

## Keragaman Molekuler pada Tanaman Lili Hujan (*Zephyranthes* spp.)

### Molecular Variance in Rain Lily (*Zephyranthes* spp.)

Tenti Okta Vika<sup>1</sup>, Aziz Purwanto<sup>2</sup>, dan Rani Agustina Wulandari<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

*Molecular identification using RAPD markers in the rain lily that grows in Indonesia has not been done. Therefore, it is necessary to characterize the genetic diversity of the rain lily that grows in Indonesia as a preliminary study for the breeding program. This study aimed to calculate the genetic diversity of the three types of rain lily with RAPD technique and calculate the genetic distance of rain lily based on genetic markers's information. The experiment was conducted in June - October 2014 in the Genetics and Plant Breeding Laboratory, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. The study was conducted by using three kind of rain lily that has pink, white, and yellow flower's color were taken from three different locations for each color, in each location was taken three plant samples for each color. Eleven selected primers were used in the RAPD are OPA2, OPA 9, OPA 11, OPA 16, OPA 18, OPB 10, OPB 19, OPC 5, 7 OPC, OPC 10, and the OPD 5. The results showed that the percentage of diversity in the population is higher than the variability between populations in 27 individual rain lilies. The value of genetic diversity in yellow, pink, and white rain lily are 0,1388, 0,1291, and 0,1231 respectively. The genetic distance in 27 individual rain lilies ranged from 0,59 to 0,03. Genetic distance between pink and white plants is 0,3 and the genetic distance between yellow plants with pink and white plants is 0,03. Based on the analysis of genetic distance and PCoA, yellow rain lily has a higher diversity than pink and white rain lily.*

**Keywords:** variance, rain lily, genetic distance, RAPD

#### INTISARI

Identifikasi molekuler dengan menggunakan penanda RAPD pada tanaman lili hujan yang tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan karakterisasi keragaman genetik dari tanaman lili hujan yang tumbuh di Indonesia sebagai penelitian awal untuk program pemuliaan. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung keragaman genetik dari tiga jenis tanaman lili hujan dengan teknik RAPD dan menghitung jarak genetik tanaman lili hujan berdasarkan informasi keragaman penanda genetik. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni - Oktober 2014 di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian dilakukan dengan menggunakan tanaman lili hujan yang memiliki warna bunga pink, putih, dan kuning yang diambil dari tiga lokasi berbeda untuk masing-masing warna. Setiap lokasi diambil tiga tanaman sampel untuk masing-masing warna. Penanda genetik yang digunakan adalah analisis RAPD dengan menggunakan 11 primer terpilih yaitu OPA2, OPA 9, OPA 11, OPA 16, OPA 18, OPB 10, OPB 19, OPC 5, OPC 7, OPC 10, dan OPD 5. Hasil analisis keragaman genetik dengan menggunakan 11 primer menunjukkan bahwa persentase keragaman dalam

---

<sup>1</sup>Alumni Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>2</sup>Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

populasi lebih tinggi dibandingkan dengan keragaman antar populasi pada 27 individu tanaman lili hujan. Nilai keragaman genetik tanaman lili hujan yang berwarna kuning adalah 0,1388; tanaman lili hujan yang berwarna pink adalah 0,1291; dan tanaman lili hujan yang berwarna putih adalah 0,1231. Rentang jarak genetik pada 27 individu tanaman lili hujan berkisar antara 0,59 hingga 0,03. Jarak genetik antara tanaman berwarna pink dan putih adalah 0,3 dan jarak genetik antara tanaman berwarna kuning dengan tanaman berwarna pink dan putih adalah 0,03. Berdasarkan analisis jarak genetik dan PCoA jenis tanaman lili hujan yang berwarna kuning memiliki keragaman yang lebih tinggi dibandingkan jenis tanaman lili hujan yang berwarna pink dan putih.

**Kata kunci** : keragaman, lili hujan, jarak genetik, RAPD

## PENDAHULUAN

Lili hujan (*Zephyranthes* sp.) banyak digunakan sebagai tanaman hias dan obat tradisional di Negara Cina dan beberapa negara lainnya. Daun dari tanaman ini telah digunakan di Afrika Selatan sebagai obat untuk diabetes melitus karena memiliki aktivitas biologis seperti antimikrobia, antivirus, antitumor, dan lain-lain karena adanya kandungan alkaloid dan banyak senyawa kimia lain seperti flavonoid dan senyawa fenol. Spesies dari genus ini tersebar luas di daerah yang memiliki iklim hangat yang berada di belahan bumi bagian barat. (Sindiri *et al.*, 2013).

*Zephyranthes* juga dikenal dengan nama *Rain Lily* karena tanaman ini akan tumbuh dan mekar setelah musim hujan. Di Indonesia tanaman lili hujan yang sering dijumpai memiliki warna bunga kuning, merah muda, dan putih. Tanaman ini biasanya digunakan sebagai tanaman hias karena memiliki warna bunga yang indah serta tidak memerlukan perawatan yang rumit. Masing-masing jenis lili hujan memiliki ciri yang berbeda.

Identifikasi molekuler dengan menggunakan penanda RAPD pada tanaman lili hujan yang tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan karakterisasi keragaman genetik dari tanaman lili hujan yang tumbuh di Indonesia sebagai penelitian awal untuk program pemuliaan. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung keragaman genetik dari tiga jenis tanaman lili hujan dengan teknik RAPD dan menghitung jarak genetik tanaman lili hujan berdasarkan informasi keragaman penanda genetik.

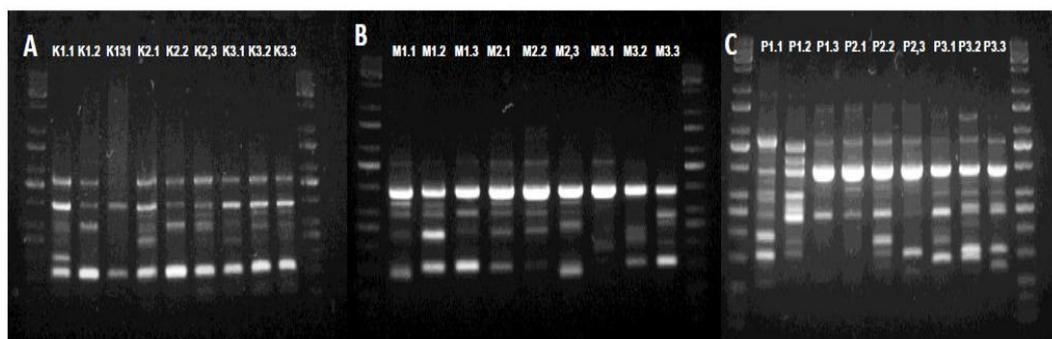
## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni - Oktober 2014 di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas

Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian dilakukan dengan menggunakan tanaman lili hujan yang memiliki warna bunga pink, putih, dan kuning yang diambil dari tiga lokasi berbeda untuk masing-masing warna. Bunga berwarna pink diambil dari Jalan Bumijo (lokasi 1), toko bunga Jalan Baciro (lokasi 2), dan toko bunga Jalan Kaliurang km 12 (lokasi 3); bunga berwarna putih diambil dari toko bunga Jalan Kaliurang km 15 (lokasi 1), toko bunga Jalan Kebun Raya (lokasi 2), dan toko bunga Jalan Kaliurang km 12 (Lokasi 3); dan bunga berwarna kuning diambil dari toko bunga Jalan Kaliurang km 15 (lokasi 1), toko bunga Jalan Kebun Raya (lokasi 2), dan toko bunga Jalan Kaliurang km 9 (Lokasi 3). Setiap lokasi diambil tiga tanaman sampel untuk masing-masing warna. Penanda genetik yang digunakan adalah analisis RAPD dengan menggunakan 11 primer terpilih yaitu OPA2, OPA 9, OPA 11, OPA 16, OPA 18, OPB 10, OPB 19, OPC 5, OPC 7, OPC 10, dan OPD 5. Tahapan yang dilakukan adalah ekstraksi DNA dengan CTAB, kuantifikasi dan pengenceran DNA, optimasi suhu dan primer, PCR, dan elektroforesis. Analisis keragaman dilakukan dengan cara melihat seluruh pola pita DNA yang diamplifikasi oleh setiap primer. Hasil amplifikasi PCR diinterpretasi berdasarkan ada tidaknya pita yang dihasilkan. Bila terdapat pita diberi nilai 1 dan bila tidak ada pita diberi nilai 0. Berdasarkan ada tidaknya pita yang dihasilkan tersebut disusun matrik data biner. Data biner yang telah didapat dianalisis dengan menggunakan software program GenALEx 6.1, POPGENE 32, dan NTSYS 2.02. Analisis dilakukan untuk mengetahui persentase lokus polimorfik, keragaman antar perlakuan, heterozigositas, dan jarak genetik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menentukan primer yang akan digunakan serta optimasi suhu penempelan (*annealing*). Kisaran suhu yang digunakan dalam optimasi adalah 36°C, 37°C, dan 38°C. Hasil PCR memperlihatkan pita yang paling terang terjadi pada suhu penempelan 38°C. Suhu ini selanjutnya dipakai sebagai suhu penempelan pada semua sampel. Seleksi primer dilakukan terhadap 15 primer, kemudian diambil 11 primer dengan nilai polimorfisme paling tinggi yaitu OPA 2, OPA 9, OPA 11, OPA 16, OPA 18, OPB 10, OPB 19, OPC 5, OPC 7, OPC 10, dan OPD 5.



**Gambar 1. Hasil Amplifikasi Sampel Tanaman Berwarna A) Kuning B) Pink C) Putih Menggunakan Primer OPA 9**

Hasil skoring yang diperoleh berupa data biner digunakan untuk mengetahui persentase lokus polimorfik yang dimiliki oleh DNA. Persentase lokus polimorfik dihitung dengan menggunakan aplikasi GenAlEx 6.1. Analisis ini bertujuan untuk melihat perbedaan tingkat polimorfisme 27 individu tanaman lili hujan. Dalam penelitian ini sebanyak 138 lokus berhasil teramplifikasi dari 11 primer terpilih.

**Tabel 1. Persentase Polimorfik yang Terbentuk Dari 11 Primer**

Populasi	Jumlah Profil DNA			
	Monomorfik		Polimorfik	
	Jumlah	%	Jumlah	%
Kuning	84	60,87	54	39,13
Pink	73	52,90	65	47,10
Putih	68	49,28	70	50,72

Keragaman genetik aksesori dapat terlihat dari presentase lokus polimorfik. Mc Gregor *et al.* (2000) menyatakan bahwa polimorfisme merupakan gambaran amplifikasi yang diperoleh dari perbedaan fragmen DNA yang terobservasi. Persentase polimorfik tertinggi adalah pada populasi putih yaitu 50,72% dan terendah pada populasi kuning 39,13%.

**Tabel 2. Hasil Analisis AMOVA 27 Individu Tanaman Lili Hujan**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Est. Var.	%
Antar Populasi	2	214,370	107,185	10,621	48%
Dalam Populasi	24	278,222	11,593	11,593	52%
Total	26	492,593		22,214	100%

Keragaman antar populasi merupakan variasi genetik yang dimiliki oleh suatu populasi dengan populasi yang lain dalam satu spesies, sedangkan keragaman dalam populasi merupakan variasi genetik yang dimiliki oleh individu-individu penyusun satu populasi. Dari data AMOVA tersebut terlihat bahwa

penduga varian pada sumber keragaman antar populasi (10,621) lebih rendah dibandingkan dengan dalam populasi (11,593). Besar kecilnya nilai penduga varian mempengaruhi persentase keragaman antar populasi dan dalam populasi. Persentase keragaman dalam populasi yang lebih tinggi (52%) dibandingkan persentase keragaman antar populasi menunjukkan bahwa individu-individu dalam setiap nomor sangat beragam. Hal ini didukung dengan adanya kemungkinan bahwa setiap individu berasal dari induk yang berbeda karena masing-masing individu tidak diketahui asal-usulnya.

Keragaman genetik dapat dilihat berdasarkan nilai heterozigositas. Nilai Heterozigositas merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi. Heterozigositas diperoleh dari hasil perhitungan frekuensi gen pada masing-masing lokus (Arifin, 2010). Semakin tinggi frekuensi heterozigot pada suatu populasi, maka semakin tinggi tingkat keragamannya.

**Tabel 3. Nilai Keragaman Genetik 27 Individu Tanaman Lili Hujan**

Populasi	N	h
Kuning	9	0,1388
Pink	9	0,1291
Putih	9	0,1231

Keterangan : N : Jumlah individu; h : Rata-rata Heterozigositas/diversitas genetik Nei

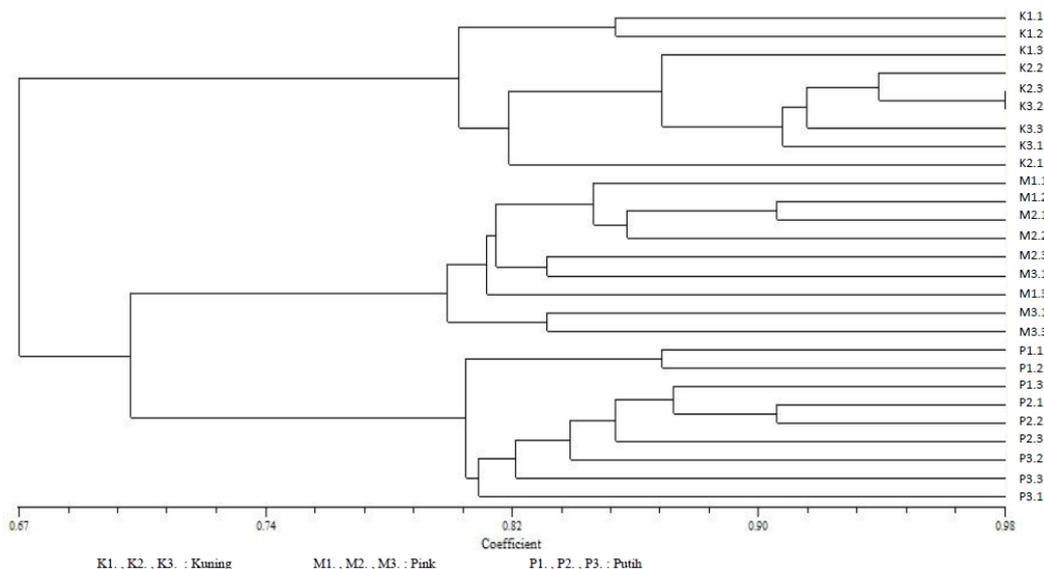
Nilai heterozigositas berkisar antara 0 sampai dengan 1. Apabila nilai heterozigositas mendekati 0 maka nilai heterozigositas rendah, dan apabila nilai heterozigositas mendekati 1 maka nilai heterozigositas dikatakan tinggi (Arifin, 2010). Dari tabel tersebut terlihat bahwa nilai heterozigositas mendekati 0, sehingga dapat dikatakan bahwa nilai heterozigositas tergolong rendah. Namun diantara populasi tanaman yang diamati nilai heterozigositas paling besar ada pada populasi tanaman berwarna kuning.

Rentang jarak genetik pada 27 individu tanaman lili hujan berkisar antara 0,59 hingga 0,03. Dari hasil dendrogram diperoleh pada koefisien kemiripan 0,808 atau jarak genetik 0,192 terdapat tiga kelompok besar. Kelompok 1 terdiri dari populasi tanaman berwarna kuning, kelompok 2 terdiri dari populasi tanaman berwarna pink, dan kelompok 3 terdiri dari populasi tanaman berwarna putih. Dari pembagian kelompok ini terlihat bahwa masing-masing jenis tanaman memiliki kelompok yang terpisah dengan artian ketiga jenis tanaman tersebut berbeda antara satu jenis dengan lainnya secara genetik.

**Tabel 4. Jarak Genetik Antar Populasi Berdasarkan Ukuran Jarak Genetik Asli Nei**

	K1.1	K1.2	K1.3	K2.1	K2.2	K2.3	K3.1	K3.2	K3.3	M1.1	M1.2	M1.3	M2.1	M2.2	M2.3	M3.1	M3.2	M3.3	P1.1	P1.2	P1.3	P2.1	P2.2	P2.3	P3.1	P3.2	P3.3	
K1.1	0																											
K1.2	0.2	0																										
K1.3	0.33	0.23	0																									
K2.1	0.29	0.25	0.24	0																								
K2.2	0.29	0.25	0.12	0.26	0																							
K2.3	0.3	0.28	0.17	0.27	0.07**	0																						
K3.1	0.24	0.26	0.21	0.21	0.15	0.12	0																					
K3.2	0.29	0.27	0.2	0.26	0.1	0.03**	0.11	0																				
K3.3	0.23	0.25	0.2	0.24	0.12	0.13	0.13	0.1	0																			
M1.1	0.43	0.41	0.52	0.48	0.54	0.57	0.55	0.56	0.52	0																		
M1.2	0.38	0.36	0.47	0.39	0.49	0.52	0.48	0.51	0.45	0.21	0																	
M1.3	0.39	0.37	0.46	0.44	0.48	0.53	0.49	0.52	0.44	0.3	0.23	0																
M2.1	0.43	0.39	0.52	0.44	0.54	0.55	0.53	0.52	0.5	0.2	0.13	0.28	0															
M2.2	0.39	0.41	0.52	0.44	0.54	0.59*	0.53	0.58*	0.5	0.22	0.19	0.22	0.2	0														
M2.3	0.41	0.43	0.46	0.42	0.52	0.55	0.51	0.54	0.48	0.3	0.21	0.26	0.26	0.2	0													
M3.1	0.4	0.38	0.47	0.37	0.53	0.58*	0.52	0.57	0.47	0.27	0.26	0.25	0.29	0.23	0.23	0												
M3.2	0.4	0.38	0.45	0.41	0.51	0.56	0.5	0.55	0.49	0.35	0.24	0.29	0.25	0.25	0.23	0.24	0											
M3.3	0.33	0.33	0.44	0.4	0.46	0.49	0.49	0.48	0.42	0.28	0.25	0.3	0.28	0.28	0.3	0.29	0.23	0										
P1.1	0.32	0.3	0.45	0.41	0.43	0.44	0.42	0.43	0.37	0.43	0.36	0.45	0.39	0.41	0.43	0.44	0.38	0.37	0									
P1.2	0.28	0.28	0.43	0.39	0.43	0.44	0.4	0.43	0.35	0.39	0.36	0.41	0.35	0.39	0.43	0.38	0.36	0.33	0.18	0								
P1.3	0.33	0.37	0.46	0.34	0.48	0.51	0.41	0.5	0.4	0.44	0.31	0.36	0.36	0.36	0.38	0.33	0.37	0.36	0.27	0.23	0							
P2.1	0.37	0.37	0.48	0.44	0.5	0.53	0.47	0.52	0.44	0.38	0.33	0.38	0.36	0.36	0.4	0.37	0.33	0.32	0.25	0.23	0.18	0						
P2.2	0.34	0.42	0.49	0.43	0.51	0.52	0.46	0.51	0.41	0.47	0.4	0.41	0.45	0.37	0.39	0.38	0.38	0.39	0.26	0.22	0.17	0.13	0					
P2.3	0.4	0.4	0.53	0.49	0.53	0.56	0.5	0.55	0.49	0.49	0.44	0.47	0.47	0.47	0.47	0.42	0.42	0.43	0.28	0.26	0.25	0.17	0.18	0				
P3.1	0.39	0.41	0.5	0.5	0.52	0.53	0.51	0.52	0.46	0.5	0.45	0.44	0.48	0.48	0.5	0.47	0.35	0.42	0.31	0.27	0.32	0.2	0.25	0.29	0			
P3.2	0.35	0.37	0.46	0.42	0.5	0.51	0.49	0.5	0.46	0.44	0.41	0.46	0.44	0.4	0.46	0.39	0.41	0.42	0.29	0.25	0.28	0.18	0.19	0.23	0.24	0		
P3.3	0.41	0.43	0.5	0.48	0.52	0.53	0.53	0.52	0.46	0.5	0.45	0.48	0.48	0.46	0.48	0.43	0.43	0.44	0.29	0.31	0.3	0.2	0.23	0.25	0.26	0.24	0	

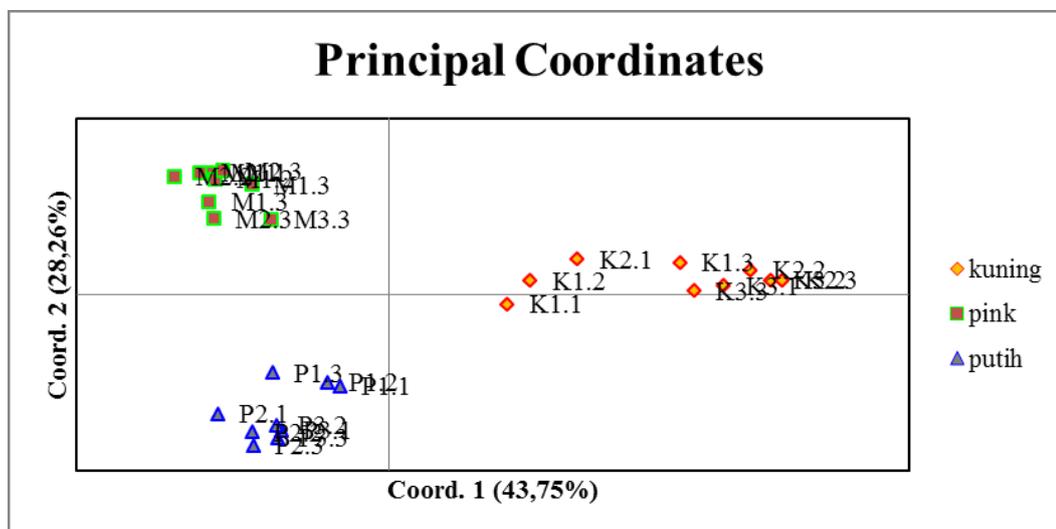
K1., K2., K3. : Kuning      M1., M2., M3. : Pink      P1., P2., P3. : Putih      \* : nilai tertinggi      \*\* : nilai terendah



**Gambar 2. Dendrogram Hubungan Kekerabatan 27 Individu Tanaman Lili Hujan**

Apabila koefisien kemiripan diperkecil menjadi 0,698 atau pada jarak genetik 0,302 terlihat bahwa tanaman berwarna pink memiliki kedekatan dengan tanaman berwarna putih secara genetik. Sedangkan jarak genetik antara tanaman berwarna kuning dengan tanaman berwarna pink dan putih adalah

0,03. Jarak genetik yang semakin kecil menunjukkan bahwa tingkat kekerabatan yang semakin dekat, sebaliknya jarak genetik yang jauh menunjukkan bahwa tingkat kekerabatan yang semakin jauh.



**Gambar 3. Hasil Analisis Koordinat Utama (*Principal Coordinates Analysis*, PCoA) terhadap 27 Individu Tanaman Lili Hujan**

Analisis PCoA menunjukkan bahwa individu-individu lili hujan mengelompok berdasarkan jenisnya. Kelompok-kelompok ini menunjukkan bahwa masing-masing jenis lili hujan tersebut berbeda satu dengan yang lain. Analisis PCoA mengidentifikasi tiga kelompok secara jelas, hal ini menunjukkan bahwa kemurnian genetik masing-masing lili hujan masih terjaga. Kelompok tanaman yang berwarna kuning memiliki keragaman yang tinggi dibandingkan dengan tanaman berwarna pink dan putih, hal ini terlihat dari kedudukan sebaran titik pada kelompok tanaman kuning lebih menyebar jika dibandingkan dengan kelompok tanaman pink dan putih yang cenderung menggerombol. Persebaran tersebut dipengaruhi oleh rentang jarak genetik tanaman berwarna kuning yang lebih jauh jika dibandingkan dengan dua kelompok tanaman yang lain.

## KESIMPULAN

1. Nilai keragaman genetik tanaman lili hujan yang berwarna kuning adalah 0,1388; tanaman lili hujan yang berwarna pink adalah 0,1291; dan tanaman lili hujan yang berwarna putih adalah 0,1231.
2. Rentang jarak genetik pada 27 individu tanaman lili hujan berkisar antara 0,59 hingga 0,03. Jarak genetik antara tanaman lili hujan yang berwarna pink dan

putih adalah 0,3 dan jarak genetik antara tanaman lili hujan yang berwarna kuning dengan tanaman berwarna pink dan putih adalah 0,03.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

1. Dr. Ir. Aziz Purwantoro, M.Sc. selaku dosen pembimbing utama dan Rani Agustina Wulandari, S.P., M.P., Ph.D. selaku dosen pembimbing pendamping atas segala bimbingan dan bantuannya selama pelaksanaan penelitian sehingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Endang Sulistyarningsih, M.Sc. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran serta masukan untuk lebih menyempurnakan penyusunan skripsi ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, J., dan D. Mulliadi. 2010. Pendugaan keseimbangan populasi heterozigositas menggunakan pola protein albumin darah pada populasi domba ekor tipis (*Javanese thin tailed*) di daerah Indramayu. Jurnal Ilmu Ternak 10 (2) : 65-72.
- Sindiri, M.K, M. Machavarapu, dan M. Vangalapati. 2013. Antibacterial activity of methanolic extracts of *Zephyranthes candida*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 6 : 112-113.