

**KERAGAMAN GENETIK KEDELAI BERDASARKAN POLA PITA DNA  
HASIL RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

***Genetic Diversity of Soybean Based on The DNA  
Pattern of RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)***

Oleh:

R. E. D. Arisetianingsih<sup>1)</sup>, Totok A. D. H.<sup>2)</sup> dan B. Prakoso<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Alumni Program Pasca Sarjana Pertanian Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto

<sup>2)</sup> Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto

Alamat Korespondensi: Totok A. D. H (totokadh@yahoo.com)

**ABSTRAK**

Informasi keragaman genetik plasma nutfah kedelai sangat diperlukan dalam program pemuliaan tanaman. Cara termudah untuk mempelajari keragaman genetik adalah dengan mengamati karakter morfologi. Akan tetapi, beberapa karakter morfologi dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Sebaliknya, mempelajari keragaman genetik dengan pengamatan molekuler, yaitu berdasar penanda DNA, dapat memberikan hasil yang lebih baik, konsisten, dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan maupun tahap perkembangan tanaman. RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu penanda DNA yang dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antargenotip. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dan kekerabatan 50 genotip kedelai berdasarkan pola pita DNA hasil RAPD. DNA diekstrak dari daun muda dengan metode CTAB. Penentuan kuantitas dan kualitas DNA hasil pengestrakan dilakukan dengan elektroforesis pada gel agarose. Hasil menunjukkan bahwa RAPD dengan primer OPA 244 konsentrasi primer 60 pmol dan 2 µl DNA *template* hasil pengenceran 10 kali dapat membedakan 50 genotip kedelai. Berdasarkan ketidakmiripan 15% dari persamaan *Sneath and Sokal simple matching coefficient* (1973), kekerabatan 50 genotip kedelai terbagi menjadi sembilan kelompok.

Kata kunci: kedelai, RAPD, keragaman genetik

**ABSTRACT**

*Information of genetic diversity on soybean germplasms is essential in breeding program. The easiest way for studying genetic diversity is by examining morphological characters. However, some morphological characters are influenced by environmental factors. In contrast, studying genetic diversity by molecular evaluation, i.e. based on DNA markers, gives better result, is more consistent, and is not influenced by environmental factors or growth phases. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) is one of DNA markers, that can be used for analysing genetic diversity and genetic relationship. This research aimed for studying genetic diversity and genetic relationship among 50 soybean genotypes based on the DNA pattern of RAPD. DNA was extracted from young leaves with CTAB method. The quantity and quality of extracted DNA was determined by agarose gel electrophoresis. Result showed that RAPD with 60 pmol of primer OPA 244 and 2 µl of diluted DNA could be used for differentiating 50 soybean genotypes tested. Based on 15% dissimilarity from *Sneath and Sokal simple matching coefficient* (1973) 50 soybean genotypes tested could be classified into nine groups.*

*Key words : soybean, RAPD, genetic diversity*

**PENDAHULUAN**

Kedelai merupakan sumber pangan yang bernilai gizi tinggi, digunakan sebagai bahan pakan ternak, pangan manusia, industri, sumber minyak dan protein nabati. Di Indonesia produktivitas

kedelai masih dipengaruhi oleh faktor genetik (varietas) dan lingkungan (teknik budidaya). Pada kenyataannya varietas unggul memegang peranan paling menonjol dalam kontribusi peningkatan

hasil kedelai per satuan luas bagi petani (Suhartina, 2003).

Menurut Bustamam dan Moeljopawiro (1998), salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam perakitan varietas untuk perbaikan genotip adalah mengidentifikasi ketersediaan tetua melalui evaluasi plasma nutfah. Informasi keragaman genetik dan kekerabatan ini dapat dijadikan rujukan dalam pemuliaan tanaman untuk memilih tetua persilangan.

Koleksi plasma nutfah kedelai yang terdapat di Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang, dan di Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor, masing-masing memiliki koleksi 1051 dan 1411 genotip. Sedangkan, sebagian dari koleksi plasma nutfah tersebut baru dikarakterisasi dan dievaluasi sifat-sifat morfologi dan agronominya.

Evaluasi keragaman genetik paling mudah dilakukan berdasarkan pengamatan karakter morfologi karena mudah terlihat, tetapi beberapa karakter morfologi dipengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga kurang akurat. Sedangkan, penggunaan penanda DNA dapat memberikan keragaman yang tinggi, konsisten, dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan maupun tahap perkembangan tanaman.

RAPD yang dikembangkan oleh Williams *et al.* (1990) merupakan salah

satu penanda DNA yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mempelajari keragaman genetik. RAPD dihasilkan melalui amplifikasi DNA berdasarkan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil RAPD dipisahkan melalui teknik elektroforesis dan diwarnai dengan pewarna sehingga terlihat berbagai ukuran pita DNA.

Teknik RAPD sudah banyak diaplikasikan dalam kegiatan pemuliaan tanaman antara lain untuk analisis kekerabatan padi (Ishii *et al.*, 1996), keragaman genetik jeruk (Karsinah *et al.*, 2002), keragaman genetik kedelai budidaya dan liar (Li and Nelson, 2002), plasma nutfah kedelai (Warburton *et al.*, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dan kekerabatan 50 genotip kedelai berdasarkan pola pita DNA hasil RAPD.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan**

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah 50 genotip kedelai yang dikoleksi oleh Laboratorium Pemuliaan Tanaman, UNSOED, Purwokerto. Lima puluh genotip tersebut adalah Anjasmoro, Agromulyo, Baluran, Bromo, Panderman, Burangrang, Cikuray, Dempo, Dieng, Hitam Merapi, Ijen, Jayawijaya, Kaba, Kawi, Krakatau, Galunggung, Lawit, Leuser, Lokal Brebes, Lokon, Lumajang

Bewok, Malabar, Manalagi, Merbabu, Menyapa, Muria, Pangrango, Petek, Raung, Seulawah, Sibayak, Sinabung, Sindoro, Slamet, Tanggamus, Tidar, Wilis, KH 04, KH 10, KH 28, Kerinci, KH 35, KH 38, KH 42, KH 44, KH 55, Singgalang, Si 053, No.9 (Baihaki), dan No.19 (Baihaki). Tanaman ditanam dalam pot dan dipelihara di rumah kaca. DNA sampel diekstrak dari daun paling muda yang berumur 3 minggu.

### **Isolasi DNA**

DNA daun kedelai diekstrak dengan metode *CTAB* yang dimodifikasi (Prakoso, 1990; Prakoso, 2003). Kuantitas dan kualitas DNA hasil pengestrakan ditentukan berdasarkan gel elektroforesis dan PCR.

### **Analisis PCR**

Amplifikasi DNA untuk RAPD dilakukan dengan mesin PCR tipe *My Cycler* dari BioRad, menggunakan primer OPA 244 (5'CAGCCAACCG3') dari Invitrogen dan total reaksi PCR 20 µl. Pengaturan kondisi RAPD adalah denaturasi awal pada 94°C selama 3 menit dilanjutkan dengan 40 siklus dari 94°C selama 1 menit, 36°C selama 1,5 menit, dan 72°C selama 3 menit. Setelah itu suhu dipertahankan pada 72°C selama 10 menit, lalu suhu diturunkan menjadi 4°C.

### **Elektroforesis Hasil**

Hasil RAPD sebanyak 6,5 µl dimasukkan ke dalam sumur 2% gel agaros

dan dielektroforesis pada 110 Volt selama 30 menit dengan *buffer* TBE 1 X. Hasil elektroforesis divisualisasikan pada transiluminator UV dan didokumentasikan dengan kamera digital Canon model E 5000.

### **Analisis Data**

Hasil foto dianalisis dengan analisis *cluster* dari SPSS for Windows versi 12.0. Ukuran pita DNA hasil RAPD ditentukan berdasarkan standar persamaan linear antara ukuran pita DNA marker (log bp) dengan jarak migrasi DNA marker dari sumur (cm). Kekekabatan 50 genotip kedelai digambarkan dalam bentuk dendogram. Pemberian skor jarak genetik antar genotip *i* dan *j* (*D<sub>ij</sub>*) berdasarkan persamaan *Sneath and Sokal simple matching coefficient*, 1973. Ada pita DNA diberi nilai satu (1) dan tidak ada pita DNA diberi nilai nol (0). (Correa *et al.*, 1999).

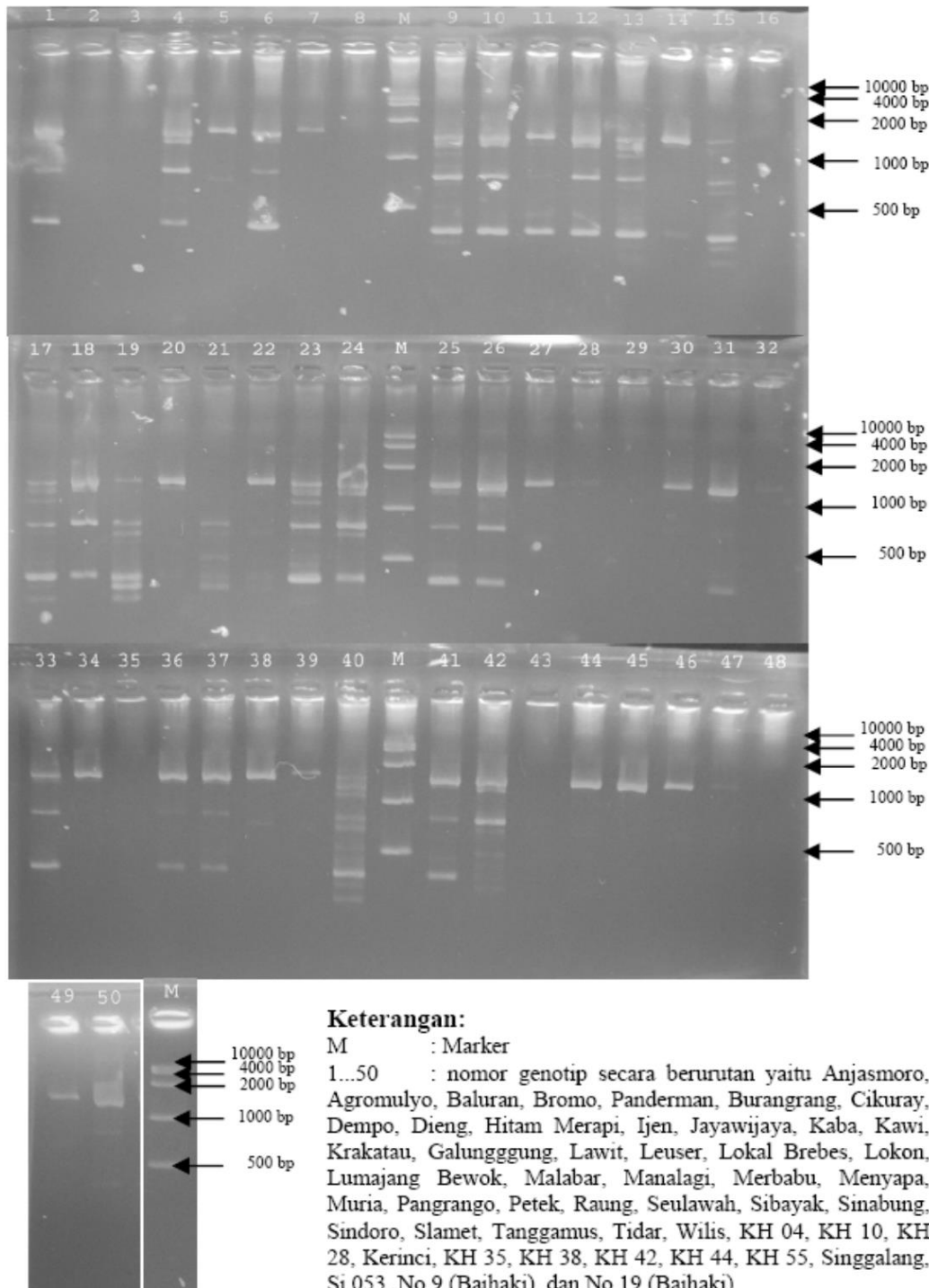
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kekekabatan diartikan sebagai hubungan kedekatan atau silsilah asal suatu spesies yang didasarkan pada analisis fenotip maupun genotip. Apabila suatu spesies memiliki persamaan ciri satu sama lain maka spesies tersebut diduga masih memiliki hubungan kekekabatan yang dekat.

Gambar 1 menunjukkan bahwa jumlah dan ukuran pita DNA hasil amplifikasi RAPD pada 50 genotip kedelai

bervariasi. Elektroforesis hasil RAPD yang diperlihatkan pada Gambar 1, menghasilkan pola pita DNA yang bermigrasi kurang dari 2000 bp dan di

bawah 500 bp. Terdapat 35 pita polimorfisme yang berukuran mulai dari 134 bp sampai dengan 1625 bp.



Gambar 1. Elektroforesis DNA hasil RAPD 50 genotip kedelai dengan primer OPA 244



Bewok, Malabar, Merbabu, dan Sibayak, kelompok ke dua Krakatau, kelompok ke tiga KH35, kelompok ke empat Lokal Brebes, kelompok ke lima Lawit, kelompok ke enam Manalagi, kelompok ke tujuh Dieng, kelompok ke delapan Kaba, dan kelompok ke sembilan KH28.

Penggunaan kekerabatan ini dapat dijadikan rujukan dalam pemuliaan tanaman terutama untuk persilangan, untuk mendapat keragaman tinggi dari hasil suatu persilangan.

#### KESIMPULAN

Kekerabatan genotip kedelai dengan RAPD akan mempersingkat seleksi tetua persilangan. Semakin jauh hubungan kekerabatan suatu tanaman berarti keanekaragaman genetik yang muncul semakin besar. Kekerabatan 50 genotip kedelai terbagi menjadi sembilan kelompok pada persentase ketidakmiripan 15%.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fatichin S. P., M. P. yang telah mengusahakan dana *Research Grant* dari TPSDP, Dr. Ir. Siti Subandiyah M.Agr.Sc. selaku kepala Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian UGM yang telah memberikan ijin pemakaian alat pada penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bustamam, M. dan S. Moeljopawiro. 1998. Pemanfaatan teknologi sidikjari DNA di bidang pertanian. *Zuriat*, 9 (2): 77-90.
- Correa, R. X., V.A. Ricardo, G.F. Fabio, D.C. Cosme, A.M. Maurilio and G.B. Everaldo. 1999. *Genetic distance in soybean based on RAPD markers. (on-line)*. <http://www.scielo.br/scielo.php> diakses 22 April 2004.
- Ishii, T., T. Nakano, H. Maeda, dan O. Kamijima. 1996. Phylogenetic relationships in a-genome species of rice as revealed by RAPD analysis. *Genes and Genetics System*, 71(4): 195-210.
- Karsinah, Sudarsono, L. Setyobudi, dan H. Aswidinnoor. 2002. Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 7(1): 8-16.
- Li, Z. dan R. L. Nelson. 2002. RAPD marker diversity among cultivated and wild soybean accessions from four chinese provinces. *Crop Science*, 42: 1737-1744.
- Prakoso, B. 1990. Identification of DNA Marker of strain of *debaryomyces hansenii* by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Thesis*. Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand. 58p. (Tidak dipublikasikan).
- , 2003. Detection and quantification of genetically modified soybean in tempe. Disertasi. Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand. 103p. (Tidak dipublikasikan).
- Suhartina. 2003. *Perkembangan dan deskripsi varietas unggul kedelai 1918-2002*. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang. 72p.

Warburton, M. L., G. L. Brown-Guedira, and R. L. Nelson. 2004. Registration of LG92-4208, LG94-1128, LG94-1906, and LG94-4667 soybean germplasms. *Crop Science*, 44:1501-1502.

Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22): 6531-6536.