

11-25-2010

KERAGAMAN GENETIK PANDAN ASAL JAWA BARAT BERDASARKAN PENANDA INTER SIMPLE SEQUENCE REPEAT

Sri Endarti Rahayu

Jurusan Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Jakarta 12520, Indonesia,
endarti2004@yahoo.com

Sri Handayani

Jurusan Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Jakarta 12520, Indonesia

Follow this and additional works at: <https://scholarhub.ui.ac.id/science>

Recommended Citation

Rahayu, Sri Endarti and Handayani, Sri (2010) "KERAGAMAN GENETIK PANDAN ASAL JAWA BARAT BERDASARKAN PENANDA INTER SIMPLE SEQUENCE REPEAT," *Makara Journal of Science*: Vol. 14: Iss. 2, Article 29.

Available at: <https://scholarhub.ui.ac.id/science/vol14/iss2/29>

This Article is brought to you for free and open access by the Universitas Indonesia at UI Scholars Hub. It has been accepted for inclusion in Makara Journal of Science by an authorized editor of UI Scholars Hub.

KERAGAMAN GENETIK PANDAN ASAL JAWA BARAT BERDASARKAN PENANDA *INTER SIMPLE SEQUENCE REPEAT*

Sri Endarti Rahayu^{*}) dan Sri Handayani

Jurusan Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Jakarta 12520, Indonesia

^{*}E-mail: endarti2004@yahoo.com

Abstrak

Keragaman genetik sepuluh jenis *Pandanus* yang berasal dari Jawa Barat diuji dengan menggunakan teknik *inter simple sequence repeat* (ISSR). Sampel dikoleksi dari beberapa lokasi yang berbeda di Jawa Barat. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah dua primer yang paling polimorfis hasil seleksi beberapa primer, yaitu ISSR2 ((AC)₈TT) dan ISSR7 ((GA)₉A). Dalam analisis ISSR ini diperoleh 19 pita DNA yang terdiri atas 17 (91,5%) pita polimorfik dan 2 pita monomorfik dengan ukuran fragmen berkisar antara 200 bp sampai 1500 bp. Jarak genetik untuk seluruh sampel berkisar antara 0,267 sampai 0,957. Jarak genetik tertinggi (0,957) terdapat antara *P. pseudolais* dan *P. spinistigmaticus*, dan antara *P. kurzii* dan *P. pseudolais*, sedangkan jarak genetik terendah (0,267) terdapat antara *P. scabrifolius* dan *P. bidur*.

Abstract

Genetic Diversity of *Pandanus* from West Java based on ISSR Markers. The genetic diversity of 10 species of *Pandanus* from West Java was examined using inter simple sequence repeat (ISSR) technique. Samples were collected from different localities in West Java. Two primers (ISSR2 and ISSR7) were selected as reliable amplifying ISSR markers. The two primers amplified 19 band position, with amplification size ranged from 200 to 1500 bp. Genetic distance for samples ranged from 0.267 to 0.957. Genetic distance was high (0.957) between *P. pseudolais* and *P. spinistigmaticus*, and between *P. kurzii* and *P. pseudolais*, where as genetic distance was low (0.267) between *P. scabrifolius* and *P. bidur*.

Keywords: genetic diversity, ISSR, *Pandanus*, West Java

1. Pendahuluan

Pandan (*Pandanus* spp.) adalah jenis tumbuhan yang telah lama dimanfaatkan masyarakat Indonesia untuk berbagai macam keperluan, mulai dari bumbu masak, bahan obat, hingga keperluan keagamaan [1]. Di daerah Tasikmalaya dan Kebumen, pandan tidak dapat dipisahkan dari kehidupan masyarakat sehari-hari. Mereka memanfaatkan daun pandan sebagai bahan baku tikar, dan kerajinan lain seperti topi dan tas. Jenis yang paling sering digunakan untuk bahan baku tikar adalah *Pandanus tectorius*, *P. odoratissimus*, *P. dubius* dan *P. furcatus*. Meski sepanjang tepi daunnya berduri, tetapi jenis ini memiliki tekstur lentur dan tidak mudah patah karena serat trakeidnya panjang [2]. Pandan wangi (*P. amaryllifolius*) merupakan satu-satunya pandan yang memiliki daun yang harum dan memiliki khasiat sebagai obat. *Pandanin*, senyawa yang diekstrak dari pandan wangi ini memiliki khasiat sebagai antivirus terhadap virus yang menyerang manusia, virus herpes

dan virus influenza [3]. Beberapa jenis pandan telah digunakan sebagai tanaman hias karena memiliki bentuk arsitektur tumbuhan yang unik, diantaranya *P. dubius*, *P. tectorius* cv sanderi, *P. spurius* cv putat, dan *P. utilis* [4].

Perubahan tata kehidupan masyarakat, baik di perkotaan maupun di pedesaan yang semakin pesat dewasa ini tentu akan berdampak pada budaya pola hidup, dan kelestarian sumberdaya alam hayati, termasuk pandan. Pengetahuan tradisional tentang tata cara pemanfaatan pandan yang telah diturunkan dari generasi ke generasi akan mengalami erosi dengan masuknya teknologi modern. Di sisi lain, eksploitasi sumberdaya alam akan meningkat seiring dengan perkembangan industri yang semakin maju. Hasil pengkajian lapangan mengemukakan bahwa usaha pelestarian pandan melalui pola budidaya belum banyak dilakukan oleh masyarakat di Indonesia. Selain itu, hingga saat ini belum ada penelitian genetik yang dapat mendukung upaya konservasinya.

Informasi keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman. Untuk kegiatan konservasi, besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk adaptasi ekologi dalam jangka waktu pendek dan evolusi dalam jangka panjang, sedangkan untuk pemuliaan, keragaman genetik yang luas diperlukan dalam kegiatan seleksi [5]. Program pemuliaan jangka panjang yang memanfaatkan plasma nutfah untuk memperbaiki sifat-sifat agronomi dari aksesori/jenis terpilih harus didasarkan pada perkiraan determinasi genetik yang lebih akurat, sehingga penentuan individu tanaman sebagai bahan dalam perbaikan genetik dapat dilakukan dengan tepat [6].

Penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Penanda molekuler *inter simple sequence repeat* (ISSR) merupakan penanda yang berkembang lebih akhir dibanding RAPD dan RFLP. ISSR memiliki *reproducibility* yang tinggi. Hal ini mungkin disebabkan karena digunakannya primer yang lebih panjang (16-25 mers) bila dibanding dengan RAPD yang *reproducibility*-nya rendah. Penanda ISSR itu lebih cepat, lebih murah, memerlukan jumlah DNA yang sedikit [7] mampu melakukan pendeteksian genetik polimorfisme tanpa perlu lebih dahulu mengetahui susunan basa (sekuens) dari genom tumbuhan diantara susunan basa yang berulang sepanjang susunan basa berulang tersebut mewakili secara luas dan menyebar di seluruh genom [8] serta memiliki polimorfisme yang tinggi [1], dan penanda ISSR ini telah berhasil digunakan untuk mempelajari keragaman genetik pada teh [9].

Sampai saat ini, evaluasi keragaman genetik pandan di Indonesia belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui keragaman genetik pandan asal Jawa Barat.

2. Metode Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun muda dari sepuluh aksesori/jenis pandan hasil koleksi dari berbagai lokasi di Jawa Barat (Tabel 1). Seluruh material DNA ini dikeringkan dengan gel silika. DNA genom tanaman diisolasi dengan metode CTAB yang dimodifikasi [5]. Untuk amplifikasi ISSR, total campuran yang digunakan adalah sebanyak 25 μ l, terdiri atas 50 ng genomic DNA, 10 pmol primer, 1X PCR buffer, 0,2 Mm dNTPs, 1,5 Mm MgCl₂ dan 0,5 unit *Taq* polimerase. Diusahakan pencampuran larutan sampai menjadi homogen. Amplifikasi dilakukan menggunakan *thermocycle* dengan tahapan program sebagai berikut: denaturasi awal pada kondisi 94 °C selama 2 menit dilanjutkan dengan 35 putaran yang terdiri atas denaturasi pada 94 °C selama 1 menit, amplifikasi 53 °C selama 1 menit, dan ekstensi pada 72 °C selama 2 menit. Setelah selesai 35 putaran, proses ini diakhiri dengan ekstensi akhir

Tabel 1. Daftar Koleksi *Pandanus* yang Digunakan untuk Analisis ISSR

| Nama jenis | Lokasi | No. Sampel |
|----------------------------|------------------|-----------------|
| <i>P. bidur</i> | Ujung Kulon | S ₁ |
| <i>P. spinistigmaticus</i> | Kebun Raya Bogor | S ₂ |
| <i>P. pseudolais</i> | Bodogol | S ₃ |
| <i>P. multifurcatus</i> | Kebun Raya Bogor | S ₄ |
| <i>P. nitidus</i> | Bodogol | S ₅ |
| <i>P. amarillyfolius</i> | Depok | S ₆ |
| <i>P. polycephalus</i> | Kebun Raya Bogor | S ₇ |
| <i>P. kurzii</i> | Kebun Raya Bogor | S ₈ |
| <i>P. scabrifolius</i> | Cibodas | S ₉ |
| <i>P. dubius</i> | Jakarta | S ₁₀ |

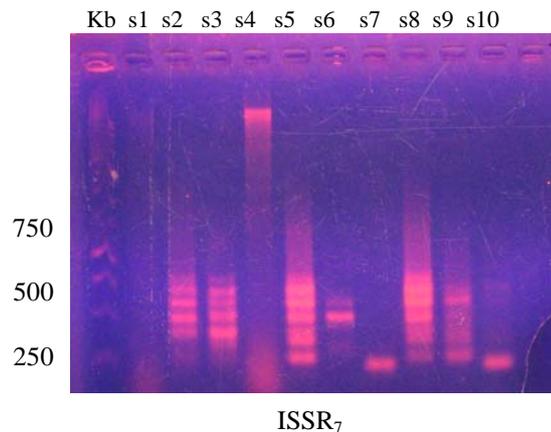
pada 72 °C selama 7 menit. Hasil dari reaksi kemudian dielektro-foresis pada agarose gel pada konsentrasi 1%. Gel kemudian diwarnai dengan ethidium bromide dan diamati dibawah UV transiluminator untuk melihat pola pita yang dihasilkan, setelah itu didokumentasikan dengan foto.

Analisis Data. Data yang diperoleh dari pemotretan gel hasil ISSR berupa pita-pita diskrit dengan ukuran tertentu dari masing-masing koleksi pandan. Jarak pita diukur dari batas bawah sumur sampai batas bawah pita yang masih tampak. Nomor pita diurutkan dari jarak pita terdekat dengan batas bawah sumur. Pengukuran potongan DNA genom dilakukan dengan membandingkannya dengan berat molekul standar 1 kb DNA ladder. Perbedaan antar nomor koleksi pandan ditunjukkan oleh jumlah pita dan jarak migrasinya. Analisis data didasarkan pada ada atau tidaknya pita. Profil pita DNA diterjemahkan kedalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan 1 untuk adanya pita DNA pada satu posisi yang sama dari aksesori/jenis yang dibandingkan. Berdasar pola pita tersebut, dihitung kesamaan antar aksesori/jenis yang dihitung berdasarkan metode Nei dan Li [10], program NTSYS-pc (*exeter software*). Pengelompokan data matrik (*cluster analyses*) dan pembuatan dendrogram dilakukan dengan metode *unweighted pair group method arithmetic* (UPGMA) menggunakan program Numerical Taxonomy and Multivariate System (NTSYS) versi 2.0.

3. Hasil dan Pembahasan

Seleksi Primer. Dua primer digunakan pada sepuluh aksesori/jenis *Pandanus* asal Jawa Barat. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa primer yang berbeda menghasilkan pita DNA yang berbeda seperti pada Tabel 2. Dua primer menghasilkan 19 fragmen DNA dan 17 (91,5%) diantaranya merupakan pitapolimorfik. Jumlah pita yang dihasilkan oleh setiap primer berkisar antara 7-12. Hasil analisis ISSR dari dua primer yang digunakan ditampilkan pada Gambar 1.

Analisis profil ISSR. Hasil amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan dua primer menunjukkan 10 jenis *Pandanus* menghasilkan produk PCR yang dapat dibaca dan diberi nilai sehingga hasilnya dapat dianalisis (Gambar 1). Pengamatan terhadap pola pita DNA setelah gel elektroforesis menunjukkan bahwa setiap jenis primer menghasilkan pita DNA yang berbeda. Jumlah pita yang dihasilkan sangat bergantung pada bagaimana primer mengenal homolognya pada cetakan DNA yang diinginkan [11]. Semakin banyak situs penempelan dari primer yang digunakan, semakin banyak jumlah pita DNA yang dihasilkan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa diperoleh 19 fragmen DNA yang berukuran dari 200 bp hingga 1.5 kb dimana 17 (91,5%) diantaranya merupakan pita polimorfik. Tingkat polimorfisme yang relatif tinggi dengan penanda ISSR menunjukkan indeks penanda yang tinggi. Rata-rata setiap primer menghasilkan 9,5 pita yang dapat dideteksi dan diberi nilai. Jumlah pita polimorfik tertinggi (11) terdapat pada primer ISSR₂ dan jumlah pita polimorfik terendah (2) terdapat pada primer ISSR₇ (Tabel 2). Hasil ini sesuai dengan hasil seleksi primer sebelumnya. Kedua primer ini merupakan primer yang menghasilkan pola pita polimorfik untuk 10 jenis



Gambar 1. Pola Pita ISSR pada *Pandanus* spp. dengan Primer ISSR

Pandanus. Hasil pengamatan menunjukkan tidak adanya fragmen DNA unik yang dideteksi pada dua primer.

Analisis ketidaksamaan genetik. Data ISSR digunakan untuk membuat *pair-wise comparison* 10 jenis *Pandanus* berdasarkan produk amplifikasi DNA. Nilai ketidaksamaan genetik untuk 10 jenis *Pandanus* berkisar antara 0,267-0,957 dengan yang tertinggi (0,957) terdapat antara *P. pseudolais* dan *P. spinistigmaticus*, dan antara *P. kurzii* dan *P. pseudolais* sedangkan nilai ketidaksamaan genetik terendah 0,267 terdapat antara *P. scabrifolius* dan *P. bidur* (Tabel 3). Jenis yang memiliki nilai ketidaksamaan genetik tertinggi menunjukkan kedua jenis ini sangat berbeda secara genetik satu dengan yang lain sedangkan jenis yang memiliki ketidaksamaan genetik terendah menunjukkan bahwa kedua jenis ini memiliki properti genetika sangat mirip satu dengan yang lain.

Analisis kluster. Berdasarkan profil pita DNA setelah diinterpretasi dan diterjemahkan ke data biner, dilakukan analisis kluster. Analisis kluster pada 10 jenis *Pandanus* menghasilkan dendrogram pada Gambar 2.

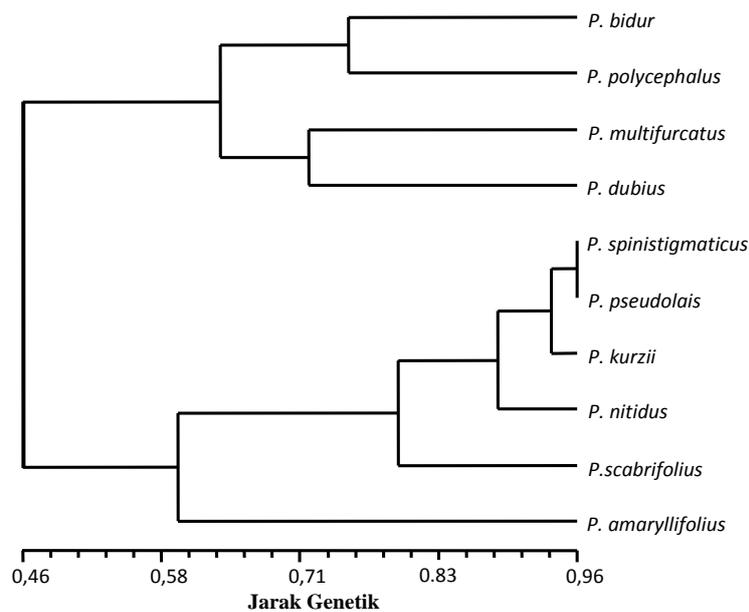
Pengelompokan terbentuk pada jarak genetik 0,46-0,96 (tingkat kemiripan 4-54% Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa ke 10 jenis *Pandanus* memiliki keragaman genetik yang tinggi.

Tabel 2. Primer yang Digunakan dan Jumlah Pita DNA Hasil Amplifikasi pada 10 Jenis *Pandanus*

| Primer | Susunan basa (5'-3') | Ukuran Fragmen (bp) | Jumlah Fragmen | Jumlah pita polimorfik | Persentase Polimorfik (%) |
|--------|----------------------|---------------------|----------------|------------------------|---------------------------|
| ISSR2 | (AC)8T | 250-1500 | 12 | 10 | 83 |
| ISSR7 | T(GA) 9A | 200- 700 | 7 | 7 | 100 |
| Total | | | 19 | 17 | |
| Rataan | | | | | 91,5 |

Tabel 3. Nilai Ketidaksamaan Genetik antar 10 Jenis *Pandanus*

| Sp | s1 | s2 | s3 | s4 | s5 | s6 | s7 | s8 | s9 | s10 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| s1 | 1,000 | | | | | | | | | |
| s2 | 0,444 | 1,000 | | | | | | | | |
| s3 | 0,421 | 0,957 | 1,000 | | | | | | | |
| s4 | 0,571 | 0,556 | 0,632 | 1,000 | | | | | | |
| s5 | 0,421 | 0,870 | 0,917 | 0,632 | 1,000 | | | | | |
| s6 | 0,316 | 0,522 | 0,583 | 0,421 | 0,667 | 1,000 | | | | |
| s7 | 0,750 | 0,500 | 0,571 | 0,625 | 0,476 | 0,476 | 1,000 | | | |
| s8 | 0,333 | 0,909 | 0,957 | 0,556 | 0,870 | 0,609 | 0,600 | 1,000 | | |
| s9 | 0,267 | 0,737 | 0,800 | 0,533 | 0,800 | 0,600 | 0,353 | 0,842 | 1,000 | |
| 6s10 | 0,714 | 0,333 | 0,421 | 0,714 | 0,421 | 0,526 | 0,625 | 0,333 | 0,400 | 1,000 |



Gambar 2. Dendrogram 10 Jenis Pandanus berdasarkan Profil Pola Pita DNA dengan Teknik ISSR

Pada jarak genetik 0,60 (tingkat kemiripan 40%) didapatkan tiga kelompok. Empat jenis *Pandanus*, yaitu *P. bidur*, *P. polycephalus*, *P. multifurcatus* dan *P. dubius* menyebar pada kelompok I, lima jenis lain *Pandanus* lainnya, yaitu *P. spinistigmaticus*, *P. pseudolais*, *P. kurzii*, *P. nitidus* dan *P. scabrifolius* pada kelompok II, dan satu jenis, yaitu *P. amaryllifolius* memencil sendiri pada kelompok III.

Nilai ketidaksamaan genetik ke 10 jenis *Pandanus* berkisar antara 0,267 hingga 0,957 menunjukkan keragaman genetik yang tinggi. Nilai ketidaksamaan genetika tertinggi (0,957) tercatat antara *P. pseudolais* dan *P. spinistigmaticus*, juga antara *P. kurzii* dan *P. pseudolais*, sedangkan ketidaksamaan genetik terendah (0,267) tercatat antara *P. scabrifolius* dan *P. bidur*.

Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa *Pandanus* memiliki variasi genetik yang luas sehingga diduga semua jenis *Pandanus* yang ada di Jawa Barat semuanya bervariasi secara genetik. Hal ini mendukung beberapa pendapat bahwa tanaman pandan yang umumnya berumah dua termasuk tanaman menyerbuk silang. Populasi tanaman menyerbuk silang umumnya akan mempunyai variasi genetik yang luas [12]. Hasil penelitian Stone [13] tentang sistem polinasi pada tanaman pandan menyatakan bahwa tanaman pandan mempunyai jumlah polen per bunga yang sangat banyak. Menurut Darjanto dan Satifah [14], bahwa tanaman yang memiliki polen yang banyak merupakan ciri dari tumbuhan menyerbuk silang. Dengan adanya variasi ini, untuk selanjutnya kegiatan seleksi dapat dilakukan. Baihaki [15] menyatakan bahwa seleksi akan berhasil apabila tanaman yang akan diseleksi memiliki variasi.

Informasi jarak genetik dapat dijadikan dasar untuk menentukan aksesori yang akan dipilih sebagai materi persilangan untuk merakit pandan hibrida. Semakin jauh jarak genetik antar aksesori, maka akan memiliki efek heterosis yang tinggi apabila disilangkan. Walaupun demikian, dalam seleksi materi untuk persilangan, tidak hanya faktor jarak genetik yang diperhitungkan, tapi karakter-karakter lain yang menarik dan menonjol perlu diikutsertakan untuk menghasilkan rekombinan yang baik. Untuk itu perlu diketahui korelasi antara karakter vegetatif dan generatif, sehingga lebih terarah dan efektif [16].

4. Simpulan

Keragaman genetik 10 jenis *Pandanus* asal Jawa Barat dapat dideteksi menggunakan penanda ISSR. Hasil ini memperkuat laporan sebelumnya bahwa penanda ISSR dapat digunakan secara efektif untuk menduga keragaman genetik pada tingkat jenis. Dari dua primer ISSR diperoleh 19 pita DNA, dan 17 pita (91,5%) diantaranya merupakan pita polimorfik. Hasil dendrogram menunjukkan pada jarak genetik 0,60 terdapat tiga kelompok utama, kelompok pertama terdiri atas empat jenis *Pandanus*, yaitu *P. bidur*, *P. polycephalus*, *P. multifurcatus* dan *P. dubius*, kelompok kedua terdiri atas lima jenis, yaitu *P. spinistigmaticus*, *P. pseudolais*, *P. kurzii*, *P. nitidus*, dan *P. scabrifolius*, dan kelompok ketiga terdiri atas satu jenis, yaitu *P. amaryllifolius*. Untuk memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai kondisi keragaman genetika *Pandanus*, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai jenis yang ada di Jawa menggunakan lebih banyak primer ISSR dan/atau menggunakan marka

molekuler selain ISSR, seperti AFLP dan SSR untuk mendeteksi keragaman genetik yang lebih akurat.

Daftar Acuan

- [1] R. Manimekalai, P. Nagarajan, M. Bharathi, S.N. Kumar, J. Plant Crop. 32 (2004) 117.
- [2] Y. Purwanto, Majalah Trubus XXXVIII 455 (2007) 100.
- [3] S. Linda, M. Oui, S. Samuel, M. Sun, V.E.C. Oui, Int J. Biochem & Cell Biol 36 (2004) 1440.
- [4] E.N. Dahlan, Tanaman Hias, Balikpapan Ijo Nursery, <http://www.dephut.go.id/informasi/HUTKO/T/tabel1.html>. 2009.
- [5] T.J. Santoso, D.W. Utami, E.M. Septiningsih, J. AgroBiogen. 21/1 (2006) 1.
- [6] Karsinah, Sudarsono, L. Setyobudi, H. Aswidinnoor, J. Bioteknologi Pertanian 7 (2002) 8.
- [7] E. Nalini, N. Jawali, S.G. Bhagwat, BARC Newsletter 249 (2003) 208.
- [8] S. Wahyuni, D.H. Xu, N. Bermawie, H. Tsunematsu, T. Ban, Buletin TRO XV/1 (2004) 33.
- [9] T.K. Mondal, Euphytica 128 (2002) 307.
- [10] M. Nei, W.H. Li, Proceeding of National Academy of Science USA 7 (1979) 5269.
- [11] S.V. Tingey, J.A. Rafalski, M.K. Hanafey, Genetic Analysis with RAPD Markers, In: C. Coruzzi, P. Puidomenech (Ed.), Plant Molecular Biology, Springer Verlag, Berlin, 1994.
- [12] Carlquist, Evolution 20/4 (1966) 433.
- [13] P.A. Cox, K.L. Huynh, B.C. Stone, Evolution and Systematics of Pandanaceae, In: P.J. Rudall, D.F. Cutle, C.J. Humphries (Ed.), Monocotyledon, Systematics and Evolution, Royal Botanic Gardens, Kew, 1995.
- [14] Darjanto, S. Satifah, Biologi Bunga dan Teknik Penyerbukan Silang Buatan, PT Gramedia, Jakarta, 1990, p.143.
- [15] A. Baihaki, Teknik Rancang dan Analisis Penelitian Pemuliaan, Program Pengembangan Kemampuan Peneliti Tingkat S1 Non Pemuliaan dalam Ilmu dan Teknologi Pemuliaan, Bandung, 23 Pebruari-21 Agustus 1999.
- [16] Miftahorrachman, J. Penelitian Tanaman Industri 12/1 (2006) 27.