

**IDENTIFIKASI KERAGAMAN JARAK PAGAR
(*Jatropha curcas L.*) BERDASARKAN ANALISIS ISSR
(*Inter Simple Sequence Repeats*)**

TESIS

Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Magister Sains
Program Studi Biosains



Oleh
Einstivina Nuryandani
NIM: S900907003

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2009**

IDENTIFIKASI KERAGAMAN JARAK PAGAR
(*Jatropha curcas L.*) BERDASARKAN ANALISIS ISSR
(*Inter Simple Sequence Repeats*)

TESIS



Mengetahui
 Ketua Program Studi Biosains
 Program Pasca Sarjana

Sugiyarto

Dr. Sugiyarto, M.Si.
 NIP 132 007 622

**IDENTIFIKASI KERAGAMAN JARAK PAGAR
(*Jatropha curcas L.*) BERDASARKAN ANALISIS ISSR
(*Inter Simple Sequence Repeats*)**

TESIS

**Oleh
Einstivina Nuryandani**

S900907003

Telah dipertahankan di depan penguji
Dinyatakan telah memenuhi syarat
pada tanggal 28 AUG 2009

Telah disetujui oleh tim penguji

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. NIP 131 472 192		25 AUG 2009
Sekretaris	Prof. Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D. NIP 131 649 948		25 AUG 2009
Anggota Penguji	Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, M.S. NIP 131 569 204		25 AUG 2009
	Dr. Sugiyarto, M.Si NIP 132 007 622		25 AUG 2009

Mengetahui

Ketua Program Studi Biosains



Dr. Sugiyarto, M.Si.
NIP 132 007 622



PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PUBLIKASI TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa :

1. Tesis yang berjudul : “**Identifikasi keragaman jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) berdasarkan analisis ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*)**“ ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia Tesis beserta gelar MAGISTER saya dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).
2. Tesis ini merupakan hak milik Prodi Biosains PPs-UNS. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada jurnal atau forum ilmiah lain harus sejalan Ketua Prodi Biosains PPs-UNS dan minimal satu kali publikasi menyertakan tim pembimbing sebagai author. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya satu semester (6 bulan sejak pengesahan Tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan Tesis ini, maka Prodi Biosains PPs-UNS berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang diterbitkan oleh Prodi Biosains PPs-UNS dan atau media ilmiah lain yang ditunjuk. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, 14 Agustus 2009
Mahasiswa

Einstivina Nuryandani
S900907003

**IDENTIFIKASI KERAGAMAN JARAK PAGAR
(*Jatropha curcas L.*) BERDASARKAN ANALISIS
ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*)**

Einstivina Nuryandani, Ahmad Yunus, dan Sugiyarto
Program Studi Magister Biosains, PPS-UNS Surakarta

ABSTRAK

Informasi mengenai keragaman genetik jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) sangat diperlukan untuk mendukung program pemuliaan dan upaya konservasi tanaman tersebut. Penanda genetik *inter simple sequence repeats* (ISSR) dapat meningkatkan efisiensi pada tahap awal seleksi dan mempersingkat waktu yang diperlukan untuk program pemuliaan tanaman jarak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik jarak pagar dan mengidentifikasi kultivar jarak pagar berdasarkan penanda ISSR.

Penelitian dilakukan pada 18 aksesi jarak pagar menggunakan 4 primer ISSR terpilih: PKBT-3, PKBT-4, PKBT-5, dan PKBT-7. Pola pita DNA dianalisis menggunakan analisis gerombol (*cluster analysis*) dengan teknik berhierarki dalam program NTSYS versi 2.10 dengan metode SAHN. Selanjutnya pengelompokan itu ditampilkan dalam bentuk dendogram.

Hasil penelitian menghasilkan 42 lokus penanda ISSR, dimana 26 lokus merupakan penanda yang polimorfik. Analisis pengelompokan pada tingkat kesamaaan 77 % menghasilkan dua kelompok, yaitu Kelompok I yang terdiri dari aksesi A1, A2, A3 (Jawa Timur) dan Kelompok II yang terdiri dari aksesi A4 (Jawa Timur), B1, B2, B3 (Nusa Tenggara Timur), C1, C2, C3, C4, C5 (Nusa Tenggara Barat), D1, D2, D3, D4, D5 (Sulawesi Selatan), dan S¹ (Sumatera Selatan). Dari penelitian ini diketahui bahwa terdapat tiga buah lokus spesifik dari dua aksesi yaitu satu buah lokus spesifik yang hanya dimiliki oleh aksesi D4 dari Sulawesi Selatan yaitu PKBT-3 pada kisaran 300 bp, sedangkan Primer PKBT-5 menghasilkan dua lokus spesifik yaitu pada kisaran 250 bp dan 400 bp yang membedakan aksesi C3 dari aksesi lainnya.

Kata Kunci : Jarak pagar, keragaman genetik, dan penanda genetik ISSR

**GENETIC DIVERSITY IDENTIFICATION OF
Jatropha curcas L. ANALYZED BY MOLEKULER ISSR
(*Inter Simple Sequence Repeats*) MARKERS**

Einstivina Nuryandani, Ahmad Yunus, and Sugiyarto
Program Studi of Biosains, Postgraduate Program,
Sebelas Maret University Surakarta

ABSTRACT

Information of genetic diversity in *Jatropha curcas* L. is necessary to support breeding programs and efforts of conservation. Inter sequence simple repeats (ISSR) marker could enhance the efficiency of early selection stage and reduce time consuming in *Jatropha curcas* L. breeding. The objectives of this research were to study the genetic diversity of *Jatropha curcas* L. and to identify *Jatropha curcas* L. cultivars by ISSR markers.

Eighteen accession were amplified by four selected ISSR primers : PKBT-3, PKBT-4, PKBT-5, and PKBT-7. The result of ISSR then analyzed by hierachial cluster analysis of NTSYS version 2.10 with SAHN method. The final result shown as dendogram.

The result showed that 18 accession of *Jatropha curcas* L. germplasm generated 42 ISSR markers, which 26 of it were polymorphic. Cluster analysis at 77 % similarities level produced two groups, first groups were A1, A2, A3 accession (Jawa Timur) and seconds groups consist of A4 (Jawa Timur), B1, B2, B3 (Nusa Tenggara Timur), C1, C2, C3, C4, C5 (Nusa Tenggara Barat), D1, D2, D3, D4, D5 (Sulawesi Selatan), and S1 (Sumatera Selatan). There were three spesific loci found in this research : PKBT-3-300 for D4 accession from Sulawesi Selatan, PKBT-5-250, and PKBT-5-400 for C3 accession.

Key words : *Jatropha curcas* L., genetic diversity, and ISSR markers

PERSEMBAHAN

Karya ilmiah ini kupersembahkan kepada :

Ayah Bunda tercinta

*yang cinta dan sayangnya selalu mengilhami langkahku,
membuatku berani menjelajah kerasnya dunia,
yang dalam tiap doanya selalu tersebut namaku,
sebagai pengharapan pada Illahi Robbi,*

dalam mewujudkan sejuta mimpi

Suamiku tercinta

*yang setia selalu mengiringi kemana kepak sayap ini pergi
yang melukis duniaku dengan gelak tawa penuh cinta
hingga kupaham warna-warni dunia*

Kakakku tercinta

*yang telah mengajariku banyak hal tentang hidup
dan bagaimana memperjuangkannya*

Keponakanku tersayang

yang merupakan anugerah terindah

Allah

Pemilik segala ilmu

*yang tanpanya aku takkan pernah dapat mengarungi hidup ini
yang selalu menuntunku di saat aku jatuh
yang mengajariku melalui alam yang terbentang bagai kitab
yang tak pernah meninggalkan aku sendiri*

MOTTO

*"Allah akan mengangkat derajat orang-orang yang beriman dan berilmu
diantara kamu beberapa derajat" (Al-Mujadalah : 11)*

"Cogito Ergo Sum" (Aku berpikir maka aku ada. Descartes, Rene)

"Idealisme adalah kemewahan terakhir yang dimiliki oleh generasi muda...."

(Anonim)

"Yang bisa dilakukan seorang makhluk bernama manusia terhadap mimpi-mimpi dan keyakinannya adalah mereka hanya tinggal mempercayainya. Keep our dreams alive...and we will survive" (Dhirgantoro, Donny. 5 cm)

KATA PENGANTAR

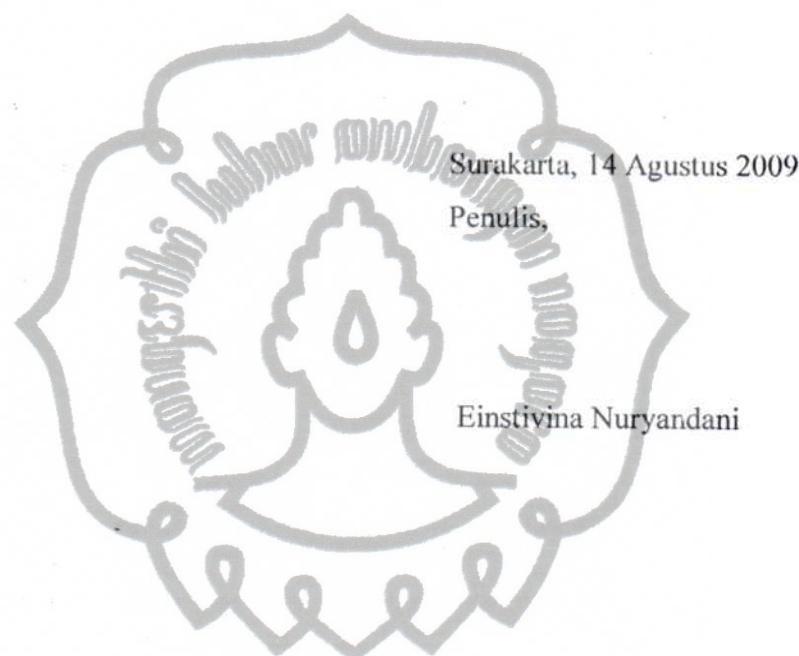
Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah, serta curahan kasih sayang-Nya semata penulis dapat menyajikan tesis yang berjudul: IDENTIFIKASI KERAGAMAN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas L.*) BERDASARKAN ANALISIS ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi karakteristik tanaman jarak pagar, penanda molekuler ISSR, dan keragaman genetiknya.

Nilai penting penelitian ini adalah dapat memberikan informasi tentang keragaman genetik dan karakter spesifik jarak pagar pada tingkat molekuler sehingga dapat dipergunakan sebagai acuan dalam program pemuliaan tanaman guna memperoleh klon-klon tanaman unggulan. Dari hasil penelitian ditemukan bahwa beberapa aksesi mempunyai beberapa lokus spesifik yang dapat membedakannya dengan aksesi lain. Hal ini penting untuk mengidentifikasi kultivar jarak pagar yang dapat dipergunakan dalam proses seleksi awal bagi pemuliaan tanaman. Selain itu juga didapati bahwa kedelapan belas aksesi yang diuji terbagi dalam dua kelompok dengan tingkat kemiripan yang tinggi. Pengembangan penelitian dalam jangka panjang adalah ke arah pembuatan klon-klon tanaman unggulan.

Adapun kendala-kendala yang ada meliputi sulitnya proses ekstraksi DNA dari tanaman jarak yang memiliki karakteristik bergetah, sehingga menyulitkan proses ekstraksi. Getah tanaman menyebabkan sampel mudah teroksidasi, khususnya bagi sampel tanaman yang diambil dari daerah yang jauh dari laboratorium sehingga nantinya dapat diperbaiki melalui metode yang lebih baik

untuk membawa sampel tanaman seperti penggunaan *dry ice*, nitrogen cair, maupun melalui perbaikan teknik ekstraksi DNA.

Disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, karya ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah, serta curahan kasih sayang-Nya semata penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul: Identifikasi Keragaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Berdasarkan Analisis ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Ucapan terimakasih setulusnya kami sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberi kesempatan kepada penulis dalam menempuh studi sampai selesai di Program Pasca Sarjana UNS.
2. Direktur Program Pasca Sarjana UNS, Bapak Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. yang selalu memberikan motivasi dan bimbingan kepada penulis, yang selalu membesarakan hati penulis hingga akhirnya dapat menyelesaikan tesis ini.
3. Ketua Program Studi Biosains Program Pasca Sarjana UNS, Dr. Sugiyarto, M.Si. yang juga selaku Pembimbing II yang senantiasa memberikan dorongan dan saran serta dengan sabar terus-menerus memotivasi penulis.
4. Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, M.S., selaku pembimbing I dan ketua peneliti Hibah Bersaing yang telah memberi kesempatan, sarana, dan prasarana bagi penulis untuk ikut berpartisipasi dalam proyek penelitian beliau dan dengan penuh kesabaran dan keikhlasan selalu membimbing dan menyediakan waktu bagi penulis di tengah kesibukan beliau yang padat.
5. Seluruh dosen Program Studi Biosains Program Pasca Sarjana UNS yang telah memberikan bekal ilmu yang bermanfaat baik dalam penyusunan tesis ini maupun untuk masa depan penulis.

6. Kepala Pusat Kajian Buah Tropika (PKBT) IPB yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk melaksanakan penelitian di laboratorium beliau serta memberikan fasilitas, saran dan bimbingan dalam pengambilan data bagi penulis.
7. Bapak Ir. Sudibyo, M.S yang telah memberi ijin, saran, dan bimbingan kepada penulis untuk mengambil sampel tanaman di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri (Balittri), Sukabumi, Jawa Barat.
8. Rektor Universitas Terbuka dan Kepala UPBJJ-UT Semarang yang telah memberikan ijin bagi penulis untuk menyelesaikan studi.
9. Mbak Sulasih yang dengan sabar menemani dan membantu penulis dalam pengambilan data, Bu Uci, Bu Elina, Teteh, Pipit, Deni, seluruh staf laboratorium PKBT dan teman-teman Pasca Sarjana IPB yang selalu direpotkan, selalu menemani tak peduli sampai malam maupun hari libur.
10. Mas Rosyid, yang selalu jadi tumpuan penulis dalam mengurus berbagai berkas, yang selalu sabar membantu penulis dengan penuh senyuman.
11. Pak Wowon yang selalu setia menemani penulis mengitari kebun jarak pagar yang berhektar-hektar luasnya dan seluruh staf Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri (Balittri), Sukabumi, Jawa Barat yang telah membantu penulis dengan segala keramahannya.
12. Bapak, Ibu, suamiku tercinta, Isnawan Safi'i dan keluarga yang tiada henti memberikan dorongan bagi penulis untuk merampungkan studi.
13. Teman-teman Biosains yang selalu kompak dan selalu *ngangeni*, Pak Ahmad, Whika, Hesti, Bu Padmi, Pak Budi, Pak Naryo, Pak Wawan, Pak Dardiani,

dan Pak Urip yang sebagian besar telah mendahului penulis menyelesaikan studi.

14. Sahabat-sahabatku (Lulu, Hijrah, Nana), Mbah yang memberi masukan prosedur isolasi saat penulis buntu, dan rekan-rekan Biologi IPB '38.
15. Semua pihak yang telah membantu penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.



DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan Pembimbing Tesis.....	ii
Halaman Pengesahan Penguji Tesis.....	iii
Halaman Pernyataan Orisinalitas dan Publikasi Tesis.....	iv
Halaman Abstrak	v
Halaman Abstract.....	vi
Halaman Persembahan dan Motto	vii
Kata Pengantar.....	viii
Ucapan Terima Kasih.....	x
Daftar Isi.....	xiii
Daftar Tabel.....	xv
Daftar Gambar	xvi
Daftar Lampiran.....	xviii

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6

BAB II LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka.....	7
1. Taksonomi Jarak Pagar	7
2. Morfologi Jarak Pagar	8
3. Distribusi dan Persyaratan Lingkungan Tumbuh	9
4. Teknologi Perbanyak Tanaman	14
5. Markah Molekuler	15
6. ISSR.....	16

B. Kerangka Konseptual.....	18
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Waktu dan Tempat Penelitian	20
B. Bahan dan Alat	20
C. Rancangan Penelitian.....	21
D. Prosedur Pengambilan Data.....	21
1. Isolasi DNA.....	21
2. Visualisasi Hasil Ekstraksi dengan Elektroforesis	23
3. Analisis Polimorfisme dengan ISSR	23
E. Analisis Data.....	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
A. Hasil Isolasi dan Purifikasi DNA.....	27
1. Isolasi DNA.....	27
2. Purifikasi DNA.....	29
B. Seleksi Primer.....	30
C. Analisis ISSR	32
1. Amplifikasi 18 aksesi jarak pagar menggunakan primer PKBT-3	34
2. Amplifikasi 18 aksesi jarak pagar menggunakan primer PKBT-4	36
3. Amplifikasi 18 aksesi jarak pagar menggunakan primer PKBT-5	38
4. Amplifikasi 18 aksesi jarak pagar menggunakan primer PKBT-7	40
D. Matriks Similaritas	45
E. Analisis Kluster	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	56
A. Kesimpulan	56
B. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria klasifikasi kesesuaian lahan dan iklim untuk menanam jarak pagar.....	13
Tabel 2. Karakteristik sembilan buah primer yang digunakan dalam proses seleksi primer.....	30
Tabel 3. Ukuran dari 19 pita yang dihasilkan dari amplifikasi dengan Primer PKBT-3.....	35
Tabel 4. Ukuran dari tujuh pita yang dihasilkan dari amplifikasi dengan Primer PKBT-4.....	38
Tabel 5. Ukuran dari delapan pita yang dihasilkan dari amplifikasi dengan Primer PKBT-5.....	38
Tabel 6. Ukuran dari delapan pita yang dihasilkan dari amplifikasi dengan Primer PKBT-7.....	40
Tabel 7. Sebaran pita polimorfik dari Primer PKBT-3, PKBT-4, PKBT-5, dan PKBT-7.....	45
Tabel 8. Pembagian kelompok aksesi jarak pagar pada jarak kemiripan kurang dari 0,77 atau kemiripan kurang dari 77%.....	48
Tabel 9. Sifat-sifat morfologi 18 aksesi jarak pagar yang menunjukkan keragaman.....	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi tumbuhan Jarak Pagar.....	8
Gambar 2. Hasil Isolasi DNA jarak pagar : pita putih tebal di bagian atas menunjukkan DNA genom hasil isolasi, sedangkan bagian bawahnya merupakan pengotor.....	19
Gambar 3. Hasil Isolasi DNA jarak pagar : pita putih tebal di bagian atas menunjukkan DNA genom hasil isolasi.....	28
Gambar 4. Visualisasi Hasil Purifikasi DNA.....	29
Gambar 5. Amplifikasi dua campuran DNA : (A) Aksesi A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, S1 dan (B) C1, C2, C3, C4, C5, D1, D2, D3, D4, D5 dengan menggunakan (a) primer PKBT-9, PKBT-10, PKBT-12, dan (b) primer PKBT-3 dan PKBT-7. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder. Tanda * = primer terpilih untuk analisis ISSR.....	31
Gambar 6. Amplifikasi dua campuran DNA : (A) Aksesi A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, S1 dan (B) C1, C2, C3, C4, C5, D1, D2, D3, D4, D5 dengan menggunakan (a) primer PKBT-2, PKBT-4, PKBT-5, dan (b) primer ISSRRED-22. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder. Tanda * = primer terpilih untuk analisis ISSR.....	31
Gambar 7. Kondisi PCR optimum bagi Primer PKBT-3, PKBT-4, PKBT-5, dan PKBT-7.....	33
Gambar 8. Amplifikasi delapan belas aksesi jarak pagar (a) D1, D2, B3, B2, A1, A2, A3, S1, (b) D3, C1, C4, (c) C1, C2, C3, C4, B1, A4, dan (d) C5, D4, serta D5 dengan menggunakan primer PKBT-3. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder. Tanda panah menunjukkan pita spesifik pada aksesi D4.....	34
Gambar 9. Amplifikasi delapan belas aksesi jarak pagar (a) A3, A4, B1, B2, B3, C1, C2, C3, C4, C5, D1, D2, D3, D4, D5, serta (b) aksesi A1, A2, dan S1 dengan menggunakan primer PKBT-4. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder.....	37
Gambar 10. Amplifikasi delapan belas aksesi jarak pagar (a) D2, D3, B1, B2, A1, A2, C1, C2, C4, S1, (b) A3, B3, D1, dan (c) A4, C3, C5, D4, D5 dengan menggunakan primer PKBT-5. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder. Tanda panah menunjukkan pita yang spesifik pada aksesi C3.....	39

Gambar 11.	Amplifikasi aksesi jarak pagar (a) D1, D2, B3, B2, A1, A2, A3, (b) C1, C2, dan (c) D3, B1, dan C4 dengan menggunakan primer PKBT-7. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder.....	41
Gambar 12.	Amplifikasi aksesi jarak pagar A4, C3, C5, D4, D5 dengan menggunakan Primer PKBT-7. M (marker) = 1 Kb DNA Ladder.....	42
Gambar 13.	Dendogram dari 18 aksesi jarak pagar yang telah diamplifikasi menggunakan Primer PKBT-3, PKBT-4, PKBT-5, dan PKBT-7. Nilai di bagian bawah menunjukkan nilai koefisien kemiripan genetik. Garis putus-putus merupakan batas pembagian 18 aksesi menjadi dua kelompok besar.....	47
Gambar 14.	Dendogram 22 aksesi jarak pagar hasil analisis kluster berdasarkan pola pita DNA dengan metode UPGMA menggunakan 4 primer.....	49
Gambar 15.	Dendrogram berdasarkan kemiripan sifat morfologi jarak pagar. Keterangan : A = dari provinsi Jawa Timur, B = dari provinsi NTT, C = dari provinsi NTB, D = dari provinsi Sulawesi Selatan.....	50
Gambar 16.	Perbandingan morfologi bibit tanaman asal Jawa Timur : (a) A1, (b) A2, (c) A3, dan (d) A4. Tanda panah putih menunjukkan percabangan pada bibit tanaman aksesi A4 (Madiun)	51

DAFTAR LAMPIRAN**Halaman**

Lampiran 1.	Kode, nomor dan daerah asal 18 akses tanaman jarak pagar yang dianalisis.....	66
Lampiran 2.	Data biner 18 akses jarak pagar yang diamplifikasi menggunakan Primer PKBT-3, PKBT-4, PKBT-5, dan PKBT-7.....	67
Lampiran 3.	Matriks Similaritas 18 Akses Jarak Pagar Berdasarkan NTSYS-pc versi 2.10.....	69

