19.	S	Kulonprogo	Jawa Tengah
20.	T	Menoreh	Jawa Tengah
21.	U	Sentolo	Jogjakarta
22.	V	Pacitan	Jawa Timur
23.	W	Kebun Raya Bali	Bali
24.	X	Kalsel	Kalimantan Selatan
25.	Y	Argomulyo	Kalimantan Timur
26.	Z	Pontianak	Kalimantan Barat
27.	AA	NTB	Nusa Tenggara Barat
28.	AB	Poso	Sulawesi Tengah
29.	AC	Toraja	Sulawesi Selatan
30.	AD	Mataram	Nusa Tenggara Barat
31.	AE	Makale	Sulawesi Selatan
32.	AF	P. Seram	Maluku

Bahan yang digunakan Sodium Dodesil Sulfat (SDS), Poly Vinyl Poly Prolidon (PVPP), hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB), EDTA, Tris HCl, NaCl,  $\beta$  Merkaptotanol, RNase, Isopropanol, Kloroform, *EcoR* I, *Mse* I, Taq DNA polymerase dan T4 DNA ligase.

**Alat-alat.** Alat-alat yang digunakan adalah pipet (eppendorf) 1- 1000  $\mu$ l, sentrifuse (Beckman J2-HS, KUBOTA, dan Tommy), mesin PCR (Takara) dan mesin elektroforesis (The Agilent 2100 Bioanalyzer).

## 2.1 Isolasi DNA

Isolasi DNA genom temulawak dilakukan dengan metode Sodium Dodesil Sulfat (SDS) (Angeles *et al.* 2005) yang dimodifikasi. Sampel daun temulawak dicuci dengan ddH<sub>2</sub>O. Setelah itu, 0,2

g sampel daun dipotong hingga kecil-kecil (0.5 - 0.7 cm). Potongan kecil daun tersebut kemudian ditambahkan 0.05 g Poly Vinyl Poly Prolidon (PVPP). Campuran tersebut digerus hingga halus dan dimasukkan ke dalam tabung *falcon*. Selanjutnya, 2 ml *dapar* ekstrak (10% (v/v) CTAB, 0.5 M EDTA, 1 M Tris-HCl, 5 M NaCl, akuades steril) dan 1% (v/v) merkaptotanol ditambahkan ke dalam suspensi jaringan daun yang sudah digerus, kemudian campuran tersebut diinkubasi pada suhu 65 °C selama 15 menit. Campuran yang didapat dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml. *Dapar* ekstrak ditambahkan lagi ke dalam tabung *falcon* hingga volume keseluruhan menjadi 6 ml. Setelah itu, campuran tersebut ditambah dengan SDS 20% (v/v) sebanyak 6% volume dari total 360  $\mu$ l, kemudian di vortex. Selanjutnya, sampel dalam tabung

*falcon* 15 ml diinkubasi pada suhu 65 °C selama 1 jam. Sampel kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 g [Beckman J2-HS, KUBOTA & Tommy] selama 15 menit. Larutan yang jernih (supernatan) diambil ( $\pm$  2 ml), kemudian dipindahkan ke tabung *falcon* 15 ml yang baru. Larutan 5 M Kalium Asetat sebanyak 1/3 volume (670  $\mu$ l) ditambahkan pada supernatan. Campuran larutan tersebut dikocok dan kemudian diinkubasi selama 15 menit dalam *freezer* pada suhu -20 °C. Langkah berikutnya, tabung sentrifugasi 15 ml yang mengandung sampel disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 5800 g (Beckman J2-HS, KUBOTA & Tommy), lalu ditambahkan isopropanol sebanyak 2/3 volume sampel. Setelah itu, tabung diinkubasi pada suhu -20°C selama 14 jam. Sampel dalam tabung disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5800 g [Beckman J2-HS, KUBOTA & Tommy] selama 15 menit. Cairan dibuang endapannya, dan ditambah dengan 500  $\mu$ l Triethanol Dapar (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA).

Kontaminan RNA dalam sampel dihilangkan dengan penambahan enzim RNase sebanyak 1/100 volume sampel dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Larutan kloroform isoamilalkohol (24:1) ditambahkan pada sampel tersebut sebanyak volume sampel. Larutan dihomogenkan secara perlahan, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 11,000 g [Beckman J2-HS, KUBOTA & Tommy] selama 10 menit. Cairan yang berada di lapisan atas dipindahkan ke tabung *Eppendorf* 1,5 ml yang baru. Sampel ditambahkan isopropanol sebanyak volume sampel dan selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu -20 °C. Setelah itu, sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 11,000 g [Beckman J2-HS, KUBOTA & Tommy] selama 10 menit. Endapan kemudian dikeringkan, lalu ditambahkan dengan 25  $\mu$ l Triethanol Dapar (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA). Hasil isolasi DNA disimpan pada suhu -20 °C dan digunakan sebagai bahan untuk tahap selanjutnya.

## 2.2 Analisis AFLP

Genom DNA sebanyak 50 ng dipotong dengan sepasang enzim restriksi (*EcoR* I dan *Mse* I). Adaptor *EcoR* I, *MSe* I dan 1 unit T4 DNA ligase kemudian ditambahkan ke dalam reaksi pada suhu 37 °C selama 2 jam dan dilanjutkan dengan suhu 65 °C selama 20 menit. Hasil ligasi diencerkan 1:10, kemudian dipakai sebagai cetakan untuk Pre-Amplifikasi. Reaksi Pre-Amplifikasi terdiri dari 3  $\mu$ l DNA hasil ligasi, 2.5  $\mu$ l Taq dapar, 1 U Taq DNA pol, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM dNTPs, 10 pmol primer *Mse*-C, 10 pmol primer *Eco*-A dan H<sub>2</sub>O steril. Amplifikasi dilakukan

menggunakan thermocycle dengan tahapan program sebagai berikut: 72 °C selama 2 menit, 94 °C selama 30 detik, 56 °C selama 30 detik, 72 °C selama 2 menit, kembali dari tahap 94 °C selama 29 kali, dan 60 °C selama 10 menit.

Setelah diamplifikasi, hasil diencerkan 1:10, dan diamplifikasi selektif menggunakan 12 kombinasi primer (Tabel 2).

Tabel 2. Kombinasi primer yang digunakan

Kombinasi primer	Kode
EcoRI+AAC – MseI+CTG	EAAC-MCTG
EcoRI+AAC – MseI+CAA	EAAC-MCAA
EcoRI+AAC – MseI+CTA	EAAC-MCTA
EcoRI+AAC –MseI+ CTC	EAAC-MCTC
EcoRI+AAC – MseI+CAG	EAAC-MCAG
EcoRI+AAC – MseI+CAC	EAAC-MCAC
EcoRI+ACA – MseI+CTG	EACA-MCTG
EcoRI+ACA – MseI+CAA	EACA-MCAA
EcoRI+ACA – MseI+CTA	EACA-MCTA
EcoRI+ACA – MseI+CTC	EACA-MCTC
EcoRI+ACA – MseI+CAG	EACA-MCAG
EcoRI+ACA – MseI+CAC	EACA-MCAC

5  $\mu$ l hasil preamplifikasi dicampur dengan 2,5  $\mu$ l Taq dapar, 0.04 U Ampli Taq gold, 25mM MgCl<sub>2</sub>, primer terpilih 10 pmol *Mse* I dan 10 pmol *EcoRI*, dan H<sub>2</sub>O steril sampai volume 25  $\mu$ l. Campuran kemudian dicampur secara perlahan dan disentrifugasi singkat untuk menurunkan seluruh cairan di dalam tabung. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan PCR. Program yang digunakan adalah sebagai berikut: satu siklus 94 °C selama 2 menit, 94 °C selama 30 detik, 65 °C selama 30 detik dan 72 °C selama 2 menit. Tahap berikutnya adalah suhu *annealing* diturunkan 0,7 °C selama 12 siklus dan 23 siklus berikutnya PCR dilakukan dengan suhu 94 °C selama 30 detik, suhu 56 °C selama 30 detik, dan suhu 72 °C selama 60 detik dan diakhiri dengan suhu 4 °C. Pemisahan pita-pita hasil amplifikasi dilakukan dengan menggunakan alat The Agilent 2100 Bionalyzer.

### 2.3 Analisis Data AFLP

Profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan 1 untuk munculnya pita DNA pada satu posisi yang sama dari aksesori yang dibandingkan. Kesamaan genetik dibuat dalam bentuk matrik dengan *similarity for qualitative data* (SIMQUAL), kemudian klastering dilakukan dengan sub program SAHN dengan metode *Unweigh Pair Group Method with Arithmetic* (UPGMA) program NTSYS-pc 2.02 (Rohlf 1998).

EAAC-MCTC	53
EAAC-MCAG	55
EAAC-MCAC	60
EACA-MCTG	51
EACA-MCAA	50
EACA-MCTA	42
EACA-MCTC	50
EACA-MCAG	47
EACA-MCAC	54
Jumlah	621
Rata-rata	52

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

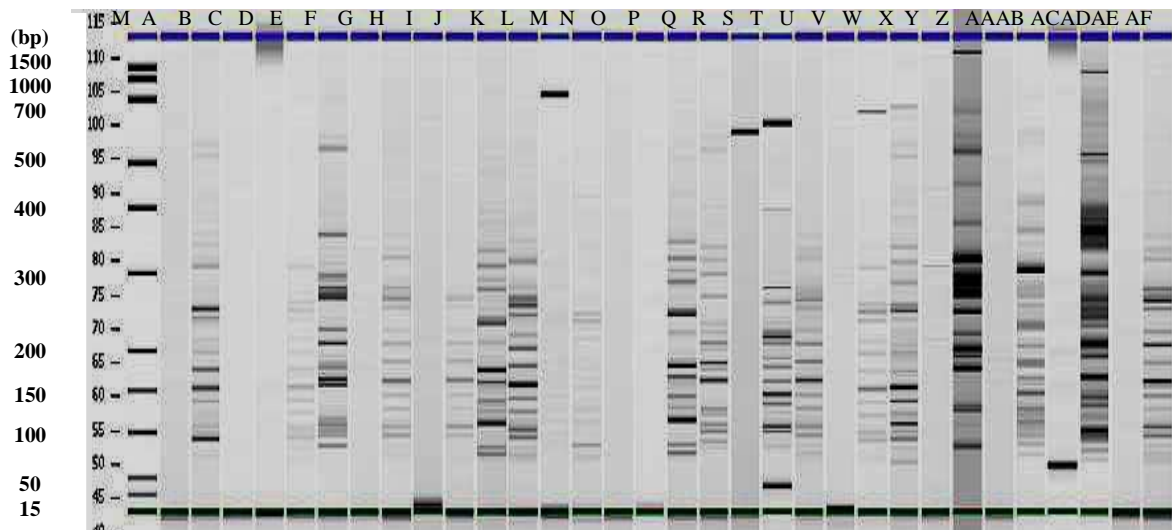
### 3.1 Analisis Profil pita AFLP

DNA genom dari 32 aksesori temulawak yang berkualitas tinggi sangat dibutuhkan untuk analisis AFLP (Vos *et al.* 1995), karena DNA yang utuh dan murni dapat memudahkan enzim endonuklease restriksi bekerja memotong DNA sesuai dengan situs pengenalannya (Nathans & Smith 1975). Hal ini sangat penting karena salah satu kriteria analisis menggunakan penanda AFLP ialah persamaan dan perbedaan situs pengenalan enzim endonuklease restriksi yang dapat menghasilkan ukuran fragmen DNA yang berbeda antara 50-100 pita DNA (Vos *et al.* 1995). Amplifikasi DNA 32 aksesori temulawak dengan 12 kombinasi primer menghasilkan jumlah pita seperti yang terlihat pada Tabel 3.

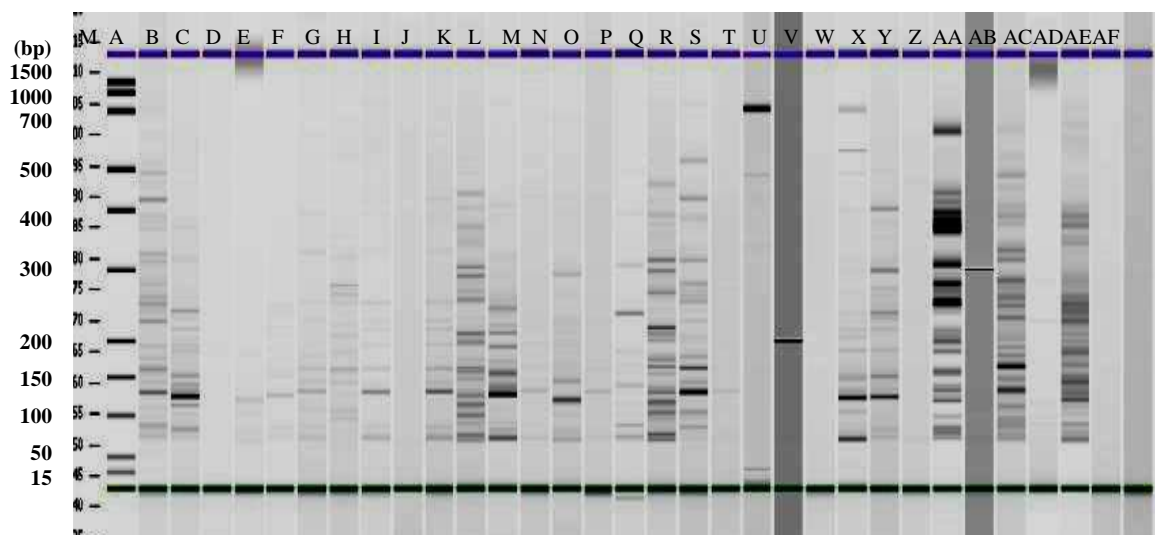
Tabel 3. Jumlah pita hasil amplifikasi pada setiap kombinasi primer AFLP

Kombinasi primer	Jumlah rata-rata pita hasil amplifikasi
EAAC-MCTG	55
EAAC-MCAA	53
EAAC-MCTA	51

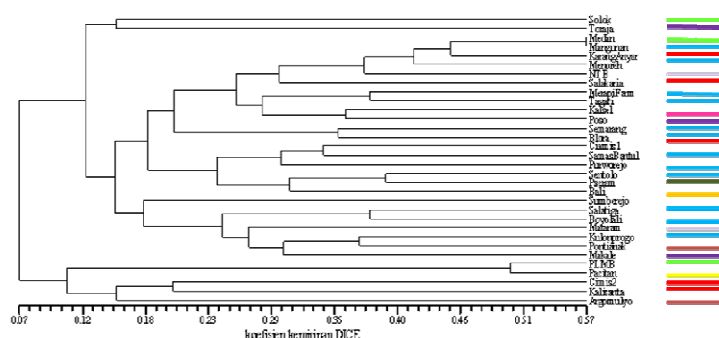
Hasil amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan kombinasi primer EAAC-MCTC dan EAAC-MCTG disajikan pada Gambar 1 dan 2. Pengamatan terhadap pola pita yang dihasilkan setiap jenis kombinasi primer menghasilkan pita DNA yang berbeda. Jumlah pita yang dihasilkan sangat bergantung pada komplementari terhadap DNA cetakan. Semakin banyak situs penempelan dari primer yang digunakan, semakin banyak jumlah pita DNA yang dihasilkan. Pada penelitian ini PCR dengan 12 kombinasi primer menghasilkan rata-rata 52 fragmen DNA tiap kombinasi primer yang berukuran 18bp hingga 350bp. Sesuai yang dikemukakan Myburg *et al.* 2001, bahwa total jumlah fragmen yang dihasilkan dalam amplifikasi tergantung pada jumlah dan komposisi nukleotida yang digunakan. Jumlah total fragmen teramplifikasi, juga tergantung pada kompleksitas genom. Jumlah fragmen yang bersifat polimorfis tergantung pada variasi genetik antar sampel yang dianalisis. Polimorfisme yang dihasilkan tidak hanya dipengaruhi oleh kombinasi pasangan basa yang digunakan dan kompleksitas genom, tetapi juga dipengaruhi oleh penggunaan enzim restriksi (Bonin *et al.* 2005).



Gambar 1. Profil DNA dari 32 aksesi temulawak, hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer EAAC-MCTC, M=Ladder 1kb, A-AF= aksesi temulawak



Gambar 2. Profil DNA dari 32 aksesi temulawak, hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer EAAC-MCAA, M=Ladder 1kb, A-AF= aksesi temulawak



Gambar 3. Kemiripan genetik antar 32 aksesi temulawak berdasarkan penanda AFLP menggunakan 12 kombinasi prim

### 3.2 Analisis Kemiripan Genetik

Berdasarkan profil pita DNA setelah diinterpretasi dan diterjemahkan ke dalam data biner, dilakukan analisis klaster. Analisis klaster terhadap 32 aksesori temulawak yang didasarkan pada AFLP dengan menggunakan 12 kombinasi primer disajikan pada Gambar 3.

Ke 32 aksesori mempunyai kemiripan yang relatif rendah yaitu antara 7-57%. Hal ini menunjukkan bahwa ke 32 aksesori temulawak memiliki keragaman genetik yang tinggi. Beberapa studi menunjukkan bahwa dalam satu populasi alami tanaman yang berbiak secara vegetatif sering ditemukan individu yang berbeda secara genetik. Autosegregasi, mutasi somatik, dan instabilitas genetik diduga berperan sebagai sumber variasi individu dalam populasi alami.

Pengelompokkan 32 aksesori temulawak pada tingkat kemiripan 0.10 (10%) membentuk dua kelompok. Kelompok I terdiri dari 5 aksesori, yaitu temulawak asal Palembang, Pacitan, Kalisanta, Argomulyo dan Ciamis2. Kelompok I terbagi lagi menjadi dua sub kelompok. Kelompok II terdiri dari 27 aksesori, yaitu temulawak asal Makale, Pontianak, Kulonprogo, Mataram, Boyolali, Salatiga, Sumberejo, Bali, P. Seram, Sentolo, Purworejo, Samas Bantul, Ciamis1, Blora, Semarang, Poso, Kalsel, Tagari, Merapi Farm, Salakaria, NTB, Menoreh, Karang Anyar, Mangunan, Medan, Toraja, dan Solok. Kelompok II yang beranggotakan 27 aksesori, terbagi menjadi dua sub kelompok pada koefisien 0.16. Hasil penelitian sebelumnya (Tajuddin *et. al.* 2011) dari 13 aksesori diperoleh pengelompokkan menjadi 3 kelompok dengan aksesori ambon beada di luar kelompok bersama temu putih sebagai control.

Fenomena yang menarik dari hasil pengelompokkan tersebut adalah mengelompoknya individu dari lokasi yang berlainan ke dalam satu kelompok. Seperti halnya yang terlihat pada Kelompok I, kelompok ini memiliki anggota temulawak yang berasal dari Palembang, Pacitan, Kalisanta, Argomulyo dan Ciamis. Hal ini kemungkinan terjadi karena temulawak yang ada di Palembang berasal dari Pulau Jawa. Selain itu, menurut Karuniawan *et al.* (2008), bahwa populasi dari habitat yang sama belum tentu memiliki hubungan kekerabatan yang dekat, terdapat juga genotip-genotip yang berbeda asalnya. Hal tersebut dipengaruhi oleh faktor lingkungan atau adanya interaksi antara genotip dengan lingkungan.

Rendahnya nilai kemiripan genetik berdasarkan data AFLP, menunjukkan bahwa pada penelitian ini terdapat variasi genetik yang tinggi diantara aksesori temulawak yang diamati. Keragaman genetik suatu populasi disebabkan

karena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lainnya karena persilangan seksual pada temulawak ini sangat jarang terjadi maka keragaman yang terdapat diantara 32 aksesori disebabkan oleh mutasi. Keragaman genetik yang disebabkan oleh mutasi dapat terjadi meliputi substitusi, inversi, translokasi dan delesi. Perubahan pada tingkat DNA tersebut dapat terdeteksi secara molekuler, sehingga menimbulkan keragaman pada tingkat DNA (Transkley *et. al.*1995). Variasi yang tinggi di atas juga dapat disebabkan karena metoda AFLP sangat sensitif dalam mendeteksi perubahan-perubahan kecil pada genom.

### 4. KESIMPULAN

Keragaman genetik dari 32 aksesori temulawak adalah tinggi. Keragaman genetik yang tinggi berguna bagi program pemuliaan tanaman. Pada kemiripan genetik 10% ke 32 aksesori temulawak terbagi ke dalam dua kelompok. Variasi yang tinggi disebabkan karena metode AFLP sangat sensitif dalam mendeteksi perubahan-perubahan kecil pada genom. Sedangkan variasi secara fenotip pada aksesori temulawak terlihat rendah.

### DAFTAR PUSTAKA

- A. Al-Saady N, Al-Lawati AH, Al-Subhi AM and Akhtar J. K. 2010. Evaluation of Genetic Diversity in Omani Banana Cultivars (*Musa cvs.*) using AFLP Markers. *Journal of Plant Sciences*. Volume: 5; Issue: 4; Page No.: 402-413
- Angeles JGC, Laurena AC, Tecson-Mendoza EM. 2005. Extraction of genomic DNA from the lipid, polysaccharide, and polyphenol-free sugarcane DNA. *Plant Mol Biol Rep* 17: 1-8.
- Bonin AF, Pompanon F, Taberlet P. 2005. Use of Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers in surveys of vertebrata diversity. *Methods Enzimol* 395:145-161.
- Dzulkarnain B, Wahjoedi B. 1996. Informasi ilmiah kegunaan kosmetika tradisional. *Cermin Dunia Kedokteran* 108: 21-26.
- Hargono D. 1996. Sekelumit mengenai obat nabati dan sistem imunitas. *Cermin Dunia Kedokteran* 108: 6-10.
- Invitrogen. 2003. AFLP® Analysis system I, AFLP® starter primer kit. Invitrogen, Carlsbad: 18 hlm.

- Istafid W. 2006. Visibility studi minuman instan ekstrak temulawak dan ekstrak mengkudu sebagai minuman kesehatan [skripsi]. Semarang: Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang.
- Karuniawan A, Sahala B, Ismail A. 2008. Keanekaragaman genetic *Mucuna* berdasarkan karakter morfologi dan komponen hasil. *J Zuriat* 19(1):41-59.
- Mba C, Tohme J. 2005. Use of AFLP markers in surveys of plant diversity. *Methods enzymol* 395: 177-201.
- Mueller UG, Wolfenbarger LL. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Els Sci* 14:389-394.
- Myburg AA, Remington DL, O'Malley DM, Sederoff RR, Whetten RW. 2001. High-throughput AFLP analysis using infrared dye-labeled primers and an automated DNA sequencer. *BioTechniques* 30:348-357.
- Nathans D, Smith HO. 1975. Restriction endonucleases in the analysis and restructuring of DNA molecules. *Ann. Rev. of Biochem* 44:273-293.
- Nurendah PS, Praswanto, Dzulkarnain B, Sundari D. 1996. Informasi penelitian komponen jamur pengatur haid. *Cermin Dunia Kedokteran* 108:11-17.
- Poerba YS, Yuzammi. 2008. Pendugaan keragaman genetic *Amorphophallus titanium* Becc. Berdasarkan marka Random Amplified DNA. *Biodiversitas* 9(2):103-107
- Rohlf FJ. 1998. NTSYSpc: *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.02*. User Guide. Exeter Software Applied Biostatistic In. New York.
- Santiana R. 2010. Identifikasi polimorfisme dan konstruksi filogenetik temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) berdasarkan sekuen daerah *matK* dan *Intergenic spacer trnS-trnFM* dan kloroplas [skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Sembiring BB, Ma'mun, Ginting EI. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhizo* Roxb.) *Buletin Balitro*. 17(2):53-58.
- Tajuddin T, Purbowasito W, Ardiyani M, Rosmalawati S, Yuniato P. 2008. Laporan akhir tahun Menristek. Serpong, Bioteknologi-BPPT.
- Tajuddin T, Cartealy I C, Saffarida A, Purwoko D, Zulaeha S, Ardiyani M. 2011. Indentification on Indonesian Accessions of *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. Using AFLP Markers. ICBB2011 Proceeding , Vol. 1 No. 1 October 2011 .
- Transkley SD, Ganal MW, Martin GB. 1995. Chromosome landing: a paradigm for map-based gene cloning in plants with large genomes. *Trends Genet* 11(2):63-68.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Theo van de L, Hornes M, Freijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23:4407-4414.
- Weising K, Nybom H, Wolf K, Kahl G. 2005. *DNA Fingerprinting in Plants: principles, methods, and applications*. Second edition. London: CRC Press.
- Xu Z, Hu T and Fan Z. 2012. Genetic Diversity of Walnut Revealed by AFLP and RAPD Markers. *Journal of Agricultural Science*; Vol. 4, No. 7; 2012 Genetic diversity patterns in *Curcuma* reflect differences in genome size. *Botanical Journal of the Linnean Society* (impact factor: 2.82). 03/2011; 165(4):388 – 401