OPTIMASI ISOLASI DNA TANAMAN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb) DAN SELEKSI PRIMER RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

OLEH

ADE NOFERTA

02112006

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG

2007

OPTIMASI ISOLASI DNA TANAMAN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN SELEKSI PRIMER RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

ABSTRAK

Penelitian dengan judul Optimasi isolasi DNA tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dan seleksi primer RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penelitian dilakukan dari bulan November 2006 sampai dengan bulan Juni 2007.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode (protokol) yang paling optimal untuk isolasi DNA dari jaringan daun tanaman gambir, dan untuk mendapatkan sumber material yang paling baik untuk isolasi DNA tanaman gambir, serta untuk mendapatkan primer RAPD yang tepat untuk analisis kekerabatan tanaman gambir. Isolasi DNA dilakukan dengan beberapa jenis metode isolasi, yaitu metode Saghai and Maroof (1984) yang dimodifikasi, metode isolasi DNA Doyle and Doyle (1990) yang dimodifikasi, metode isolasi DNA Krizman, *et al* (2006), dan metode isolasi DNA tanaman yang mengandung getah yang dimodifikasi (An Michiels *et. al*, 2003). Sedangkan sumber material untuk isolasi antara lain: (1). Daun muda tanaman gambir dalam kondisi segar, (2). Daun tua tanaman gambir dalam kondisi segar, (3). Daun muda tanaman gambir yang disimpan 1 minggu dengan suhu -20°C, (4). Daun muda tanaman gambir yang disimpan 1 minggu dengan suhu 4°C, dan (5). Daun muda tanaman gambir yang disimpan 1 minggu pada suhu ruang (25°C), (6). Daun muda tanaman gambir yang disimpan di dalam *silica gel* dan (7). Daun muda tanaman gambir yang diberi perlakuan gelap (etiolasi) selama 1 minggu. Untuk seleksi primer RAPD dipakai 25 jenis primer RAPD dari Operon.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode isolasi DNA yang paling sesuai untuk mengisolasi DNA tanaman gambir adalah metode isolasi Doyle and Doyle (1990) yang dimodifikasi. Sumber material yang baik untuk isolasi DNA tanaman gambir adalah daun muda tanaman gambir dalam kondisi segar dan daun muda tanaman gambir yang disimpan di dalam silica gel. Primer RAPD yang dapat disarankankan untuk analisis kekerabatan tanaman gambir adalah OPN-06, OPA-09, OPE-18, OPW-02, dan OPY-08.

I. PENDAHULUAN

Tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) tergolong kedalam salah satu famili Rubiaceae yang merupakan tumbuhan perdu memanjat, batang bulat, bunganya majemuk, berbentuk bongkol, buah berbentuk kapsul, biji berbentuk jarum dan bersayap. Gambir banyak dimanfaatkan, antara lain untuk bahan penyamak kulit, zat pewarna, dan campuran untuk makan sirih. Di Jepang bahkan telah dikembangkan permen pelega tenggorokan khusus untuk perokok dengan bahan baku gambir, karena gambir mampu menetralisir nikotin (Denian dan Fiani, 1994).

Di Sumatera Barat, lebih dari 90% lahan tanaman gambir terdapat di Kabupaten Limapuluh Kota dan Pesisir Selatan. Pada periode 1998-2002 terjadi peningkatan luas budidaya tanaman gambir Sumatera Barat sebesar 46%, dimana pada tahun 1998 tercatat luas lahan pertanaman gambir 14.983 ha meningkat manjadi 21.812 ha pada tahun 2002. Demikian juga dengan produksinya, pada periode yang sama mengalami peningkatan dari 6.271 ton pada tahun 1998 menjadi 10.729 ton pada tahun 2002 (Badan Pusat Statistik, 1998-2002 *cit* Fauza, 2005).

Persoalan mendasar dalam pengembangan varietas tanaman gambir di Indonesia adalah masih rendahnya produktifitas dan kualitas hasil. Produktifitas gambir Sumatera Barat bervariasi, mulai dari 65,6 kg/ha sampai 432 kg/ha (Fauza,2005). Oleh karena itu diperlukan upaya pemuliaan untuk mendapatkan tanaman gambir yang memiliki produktifitas dan hasil yang tinggi. Salah satu prasyarat keberhasilan tersebut akan sangat tergantung pada tersedianya sumber genetik yang terdiri dari basis genetik yang luas. Sejauh ini dikenal tiga tipe tanaman gambir yaitu tipe Udang, Cubadak, dan Riau (Denian dan Fiani, 1994). Ketiga tipe gambir tersebut telah dikenal dan dibudidayakan petani sejak lama. Akan tetapi bukti-bukti yang ditemukan di lapangan menunjukkan bahwa ada empat tipe tanaman gambir, yaitu tipe Udang, Cubadak, Riau Gadang, dan Riau Mancik (Fauza, komunikasi personal).

Meskipun beberapa ahli telah mencoba melakukan karakterisasi terhadap ketiga jenis tanaman gambir tersebut, akan tetapi sampai saat ini sebenarnya belum

ada bukti-bukti ilmiah kuat yang digunakan dalam penggolongan ketiga jenis gambir tersebut. Dengan demikian, pertanyaan apakah ketiga jenis tersebut hanya merupakan varian hasil pengaruh lingkungan ataukah mereka merupakan genotipe yang sangat berbeda sehingga dapat diklasifikasikan dalam spesies tersendiri belum dapat dijawab secara tuntas.

Salah satu kelemahan penggolongan yang digunakan saat ini adalah masih didasarkannya pada pengamatan karakter morfologi yang sangat sensitif terhadap pengaruh lingkungan. Oleh karena itu dibutuhkan suatu sistem penggolongan yang lebih stabil dan akurat. Salah satu cara untuk itu adalah penggolongan dengan parameter molekuler yang didasarkan langsung kepada komposisi dasar material genetik (DNA) suatu organisme. Berbagai keunggulan karakterisasi berbasis molekuler telah banyak dilaporkan oleh berbagai peneliti antara lain: dengan menggunakan karakter molekuler bisa lebih akurat dalam melakukan tindakan perbaikan sifat atau karakter suatu individu. Disamping itu waktu yang dibutuhkan juga lebih cepat, sifatnya yang lebih stabil dibandingkan dengan karakter morfologi, dimana karakter morfologi dipengaruhi oleh lingkungan sekitarnya (Jamsari, 2003). Selain itu apabila suatu individu membawa penyakit atau kelainan yang berasal dari tetuanya akan lebih mudah dideteksi secara molekuler.

Potensi penggunaan penanda molekuler sebagai alat untuk melakukan karakterisasi identitas organisme telah dikenal sejak lama. Penanda molekuler seperti isozym, RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), RAPD (*random-amplified polymorphic DNA*), dan AFLP (*amplified fragment length polymorphism*) serta sistem penanda lainnya telah digunakan sebagai penciri genetik dalam pemuliaan tanaman (Karsinah,1999). Aplikasi praktisnya bukan hanya untuk identifikasi karakteristik, tetapi juga bahkan digunakan untuk mengukur tingkat kekerabatan antar maupun interspesies tertentu (Jamsari, 2007). Bahkan juga digunakan untuk keperluan pemetaan lokus-lokus gen target tertentu yang berkaitan dengan karakter-karakter agronomi bernilai ekonomi penting.

Penanda RAPD yang dikembangkan oleh Williams, *et al.* (1990) merupakan salah satu sistem penanda yang cepat, mudah dan memerlukan biaya yang relatif

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan percobaan yang dilakukan dapat diambil beberapa kesimpulan yakni:

1. Dari beberapa protokol isolasi yang digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman gambir, protokol isolasi yang diperkenalkan oleh Doyle and Doyle (1990) dapat digunakan untuk mengisolasi DNA dari jaringan daun tanaman gambir, sedangkan protokol isolasi DNA yang lainnya tidak dapat digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman gambir.
2. Jenis material yang baik digunakan untuk mendapatkan DNA dari tanaman gambir adalah daun muda dalam kondisi segar, dan juga daun yang disimpan dalam silica gel.
3. Dari 25 primer (operon) RAPD yang diseleksi, 24 primer mampu menghasilkan produk PCR dengan kisaran antara satu sampai lima fragmen.

5.2. Saran

1. Untuk mendapatkan hasil yang optimal dalam isolasi DNA tanaman gambir disarankan untuk memakai protokol isolasi DNA yang diperkenalkan oleh Doyle and Doyle, (1990).
2. Berdasarkan karakteristik jumlah fragmen dan kemudahan skoring produk PCR yang diperoleh, maka primer-primer OPN-06, OPA-09, OPE-18, OPW-02, OPY-08 disarankan untuk digunakan dalam analisis kekerabatan tanaman gambir.
3. Selanjutnya untuk meningkatkan alternatif pilihan primer yang dapat digunakan maka disarankan untuk melakukan seleksi primer RAPD yang lebih banyak, sehingga data yang diperoleh dalam analisis kekerabatan akan lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

Adetula, O.A. 2006. Genetic diversity of *Capsicum* using Random Amplified Polymorphic DNAs. African Journal of Biotechnology 5: 120-122.

An Michiels, W. Van den Ende, M. Tucker, L. Van Riet, and A.Van Laere, 2003. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. Analitycal Biochemistry.(315): 85-89

Bennet, J. 1993. Maps and Markers. In Genom analysis of plants and pathogens. Workshop Handbook. Central Research Institute for Food Crops. Bogor. Indonesia 14-16 Juni 1993. IRRI. Manila

Daswir dan I. Kusuma, 1993. *Sistem Usaha Gambir di Sumatera Barat*. Media komunikasi penelitian dan pengembangan tanaman industri no 11. Pusat penelitian dan pengembangan tanaman industri badan penelitian dan pengembangan pertanian. Departemen Pertanian: 68 – 74

Denian, A dan A,Fiani, 1994. Karakterisitik morfologi beberapa nomor tanaman gambir. Prosiding seminar penelitian tanaman rempah dan obat. Sub. Balitro Solok no 4: 29 – 39

Doyle, J.J. and J.L.Doyle, 1990. Isolastion of Plant DNA from Fresh Tissue. Focus (12): 13-15

El-Mezawy, A., Dreyer, F., Jacobs, G., Jung, C. (2002). High-resolution mapping of the bolting gene B of sugar beet. *Theor. Appl. Genet* 105: 100-105

Fauza, H., 2005. Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb). Dalam: Baihaki, A.,Hasanuddin, Elfis, P. Hidayat, A. Sugiyanto, dan Z. Syarif (Eds.) Kondisi Beberapa Plasma Nutfah Komoditi Pertanian Penting Dewasa Ini. PPS Unpad – KNPN Litbang Deptan.: 167-186

Hadi, Miftachul dan Ika Nurlaila.2006. *Soliton dan DNA. http://www.nano.lipi.go.id*

Herrero, R, M.J. Asins, J.A. Pina, E.A. Carbonell and I. Navarro, 1996. Genetic diversity in the orange subfamily Aurantioideae.II. Genetic relationships among genera and species. *Theor. Appl. Genet*. (93): 1327-1334

Hoelzel, A.R. and A.Green, 1992. *Analysis of population-level variation by sequencing PCR-Amplified DNA. In* Hoelzel. A.R (Ed.). *Molecular Genetic Analysis of Populations A Practical Approach*. Oxford University Press, New York. p. 159-186