

KARAKTER MORFOLOGI DAN ANALISA DNA RAPD TANAMAN TUBA (*Paraderris elliptica* (Wall.) Adema) HASIL EKSPLOASIDI PROPINSI JAWA TIMUR

Sandra Wicaksono, Damanhuri dan Darmawan Saptadi

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

Abstract

The objective of the study was to determine the distribution of plants, morphologi plant characters and diversity of Tuba (*Paraderris elliptica* (Wall.) Adema) as the results of exploration in the province of East Java. Exploration activities conducted by survey method (snowball sampling) based on the information of "key informants" in East Java. Differences in morphology based on the qualitative and quantitative character. DNA RAPD analysis conducted on Laboratory of Biotechnology Faculty of Agriculture, Brawijaya University using five (5) primer OPN 4, OPN 11, OPN 15, OPN 16 and OPS 17. Tuba Plants distributed in Jember, Jombang and Sumenep with 17 accesions. The result of simple matching coefficient using dendogram with MVSP software version 3.2.1. There are diversity of plant using DNA RAPD analysis

Key words: Tuba, morphology, DNA RAPD

Pendahuluan

Eksplorasi plasma nutfah tanaman dimaksudkan sebagai kegiatan mencari, mengumpulkan, dan meneliti jenis plasma nutfah tertentu untuk mengamankan dari kepunahan (Sabran *et al.*, 2003). Kegiatan eksplorasi merupakan langkah awal dalam upaya penyelamatan plasma nutfah sehingga keberadaan populasi tanaman dapat dipertahankan serta untuk mendukung pengembangan tanaman dan penyediaan bahan tanaman yang unggul. Kegiatan eksplorasi dan konservasi diperlukan untuk menjaga kelestarian tanaman serta mendapatkan keragaman genetik sebagai sumber plasma nutfah.

Program pertanian organik (go green) diantaranya adalah penggunaan pestisida nabati untuk mengurangi residu pestisida pada hasil tanaman pertanian.

Akar tuba dapat digunakan sebagai pestisida nabati, karena mengandung

senyawa rotenon sebagai bahan aktif utama, deguelin, elliptone, dan toxicarol. Pemanfaatan tanaman tuba sebagai pestisida nabati dapat mengurangi dampak negatif akibat penggunaan pestisida kimia. Rotenone yang dihasilkan pada tanaman tuba akan mudah rusak jika terkena udara, sinar matahari, kondisi basa dan toksisitas senyawa akan hilang dalam 5 sampai 6 hari sinar matahari musim semi atau 2 sampai 3 hari sinar matahari musim panas sehingga aman digunakan oleh petani (Hien *et al.*, 2003.; Attawadee *et al.*, 2006).

Duraiapah (2005) menyebutkan bahwa pengaruh berkurangnya biodiversitas disebabkan oleh beberapa faktor yaitu gangguan alam, perubahan penggunaan lahan, introduksi tanaman, eksploitasi secara berlebihan, polusi, perubahan dalam perkembangan perekonomian, peningkatan jumlah populasi manusia, sosial politik, kebudayaan dan keagamaan, ilmu

pengetahuan dan teknologi. Tanaman tuba banyak dimanfaatkan sebagai racun ikan dan pestisida nabati sehingga tanaman ini banyak diburu oleh masyarakat.

Hasil penelitian Elizabeth *et al.*, (2010) menyebutkan bahwa terdapat 195 jenis endemik flora di Pulau Jawa yang sudah hilang. Analisa jenis endemik dengan menggunakan berbagai faktor perlu dilakukan sehingga diketahui habitat jenis endemik tersebut. Dengan mengetahui habitatnya, maka jenis endemik yang hampir punah dapat dibudidayakan dan diperbanyak untuk tujuan konservasi.

Tanaman tuba tersebar hampir diseluruh wilayah asia. Di Indonesia tanaman ini ditemukan di Jawa. Tanaman tuba tumbuh terpencar-pencar di tempat yang tidak begitu kering, di tepi hutan, di pinggir sungai atau dalam hutan belukar yang masih liar (Setiawati *et al.*, 2008).

Morfologi pada tanaman tuba berupa daun, batang dan bunga memiliki karakter yang berbeda sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam analisa keragaman dan kekerabatan (Martono *et al.*, 2004.; Adema, 2000).

Menurut Mujiman (1981) tanaman tuba merupakan tanaman langka yang populasinya semakin berkurang, sehingga perlu di lakukan kegiatan eksplorasi untuk mengetahui kondisinya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi mengenai karakter morfologi, keragaman genetik serta sebaran tanaman tuba di Propinsi Jawa Timur sebagai sumber plasma nutfah tanaman tuba

Bahan dan Metode

Eksplorasi tanaman tuba dilakukan di Propinsi Jawa Timur mulai bulan Februari 2014 hingga bulan Mei 2015. Kegiatan penelitian menggunakan metode survei dengan pendekatan riset

kualitatif. Survei dilakukan dengan menggunakan teknik *snow-ball sampling* (teknik “bola salju”) dan penyebaran informasi melalui penyuluh pertanian dan media sosial telah didapatkan beberapa orang *key informan*. Pengumpulan data dengan wawancara dan observasi.

Data pengamatan karakter morfologi disusun dalam bentuk data matrik untuk dilakukan analisa kekerabatan. Data biner yang diperoleh digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik berdasarkan koefisien kemiripan sedarhana (*simple matching coefficient*). Hasil nilai kesamaan tersebut dilakukan analisis pengelompokan data matrik (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic*) melalui program MVSP (*Multi Variate Statistical Package*) versi 3.21. Dengan analisis cluster dapat diketahui hubungan kekerabatan dan hubungan kedekatan jarak genetik antar individu dalam suatu populasi.

Analisa molekuler di lakukan di Laboratorium Biotek Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Bagian tanaman yang digunakan dalam isolasi DNA menggunakan daun muda dari masing – masing lokasi tanaman.

Proses kegiatan tahapan analisa molekuler DNA (RAPD PCR) yaitu : isolasi DNA dengan menggunakan kit isolation produk dari Philekorea Technology, Inc. Amplifikasi DNA, bahan yang digunakan : PCR buffer reaction, dNTP mix, Taq DNA polymerase, primer. Primer yang digunakan sebanyak 5 macam (Tabel 1), 1 kb Ladder Gibco, BRL digunakan sebagai penanda, dengan buffer TAE (*tris acetic acid EDTA* dan TE).

Tabel 1. Primer Yang Digunakan Dalam Analisa PCR RAPD Tanaman Tuba (Acharya *et al.*, 2004.;Jena *et al.*, 2004.; Sukrong *et al.*, 2005)

Jenis primer	Sekuen
OPN 4	GACCGACCCA
OPN 11	TCGCCGCAA
OPN 15	CAGCGACTGG
OPS 16	AGGGGGTTCC
OPS 17	TGGGGACCAC

Reaksi amplifikasi dilakukan pada volume sampel 25 μ L dengan komposisi sebagai berikut: 8 mM dNTP mix, PCR buffer 10x, MgCl₂, *Taq* DNA *polymerase*, DNA *template*, primer, ditambah akuades hingga volume mencapai 25 μ L. Amplifikasi dilakukan selama 3 menit pada suhu 95°C untuk denaturasi awal, denaturasi selama 45 detik pada suhu 94°C, *annealing* primer selama 45 detik pada suhu 35°C, 90 detik pada suhu 72°C untuk elongasi, ketiga tahap terakhir dilakukan 35 kali siklus. Dilanjutkan pada tahap elongasi akhir selama 10 menit pada suhu 72°C. Tahap terakhir adalah perendaman pada 4°C selama 60 menit. Hasil amplifikasi divisualisasikan menggunakan elektroforesis horisontal dengan gel agarosa 1%. Gel agarosa diberi EtBr yang mampu melakukan khelat dengan DNA, sehingga dapat dilihat di bawah sinar ultraviolet

Dari data pengamatan disusun dalam bentuk data matrik untuk dilakukan analisa kekerabatan. Data tersebut disusun dalam bentuk biner, diberi diskor nol (0) jika tidak ada, dan 1 jika ada, dan digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik berdasarkan koefisien kemiripan sedarhana (*simple matching coefficient*). Hasil nilai kesamaan tersebut dilakukan analisis pengelompokan data matrik (*clusteranalysis*) dan pembuatan dendogram menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic*) melalui program MVSP (*Multi*

Variate Statistical Package) versi 3.2.1. Dengan analisis cluster dapat diketahui hubungan kekerabatan dan hubungan kedekatan jarak genetik antar individu dalam suatu populasi

Hasil dan Pembahasan

Berkurangnya populasi tanaman tuba diakibatkan beberapa hal diantaranya:

1. Eksploitasi tanaman secara berlebihan.

Eksploitasi tanaman secara berlebihan berupa akar dan daun tanaman dapat menyebabkan tanaman mati. Masyarakat pada umumnya mengambil akar dengan cara mencabut tanaman kemudian akarnya dipotong, hal ini dapat menyebabkan tanaman tersebut mati. Beberapa responden menginformasikan bahwa daun tanaman tuba dapat dimanfaatkan sebagai makan ternak. Daun tanaman tuba yang diambil secara berlebihan dapat menyebabkan tanaman tersebut mati.

2. Alih fungsi lahan.

Perubahan fungsi lahan dari pekarangan/hutan menjadi lahan pertanian atau perumahan menyebabkan berkurang areal lahan bagi tanaman tuba.

3. Kebijakan pemerintah

Tanaman tuba banyak terdapat di sekitar aliran sungai, namun dikarenakan kebijakan pemerintah dalam pembangunan areal sekitar sungai memiliki dampak terhadap populasi tanaman tuba.

4. Tanaman tuba sulit menghasilkan bunga.

Tanaman tuba sulit menghasilkan bunga sehingga penyebaran tanaman dengan menggunakan biji terhambat.

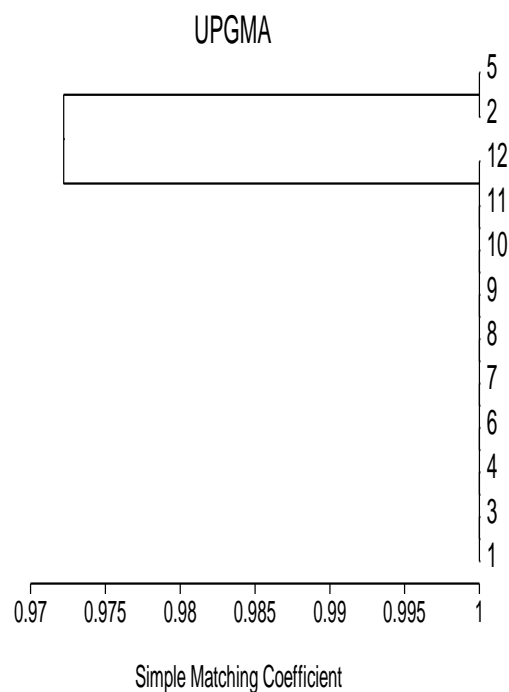
Tabel 2. Hasil Survei Lapang Tanaman Tuba Berdasarkan Informasi *Key Informan*

No	Kabupaten	Kecamatan	Desa	Pemilik	Lokasi
1	Jember	Balung	Curah Lele	H. Jumari	Pekarangan
2	Jember	Wuluhan	Tanjung Rejo	P. Basuki	Pekarangan
3	Jember	Balung	Balung Lor	P. Jaet	Pekarangan
4	Jember	Puger	Wonorejo	P. Sihar	Pekarangan
5	Jember	Umbulsari	Mundurejo	P. Sari	Pekarangan
6	Jember	Umbulsari	Mundurejo	P. Yuwono	Pekarangan
7	Jember	Kencong	Cakru	P. Asnawi	Pekarangan
8	Jember	Tanggul	Patemon	P. Anang M	Pekarangan
9	Jember	Tanggul	Patemon	P. Husen	Pekarangan
10	Jombang	Diwek	Bandung Sari	P. Jarnuki	Pekarangan
11	Jombang	Diwek	Watu Galuh	P. H. Khosin	Pekarangan
12	Sumenep	Gapura	Banjar Barat	P. Hasan	Sawah

Hasil survei di dapatkan 3 lokasi keberadaan tanaman tuba yaitu Kabupaten Jember (9 lokasi tanaman), Kab. Jombang (2 lokasi tanaman) dan Kab. Sumenep (1 lokasi tanaman). Setiap responden hanya memiliki satu tanaman kecuali tanaman tuba bapak Basuki yang memiliki 6 tanaman dan tanaman tersebut diperbanyak secara vegetatif.

Karakter morfologi tanaman tuba hasil eksplorasi (Tabel 3) menunjukkan beberapa perbedaan diantaranya ukuran diameter batang, panjang dan lebar daun, keberadaan bintil akar dan bunga.

Hasil dendrogram (Gambar 1) dengan menggunakan data karakter morfologi tanaman (Tabel 3) terdapat 2 (dua) kelompok di koefisien kemiripan 0.972 dengan jarak genetik 0.028. Kelompok I tanaman no 2 dan 5 pada sub kelompok memiliki nilai koefisien kemiripan 1. kelompok II tanaman no 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 dan 12 memiliki nilai koefisien kemiripan 1. Perbedaan kelompok tersebut berdasarkan keberadaan bintil akar dan bunga. dipengaruhi oleh lingkungan.



Gambar 1. Dendrogram 12 tanaman berdasarkan karakter morfologi tanaman

Lanjutan Tabel 3

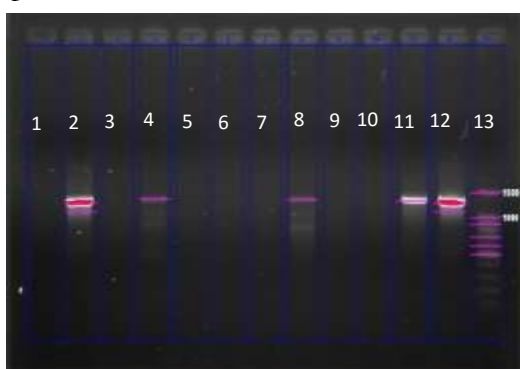
No	Keterangan	Skoring	Tanaman												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	c. Pangkal daun	0 = Cuneate	1 = Cordate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	d. Panjang (cm) (rerata)			20,2	20,5	19,5	21,2	19,4	20,2	16,5	19,2	20,2	21,2	22,2	21,1
	e. Lebar (cm) (rerata)			6,8	6,4	5,9	6,2	6,3	6,2	5,8	6,4	6,8	6,3	6	6,4
15	Bentuk daun bawah	0 = Ovate	1 = Elliptic	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	a. Ujung daun	0 = Acuminate	1 = Acute	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	b. Tepi daun	0 = Rata	1 = Bergelombang	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	c. Pangkal daun	0 = Cuneate	1 = Cordate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	d. Panjang (cm) (rerata)			13,4	13,8	12,5	12	12,2	12	11,7	12,3	11,8	12,3	11,0	11,3
	e. Lebar (cm) (rerata)			6,6	6,3	5,5	5,5	6,1	6,1	5	5,9	6,2	6,4	6,2	6,2
16	Permukaan atas daun	0 = Halus	1 = Berambut	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	Permukaan bawah daun	0 = Halus,	1 = Berambut	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18	Tulang daun	0 = Menjari	1 = Menyirip	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19	Diameter Batang (cm) (rerata)			8	6,3	7	12,2	10,6	5,4	5,3	4,6	4,3	15,2	10,1	5,3
20	Warna Batang	0 = Hijau	1 = Coklat	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21	Permukaan Batang	0 = Halus	1 = Kasar	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22	Karakter Batang	0 = Mudah putus	1 = Tidak mudah putus	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23	Warna Ujung batang	0 = Hijau	1 = Coklat	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Permukaan Ujung batang	0 = Halus,	1 = Berambut	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25	Warna Akar	0 = Hijau,	1 = Coklat	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
26	Permukaan Akar	0 = Halus	1 = Kasar	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27	Karakter Akar	0 = Mudah putus	1 = Tidak mudah putus	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28	Bintil akar	0 = Ada	1 = Tidak ada	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1

29	Bunga	0= Ada	1 = Tidak ada	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
----	-------	--------	---------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Keterangan : No 1 = Tanaman tuba bapak Jumari, No 2 = Tanaman tuba bapak Basuki, No 3 = Tanaman tuba bapak Jaet, No 4 = Tanaman tuba bapak Sihar, No 5 = Tanaman tuba bapak Sari, No 6 = Tanaman tuba bapak Yuwono, No 7 = Tanaman tuba bapak Asnawi, No 8 = Tanaman tuba bapak Anang M, No 9 = Tanaman tuba bapak Husen, No 10 = Tanaman tuba bapak Jamuki, No 11 = Tanaman tuba bapak H. Khosin, No 12 = Tanaman tuba bapak Hasan

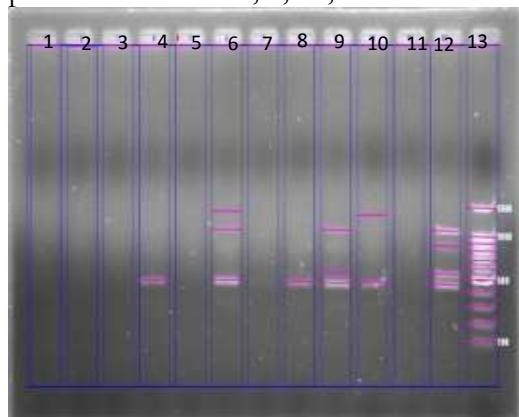
Analisa DNA tanaman tuba dengan menggunakan 5 primer yaitu OPN 4, OPN 11, OPN 15, OPS 16 dan OPS 17 menunjukkan hasil yang berbeda. Primer OPN 4, OPN 11, dan OPS 17 yang menunjukkan hasil (adanya band) dalam analisa PCR

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa tanaman no 2, 11, dan 12 terdapat band pada posisi 1200 bp–1300 bp dan pada posisi 1400 bp–1500 bp terdapat band pada tanaman no 2, 4, 8, 11, dan 12



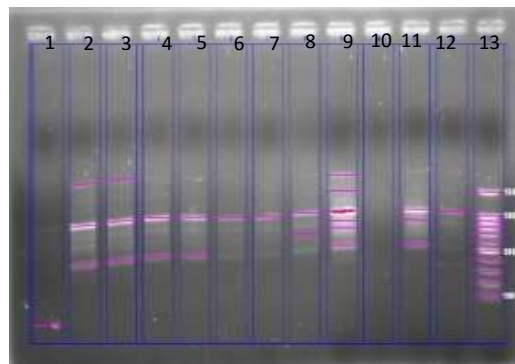
Gambar 2. Hasil analisa PCR menggunakan primer OPN 4.

Pada Gambar 3 terdapat band pada posisi 100 bp–500 bp yaitu sample tanaman no 4, 6, 8, 9, 10, dan 12. Pada posisi band 600 bp–1000 bp terdapat pada tanaman no 9 dan 12. Pada posisi band 1100 bp–1500 bp terdapat band pada tanaman no 6, 9, 10, dan 12



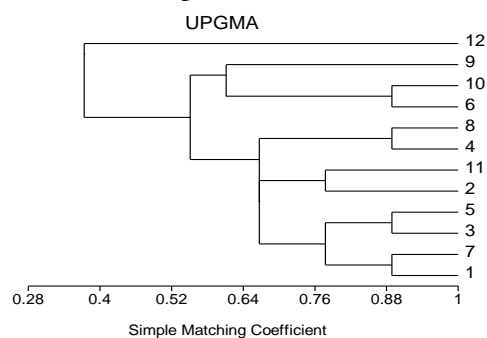
Gambar. 3. Hasil analisa PCR menggunakan primer OPN 11.

Pada Gambar 4 menunjukkan bahwa terdapat band pada posisi 100 bp–500 bp yaitu tanaman no 2, 3, 4, 5, dan 9. Pada posisi band 600 bp–1000 bp terdapat band pada tanaman no 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 11. Pada posisi band 1100 bp–1500 bp terdapat band pada tanaman no 2, 4, 9, 11, dan 12



Gambar. 4 Hasil analisa PCR menggunakan primer OPS 17.

Pada Gambar 5 menggunakan data biner gabungan primer OPN 4, OPN 11, dan OPS 17 terdapat 3 kelompok pada koefisien kemiripan 0.551.



Gambar 5. Dendogram 12 tanaman hasil analisa PCR RAPD.

Kelompok I memiliki nilai koefisien kemiripan 0,778 – 0,889. Tanaman no 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, dan 11, merupakan tanaman dengan posisi band 1200 bp–1300 bp, 1400 bp–1500 bp dengan menggunakan primer OPN 4, primer OPN 11 posisi band pada 100 bp–500 bp. Dengan menggunakan primer OPS 17 terdapat band pada 600 bp–1000 bp kecuali tanaman no 1. Tanaman no 1, 3,

4, 5, 7, dan 8 memiliki nilai koefisien kemiripan 0,889. Tanaman no 2 dan 11 memiliki nilai koefisien kemiripan 0,778.

Kelompok II memiliki nilai koefisien kemiripan 0,551 pada tanaman no 9 dan koefisien kemiripan 0,667 tanaman no 6 dan 10. Posisi band tanaman no 6, 9 dan 10 dengan 100 bp–500 bp, 1100 bp–1500 bp dengan menggunakan primer OPN 11 dan 600 bp–100 bp dengan menggunakan OPS 17. Tanaman no 6 dan 10 memiliki nilai koefisien kemiripan 0,889. Kelompok III merupakan tanaman no 12 dengan dengan posisi band hampir terdapat pada semua primer kecuali 1000 bp–1100 bp dengan menggunakan OPS 4, 100 bp–500 bp dan 600 bp–1000 bp dengan menggunakan primer OPS 17. Tanaman no 12 memiliki nilai koefisien kemiripan 0,374. Nilai koefisien kemiripan dan perbedaan kelompok menunjukkan keragaman. Nilai koefisien dengan menggunakan *simple matching coefficient* terdiri dari 0-1, semakin mendekati angka 1 maka tingkat keragaman tanaman tersebut semakin rendah.

Hasil analisa *cluster* pada karakter morfologi memiliki nilai koefisien keragaman 0,972–1 dan analisa DNA RAPD memiliki nilai koefisien keragaman 0,374–0,889. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat keragaman berdasarkan analisa DNA RAPD namun tidak semua terdapat dalam karakter morfologi tanaman.

Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Tanaman tuba memiliki karakter morfologi yang sama namun terdapat keragaman dalam hasil analisa DNA.
2. Punahnya tanaman tuba disebabkan oleh eksploitasi yang berlebihan, alih fungsi lahan, kebijakan pemerintah dan sulitnya tanaman menghasilkan biji.

Daftar Pustaka

- Acharya, L., A.K. Mukherjee dan P.C. Panda. 2004. Genome Relationship among Nine Species of Millettiae (Leguminosae: Papilionoideae) Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Z.Naturforschung, Tübingen*.59c:868-873
- Adema, F. 2000. Notes on Malesian Fabaceae XX. Derris in Thailand and Malaysia. *Thai Forest Bulletin (Botany)* 28: 2–16.
- Duraiappah A. 2005. Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis (Island Press, Washington, District of Columbia) 100pp
- Elizabeth, A. W, J. P. Moga, T. D. Atikah, A. Hidayat, A. Kartonegoro dan W. Santoso. 2010. Pengukuran Hilangnya Keanekaragaman Flora Di Pulau Jawa. Laporan Akhir Program Peneliti Dan Perakayasa LIPI Tahun 2010. Bogor.p 29
- Hien, P. P., H. Gortnizka dan R. Kraemer. 2003. Rotenone – Potential And Prospect For Sustainable Agriculture. *Cuu Long Delta Rice Research Institute. Vietnam. OMONRICE* 11 p 83-92
- Jena S., P. Sahoo., S. Mohanty & A.B. Das. 2004. Identification of RAPD markers, in situ DNA content and structural chromosomal diversity in some legumes of the mangrove flora of Orissa. *Cytogenetics Laboratory, Regional Plant Resource Centre, Bhubaneswar. Orissa. India.* P 10
- Kristamtini, Taryono, Panjisakti B. dan Rudi H.M. 2014. Keragaman Genetik dan Korelasi Parameter Warna Beras dan Kandungan Antosianin Total Sebelas Kultivar Padi Beras Hitam Lokal. *Ilmu Pertanian Vol. 17 No.1, 2014* : 90 – 103
- Martono, B., Endang, H dan Laba, U. 2004. Plasma Nutfah Insektisida Nabati. *Perkembangan Teknologi Tro Vol XVI No1*
- Mujiman, A. 1981. Tuba semakin langka. *Majalah Trubus* 12. p 120-121
- Setiawati, W., R. Murtiningsih dan N. Gunaeni. 2008. Tumbuhan Bahan Pestisida Nabati Dan Proses Pembuatannya. *Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Bandung.* P 13-15
- Singh, R.K. dan Chaudhary B.D. 1979. *Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis.* Ed. Rev. New Delhi. Kalyani Publishers. p 304.
- Sukrong, S., T. Phadungcharoen dan N. Ruangrunsi. 2005. DNA Fingerprinting of Medicinally Used Derris Species by RAPD Molecular Marker. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences. Thailand. Vol 29, P* 155-163