

Identifikasi Keragaman Genetik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) di Jawa Tengah Berdasarkan Penanda Isoenzim

Identification of genetic diversity of jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) in central java based on isoenzyme marker

AHMAD YUNUS*

Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126

Diterima: 03 Januari 2007. Disetujui: 04 April 2007

ABSTRACT

Jatropha curcas is one of the plant which produces the renewable fuel. At the present time, the problems of the *Jatropha* are little information about genetic information included genetic diversity on inter species at Central Java and even in Indonesia. The diversity of inter species can be known by isozyme traits, this marker provide clustering species. The objective of this research were to identify *Jatropha* based on isozyme markers. This research was conducted on Mei until December 2006. The samples were obtained from Banyumas, Pati, Cilacap, Pemalang, Jepara, Kudus, Batang and Grobogan. Isozyme analysis was conducted on Central Laboratory, Sebelas Maret University. Analysis of isozyme were conducted with isozyme Alcohol dehydrogenase (ADH), Sorbitol dehydrogenase (SOD), Schimate dehydrogenase (SHD) and Isocitrate dehydrogenase (IDH). Analysis of data used the metode of Cluster Metode Average Linkage with DICE coefficient. The conclusion of this research were: based on analysis of enzyme sorbitol dehydrogenase (SOD) and schimate dehydrogenase (SHD), spesies from Kudus I was different with other species, while based on Alcohol dehydrogenase (ADH) and Isocitrate dehydrogenase (IDH) showed that species from Grobogan has genetic similarity with Kudus I.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Jatropha curcas*, Isoenzim

PENDAHULUAN

Indonesia yang kaya akan sumber daya alam dan tumbuhan sudah saatnya mengembangkan sumber bahan bakar alternatif. Sesuai dengan Inpres nomor 1 tahun 2006 tentang penyediaan dan pemanfaatan bahan bakar nabati (Biofuel) sebagai bahan bakar alternatif dan Perpres nomor 5 tahun 2006 tentang energi nasional bahwa pemanfaatan biofuel tahun 2010 sebesar 1,7 juta kilo liter (kl), tahun 2015 sebesar 4,0 juta kl, tahun 2025 sebesar 22,0 juta kl.

Negara-negara lain telah mempersiapkan untuk penggunaan energi alternatif berupa penggunaan biofuel yaitu : bioetanol (pengganti premium), biodisel (pengganti solar) dan bio-oil (pengganti minyak bakar). Brasil akan mengembangkan perkebunan tebu sampai 10 juta hektar pada tahun 2015 untuk meningkatkan kapasitas terpasang saat ini yang mencapai 18 miliar liter etanol per tahun. Amerika Serikat dengan kebijakan penggunaan bahan bakar terbarukan 7,5 milyar galon pada tahun 2012 menjadi negara produsen dan konsumen biofuel terbesar kedua di dunia. Jepang menempuh langkah Gasohol E10 (etanol 10%) pada tahun 2010, Cina telah mempersiapkan dengan membangun pabrik etanol dengan kapasitas 1,5 miliar liter

per tahun, dan India mempunyai kemampuan produksi yang sama dengan Cina dan mempunyai program pengembangan tanaman jarak pagar untuk biodisel di areal seluas 30 juta hektar. Untuk Indonesia produksi etanol baru mencapai 200 juta liter per tahun (Anonim, 2006).

Beberapa permasalahan yang dihadapi saat ini yaitu belum adanya informasi tentang varietas unggul dan metode yang efektif dalam perbanyak tanaman jarak pagar. Dalam hal ini pemuliaan tanaman memiliki peran yang sangat penting. Upaya untuk mengetahui keragaman suatu tanaman dapat dilakukan berdasarkan perbedaan ciri morfologi atau menggunakan penanda molekuler.

Setiyo (2001) dan Asins *et al.*, (1995) menjelaskan bahwa penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Penanda molekuler antara lain penanda isozim dan penanda DNA seperti metode RAPD (Wells dan Mc Clelland, 1990; Waugh, 1997).

Kedua penanda tersebut mempunyai prinsip dan interpretasi genetik yang sama. Perbedaannya terlihat pada pita polimorfisme. Pada isozim berupa protein atau ekspresi gen, sedangkan pada marka DNA berupa fragmen DNA.

Isozim adalah enzim yang merupakan produk langsung dari gen yang memiliki molekul aktif dan struktur kimia yang berbeda tetapi mengkatalis reaksi kimia yang sama. Enzim merupakan protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis yang pengadaannya dan pengaturannya dikontrol secara genetik (Shannon, 1968). Isozim dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari keragaman individu

▼ Alamat Korespondensi:

Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Telp.: +62-271-646994 Fax.: +62-271-646994
Email : informasi@pertanian.uns.ac.id

dalam satu populasi, klasifikasi jenis tanaman, identifikasi kultivar dan hibridnya, penanda ketahanan terhadap penyakit tertentu (Na'im, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi tanaman jarak pagar berdasarkan karakter Isozim.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Desember 2006. Penelitian analisis isoenzim dilaksanakan di Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta. Penelitian analisis isozim pada tanaman jarak pagar yang berasal dari kabupaten Banyumas, Pati, Cilacap, Purwodadi, Jepara, Kudus, Pemalang, Batang dan Grobogan.

Analisis Isozim

Bahan yang digunakan dalam analisis isozim adalah asam sitrat, asam askorbat, sistein, borax, Tris Acetic Acid EDTA, Tris HCl, aseton, O-Dianisidine, buffer fosfat 0,2 M pH 5,7, H₂O₂, naftil asetat, fast blue BB, iso butanol, asam asetat, sodium dodecyl sulphate (SDS), HCl, amonium persulfat (APS), tetram etiletilen diamin (TEMED), bisakrilamid, akrilamid.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat elektroforesis, gelas ukur, pompa vakum, gelas piala, microwave, cetakan gel dan pH meter.

Metode yang digunakan menggunakan cara seperti Arulsekar dan Parfit (1986), Purwanto dkk. (2002), Suranto (2001), Cahyarini dkk. (2004).

Ekstraksi daun: sampel daun segar ditimbang antara 0,5 g kemudian dimasukkan kedalam mortar dan buffer sebanyak 0,5 ml, selanjutnya sampel daun ditumbuk sampai halus. Masing-masing sampel dimasukkan kedalam tabung eppendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 15 menit. Supernatan dituangkan kedalam tube sebanyak 15 µl dan disimpan pada suhu 4°C.

Elektroforesis: Gel polyacrylamide terdiri atas 2 bagian, yaitu separating gel yang terletak di bagian bawah dengan konsentrasi 8 % dan stacking gel yang terletak di bagian atas running gel dengan kepekatan 5 %. Sampel daun diambil supernatannya dengan mikropipet sebanyak 2,5 µl ditambah dengan *loading dye* dan dibantu *loading guide*. Sampel tersebut diletakkan pada gel yang tercekak.

Setelah itu sampel dielektroforesis awal dengan menggunakan tegangan 200V, 60A selama 5 menit sampai sampel memasuki gel pemisah. Kemudian sampel dielektroforesis lanjutan dengan menggunakan tegangan listrik konstan 85V, 400 mA selama 60 menit.

Larutan pewarna disesuaikan dengan masing-masing sistem enzim yang dianalisis yaitu Alcohol dehydrogenase (ADH), Sorbitol dehydrogenase (SOD), Schimimate dehydrogenase (SHD) dan Isocitrate dehydrogenase (IDH).

Analisis Data: analisis keragaman pola pita isozim berdasarkan sifat kuantitatif lebih baik, karena hampir tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan berdasarkan metode Bailey (1983).

Analisis Dendrogram: Pola pita isozim hasil elektroforesis direkam dengan fotografi, kemudian pola pitanya digambar zimogramnya pada kertas grafik. Pengukuran jarak migrasi (Rf) diukur dari jarak pita yang tampak dibagi dengan jarak migrasi terjauhnya. Data keragaman yang ada tersebut selanjutnya dibuat dalam data biner dengan angka 1 jika pada lokus tersebut terdapat pita, dan angka 0 apabila tidak terdapat pita pada jarak tertentu. Data biner yang dihasilkan dibuat dalam

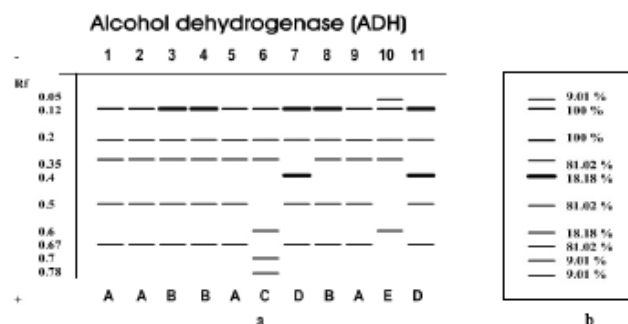
persamaan matrik. Data matrik dihitung berdasarkan koefisien DICE.

Klasterisasi dilakukan dengan Unweighted Pair Group With Arithmetic Mean (UPGMA) yang dihitung melalui SHAN pada program NTSYS (Rolf, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Alcohol dehydrogenase (ADH)

Pada analisis isozim dengan menggunakan enzim Alcohol dehydrogenase menunjukkan bahwa keragaman pola pita seperti yang terlihat pada gambar 1. Migrasi isozim pada elektroforesis bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Berdasarkan gambar 1b, terdapat 10 kelompok pita isozim Alcohol dehydrogenase. Ada 1 kelompok pita dengan bentuk dan jarak migrasi yang sama yaitu pada jarak migrasi 0.2. Sedangkan 9 pola pita lainnya mempunyai bentuk dan jarak migrasi yang berbeda yaitu pada jarak migrasi 0.5 (kualitatif), 0.12 (kualitatif dan kuantitatif), 0.35 (kualitatif), 0.4 (kuantitatif), 0.5 (kualitatif), 0.6 (kualitatif), 0.67 (kualitatif), 0.7 (kualitatif) dan 0.78 (kualitatif).

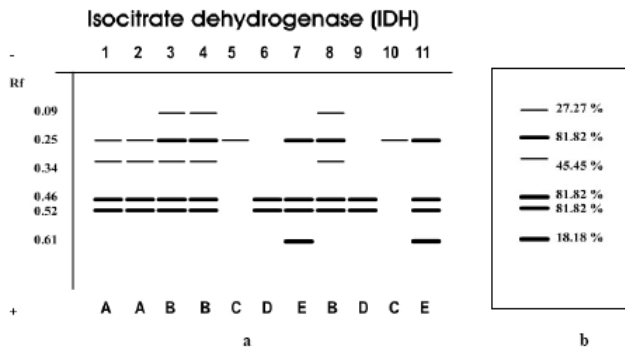


Gambar 1. (a) Keragaman pola pita menggunakan enzim Alcohol dehydrogenase. (b) Pola pita menggunakan enzim Alcohol dehydrogenase. (Keterangan: 1. Banyumas I, 2. Pati, 3. Cilacap, 4. Banyumas II, 5. Pemalang, 6. Jepara, 7. Kudus I, 8. Purwodadi, 9. Batang, 10. Kudus II, 11. Grobogan)

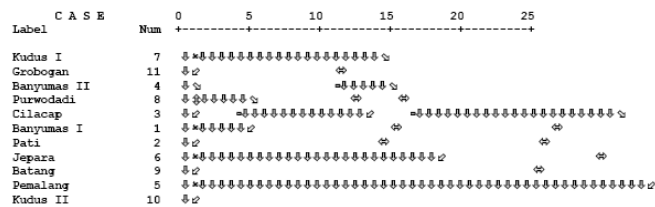
Identifikasi suatu kultivar dapat dilakukan dengan membandingkan atau mencari kemiripan antar kultivar yang ingin diketahui melalui pemahaman sifat atau ciri-ciri yang diperlihatkan oleh organ-organ tanaman pada masing-masing kultivar yang diuji (Samangan, 1982). Salah satu langkah dalam identifikasi adalah pengelompokan yaitu pada awalnya setiap sampel merupakan satu kelompok tersendiri, selanjutnya dua kelompok terdekat digabungkan demikian seterusnya sampai diperoleh satu kelompok yang beranggotakan semua individu. Pengelompokan dengan teknik ini dapat digambarkan dalam diagram pohon atau dendrogram (Franco *et al.*, 1997).

Gambar 2 menunjukkan bahwa keragaman tanaman jarak pagar di Jawa Tengah dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok dan 2 individu tunggal tidak berkelompok. Dua kelompok itu yaitu kelompok I terdiri atas Kudus I dan Grobogan sedangkan kelompok II terdiri atas Banyumas I, Pati, Cilacap, Banyumas II, Pemalang, Purwodadi dan Batang. Dua kelompok tersebut berada pada jarak kemiripan DICE I. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman jarak pagar kelompok I memiliki kemiripan genetik yang tinggi. Demikian juga tanaman jarak pagar kelompok II. Ciri-ciri tanaman memiliki kemiripan yang tinggi yaitu memiliki jarak kemiripan DICE mendekati 0.

kuantitatif), 0.34 (kualitatif), 0.46 (kuantitatif), 0.52 (kuantitatif) dan 0.61 (kuantitatif).



Gambar 7a. Keragaman pola pita menggunakan enzim Isocitrate dehydrogenase. (b) Pola pita menggunakan enzim Isocitrate dehydrogenase. (Keterangan : 1. Banyumas I, 2. Pati, 3. Cilacap, 4. Banyumas II, 5. Pemalang, 6 Jepara, 7. Kudus I, 8. Purwodadi, 9. Batang, 10. Kudus II, 11. Grobogan.



Gambar 8. Dendrogram menggunakan enzim Isocitrate dehydrogenase

Hubungan kekerabatan yang paling dekat (terdapat pada jarak kemiripan DICE I) dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok I terdiri atas Kudus I dan Grobogan. Kelompok II terdiri atas Banyumas II, Purwodadi dan Cilacap. Kelompok III terdiri atas Banyumas I dan Pati. Kelompok IV terdiri atas Jepara dan Batang.. Dan kelompok V terdiri atas Pemalang dan Kudus II.

Kelompok II dan III memiliki kemiripan genetik yang dekat sedangkan kelompok IV memiliki kemiripan genetik yang jauh dibandingkan dengan tanaman jarak pagar dari daerah yang lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis enzim Sorbitol dehydrogenase (SOD) dan Schimimate dehydrogenase (SHD) menunjukkan bahwa spesies dari Kudus I berbeda dengan spesies yang lain. Berdasarkan analisis enzim Alcohol dehydrogenase (ADH) dan Isocitrate dehydrogenase (IDH) menunjukkan bahwa spesies dari Grobogan memiliki kemiripan genetik yang sangat dekat dengan Kudus.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2006. Pemakaian Biofuel Indonesia. Kompas, 16 Maret 2006.
 Arulsekar, S., and Parfitt, D.E. 1986. Isozymes procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio and fig. *Hort Sci.* 21 (40) : 928-933.
 Asins, M.J., Herrero, and Navarro. 1995. Factors affecting *Citrus* tree isozyme gene expression. *Theor. Appl. Genet.* 90: 892-898.
 Bailey, L.W. 1983. The use and abuse of anatomical data in the study of phylogeni an classification. *Phytomorphology.* 1 (2) : 67-69.
 Cahyarini, R. D., A. Yunus, E. Purwanto. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis Isozim. *Agrosains.* 6 (2):96-104.
 Franco, J., J. Croosa, J. Diaz, S. Saba, and S.A. Ebehart. 1997. A sequential clustering strategy for classification. *Phytomorfology.* 1 : 67-69.
 Na'im, M. 1996. *Pengenalan Analisis Isoenzim dan Pemanfaatannya dalam Budidaya Tanaman.* Yogyakarta.
 Purwanto, E., Sukaya, dan Merdekawati, P. 2002. Studi keragaman plasma nutfah jeruk besar di Magetan berdasar penanda isozim. *Agrosains.* 4 (2) : 50-55.
 Rolf, F. J. 1993. NTSYS-pc Numerical Taxonomic and Multivariate Analysis System. Exeter Soft Ware. New York.
 Samingan, T. 1982. *Dendrologi.* PT. Gramedia. Jakarta.
 Setiyo, I.E. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit sungai pancur (RISPA). *Tesis S2.* Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
 Sujatha M. and N. Mukta. 1996. Morphogenesis and Plant Regeneration from Tissue Culture of *Jatropha curcas.* *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 44:2,135-141.
 Suranto, 2001. Isozyme Studies on The Morphological Variation of *Ranunculus nanus* population. *Agrivita* 3 (2):139-146
 Waugh, R. 1997. RAPD Analysis: Use for Genome Characterization, Tagging Traits and Mapping. P.154-175. In. M.S. Clark (Ed.) *Plant Molecular Biology A. Laboratory Manual.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
 Wells, J., and M. McClelland. 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primer. *Nucleic Acid Res.* 18: 7213-7218.