

KERAGAMAN GENETIK TANAMAN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) AKSESI UNGGUL HASIL PERSILANGAN BERBASIS RAPD (RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA)

Baiq Muli Harisanti

Program Studi Pendidikan Biologi IKIP Matram

e-mail: muli_lombok@yahoo.com

Abstrak; Penggunaan keanekaragaman genetik untuk mempelajari kekerabatan antara dua individu atau dua populasi dalam satu spesies memang perlu didokumen dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) hasil persilangan berbasis RAPD. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif developmental. Penelitian ini untuk menganalisis keanekaragaman genotip hasil persilangan berbagai aksesori jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan teknik RAPD. Populasi penelitian ini adalah seluruh tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) aksesori unggul hasil persilangan yang terdapat di Kecamatan Kalipare, Kabupaten Kediri. Sampel dalam penelitian ini adalah jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) hasil persilangan pada nomor-nomor unggul yang meliputi 4 nomor tanaman hasil persilangan yang berasal dari Kalipare, Jawa Timur. Berdasarkan hasil analisis kekerabatan berdasarkan penanda RAPD yang terwujud dalam bentuk dendrogram dari tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan menunjukkan bahwa aksesori dengan tetua SM 35 X SP 38 dan SP 8 X SP 38 memiliki tingkat kemiripan genetik lebih kecil, yaitu 56,8% dibandingkan dengan tingkat kemiripan genetik antara aksesori dengan tetua SP 33 X HS 49 dan SP 8 X SP 16 sebesar 76,3%. Jika ditelusuri asal tetua dari masing-masing aksesori hasil persilangan, maka aksesori yang berasal dari daerah yang berbeda seperti SM 35 dari Nusa Tenggara Barat dan HS 49 dari Nusa Tenggara Timur tidak tertutup kemungkinan untuk memiliki kemiripan genetik dengan aksesori yang berasal dari Sulawesi Selatan, seperti SP 8, SP 16, SP 33, dan SP 38. Penelitian terdahulu (Salim, 2010) pada aksesori-aksesori tetua tersebut menyebutkan bahwa aksesori HS 49 dari NTT memiliki kemiripan genetik (89,6%) dengan aksesori SP 38 dari Sulawesi Selatan, begitu juga dengan aksesori SM 35 dari NTB dengan aksesori SP 16 dari Sulawesi Selatan memiliki kemiripan genetik dengan koefisien mencapai 92%.

Abstract; The use of genetic diversity for the study of kinship between two individuals or two populations within a species is necessary documented. This study aimed to analyze the genetic diversity of *Jatropha curcas* L.) by using RAPD. This type of research is descriptive developmental research. This study was to analyze the genotypic diversity of crossbred various accessions of *Jatropha curcas* L.) with RAPD technique. The study population was the whole *Jatropha curcas* L.) accessions superior results of a cross contained in District Kalipare, Kediri. The sample in this study is *Jatropha curcas* L.) the result of crossing the winning numbers covering 4 numbers of crossbred plants originating from Kalipare, East Java. Based on the analysis of kinship based RAPD embodied in dendrogram of *Jatropha curcas* L.) crosses the superior results indicate that the accession to the elders SM 35 X SP 38 and SP 8 X SP 38 have smaller level of genetic similarity, namely 56,8% compared with the level of genetic similarity among accessions with elders SP HS 33 X 8 X 49 and SP 16 SP 76,3%. If traced the origin of the elders of each accession of crossbred, the accessions originating from different areas such as the SM 35 of Nusa Tenggara Barat and HS 49 from East Nusa Tenggara is also possible to have a genetic similarity with accessions from South Sulawesi, such as SP 8, SP 16, SP 33 and SP 38. the previous study (Salim, 2010) on the accession of the elder-accession states that accession HS 49 from NTT has a genetic similarity (89.6%) with the accession SP 38 from South Sulawesi, as well as the accession of NTB SM 35 with the accession SP 16 from South Sulawesi has a genetic similarity coefficient reached 92%.

Kata Kunci: Keragaman Genetik, Jarak, RAPD.

PENDAHULUAN

Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) merupakan tanaman yang sudah umum dikenal oleh masyarakat di Indonesia. Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) termasuk famili Euphorbiaceae, di mana genus *Jatropha* memiliki 175 spesies; dari jumlah ini lima

spesies sudah ada di Indonesia, yaitu *J. curcas* L dan *J. gossypifolia* yang sudah digunakan sebagai tanaman obat sedangkan *J. integerrima* Jacq, *J. multifida* dan *J. podagrica* Hook digunakan sebagai tanaman hias. *J. curcas* L menarik minat para ilmuwan di dunia karena sifat minyaknya

yang dapat digunakan untuk substitusi minyak diesel (solar) (Mahmud, 2009).

Mengingat betapa besar manfaat dari tanaman jarak pagar ini, pemerintah mulai melakukan pengembangan jarak pagar. Landasan pengembangan ini adalah Perpres No. 5/2006 tentang Kebijakan Energi Nasional dan Inpres No. 1 tahun 2006 tentang Penyediaan dan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati (Biofuel) sebagai Bahan Bakar Lain (Anonim, 2007). Menurut Sudarmo (2007) dalam rangka mendukung pengembangan jarak pagar, Puslitbang Perkebunan telah melakukan eksplorasi di beberapa daerah. Hasil eksplorasi sebanyak 421 calon aksesori yang berasal dari Jawa Timur, NTB, NTT, dan Sulawesi Selatan telah ditanam di KP Asembagus, Situbondo, Jawa Timur. Dari 421 calon aksesori ternyata memiliki sifat morfologi sangat bervariasi antara lain: berdaun lebar, berdaun sempit, warna batang dan daun muda merah, warna petiol hijau sampai kemerahan. Demikian pula evaluasi terhadap potensi produksi pada umur tanaman 7 bulan hasilnya sangat bervariasi, yaitu antara 0,71–380 gram biji kering pertanaman atau 17,75–950 g/ha (Zainal, 2006).

Pemberdayaan plasma nutfah baru bisa dilakukan apabila tersedia informasi yang cukup untuk sifat-sifat yang diperlukan, melakukan karakterisasi sifat morfologi dan agronomi sehingga dapat dibentuk suatu figure tanaman ideal dan melakukan evaluasi sifat ketahanan/toleransi. Genotif terpilih yang memiliki sifat-sifat yang sesuai untuk perbaikan jarak pagar dapat digunakan lebih lanjut dalam program pemuliaan tanaman (Rais, 2004).

Penggunaan keanekaragaman genetik untuk mempelajari kekerabatan antara dua individu atau dua populasi dalam satu spesies memang perlu didokumen dengan baik. Khususnya dalam dunia hewan dan tumbuhan, dokumentasi semacam ini

merupakan suatu hal yang vital untuk konservasi genotip-genotip unik yang kelak berguna untuk program penangkaran. Namun memang perlu disadari banyaknya keanekaragaman genetik baik dalam populasi maupun spesies, memerlukan metode pengenalan genotip-genotip khusus yang perlu terus dikembangkan dan tampaknya pendekatan biologi molekuler telah dapat menjawabnya (Widodo, dkk., 2003). Teknik molekuler telah memberikan peluang pengembangan dan identifikasi peta genetik spesies tanaman. Pendekatan biologi molekuler menggunakan penciri DNA telah berhasil membentuk penanda molekuler yang mampu mendeteksi gen dan sifat-sifat tertentu, evaluasi keragaman, kekerabatan, serta evolusi pada tingkat genetik (Hoon-Lim *et al.*, 1999 dalam Maftuchah dan Zainudin, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang variasi genetik tanaman jarak unggul hasil persilangan dengan menggunakan penanda molekuler *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). RAPD adalah suatu system deteksi molekuler yang berbasis PCR, salah satu teknik molekuler untuk mendeteksi keragaman DNA didasarkan pada penggandaan DNA (Purwanta, 2009). DNA yang memanfaatkan primer acak oligonukleotida pendek (dekamer) untuk mengamplifikasi DNA genom organisme. Tujuan Penelitian adalah untuk Mengetahui keragaman genetik jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) hasil persilangan berbasis RAPD. Kegunaan Penelitian adalah 1). Diperolehnya database tentang keragaman genetik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) hasil persilangan berbagai aksesori Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) menggunakan teknik RAPD; 2). Informasi ini sangat penting dalam proses penyeleksian tanaman unggul. 3). Sebagai informasi awal dalam penyusunan asal-usul serta hubungan filogenik. 4). Sebagai bahan kajian dasar

dalam bidang pemuliaan, pembibitan dan perbaikan kualitas genetik Jarak Pagar.

Kajian Pustaka

A. Gambaran Umum Jarak Pagar

(*Jatropha curcas* L.)

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) termasuk jenis tanaman perdu, berkayu, bergetah, berbunga, dan berbuah, dimana buahnya mengandung minyak nabati yang berpotensi sebagai biofuel. Tanaman jarak pagar dapat diperbanyak secara vegetatif yaitu dengan menggunakan setek batang, maupun secara generatif dengan menggunakan biji (Ferry, dkk., 2006). Tinggi tanaman rata-rata 1-7 meter, berdaun tunggal dengan sudut daun antara 3-5, tulang daun menjari dengan 5-7 tulang utama, daun berwarna hijau dan panjang tangkai daun antara 4-15 cm (Wanita dan Hartono, 2006).

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) sudah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat dan penghasil minyak lampu. Beberapa nama daerah (nama lokal) yang diberikan kepada tanaman jarak pagar antara lain jarak budge, jarak gundul, jarak cina (Jawa), baklawah, nawaih (NAD), jarak kosta (Sunda), paku kare (Timor), peleng kaliki (Bugis), kalekhe paghar (Madura), jarak pager (Bali), lulu mau, paku kase, jarak pageh (Nusa Tenggara), kuman nema (Alor), jarak kosta, jarak wolanda, bindalo, bintalo, tondo utomene (Sulawesi), ai huwa kamala, balacai, kadoto (Maluku) (Mahmud, dkk., 2009).

B. Plasma Nutfah Jarak Pagar

Plasma nutfah jarak pagar ditemukan di hampir semua provinsi di Indonesia, ditanam sebagai pagar untuk menghindari tanaman dari gangguan ternak (Hasnam, 2007). Di seluruh dunia, *Jatropha* dikonservasi di tiga institusi yaitu CATIE (Costa Rica) 3 provenan, CNSF (Burkina Faso) 12 provenan, dan INIDA (Cape

Verde) 5 provenan (Heller, 1996 dalam Hasnam, 2007).

Koleksi jarak pagar di Indonesia baru dimulai tahun 2005, populasi setek yang diambil dari tiap provinsi berasal dari Sumatera Barat, Lampung, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Selatan, Gorontalo, dan Sulawesi Utara (Luntungan, 2009). Koleksi plasma nutfah sebagai hasil eksplorasi dari setiap provinsi dilestarikan secara *ex-situ* di kebun-kebun Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Balittas) di Malang, kebun koleksi plasma nutfah jarak pagar Pakuwon, dan kebun plasma jarak pagar di Pasirranji Jawa Barat (Luntungan, 2009).

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 (Sudarmo, dkk., 2007). 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).

C. Keragaman Jarak Pagar

Jatropha L termasuk famili Euphorbiaceae, di mana genus *Jatropha* memiliki 175 spesies; dari jumlah ini lima spesies sudah ada di Indonesia, yaitu *J. curcas* L dan *J. gossypifolia* yang sudah digunakan sebagai tanaman obat sedangkan *J. integerrima* Jacq, *J. multifida* dan *J. podagrica* Hook digunakan sebagai tanaman hias. *J. curcas* L menarik minat para ilmuwan di dunia karena sifat minyaknya yang dapat digunakan untuk substitusi minyak diesel (solar) (Mahmud dkk., 2009).

Setelah diintroduksi ke Asia Tenggara pada abad ke 17-18 oleh pelaut-pelaut Portugis, variasi di Indonesia mungkin hanya disebabkan oleh perbedaan wilayah yang melahirkan ekotipe-ekotipe

tertentu. Dari eksplorasi pendahuluan yang dilakukan oleh Puslitbang Perkebunan di Sumatera Barat, Lampung, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi Selatan ditemukan variasi pula:

1. kulit batang: keperak-perakan, hijau kecoklatan
2. warna daun: hijau muda, hijau tua
3. pucuk dan tangkai daun: kemerahan, kehijauan
4. bentuk buah: agak elips, bulat
5. jumlah biji per kapsul: 1 - 4

Kontribusi perbedaan morfologi di atas terhadap produktivitas dan kandungan minyak tentu ada, hanya belum diketahui besarnya. Tingkat ploidi yang sama ($2n = 22$) diduga tidak akan menghambat persilangan antar spesies dalam upaya perbaikan varietas jarak pagar (Hasnam dalam Zainal, 2006).

D. Teknik PCR dan RAPD

Teknik PCR yang berkembang saat ini awalnya ditemukan dari sebuah penelitian yang dilakukan oleh Kary B. Mullis tahun 1985, seorang peneliti di bidang Kimia dari California (Bartlett and Stirling, tanpa tahun). Lebih lanjut disebutkan bahwa awalnya, DNA polymerase yang digunakan berasal dari bakteri *Escherichia coli* namun karena suhu yang terlalu tinggi pada tahap denaturasi menyebabkan enzim-enzim yang terdapat pada bakteri *E. coli* tersebut menjadi tidak aktif, akhirnya ditemukan bakteri yang cocok, yaitu bakteri *Thermophilus aquaticus* yang diisolasi dari sumber air panas (Scheleif, 1993).

Metode yang berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk mempelajari keragaman genetik atau kekerabatan antar aksesori tanaman telah banyak berkembang seperti RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), RFLP (*Restriction Fragment Polymorphism*), AFLP (*Amplified Fragment Length*

Polymorphisme) dan ISSR/SSRs (*Inter Simple Sequence Repeats/Simple Sequence Repeats*). Masing-masing teknik tidak hanya berbeda dalam metode amplifikasinya tetapi juga berbeda dalam jumlah pola pita yang dihasilkan (teramplifikasi) (Vos *et al.*, 1995 dalam Salim, 2010).

Weising *et al.*, (1995) dalam Salim, (2010) menuliskan bahwa *Random amplified polymorphic DNA* (RAPD) merupakan penanda DNA yang memanfaatkan primer acak oligonukleotida pendek (*dekamer*) untuk mengamplifikasi DNA genom tanaman pada mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Terkait dengan jumlah nukleotida, Hartl and Jones (1998) menuliskan primer pada RAPD ini terdiri 8-10 nukleotida yang memiliki sekuens acak (*random*). Primer pada RAPD ini tergolong sangat pendek, oleh karena itu cenderung untuk terjadi *annealing* pada banyak sisi.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif developmental. Penelitian ini untuk menganalisis keanekaragaman genotip hasil persilangan berbagai aksesori jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan teknik RAPD.

Populasi penelitian ini adalah seluruh tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) aksesori unggul hasil persilangan yang terdapat di Kecamatan Kalipare, Kabupaten Kediri.

Sampel dalam penelitian ini adalah jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) hasil persilangan pada nomor-nomor unggul yang meliputi 4 nomor tanaman hasil persilangan yang berasal dari Kalipare, Jawa Timur.

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di laboratorium Universitas Muhammadiyah Malang, meliputi Isolasi DNA, penghitungan perkiraan konsentrasi DNA, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan Deteksi DNA produk PCR populasi sampel yang dilaksanakan di Laboratorium Molekuler Tanaman Pusat Pengembangan

Bioteknologi, Universitas Muhammadiyah Malang. Proses PCR-RAPD menggunakan 8 primer, yaitu: OPF1, OPF2, OPF3, OPF4, OPF5, OPF6, OPF 14, dan OPA 12.

Data yang dikumpulkan adalah data fenotip dan genotip tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L).

1. Pengambilan Data Fenotip Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Hasil Persilangan

Sampel tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*. L) hasil persilangan sebanyak empat nomor tanaman di ambil di Kali Pare kemudian disimpan di laboratorium Agronomi Universitas Muhammadiyah Malang untuk tujuan efisiensi. Pengambilan data dari masing-masing tanaman meliputi: bentuk daun, warna daun muda, warna daun tua, warna tunas, jumlah lekukan daun, warna tangkai daun, bentuk batang, dan warna batang.

Pengambilan Data Genotip dengan Teknik RAPD

Tujuan kegiatan ini adalah untuk mendapatkan hasil analisis pola pita sidik jari DNA dari genom jarak pagar dengan menggunakan teknik RAPD. Pola pita DNA diperoleh melalui proses pemisahan produk PCR dengan elektroforesis gel agarose. Pola pita yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk deteksi polimorfisme alel-alel DNA.

Reaksi PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

Pada reaksi PCR, DNA jarak pagar digunakan sebagai cetakan. Primer yang digunakan dalam reaksi PCR ini sebanyak 8 primer yang merupakan primer spesifik yang telah diaplikasikan pada beberapa varietas jarak pagar.

Volume total reaksi PCR yang dipergunakan adalah sebanyak 25 µl, terdiri dari campuran larutan yang terdiri dari DNA *tag* polimerase dan 10X buffer *Taq* Polimerase (100 mM Tris-Cl, pH 8.3; 500 mM KCl; 15 mM MgCl₂; 0.01 % gelatin);

dNTP'S mix (dGTP, dATP, dTTP dan dCTP) (Pharmacia); dH₂O dan 30 ng DNA cetakan. Kondisi untuk reaksi PCR dirancang dengan suhu denaturasi 94°C, *annealing* 55-60°C, perpanjangan 75°C dan pasca PCR 4°C. Untuk perbanyak, siklus reaksi PCR diulang sebanyak 45 kali. Hasil amplifikasi PCR kemudian dielektroforesis pada 1,2 % gel agarosa dengan voltase 75 V selama 1 jam dan dilakukan pemotretan gel dengan polaroid.

Deteksi Polimorfisme DNA (mendeteksi DNA produk PCR)

Fragmen dideteksi dari pola pita DNA yang berbeda hasil elektroforesis gel agarose dari produk PCR. Penentuan posisi pita DNA dilakukan secara manual (Leung *et al.*, 1993). Untuk memudahkan pengamatan ada beberapa hal yang dilakukan yaitu: 1) Seluruh pita DNA dengan laju migrasi yang sama diasumsikan sebagai lokus yang homologus, 2) Masing-masing pita DNA ditandai (dapat menggunakan tinta berwarna), tiap tanda mewakili satu posisi pita DNA tertentu, yang dilakukan dengan menempelkan plastik transparan pada foto gel, 3) Bila jalur DNA yang dibandingkan terpisah satu sama lain, maka dapat digunakan bantuan alat (misal mistar) untuk membantu menentukan posisi pita DNA, 4) Data profil DNA merupakan data alel yang teramati dengan ketentuan ada dan tidaknya pita DNA berdasarkan ukuran produk PCR pada satu posisi yang sama dari beberapa individu yang dibandingkan.

Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini adalah Analisis Deskriptif. Data genotip dari penelitian ini adalah hasil pita-pita DNA yang diasumsikan sebagai alel RAPD. Berdasarkan visualisasi pita-pita DNA tersebut dapat dibuat data yang diterjemahkan ke dalam bentuk data biner.

Analisis pengelompokan dan pembuatan dendrogram dilakukan menggunakan metode *Unweighted Pair-*

Group Method With Arithmetic (UPGMA) melalui program *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.1.

HASIL PENELITIAN

Data genotip diambil dari sampel tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) hasil persilangan yang diambil dari Kecamatan Kalipare. Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) aksesii unggul ini adalah tanaman hasil persilangan, dimana proses persilangannya sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya oleh peneliti pendahulu. Sampel tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) pada penelitian ini terdiri dari empat sampel tanaman aksesii unggul hasil persilangan yang telah diberi label dengan kode tanaman no. 5, 6, 7, dan 18. Kode nomor tanaman dengan persilangan tetuanya dapat dilihat pada tabel 4.1. Selanjutnya untuk penulisan yang lebih informatif akan digunakan kode persilangan tetua pada setiap sampel tanaman tersebut.

Tabel 4.1 Sampel Tanaman Jarak Pagar Dengan Persilangan Tetua

Nomor Tanaman	Persilangan Tetua
5	SP 8 << SP 16
6	SP 8 << SP 38
7	SP 33 << HS 49
18	SM 35 << SP 38

Catatan: << : disilangkan dengan

Karakteristik genotip meliputi: isolasi DNA, PCR-RAPD, deteksi alel RAPD, tabel penerjemahan dari gambar hasil PCR-RAPD, dan analisis kekerabatan berbasis RAPD dalam bentuk dendrogram.

Jenis alel dan frekuensi alel pada empat aksesii tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan berdasarkan hasil PCR-RAPD dengan menggunakan primer OPF-1, OPF-2, OPF-3, OPF-4, OPF-5, OPF-6, OPF-14, dan OPA-12 ditunjukkan pada tabel 4.12.

Tabel 4.12. Jenis dan Frekuensi Alel RAPD Empat Aksesii Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Unggul Hasil Persilangan dengan Menggunakan Delapan Primer

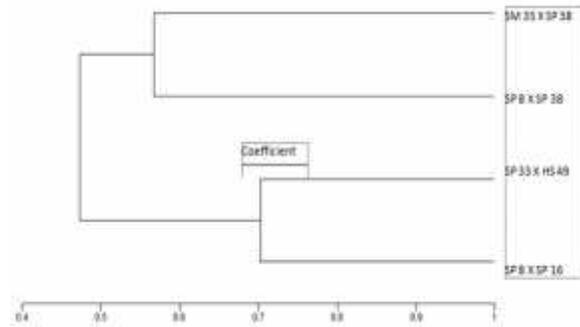
Primer	Jarak Pagar Aksesii Unggul Hasil Persilangan								Frekuensi Alel
	SP 8 X SP 16		SP 8 X SP 38		SP 33 X HS 49		SM 35 X SP 38		
	Jk. Fisa	Alel	Jk. Fisa	Alel	Jk. Fisa	Alel	Jk. Fisa	Alel	
OPF-1	5		5	A	5	A	6	A	A (3/16) 18%
				B					B (1/16) 6%
				C		C		C	C (2/16) 12%
				D		D		D	D (2/16) 12%
				E				E	E (1/16) 6%
				F		F		F	F (2/16) 12%
				G		G		G	G (1/16) 6%
OPF-2	1		3	A	1		1		A (1/6) 16%
		B				B			B (2/6) 33%
								C	C (1/6) 16%
				D					D (1/6) 16%
				E					E (1/6) 16%
OPF-3	2	A	1	A	2	A	2	A	A (4/7) 57%
		B				B		B	B (3/7) 43%
OPF-4	4	A	2		4	A	5	A	A (3/15) 20%
		B				B		B	B (2/15) 13%
				C		C		C	C (2/15) 13%
				D					D (1/15) 7%
				E		E		E	E (4/15) 27%
OPF-5	2	A	2	A	2	A	2	A	A (4/8) 50%
		B		B		B		B	B (4/8) 50%
	3	A	1		3	A	4	A	A (3/11) 27%
OPF-6		B				B		B	B (2/11) 18%
								C	C (1/11) 9%
				D		D			D (2/11) 18%
				E				E	E (2/11) 18%
OPF-14	1	A	1	A	1	A	1	A	A (1/4) 25%
OPA-12	1	A	5		3		5		A (1/4) 25%
						B			B (1/4) 25%
						C			C (1/4) 25%
								D	D (1/4) 25%
				E				E	E (2/4) 50%
				F		F		F	F (2/4) 50%
				G				G	G (2/4) 50%
				H				H	H (2/4) 50%
			I				I	I (2/4) 50%	

Tabel 4.12 menunjukkan jenis dan frekuensi alel pada beberapa aksesii tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan dari hasil PCR-RAPD dengan menggunakan primer OPF-1, OPF-2, OPF-3, OPF-4, OPF-5, OPF-6, OPF-14, dan OPA-12. Pemakaian primer OPF-1 menghasilkan 7 jenis alel dengan frekuensi tertinggi pada alel A, C, D, dan F sebesar 3/16 (18%), sedangkan frekuensi terendah pada alel B, E, dan G sebesar 1/16 (6%). Pemakaian primer OPF-2 menghasilkan 5 jenis alel dengan frekuensi tertinggi pada alel B sebesar 2/6 (33%), sedangkan frekuensi terendah pada alel A, C, D, dan E sebesar 1/6 (16%). Pemakaian primer OPF-3 hanya menghasilkan 2 jenis alel dimana frekuensi alel A lebih tinggi daripada alel B. Alel A memiliki frekuensi sebesar 4/7 (57%)

dan alel B memiliki frekuensi sebesar 3/7 (43%). Pemakaian primer OPF-4 menghasilkan 6 jenis alel dengan frekuensi tertinggi pada alel E sebesar 4/15 (27%) dan frekuensi terendah pada alel D dan F sebesar 1/15 (7%). Pemakaian primer OPF-5 menghasilkan 2 jenis alel dengan frekuensi alel yang sama pada alel A dan alel B, yaitu sebesar 4/8 (50%). Pemakaian primer OPF-6 menghasilkan 5 jenis alel dengan frekuensi tertinggi pada alel A, B, dan E sebesar 3/11 (27%) dan frekuensi terendah pada alel C dan E dengan frekuensi 1/11 (9%). Pemakaian primer OPF-14 hanya menghasilkan 1 jenis alel dengan frekuensi yang sama, yaitu 1/4 (25%), dan pemakaian primer OPA-12 menghasilkan 9 jenis alel dengan frekuensi tertinggi pada alel E, F, G, H, dan I sebesar 2/14 (14%) dan frekuensi terendah pada alel A, B, C, dan D sebesar 1/14 (7%).

A. Analisis Keekerabatan Berdasarkan Penanda RAPD

Analisis kekerabatan berdasarkan penanda RAPD menggunakan data biner yang merupakan hasil PCR-RAPD tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) aksesori unggul hasil persilangan dengan menggunakan delapan primer. Data biner dari empat aksesori jarak pagar hasil persilangan digunakan untuk melihat kekerabatan antara keempat aksesori jarak pagar unggul hasil persilangan. Profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan bahwa nilai 0 berarti tidak ada pita DNA dan nilai 1 untuk adanya pita DNA, selanjutnya dengan menggunakan data biner dilakukan pengelompokan data matrik (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram dengan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Pethod Arithmetic* (UPGMA) menggunakan program *Multi Variate Statistical Package* (MVSP) versi 3.1 dan hasilnya ditunjukkan pada gambar 4.10.



Gambar 4.10. Dendrogram Hasil Analisis Keekerabatan Empat Aksesori Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Hasil Persilangan dengan Menggunakan Penanda RAPD

Berdasarkan gambar 4.10 dendrogram hasil analisis kekerabatan empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dapat dilihat pada visualisasi dendrogram dengan nilai koefisien berkisar antara 40% - 100%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa tingkat kemiripan pertama, yaitu pada percabangan (*node 1*) dengan koefisien yang paling tinggi antara SP 33 X HS 49 dengan SP 8 X SP 16 dengan koefisien tingkat kemiripan (*similarity*) sebesar 76,3%. Tingkat kemiripan kedua ditemukan pada percabangan (*node 2*) SM 35 X SP 38 dengan SP 8 X SP 38 dengan koefisien tingkat kemiripan (*similarity*) sebesar 56,8%. Tingkat kemiripan yang terakhir adalah kemiripan antar percabangan (*node 1* dan *node 2*), yaitu antara percabangan SP 33 X HS 49 dengan SP 8 X SP 16 dan SM 35 X SP 38 dengan SP 8 X SP 38 dengan koefisien tingkat kemiripan (*similarity*) sebesar 47,3%. Secara keseluruhan dendrogram yang ditunjukkan pada gambar 4.10 memiliki satu *cluster* (kelompok) yang ditemukan pada empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan. Hal ini menunjukkan bahwa antara keempat tanaman hasil persilangan tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang dekat, artinya pita DNA dari masing-masing aksesori hasil persilangan tersebut bersifat homolog.

PEMBAHASAN

A. Hasil PCR-RAPD dan Deteksi Alel RAPD pada Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Aksesori Unggul Hasil Persilangan

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan delapan jenis primer didapatkan total pita DNA sebanyak 81 pita dari empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan. Setiap primer menunjukkan jumlah pita yang berbeda dari empat aksesori jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan. Perbedaan jumlah pita ini dapat terjadi karena setiap primer terdiri atas sekuen yang berbeda sehingga sekuen DNA yang teramplifikasi akan tergantung dari sekuen DNA template (pada genom) yang sesuai (*match*) dengan sekuen DNA pada primer. Hal ini sekaligus dapat menjelaskan mengenai adanya primer yang tidak dapat mengamplifikasi DNA genom suatu organisme. Lebih lanjut dijelaskan bahwa primer yang berbeda akan mengamplifikasi fragmen-fragmen DNA genom yang berbeda pula.

Berdasarkan hasil penelitian jenis alel dan frekuensi alel pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan dari hasil RAPD menggunakan delapan primer (OPF-1, OPF-2, OPF-3, OPF-4, OPF-5, OPF-6, OPF-14, dan OPA-12) menunjukkan bahwa dari semua jenis alel RAPD yang terdeteksi pada empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) pada penelitian ini, frekuensi alel tertinggi mencapai 0,57 (57%) dan terendah adalah 0,06 (6%). Frekuensi alel adalah proporsi atau presentase alel tertentu dalam suatu populasi. Frekuensi alel dapat digunakan untuk meninjau variasi genetik dari suatu populasi. Hasil perhitungan frekuensi alel dapat digunakan untuk menentukan sifat lokus tempat alel tersebut berada. Suatu lokus dikatakan bersifat polimorfik jika frekuensi alelnya yang

terbesar sama atau kurang dari 0,95. Sebaliknya, suatu lokus dikatakan bersifat monomorfik jika frekuensi alelnya yang terbesar melebihi 0,95 (bahkan sampai 0,99) (Hartl & Clark, 1997). Dalam penelitian ini, semua pita yang terdeteksi dari keempat aksesori diasumsikan sebagai alel RAPD. Dari semua jenis alel RAPD yang terdeteksi pada empat aksesori jarak pagar, frekuensi alelnya kurang dari 0,95 ($< 95\%$). Frekuensi alel terbesar hanya sampai nilai 0,57 (57%), yaitu jenis alel A pada primer OPF-3. Dengan demikian dapat diketahui bahwa lokus yang ditempati oleh alel-alel yang terdeteksi tersebut bersifat polimorfik.

B. Analisis Kekeabatan Berdasarkan Penanda RAPD

Aksesori dengan tetua SP 8 X SP 16, SP 8 X SP 38, SP 33 X HS 49 dan SM 35 X SP 38 adalah empat aksesori dengan karakter unggul yang telah direkomendasikan kepada petani jarak pagar. Empat aksesori hasil persilangan ini, berasal dari tetua yang juga memiliki karakter unggul. Karakter unggul pada keempat sampel ini ditentukan berdasarkan tingkat produksi bijinya. Penelitian terdahulu (Sisca, 2010) menyebutkan bahwa tetua dengan aksesori SP 16, SP 38, dan SP 8 berasal dari Sulawesi Selatan yang menempati urutan ke 2, 3, dan 4 harapan produktivitas biji tinggi.

Berdasarkan hasil analisis kekerabatan berdasarkan penanda RAPD yang terwujud dalam bentuk dendrogram dari tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan menunjukkan bahwa aksesori dengan tetua SM 35 X SP 38 dan SP 8 X SP 38 memiliki tingkat kemiripan genetik lebih kecil, yaitu 56,8% dibandingkan dengan tingkat kemiripan genetik antara aksesori dengan tetua SP 33 X HS 49 dan SP 8 X SP 16 sebesar 76,3%. Jika ditelusuri asal tetua dari masing-masing aksesori hasil persilangan, maka aksesori yang berasal dari daerah yang berbeda seperti SM 35 dari Nusa Tenggara Barat dan HS 49 dari Nusa Tenggara Timur

tidak tertutup kemungkinan untuk memiliki kemiripan genetik dengan aksesori yang berasal dari Sulawesi Selatan, seperti SP 8, SP 16, SP 33, dan SP 38. Penelitian terdahulu (Salim, 2010) pada aksesori-aksesori tua tersebut menyebutkan bahwa aksesori HS 49 dari NTT memiliki kemiripan genetik (89,6%) dengan aksesori SP 38 dari Sulawesi Selatan, begitu juga dengan aksesori SM 35 dari NTB dengan aksesori SP 16 dari Sulawesi Selatan memiliki kemiripan genetik dengan koefisien mencapai 92%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan yang terdiri dari hasil persilangan dengan persilangan tua SP 8 X SP 16, SP 8 X SP 38, SP 33 X HS 49, dan SM 35 X SP 38.....dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fenotif jarak pagar dari empat aksesori unggul hasil persilangan relative sama kecuali pada dengan tua SP 33 X HS 49, karakter warna daun mudanya adalah hijau tua, sedangkan pada sampel yang lain (SP 8 X SP 16, SP 8 X SP 38, dan SM 35 X SP 38) karakter warna daun mudanya adalah hijau muda. Perbedaan yang lain adalah pada aksesori dengan tua SP 8X SP 16 dan SP 8X SP 38 memiliki karakter warna tangkai daun hijau muda, sedangkan aksesori dengan tua SP 33 X HS 49 dan SM 35 X SP 38 memiliki karakter warna tangkai daun merah di bagian ujungnya.
2. Keragaman genetik tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) aksesori unggul hasil persilangan adalah sebagai berikut:
 - a. Jumlah pita DNA yang dihasilkan pada analisis RAPD menggunakan delapan jenis primer pada empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan adalah 81 pita. Setiap primer memperlihatkan jumlah pita DNA yang berbeda dari empat aksesori jarak

pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan. Perbedaan jumlah pita ini dapat terjadi karena setiap primer terdiri atas sekuen yang berbeda sehingga sekuen DNA yang teramplifikasi akan tergantung dari sekuen DNA template (pada genom) yang sesuai (*match*) dengan sekuen DNA pada primer.

- b. Jenis alel dan frekuensi alel pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan dari hasil RAPD menggunakan delapan primer (OPF-1, OPF-2, OPF-3, OPF-4, OPF-5, OPF-6, OPF-14, dan OPA-12) menunjukkan bahwa dari semua jenis alel RAPD yang terdeteksi pada empat aksesori tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) pada penelitian ini, frekuensi alel tertinggi mencapai 0,57 (57%) dan terendah adalah 0,06 (6%).
- c. Dari semua jenis alel RAPD yang terdeteksi pada empat aksesori jarak pagar, frekuensi alelnya kurang dari 0,95 (< 95%). Frekuensi alel terbesar hanya sampai nilai 0,57 (57%), yaitu jenis alel A pada primer OPF-3. Dengan demikian dapat diketahui bahwa lokus yang ditempati oleh alel-alel yang terdeteksi tersebut bersifat polimorfik.
- d. Hasil analisis kekerabatan berdasarkan penanda RAPD dari tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) unggul hasil persilangan menunjukkan bahwa aksesori dengan tua SM 35 X SP 38 dan SP 8 X SP 38 memiliki tingkat kemiripan genetik lebih kecil, yaitu 56,8% dibandingkan dengan tingkat kemiripan genetik antara aksesori dengan tua SP 33 X HS 49 dan SP 8 X SP 16 sebesar 76,3%.

DAFTAR RUJUKAN

- Allorerung, D., Z. Mahmud, A.A. Rivaie, D.S. Efendi, dan A. Mulyani. 2006. Peta Kesesuaian Lahan dan Iklim Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*). Makalah pada Lokakarya Status Teknologi Budidaya Jarak Pagar. Jakarta, 11-12 April 2006. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Litbang Pertanian.
- Anonim, 2007. *Upaya Pengembangan Jarak Pagar* (Kondisi, Kebijakan dan Pelaksanaan Pengembangan, Permasalahan yang dihadapi dan Dukungan yang diperlukan). Ditjenbun. Lokakarya Nasional Jarak Pagar III, Malang, 5 November.
- Bartlett, John and David Stirling. Tanpa Tahun. *PCR Protocols*. Second Edition Volume 226. Humana Press Inc. New Jersey.
- Ferry, Yulius; Dibyo Pranowo; dan Maman Herman. 2006. *Pengaruh Setek Tanam Langsung Terhadap pertumbuhan dan Produksi Jarak Pagar (Jathropa curcas L.)*. Prosiding Lokakarya II Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar, Bogor, 29 November.
- Fitriyanti, Siska. 2009. *Analisis Keragaman Genetik Tanaman Jarak Pagar (Jathropa curcas L.) dengan Menggunakan Penanda Molekular RAPD*. Tesis tidak diterbitkan. Program Pasca Sarjana: Universitas Brawijaya.
- Hambali, E., S. Mujdalipah, A. H. Tambunan, A. W. Pattiwiri & R. Hendroko. 2006. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Hartati, Rr. Sri. 2008. *Persilangan Tanaman Jarak Pagar (Jathropa curcas L.)*. Lokakarya Nasional Jarak Pagar IV, Akselerasi Inovasi Teknologi Jarak Pagar Menuju Kemandirian Energi. Malang, 6 November.
- Hasnam; Syukur Cheppy; Hartati, R. R. Sri; Wahyuni, Sri; Pranowo, Dibyo; Susilowati, Sri Eko; Purlani, Edi; Heliyanto, Bambang. 2007. *Pengadaan Bahan Tanam Jarak Pagar (Jathropa curcas L.) di Indonesia, Desa Mandiri Energi serta Strategi Penelitian di Masa Depan*. Lokakarya Nasional III Inovasi Teknologi Jarak Pagar untuk Mendukung Program Desa Mandiri Energi, Malang, 5 November.
- Luntungan, H.T., Rr. Sri Hartati, R.D. Purwati, H. Sudarmo, Hasnam, Maftuchah, dan Moch. Cholik. 2009. *Bahan Tanaman, Teknologi Jarak Pagar Menjawab Tantangan Krisis Energi..* Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.
- Maftuchah & Zainudin, Agus. 2007. *Studi Pendahuluan Variasi Genetik Jarak Pagar (Jathropa curcas L.) Lokal Berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA*. Lokakarya Nasional III Inovasi Teknologi Jarak Pagar untuk Mendukung Program Desa Mandiri Energi, Malang, 5 November.
- Mahmud, Zainal; Hasnam; dan Rr. Sri Hartati. 2009, *Biologi, Teknologi Jarak Pagar Menjawab Tantangan Krisis Energi..* Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.
- Prastowo, Bambang, Dibyo Prawono, I Ketut Ardana, dan Decyanto Soetopo. 2009. *Teknologi Jarak Pagar Menjawab Tantangan Krisis Energi. Diversifikasi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.
- Salim, Fadila. 2010. *Analisis Keragaman Genetik Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Akses Unggul dan Tipe Liar Berbasis RAPD sebagai Sumber Belajar Mata Kuliah Teknik*

- Analisis Biomolekuler*. Tesis tidak diterbitkan. Program Pasca Sarjana: Universitas Negeri Malang
- Scheleif, Robert. 1993. *Genetics and Molecular Biology*. Department of Biology. The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London.
- Soetopo, Deciyanto. 2007. *Potensi Jarak Pagar sebagai Bahan Pestisida Nabati*. Lokakarya Nasional Jarak Pagar III. Inovasi Teknologi Jarak Pagar untuk Mendukung Program Desa Mandiri Energi, Malang, 5 November.
- Supriatna, Agus; Sumangat, S. D; dan Broto, Wisnu. 2006. *Rekayasa Model Penunjang Keputusan Investasi Pembuatan Biodiesel dari Jarak Pagar (Jathopha curcas L.)*. Prosiding Lokakarya II Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar, Bogor, 29 November.
- Tambunan, Armansyah H. dan Joelianingsih, 2008. *Produksi Biodiesel secara non-katalitik*. Lokakarya Nasional Jarak Pagar IV, Akselerasi Inovasi Teknologi Jarak Pagar Menuju Kemandirian Energi, Malang, 6 November.
- Wanita, Yeyen P dan Joko Hartono. 2006. *Pengaruh Tingkat Kemasakan Buah Terhadap Kadar Minyak Jarak Pagar (Jathopha curcas L.)*. Prosiding Lokakarya II Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar, Bogor, 29 November.
- Wijaya, Andi. 2006. *Perakitan Hibrida Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) untuk Wilayah Beriklim Basah*. Prosiding Lokakarya II Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar, Bogor, 29 November.
- Yuwono, Triwibowo. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.