

VARIASI GENETIK KACANG KOMAK (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) MENGGUNAKAN PENANDA RAPD DI PULAU LOMBOK, NUSA TENGGARA BARAT

Ervina Titi Jayanti¹, Rina S. Kasiamdari² dan Budi S. Daryono³

¹Dosen Jurusan Tadris IPA Biologi FITK IAIN Mataram

^{2,3}Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Penanda RAPD digunakan untuk evaluasi hubungan genetik diantara 26 aksesori kacang komak di Pulau Lombok. Koleksi sampel menggunakan metode jelajah di 4 kabupaten ada di Pulau Lombok, isolasi DNA menggunakan kit Nucleon Phytopure. Amplifikasi DNA menggunakan PCR dengan 5 primer yaitu L 11 (5'- ACGATGAGCC-3'), OPB 8 (5'-GTCCACACGG-3'), OPB 15 (5'-CGAGGGTGT-3'), OPB 17 (5'-AGGGAACGAG-3'), dan OPH 6 (5'-ACGCATCGCA-3'). Prosedur PCR yang dilakukan mengacu pada yang telah dilakukan oleh Williams *et al.* (1990). Analisis kluster menggunakan UPGMA dengan menggunakan koefisien Jaccard. Pada koefisien 0,71 atau nilai similaritas 71% anggota kacang komak yang ada di P. Lombok mengelompok membentuk 4 kluster utama yaitu kluster I, II, III, dan IV. Pola pengelompokan kacang komak yang ada di P. Lombok secara molekular tidak mencerminkan pola pengelompokan berdasarkan karakter morfologi polong maupun wilayah geografis.

Kata kunci: *Kacang Komak, Variasi genetik, RAPD, Lombok*

PENDAHULUAN

Kacang komak (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) merupakan salah satu tanaman budidaya purba di dunia. Biosistematik tanaman ini telah beberapa kali mengalami revisi. Sebelumnya Lablab oleh Linnaeus dimasukkan ke dalam genus *Dolichos*, akan tetapi sekarang merupakan genus monotipik dengan 3 subspecies yang telah dikenali yaitu (1) *ssp. uncinatus* yaitu tipe liar yang terdistribusi di Afrika Timur, *ssp. bengalensis* yang berasal dari Asia, dan *ssp. purpureus* (Abdallah, *et al.*, 2015).

Kacang komak terdistribusi luas di daerah tropis dan sub tropis (Kimani, *et al.*, 2012). Di Indonesia tanaman ini merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang umum dibudidayakan di Pulau Lombok. Tanaman ini toleran terhadap kekeringan dan kadar garam (salinitas) serta dapat dikultivasi di daerah dengan rentang iklim yang luas dan berbagai jenis tanah. Sebagai tanaman budidaya kacang komak bisa berperan sebagai tanaman utama atau dapat ditumpang sari dengan jagung, sorgum, maupun kacang tanah. Tanaman ini bisa digunakan sebagai tanaman penutup yang dapat melindungi tanah dari kekeringan dan mengurangi erosi yang disebabkan oleh angin atau hujan.

Kacang komak memiliki potensi yang besar dalam pengembangan sistem agrikultur tropis baik sebagai sumber pangan maupun sebagai pakan. Akan tetapi terlepas dari semua potensi dan kualitas yang dimilikinya tanaman ini masih dipandang sebelah mata, dan bahkan terancam mengalami erosi genetik. Tren pangan dunia saat ini dan masa depan adalah menemukan sumber-sumber pangan baru alternatif serta perakitan bibit unggul. Sehingga penelitian-penelitian yang berkaitan dengan peningkatan sumber daya genetik tanaman ini mutlak diperlukan. Peningkatan kualitas genetik suatu tanaman bergantung pada tersedianya sumber variasi (keanekaragaman) genetik dari plasma nutfah yang ada. Pemahaman yang baik mengenai tingkat keragaman yang dimiliki suatu organisme merupakan pintu masuk dalam program peningkatan kualitas genetik suatu tanaman.

Penanda molekuler dapat digunakan untuk mendeteksi variasi genetik suatu tanaman yang ditujukan untuk manajemen sumber daya, dan sekarang ini dipergunakan untuk melengkapi data fenotipik dan penanda protein yang sebelumnya telah terlebih dahulu digunakan para peneliti dalam analisis keragaman (Kimani, *et al.*, 2012). Berbagai macam sistem penanda telah digunakan untuk identifikasi variasi genetik kacang komak diantaranya RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), ETS (*Expressed Sequence Tags*), dan AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). Penanda RAPD digunakan untuk identifikasi variasi genetik kacang komak pada penelitian ini. Penanda molekuler dengan teknik RAPD menurut Heider *et al.* (2009) merupakan metode yang telah teruji dalam mengungkap variabilitas genetik tanaman legum tropis, sebelumnya Liu (1996) telah membuktikan bahwa metode ini mampu mengungkap variasi genetik anggota kacang komak yang dianggap tipe liar dan tipe budidaya yang ada di Afrika, India, dan Australia. Metode RAPD merupakan teknik biologi molekuler yang dianggap sederhana, cepat, dan relatif lebih murah sehingga aplikasinya sangat luas dalam bidang biologi. RAPD tidak memerlukan pengetahuan tentang sekuen DNA target serta kemungkinan menghasilkan *band/pita* polimorfisme yang banyak serta dapat dilakukan dengan menggunakan sampel DNA *template* dalam jumlah kecil.

METODE PENELITIAN

Sebanyak 26 sampel kacang komak yang dikoleksi di Pulau Lombok digunakan dalam penelitian ini. Koleksi sampel menggunakan metode jelajah di 4 kabupaten yang ada di Pulau Lombok yaitu Lombok Timur (LOTIM), Lombok Tengah (LOTENG), Lombok Barat (LOBAR), dan Lombok Utara (LOTAR). Isolasi DNA menggunakan kit *Nucleon Phytopure*. Amplifikasi DNA menggunakan PCR dengan 5 primer yaitu L 11 (5'-ACGATGAGCC-3'), OPB 8 (5'-GTCCACACGG-3'), OPB 15 (5'-CGAGGGTGT-3'), OPB 17 (5'-AGGGAACGAG-3'), dan OPH 6 (5'-ACGCATCGCA-3'). Prosedur PCR yang dilakukan mengacu pada yang telah dilakukan oleh Williams *et al.* (1990).

Tabel 1
Kondisi Reaksi PCR

Tahap	Suhu (°C)	Waktu (menit)	Keterangan
Denaturasi awal	94	5	
Denaturasi	94	1	45 siklus amplifikasi
Penempelan	36	1	
Pemanjangan	72	2	
Pemanjangan akhir	72	10	

Elektroforesis produk PCR dilakukan dengan menggunakan gel agarosa 1,5%. Visualisasi hasil elektroforesis dilakukan dibawah lampu UV dan didokumentasikan menggunakan kamera digital. Data yang didapatkan berupa *band/pita* DNA hasil amplifikasi kemudian digunakan untuk analisis variasi genetik plasma nutfah kacang komak di Lombok, NTB menggunakan *software* NTSYS ver.2.01. Indeks similaritas dihitung menggunakan koefisien Jaccard dan konstruksi dendrogram menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Mean*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

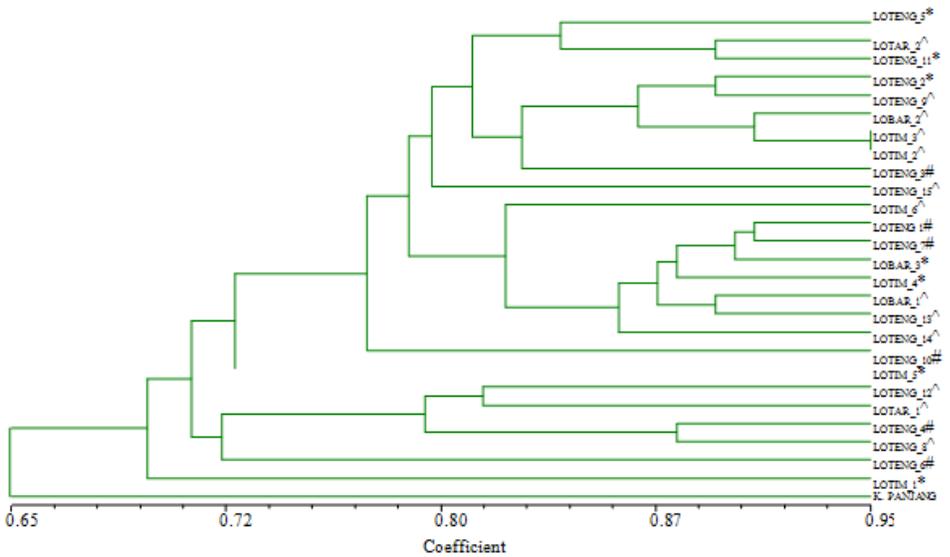
Berdasarkan hasil amplifikasi fragmen DNA menggunakan 5 primer yang digunakan dalam analisis variasi genetik kacang komak di P. Lombok, diketahui bahwa semua primer bersifat reproduibel dan menghasilkan banyak fragmen polimorfik. Data total fragmen dan persentase fragmen polimorfik dari 5 primer yang digunakan disajikan pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2
Total Fragmen dan Persentase Polimorfik Fragmen DNA Kacang
Komak Hasil Amplifikasi menggunakan 5 Primer

No	Primer	Sekuen (5'-3')	Total Fragmen Teramplifikasi	Fragmen Monomorfik	Fragmen Polimorfik	Persentase Polimorfik (%)
1	L 11	ACGATGAGCC	15	3	12	80
2	OPH 6	ACGCATCGCA	15	2	13	87
3	OPB 8	GTCCACACGG	12	2	10	83
4	OPB 15	CGAGGGTGTT	15	3	12	80
5	OPB 17	AGGGAACGAG	18	2	16	89
Total			75	12	63	419
Rata-rata			15	2.4	12.6	83.8

Penelitian tentang variasi genetik kacang komak menggunakan penanda RAPD antara lain telah dilakukan oleh Liu (1999) dan Sujithra *et al.* (2009). Dilihat dari jumlah dan tingkat polimorfisme fragmen maka semua primer yang digunakan dalam penelitian ini menghasilkan jumlah fragmen polimorfik yang lebih banyak dibanding yang ditemukan oleh Liu (1999) maupun Sujithra *et al.* (2009). Tingkat polimorfisme yang tinggi merupakan indikator kuat yang menandakan bahwa kacang komak memiliki variabilitas genetik yang tinggi pula. Hal ini merupakan keuntungan tersendiri untuk pengembangan potensi tanaman ini di masa yang akan datang.

Variabilitas genetik yang tinggi ini juga tercermin oleh variabilitas morfoagronomi yang tinggi pula. Radford (1986) menyatakan bahwa kenampakan morfologis merupakan kombinasi dari faktor genetik dan lingkungan. Penelitian yang dilakukan oleh Jayanti *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa kacang komak di Pulau Lombok memiliki variabilitas karakter morfologi untuk organ batang, daun, bunga, buah, dan bijinya. Hal tersebut juga ditunjukkan oleh penelitian Maass (2006).



Gambar 1. Dendrogram yang menunjukkan hubungan fenetik berdasarkan karakter molekular pada kacang komak (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) di P. Lombok, NTB

Keterangan :

- * : polong putih dengan tepi berwarna hijau muda
- ^ : polong putih dengan tepi berwarna ungu
- # : polong hijau dengan tepi berwarna hijau tua

Berdasarkan dendrogram (Gambar 1) dapat dilihat bahwa keragaman molekular kacang komak pada tingkat infraspesifik relatif sangat tinggi. Hal ini dilihat dari nilai similaritas antar OTU kacang komak di P. Lombok berkisar antara 65-95%. Rentang nilai similaritas tersebut berbeda dengan hasil penelitian Liu (1999) yang menunjukkan nilai similaritas kacang komak yang berasal dari Afrika, India, dan Australia berada pada kisaran 62,8-89%; dan Sujithra *et al.* (2009) menunjukkan nilai similaritas kacang komak di India berasal berada pada kisaran 44-97%.

Pada koefisien 0,71 atau nilai similaritas 71% anggota kacang komak yang ada di P. Lombok mengelompok membentuk 4 klaster utama yaitu klaster I, II, III, dan IV. Pola pengelompokan kacang komak yang ada di P. Lombok secara molekular tidak mencerminkan pola pengelompokan berdasarkan karakter morfologi polong maupun wilayah geografis. Walaupun secara umum wilayah P. Lombok terbagi kedalam 2 wilayah yang

berbeda yaitu wilayah Lombok selatan yang kering dan terdiri dari lahan pertanian tadah hujan serta Lombok bagian tengah dan utara yang terdiri dari lahan pertanian dan perkebunan, akan tetapi secara molekular anggota kacang komak yang berasal dari kedua wilayah tersebut tidak menunjukkan pola pengelompokan berdasarkan wilayah. Hasil yang sama juga ditemukan oleh Liu (1999) yang meneliti anggota kacang komak yang ada di India dan Afrika. Liu (1999) menyatakan bahwa pengelompokan kacang komak secara molekular tidak mencerminkan wilayah geografis tetapi lebih cenderung berdasarkan tipe liar dan tipe budidaya.

Dalam studi budidaya tanaman modern, penggunaan penanda molekular telah terbukti menjadi alat yang penting dan efisien. Penanda molekular menghubungkan karakter-karakter agronomi yang akan berguna dalam meningkatkan akurasi proses seleksi untuk kepentingan pembuatan bibit unggul. Oleh sebab itu seleksi penanda molekular yang sesuai menjadi salah satu faktor kunci dalam program pemuliaan tanaman.

KESIMPULAN

Analisis variasi genetik menggunakan penanda RAPD berhasil mengungkap variasi genetik anggota kacang komak (*Lablab purpureus* (L.) Sweet yang ada di Pulau Lombok. Semua primer yang digunakan menghasilkan polimorfisme tinggi dengan primer OPB 17 memiliki tingkat polimorfisme tertinggi. Analisis kluster menunjukkan secara molekular kacang komak terbagi menjadi 4 kluster dan tidak menunjukkan pola pengelompokan berdasarkan ciri morfologi maupun wilayah geografis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, O.E.M., N.B. Hamza, Y.M.I. Dagash, 2015, Agronomic and Molecular Evaluation of Six Lablab Bean (*Lablab purpureus* L.), IJSRAS 2(1): 7-15
- Kimani, E.N., 2012, F.N. Wachira, & M.G. Kinyua, Molecular Diversity of Kenyan Lablab bean (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) Accessions Using Amplified Fragment Length

- Polymorphism Markers, *American Journal of Plant Sciences* 3: 313-321
- Liu, C.J., 1996, Genetic diversity and relationships among *Lablab purpureus* genotypes evaluating using RAPD as markers, *Euphytica* 90: 115-119
- Maass, B.L., 2006, Changes in seed morphology, dormancy, and germination from wild to cultivated hyacinth bean germplasm (*Lablab purpureus*: Papilionideae), *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 1127-1135
- Radford, A.E., 1986, *Fundamentals of Plant Systematics*, Harper & Rows Publishers. Inc., New York
- Sujithra, M., S. Srinivasan, & P. Sudhakar, 2009, Molecular diversity in certain genotypes of field bean (*Lablab purpureus* var. *lignosus medikus*) in relation to pod insect pest complex, *Current Biotica*, Vol. 3 issue 2
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, & S.V. Tingey, 1990, DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research* Vol.18, No.22