

KERAGAMAN LIMA AKSESI JAWER KOTOK

(*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.)

BERDASARKAN MORFOLOGI DAN MARKA RAPD

DIVERSITY OF FIVE JAWER KOTOK *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.)

ACCESSION BASED ON MORPHOLOGY AND RAPD

Tias Arlianti^{1*}, Nur Laela Wahyuni Meilawati¹, Rubi Heryanto¹, Susi Purwiyanti²

¹⁾Pusat Riset Hortikultura dan Perkebunan, Badan Riset dan Inovasi Nasional,

Jl. Raya Bogor Jakarta- Bogor, Cibinong Bogor, Indonesia

²⁾Badan Standarisasi Instrumen Pertanian, Kementerian Pertanian, Jl. Tentara Pelajar no 3, Bogor, Indonesia

*Corresponding author: nenkiaz@gmail.com

Naskah Diterima: 5 April 2022; Direvisi: 6 September 2022; Disetujui: 26 Agustus 2023

Abstrak

Jawer kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L) R.Br.) selain berfungsi sebagai tanaman obat, sering digunakan sebagai tanaman hias karena bentuk dan warna daunnya yang indah. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) memiliki lima aksesi Jawer kotok yang belum teridentifikasi keragamannya genetiknya. Koleksi tersebut perlu dikarakterisasi untuk mendapatkan data morfologi tanaman yang dapat digunakan sebagai pembanding antartanaman secara cepat. Identifikasi keragaman genetik dapat menggunakan karakter morfologi ataupun marka molekuler seperti *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Penelitian ini bertujuan menganalisis keragaman genetik lima aksesi Jawer kotok berdasarkan karakter morfologi dan marka RAPD. Bahan tanaman yang digunakan adalah lima aksesi Jawer kotok koleksi kebun percobaan Cimanggu BALITTRO, Bogor Jawa-Barat. Karakteristik morfologi yang diamati meliputi habitus, daun, batang, dan bunga. DNA diekstraksi dari daun segar dengan metode CTAB kemudian diamplifikasi menggunakan 20 primer RAPD. Analisa kekerabatan menggunakan metode Gower dan UPGMA dengan software PBSTAT. Hasil penelitian menunjukkan terdapat keragaman pada bentuk daun, bentuk ujung daun, warna daun, dan warna corak daun. Analisis molekuler menunjukkan primer OPK 20, OPB 8, OPD 11, dan OPB 13 merupakan primer dengan polimorfisme tertinggi. Kelima aksesi berdasarkan karakter morfologi dan RAPD memiliki hubungan kekerabatan antara 0,5–0,8. Hubungan kekerabatan terjauh adalah aksesi JK1 dan JK5, sedangkan kekerabatan terdekat pada aksesi JK3 dan JK4. Karakter daun merupakan karakter dengan keragaman genetik yang tinggi, dan dapat dijadikan kriteria sebagai penciri utama.

Kata Kunci: Aksesi; Genetik; Hubungan kekerabatan; Karakteristik; Polimorfisme

Abstract

Jawer kotok (Plectranthus scutellarioides (L) R.Br.) apart from functioning as a medicinal plant, is often used as an ornamental plant because of the beautiful shape and color of its leaves. The Research Institute for Spices and Medicinal Plants (BALITTRO) has five Jawer kotok accessions whose genetics have not been identified. These collections need to be characterized to obtain plant morphological data that can be used as a quick comparison between plants. Genetic identity can use morphological characters or molecular markers such as Random Appointed Polymorphic DNA (RAPD). This research aims to reveal the genetics of five Jawer kotok accessions based on morphological characters and RAPD markers. The plant materials used were five Jawer kotok accessions from the Cimanggu BALITTRO experimental garden, Bogor, West Java. Morphological characteristics observed include habitus, leaves, stems and flowers. DNA was extracted from fresh leaves using the CTAB method and then amplified using 20 RAPD primers. Relationship analysis uses the Gower and UPGMA methods with PBSTAT software. The research results showed that there was diversity in leaf shape, leaf tip shape, leaf color, and leaf pattern color. Molecular analysis showed that the primers OPK 20, OPB 8, OPD 11, and OPB 13 were the primers with the highest polymorphism. The five accessions based on morphological characters and RAPD have a relationship between 0.5–0.8. The furthest kinship is in accessions JK1 and JK5, while the closest kinship is in accessions JK3 and JK4. Leaf characters are characters with high genetics, and can be used as criteria as main characteristics.

Keywords: Accession; Characteristics; Genetics; Kinship; Polymorphism

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i1.25556>

PENDAHULUAN

Jawer kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) atau Iler dan Miana merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Tanaman ini termasuk anggota suku *Lamiaceae* yang umumnya ditemukan di dataran rendah hingga dataran tinggi, dengan kisaran 200–1.200 mdpl (Heyne, 1987). Perawakan Jawer kotok berupa semak/perdu atau belukar dengan tinggi sekitar 0,5–1 meter. Secara alami ditemukan di tempat terbuka, pinggiran jalan, tepi sungai, area ternaungi, dan hutan (De Padua et al., 1999).

Jawer kotok sering dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Handayani, 2015), karena memiliki potensi sebagai anti-inflamasi (Moektiwardoyo, 2010; Venkateshappa & Sreenath, 2013), (Hamidah et al., 2019), antidiabetes (Susilawati et al., 2016), antioksidan (Moektiwardoyo et al., 2016), antimalaria (Lisdawati et al., 2008), dan imunomodulator (Nugroho, 2012). Dalam kehidupan sehari-hari, daun Jawer kotok digunakan sebagai obat demam, obat luka, ataupun perawatan setelah melahirkan (Fahrerozi et al., 2015). Kandungan kimia dalam daun Iler yaitu triterpen, campesterol, α -amirin, β -amirin, minyak atsiri, dan senyawa mirip salvinorin (Suva et al., 2016). Sedangkan yang utama senyawa dalam daun Iler adalah asam rosmarinic (Nagpal et al., 2008). Iler merupakan salah satu tanaman herbal tradisional untuk wasir yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut di industri obat herbal. Tidak hanya berpotensi sebagai tanaman obat, tanaman Jawer kotok juga memiliki warna dan bentuk daun yang indah, sehingga sering dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Variasi warna pada tanaman Jawer kotok sangat beragam, antara lain merah, merah muda, ungu, kuning, oranye, dan cokelat (Osman, 2013). Keunikan bentuk daun, warna ataupun corak daun merupakan salah satu faktor nilai jual tanaman ini selain potensi obatnya.

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) memiliki koleksi tanaman Jawer kotok dan belum terkarakterisasi. Koleksi tersebut perlu dikarakterisasi untuk mendapatkan informasi data karakter atau ciri morfologi tanaman yang dapat digunakan sebagai pembeda tanaman dengan cepat dan mudah. Karakterisasi merupakan salah satu rangkaian kegiatan dalam program pemuliaan tanaman. Program pemuliaan tanaman memerlukan informasi keanekaragaman dan klasifikasi yang dapat menunjukkan tingkatan dan hubungan antar kultivar sebagai dasar seleksi (Nandariyah, 2010). Karakterisasi tanaman dapat dilakukan melalui pengamatan fenotip dan genotip. Pengamatan fenotipik dilakukan dengan cara mengobservasi langsung karakter morfologi tanaman, sehingga keanekaragaman yang ada dapat diidentifikasi dan diklasifikasikan.

Karakterisasi tanaman secara morfologi lebih mudah, sederhana dan cepat untuk diterapkan namun, masih dipengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga hasil yang diperoleh tidak stabil. Marzuki et al. (2008), menyatakan bahwa karakter morfologi dapat berubah mengikuti ekosistemnya dan mungkin akan menghasilkan ekotype baru. Penggunaan marka molekuler untuk pengidentifikasiannya dianggap lebih akurat karena tidak adanya pengaruh lingkungan, sifatnya ditentukan langsung oleh gen serta langsung berinteraksi dengan gen, dan menggambarkan genom tanaman (Douaihy et al., 2012; Rahadi et al., 2016). Penggunaan marka morfologi dan molekuler dalam analisis keragaman dapat saling mendukung satu sama lain, sehingga memberikan hasil yang lebih akurat. Marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) merupakan salah satu marka molekuler yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi keragaman ataupun hubungan kekerabatan (Anggraini, 2008). Penggunaan marka RAPD untuk analisis keragaman tanaman telah banyak digunakan, antara lain pada tanaman ubi jalar (Mohamed et al., 2016), mengkudu (*Morinda* spp.) (Singh et al., 2011), bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) (Pratiwi et al., 2020), dan padi (Ikhajiagbe & Omorogie, 2020). Penggunaan RAPD dalam analisis genetik tanaman setipe dengan Jawer kotok telah dilakukan pada enam varietas coleous blumei (Osman, 2013), *Coleous blumei* dan *Coleous rutindifolius*, Iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.) (Subositi et al., 2021). RAPD memiliki beberapa keunggulan, yaitu biaya kecil, cepat, mudah, dan hanya membutuhkan sampel kecil tanpa informasi urutan sebelumnya (Hamouda, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman lima aksesi Jawer kotok melalui marka morfologi dan RAPD. Data karakter morfologi dan molekuler dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pembeda tanaman dalam satu spesies *Plectranthus scutellarioides*.

MATERIAL DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari hingga Mei 2021 di rumah kaca dan laboratorium molekuler pemuliaan BALITTRON. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah lima aksesi Jawer kotok (JK 1, JK 2, JK 3, JK 4, dan JK 5) koleksi BALITTRON dengan karakter berbeda. Aksesi JK1, JK3, dan JK4 memiliki bentuk daun jorong sedangkan JK 2 dan JK5 memiliki bentuk daun bulat dengan variasi warna berbeda. Jawer kotok yang diamati berumur sekitar 2–3 bulan dan ditanam dengan menggunakan stek. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain *Colour Chart Royal Horticultural Society (RHS) 2007*, mesin *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, *Nano Drop Spectrophotometer 2000* (Thermoscientific, Germany), *agarose gel electrophoresis* (Bio-Rad, USA), Gel- UVITEC Cambridge, Mupid Mini Cell, Bioline *Taq polymerase primer RAPD*, dan *marker 100 bp* merk INTRON.

Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi dilakukan secara langsung pada 28 karakter morfologi yang meliputi habitus, daun, batang, dan bunga (Tabel 1). Karakter kualitatif (tipe habitus, bentuk daun, tekstur permukaan daun, tipe batang, tipe akar) diamati berdasarkan pedoman morfologi tumbuhan (Tjitrosoepomo, 2020). Karakter warna diukur menggunakan *Colour Chart RHS 2007*. Pengamatan dilakukan pada lima rumpun setiap aksesi, tiap rumpun kemudian diambil satu daun untuk diamati. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan memperhatikan kriteria tumbuh secara sempurna dan mewakili pertumbuhan rata-rata aksesi tersebut.

Tabel 1. Karakter morfologi Jawer kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br) dan kategori pengukuran

Parameter pengamatan	Skor/ pengukuran	Deskripsi
Bentuk daun	1,2,3,4,5	1= bulat, 2= perisai, 3= jorong, 4= memanjang, 5= bangun lanset
Bentuk tepi daun	1,2,3,4,5,6	1= bertepi rata, 2= bergerigi, 3= bergerigi ganda, 4= bergiri, 5= beringgit, 6= berombak
Bentuk ujung daun	1,2,3,4,5,6	1= runcing, 2= meruncing, 3= tumpul, 4= membulat, 5= rompong, 6= terbelah
Bentuk pangkal daun	1,2,3,4,5,6	1= runcing, 2= meruncing, 3= tumpul, 4= membulat, 5= rompong, 6= berlekuk
Susunan Tulang daun	1,2,3,4	1= menyirip, 2= menjari, 3= melengkung, 4= sejajar
Daging daun	1,2,3	1= tipis lunak, 2= sedang, 3= tebal
Warna permukaan atas daun	Kualitatif	Diukur menggunakan <i>RHS Colour chart</i> , warna yang sama dikategorikan dengan angka yang sama
Warna corak daun	Kualitatif	Diukur menggunakan <i>RHS Colour chart</i> , warna yang sama dikategorikan dengan angka yang sama
Warna permukaan bawah daun	Kualitatif	Diukur menggunakan <i>RHS Colour chart</i> , warna yang sama dikategorikan dengan angka yang sama
Warna tangkai daun	Kualitatif	Diukur menggunakan <i>RHS Colour chart</i> , warna yang sama dikategorikan dengan angka yang sama
Tekstur permukaan atas daun	1,2,3,4	1= licin mengkilap, 2= berkerut, 3= berbulu, 4= bersisik
Tekstur permukaan bawah daun	1,2,3,4	1= licin mengkilap, 2= berkerut, 3= berbulu, 4= bersisik
Jenis daun	1,2	1= daun tunggal, 2= daun majemuk
Jumlah daun/tangkai	Kuantitatif	Diukur berdasarkan jumlah daun pada satu tangkai

Parameter pengamatan	Skor/ pengukuran	Deskripsi
Panjang daun	Kuantitatif	Pengukuran dalam sentimeter
Lebar daun	Kuantitatif	Pengukuran dalam sentimeter
Tipe batang	1,2,3,4	1= basah, 2= berkayu, 3= rumput, 4= mendong
Bentuk batang	1,2,3	1= bulat, 2= bersegi, 3= pipih
Permukaan batang	1,2,3,4	1= licin, 2= berusuk, 3= beralur, 4= bersayap
Arah tumbuh	1,2,3	1= tegak lurus, 2= menggantung, 3= menjalar, 4= membelit
Tipe Percabangan	1,2,3	1= monopodial, 2= simpodial, 3= dikotom
Warna batang	Kualitatif	Diukur menggunakan <i>Colour chart</i> , warna yang sama dikategorikan dengan angka yang sama
Diameter batang	Kuantitatif	Pengukuran dalam milimeter menggunakan jangka sorong digital
Jumlah ruas per tangkai batang	Kuantitatif	Diukur berdasarkan jumlah ruas per tangkai batang
Jumlah cabang	Kuantitatif	Diukur berdasarkan jumlah cabang
Jenis akar	1,2	1= tunggang, 2= serabut

Analisis Molekuler

Analisis molekuler dilakukan dengan menggunakan 20 primer RAPD (Tabel 2) yang umum dipakai dalam analisa keragaman genetik. Isolasi DNA Jawer kotok dilakukan menggunakan sampel daun muda, yaitu daun ketiga dari pucuk dengan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1990). DNA yang dihasilkan kemudian dihitung konsentrasiannya secara kuantitatif menggunakan Nano Drop, sementara kualitas DNA yang dihasilkan dilihat dengan menggunakan agarosa. Total volume reaksi PCR yang digunakan adalah 12,5 μL yang terdiri atas 6,25 μL *Taq polymerase*, 1 μL primer RAPD, 5 μL DNA, dan 0,25 μL ddH₂O.

Tabel 2. Primer Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) yang digunakan dalam penelitian

No.	Primer	No.	Primer	No.	Primer	No.	Primer
1.	OPA9	6.	OPA 18	11.	OPB 8	16.	OPB 16
2.	OPO 1	7.	OPB 19	12.	OPK 12	17.	OPB 11
3.	OPN 13	8.	OPB 13	13.	OPD 11	18.	OPB 7
4.	OPA 4	9.	OPN 20	14.	OPO 15	19.	OPO 2
5.	OPA 17	10.	OPN 3	15.	OPB 11	20.	OPO 3

Tabel 3. Suhu dan waktu yang digunakan pada tahapan proses Polymerase Chain Reaction (PCR)

Tahapan	Suhu (°C)	Waktu (menit)
Pre-denaturasi	95	5
Denaturasi	95	1
Annealing	35	1
Elongation	75	1
Final extention	75	10
Suhu akhir	4	

Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan siklus seperti pada Tabel 3. Hasil amplifikasi PCR divisualisasi pada gel agarosa 1,5% dalam larutan Tris-EDTA (TBE) selama 45 menit pada 50 V. Hasil elektroforesis didokumentasi dengan menggunakan marker 100 bp sebagai standar ukuran pita DNA yang teramplifikasi.

Analisis Data

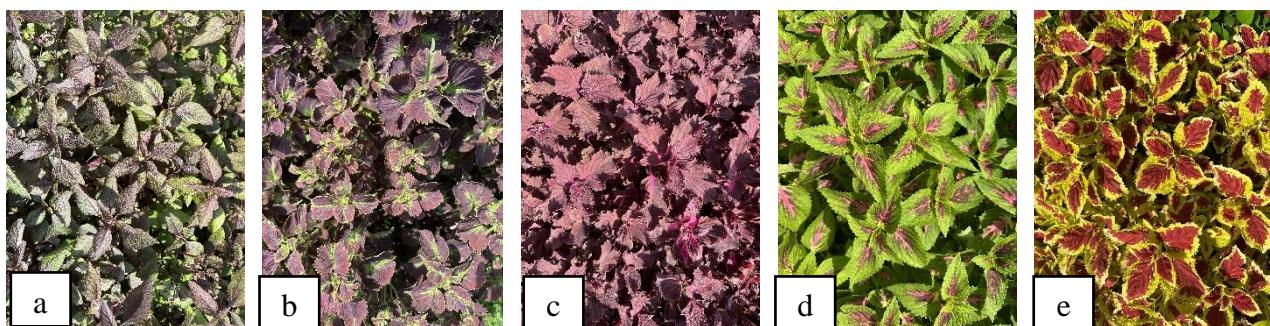
Data pengamatan karakter morfologi kuantitatif yang diperoleh diolah menggunakan program excel untuk mendapatkan nilai rataan, maximum, minimum, dan ragam. Sementara data karakter

kualitatif diolah dengan menggunakan sistem skoring. Data molekuler yang digunakan dalam penelitian adalah data kemunculan pola pita DNA yang bersifat polimorfis dalam tiap primer. Pita DNA yang muncul pada base pair tertentu dilambangkan dengan angka 1, sebaliknya pita DNA yang tidak muncul dilambangkan dengan angka 0. Hubungan kekerabatan antar karakter dianalisis menggunakan metode Gower dan UPGMA aglomeratif dengan bantuan *software* daring PBSTAT 3.1. Dendogram kekerabatan dibuat secara terpisah antara data karakter morfologi dan molekuler. Kedua dendogram yang terbentuk kemudian dianalisis persamaan pola hubungan yang muncul.

HASIL

Keragaman Karakter Morfologi

Hasil pengamatan menunjukkan kelima aksesi Jawer kotok memiliki persamaan pada bentuk habitus, karakter batang, tipe akar, dan tipe bunga. Habitus kelima Jawer kotok berupa semak, dengan bentuk batang segi empat dan berusuk (Gambar 1).



Gambar 1. Habitus aksesi Jawer kotok yang diamati yaitu JK1 (a), JK2 (b), JK3 (c), JK4 (d), dan JK5 (e)

Hasil pengamatan menunjukkan karakteristik daun dan batang yang berbeda pada tiap aksesi. (Tabel 4). Aksesi JK1 dan JK3 memiliki kemiripan warna batang, yaitu cokelat dan hijau kecokelatan. Aksesi JK2 dan JK5 memiliki warna batang dominan hijau, dengan warna ungu pada batas batang. Aksesi JK3 merupakan aksesi dengan warna batang yang paling berbeda, yaitu hijau kekuningan. Kelima aksesi memiliki tipe akar tunggang serabut, jenis bunga majemuk, tipe bunga bulir dengan warna bunga putih dan putih ungu.

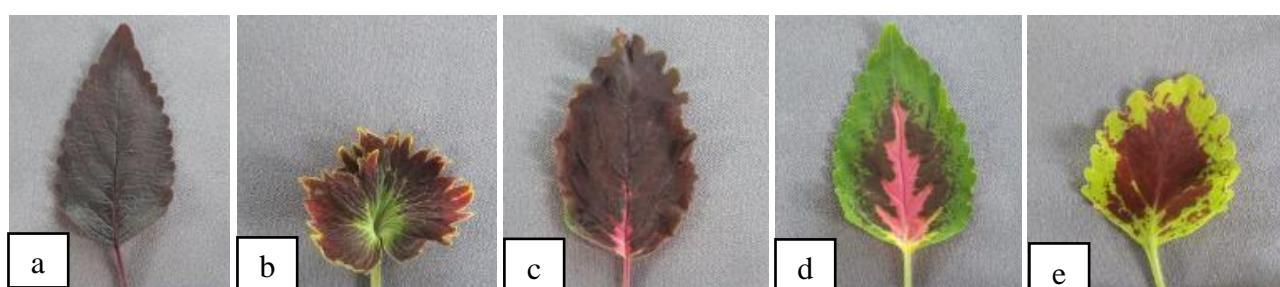
Tabel 4. Karakter daun dan batang lima aksesi Jawer kotok

Karakter	Aksesi				
	JK 1	JK 2	JK 3	JK 4	JK 5
Bentuk daun	Jorong	Bangun ginjal	Jorong	Jorong	Bulat
Tepi daun	Beringgit	Beringgit	Berombak	Beringgit	Berombak
Ujung daun	Runcing	Terbelah	Meruncing	Meruncing	Tumpul
Pangkal daun	Tumpul	Berlekuk	Tumpul	Membulat	Runcing
Warna permukaan atas	Brown 200A (ungu gelap)	Purple N77A (ungu)	Purple N77A (ungu)	Green 143A (hijau)	Yellow-Green N144A (hijau kekuningan)
Corak daun	Tidak ada	Hijau ditengah	Merah muda	Merah muda dan cokelat	Ungu kemerahan
Warna tepi daun	Ungu	Kuning	Kuning kehijauan	Hijau	Hijau muda
Warna permukaan bawah	Purple N79A (ungu)	Purple N77A(ungu)	Purple N79A (ungu)	Yellow-Green 147B (hijau)	Yellow-Green 147C (hijau)
Warna tangkai daun	Ungu	Hijau	Merah muda	Hijau	Hijau

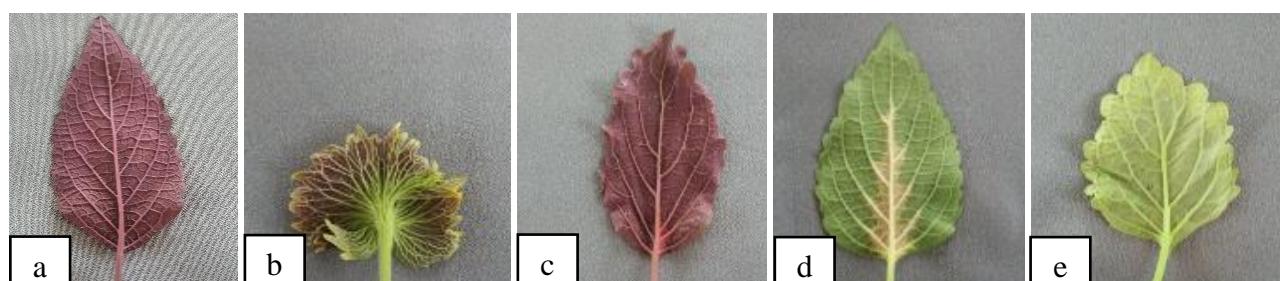
Karakter	Aksesi				
	JK 1	JK 2	JK 3	JK 4	JK 5
Warna batang	<i>Grey-Brown</i> N199B (kecokelatan)	<i>Yellow-Green</i> 144C (hijau, batas antar ruas ungu)	<i>Grey Brown</i> 199A (hijau kecokelatan)	<i>Greyed-Yellow</i> 160A (hijau kekuningan)	<i>Yellow-Green</i> 146D (hijau, batas antar ruas ungu)

Secara umum, daun pada kelima aksesi merupakan jenis daun tunggal dengan tekstur permukaan atas daun licin berbulu, tekstur permukaan bawah berkerut, ketebalan daun tipis dan lunak (Tabel 4). Seluruh aksesi yang diamati memiliki bentuk batang bersegi empat dengan permukaan batang berusuk dan percabangan sympodial.

Kelima aksesi memiliki warna permukaan atas daun dan corak daun yang berbeda. Aksesi JK2, JK4, dan JK5 memiliki corak daun yang kontras dengan warna permukaan atas daun, sehingga tampak lebih menonjol dari aksesi JK3 dan JK1 (Gambar 2). Aksesi JK2 selain memiliki warna corak daun juga memiliki warna tepi daun yang kontras yakni kuning.



Gambar 2. Keragaman permukaan atas daun lima aksesi Jawer kotok, yaitu JK1 (a), JK2 (b), JK3 (c), JK4 (d), dan JK5 (e)



Gambar 3. Keragaman permukaan bawah daun lima aksesi Jawer kotok, yaitu JK1 (a), JK2 (b), JK3 (c), JK4 (d), dan JK5 (e)

Tulang daun kelima aksesi Jawer kotok menyirip dengan warna tulang daun senada dengan warna permukaan daun bawah. Corak daun dengan warna kekuningan tampak pada permukaan bawah daun aksesi JK4 (Gambar 3).

Keragaman Genetik Berdasarkan Analisis Marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD)

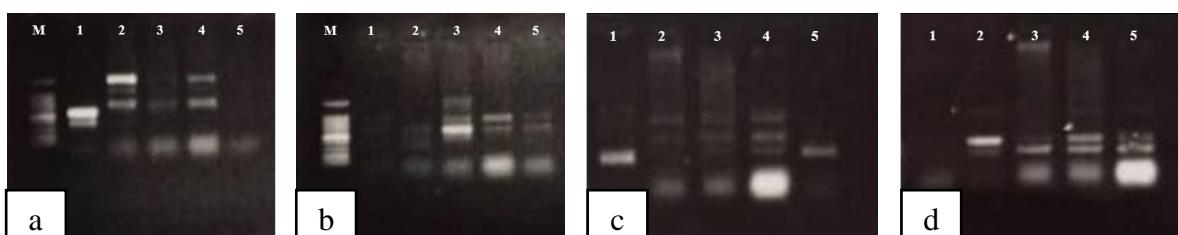
Analisis RAPD dilakukan menggunakan 10 primer terpilih. Hasil amplifikasi memperlihatkan 33 pita DNA dengan kisaran 2–5 pita DNA teramplifikasi pada satu primer. Dua puluh sembilan dari 33 DNA yang teramplifikasi bersifat polimorfis atau setara dengan 87,5% (Tabel 56). Lokus polimorfis yang dihasilkan memiliki ukuran antara 100–1.000 base pair (bp).

Tabel 5. Tingkat polimorfisme 10 primer *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) pada lima aksesi Jawer kotok

Primer	Sequence (5'-3')	% G-C	Jumlah lokus	Pita polimorfik		Ukuran pita (bp)
				Jumlah	%	
OPN 13	AGCGTCACTC	70	4	3	75	400–1000
OPN 20	GGTGCTCCGT	70	2	1	50	500–700

Primer	Sequence (5'-3')	% G-C	Jumlah lokus	Pita polimorfik		Ukuran pita (bp)
				Jumlah	%	
OPA 4	AATCGGGCTG	60	3	3	100	500–1.000
OPB18	CCACAGCAGT	60	4	4	100	100–1.000
OPN 3	GGTACTCCCC	70	3	3	100	500–800
OPD 11	AGCGCCATTG	60	5	5	100	100–1.000
OPK 12	TGGCCCTCAC	70	4	4	100	400–1.000
OPB 13	TTCCCCCGCT	70	3	3	100	100–700
OPA 9	GGGTAAACGCC	70	3	1	50	500–1.000
OPA 17	GACCGCTTGT	60	2	2	100	300–600
Total			33	29		

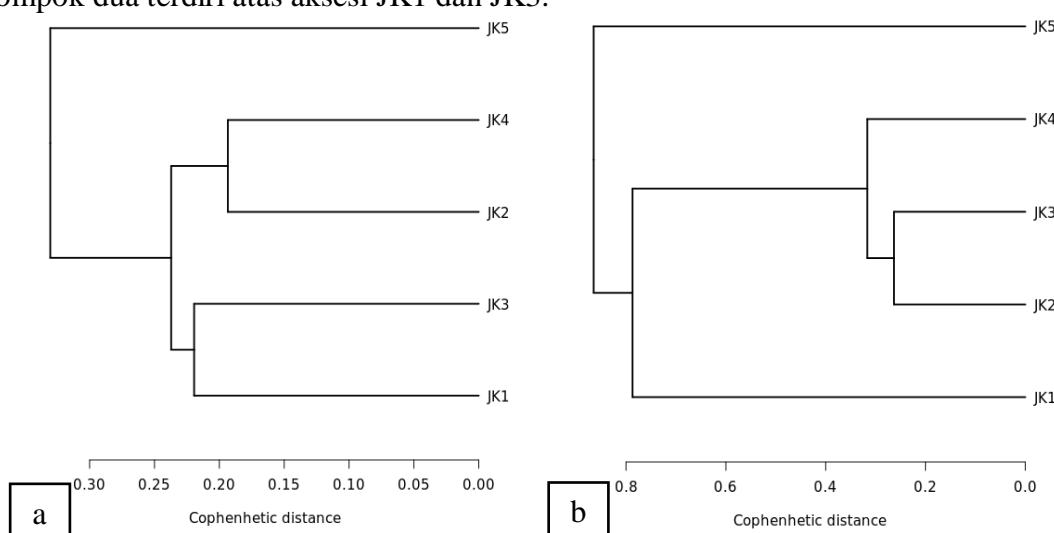
Pola pita DNA pada empat primer (OPK 12, OPD11, OPB 13, OPB 18) menunjukkan polimorfisme tertinggi (Tabel 5). Pola pita polimorfisme terutama tampak pada aksesi JK1 dan JK5 (Gambar 3). Pola pita spesifik JK 1 muncul pada amplifikasi menggunakan primer OPK12 (Gambar 3a) dan primer OPB 18 bersama dengan JK5 (Gambar 3c). Hasil amplifikasi pada JK2, 3, dan 4 cenderung memperlihatkan pola pita yang sama (Gambar 3a & c), kecuali pada amplifikasi dengan primer OPB 13, di mana JK2 menunjukkan pola pita berbeda dari yang lain (Gambar 3d).



Gambar 3. Amplifikasi DNA pada lima aksesi Jawer kotok menggunakan marka RAPD. Keterangannya adalah M= Marker 100 bp, a= OPK 12, b= OPD11, c= OPB 18, d= OPB 13, 1–5= nomor aksesi

Analisis Kekerabatan

Analisis kekerabatan dilakukan berdasarkan karakter morfologi dan penanda RAPD. Dendogram kekerabatan berdasarkan karakter morfologi memperlihatkan kelima aksesi terbagi menjadi dua kelompok pada nilai ketidaksamaan 0,4 (Gambar 4). Kelompok satu terdiri atas aksesi JK5, sedangkan kelompok dua terdiri atas aksesi JK1, JK2, JK3, dan JK4. Kelompok dua terbagi ke dalam dua subkelompok, subkelompok satu yaitu aksesi JK2 dan JK4 pada koefisien perbedaan 0,18. Subkelompok dua terdiri atas aksesi JK1 dan JK3.



Gambar 4. Dendogram kekerabatan lima aksesi Jawer kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br) yaitu morfologi (a) dan molekuler (b)

Analisis kekerabatan berdasarkan skoring molekuler memperlihatkan hasil yang sama karakter morfologi. Dendogram kekerabatan yang terbentuk memperlihatkan kelima aksesi juga terbagi kedalam dua kelompok pada nilai koefisien perbedaan 0,8. Kelompok satu hanya terdiri atas aksesi JK5 dan keempat aksesi yang lain berada pada kelompok dua yang terbagi lagi menjadi dua subkelompok. Aksesi JK2, JK3, dan JK4 berada dalam subkelompok satu, sedangkan aksesi JK1 pada subkelompok dua. Kesamaan pengelompokan berdasarkan karakter morfologi dan analisis marka RAPD dapat diasumsikan bahwa keragaman yang ada secara morfologi disebabkan karena perbedaan genetik.

PEMBAHASAN

Keragaman morfologi aksesi Jawer kotok yang diamati tampak pada bentuk daun, bentuk tepi daun, warna daun, dan corak daun. Aksesi JK2 dan JK5 memiliki bentuk daun paling berbeda, yaitu bangun ginjal dan bulat, sementara ketiga aksesi lain berbentuk jorong (Tabel 5). Aksesi JK1, JK3, dan JK4 meskipun memiliki bentuk daun jorong namun ketiganya memiliki bentuk tepi daun dan pangkal daun yang berbeda (Gambar 2).

Keragaman juga tampak pada karakter kualitatif, yaitu warna daun dan warna corak daun. Corak daun adalah warna pada daun dengan pola tertentu sehingga menjadikan keseluruhan warna daun lebih menarik. Daun Jawer kotok memiliki perpaduan atau campuran warna dalam pola yang tidak beraturan (Suva et al., 2016). Aksesi JK1 merupakan aksesi yang tidak memiliki corak daun, keseluruhan daun berwarna keunguan. Warna ungu pada area luas daun disebabkan oleh pewarnaan karotenoid, betalain, dan antosianin. Antosianin mempunyai korelasi antara warna daun, terutama warna terutama merah-ungu dan lebarnya (Padri & Umponstira, 2019). Aksesi JK2, JK3, JK4, dan JK5 memiliki corak daun yang berbeda. Karakter morfologi pada aksesi JK1 memiliki beberapa kemiripan dengan aksesi JK3, sementara aksesi JK2 memiliki kemiripan dengan aksesi JK4.

Analisis molekuler dilakukan menggunakan 20 primer RAPD pada tahap awal. Seluruh primer kemudian diseleksi berdasarkan hasil visualisasi amplifikasi PCR. Kriteria seleksi yang digunakan adalah primer dapat menghasilkan pita DNA polimorfis, pita yang dihasilkan jelas, reproduktibilitas baik, hasil amplifikasi DNA stabil, dan mudah dibaca (Hartati et al., 2007). Selain itu, primer RAPD yang baik idealnya memiliki kandungan basa G+C antara 60–70%. Berdasarkan kriteria tersebut, terpilih sepuluh dari 20 primer untuk digunakan lebih lanjut (Tabel 5).

OPK 12, OPD11, OPB 18, dan OPB 13 merupakan primer yang paling informatif, di mana persentase polimorfis rata-rata adalah 100%. Pada penelitian dengan menggunakan aksesi Iler komersial dari India terpilih 3 primer paling polimorfisme, yaitu OPD05, OPH-20, dan OPC-12 (Paul et al., 2015). Aksesi JK2, JK3, dan JK4 cenderung memiliki pola pita serupa, sementara pola pita pada aksesi JK1 dan JK5 tampak berbeda dibandingkan tiga aksesi lain (Gambar 3). Grosberg et al. (1996) menyatakan bahwa jumlah fragmen yang teramplifikasi pada suatu primer tergantung pada jumlah pelekatan primer pada genom individu tersebut

Dendogram kekerabatan berdasarkan karakter morfologi menunjukkan kelima aksesi terpisah menjadi dua kelompok berdasarkan bentuk ujung daun dan pangkal daun (Gambar 4). Aksesi JK5 dengan bentuk ujung daun tumpul dan tepi daun berombak ada pada kelompok satu. Kelompok dua terbagi ke dalam dua subkelompok pada koefisien perbedaan 0,18. Subkelompok satu (aksesi JK2 dan JK4) dan subkelompok dua (aksesi JK1 dan JK3). Aksesi JK2 dan JK4 memiliki tepi daun beringgit dan warna tangkai hijau. Adapun aksesi JK1 dan JK3 mengelompok berdasarkan persamaan bentuk daun runcing, bentuk pangkal daun tumpul, dan warna permukaan batang ungu. Berdasarkan pengelompokan tersebut dapat dikatakan aksesi JK2 memiliki kekerabatan yang dekat dengan aksesi JK4, sedangkan aksesi JK3 dengan aksesi JK1. Aksesi JK5 memiliki perbedaan yang signifikan dengan aksesi yang lain, dapat dikatakan bahwa kekerabatan terjauh adalah aksesi JK5 dengan aksesi JK1. Kekerabatan dalam sistematik tumbuhan dapat diartikan sebagai pola hubungan atau total kesamaan antara kelompok tumbuhan berdasarkan sifat atau ciri tertentu, sehingga dapat ditentukan jauh dekatnya kekerabatan antar tumbuhan tersebut (Arrijani, 2003).

Analisis kekerabatan berdasarkan molekuler memperlihatkan hasil serupa dengan analisis berdasarkan karakter morfologi. Dendogram kekerabatan yang terbentuk memperlihatkan kelima

aksesi juga terbagi ke dalam dua kelompok pada nilai koefisien perbedaan 0,8. Kelompok satu hanya terdiri atas aksesi JK5 dan keempat aksesi yang lain berada pada kelompok dua yang terbagi lagi menjadi dua subkelompok. Aksesi JK2, JK3, dan JK4 berada dalam subkelompok satu sedangkan aksesi JK1 pada subkelompok dua. Kekerabatan suatu tanaman apabila semakin dekat kekerabatannya maka akan semakin sulit disilangkannya (Hartati & Darsana, 2015).

Berdasarkan hasil analisa keragaman dan dendogram kekerabatan yang terbentuk, karakter bentuk daun dan warna daun merupakan karakter utama yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi keragaman. Hal ini setara dengan analisis keragaman pada 15 aksesi Jawer kotok yang menghasilkan keragaman genetik mulai dari 40,45–97,87% dan dendogram yang menunjukkan pengelompokan kecenderungan aksesi Iler berdasarkan kesamaan karakter morfologi seperti bentuk daun dan warna (Subositi et al., 2021). Kesamaan kelompok menandakan bahwa masing masing individu yang berada dalam satu kelompok memiliki tingkat kesamaan genetik yang sama dibandingkan dengan individu pada kelompok lainnya. Tingkat kesamaan berdasarkan primer RAPD sangat tergantung genotipe tanaman yang digunakan.

SIMPULAN DAN SARAN

Keragaman morfologi aksesi Jawer kotok tampak pada bentuk daun (jorong, bentuk ginjal dan bulat), bentuk pangkal (tumpul, berlekuk, runcing, membulat), tepi daun (beringgit dan berombak), serta warna daun (hijau, kekuningan, ungu) Kelima aksesi yang diuji berdasarkan karakter morfologi ataupun molekuler memiliki hubungan kekerabatan berkisar antara 0,5–0,8 dan terbagi menjadi dua kelompok. Aksesi 1 dan 5 memiliki hubungan kekerabatan terjauh, sedangkan aksesi 3 dan 4 memiliki hubungan terdekat. Karakter daun merupakan karakter dengan keragaman genetik yang tinggi, dan dapat dijadikan kriteria sebagai penciri utama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Saudari Fidka Adnia Nofa dan Tisa Nuraeni yang telah membantu pengamatan karakter morfologi dan analisis molekuler Jawer kotok.

REFERENSI

- Anggraini, E. (2008). Random amplified polymorphic dna (RAPD) suatu metode analisis dna dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi. *Biospecies*, 1(2), 73-76.
- Arrijani. (2003). Kekerabatan fenetik marga *Knema*, *Horsfieldia* dan *Myristica* di Jawa berdasarkan bukti morfologi serbuk sari. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 4(2), 83-88. doi: 10.13057/biodiv/d040203.
- De Padua, L. S., Bunyapraphatsara, N., & Lemmens, R. H. M. J. (1999). *Plant resources of South East Asia (medicinal and poisonus plants 1)*. Bogor: Prosea.
- Douaihy, B., Sobierajska, K., Jasin'ska, A. K., Boratyn'ska, K., Tolga, O., Romo, A., ... Boratyn'ski, A. (2012). Morphological versus molecular markers to describe variability in *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* (*Cupressaceae*). *AoB Plants*, 1-4. doi: 10.1093/aobpla/pls013.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant dna from fresh tissue. *Focus*, 12(1), 13-15.
- Fahrurrozi, I., Priyanti., & Astutik, S. (2015). Keanekaragaman jenis tumbuhan obat pada plot cuplikan di Hutan Taman Nasional Gunung Gede Pangrango, Indonesia. *Jurnal Al-Kauniyah*, 8(2), 101-106. doi: 10.15408/kauniyah.v8i2.2696.
- Grosberg, R. K., Leviton, D. R., & Cameron, B. (1996). Characterization of genetic structure and genealogies rapd-pcr marker: A random primer for the novice and nerveous. In J. D. & S. R. Palumbi (Eds.), *Molecular zoology advances, strategies and protocols*. New York, US: John Wiley and Sons Inc. Publication.
- Hamidah, M., Moektiwardoyo, M., & Abdassah, M. (2019). Review artikel: Senyawa aktif antiinflamasi daun jawer kotok (*Plecantranthus Scutellarioides* (L) R.BR). *Jurnal Farmaka*, 17(1).
- Hamouda, M. (2019). Molecular analysis of genetic diversity in population of *Silybum Marianum* (L.) gaertn in Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 17(12), 1-9

- Handayami, A. (2015). Keragaman *Lamiaceace* berpotensi obat koleksi taman tumbuhan obat Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat. *Prosiding SemNas Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(6), 1324-1327.
- Hartati, D., Rimbawan, A., & Taryono. (2007). Pendugaan keragaman genetik di dalam dan antar provelan Pulai (*Alstonia Scholaris* (L.)R.Br menggunakan penanda rapd. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 1(2), 89-98.
- Hartati, S., & Darsana, L. (2015). Karakterisasi anggrek alam secara morfologi dalam rangka pelestarian plasma nutfah. *Agronomi Indonesia*, 43(2), 133-139.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan berguna jilid iii*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Ikhajiagbe, B., & Omorogie, U. E. (2020). Growth, yield, genetic parameters, and random amplified polymorphic dna (rapd) of five rice varieties treated with sodium azide and sown under different saline conditions. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(89), 1-19. doi: 10.1186/s42269-020-00344-6.
- Lisdawati, V., Mutiartikum, D., Alegantina, S., & Astuti, Y. (2008). Karakteristik daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) Bth.) dan buah sirih (*Piper betle* L.) secara fisiko kimia dari ramuan lokal antimalaria daerah Sulawesi Utara. *Media Litbang Kesehatan*, 18(4), 213-225.
- Marzuki, I., Uluputty, M. R., Aziz, S., & Surahman, M. (2008). Karakterisasi morfoekotipe dan proksimat pala Banda (*Myristica fragrans* Houtt.). *Jurnal Agronomi Indonesia*, 36(2), 146-52.
- Moektiwardoyo, M. (2010). Etnofarmakognosi daun jawer kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.BR. sebagai anti radang komunitas tatar Sunda (Disertasi doktoral). Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia.
- Moektiwardoyo, M., Rochjana, A., Diantini, A., Musfiroh, I., Sumiwi, S. A., Iskandar, Y., & Susilawati, Y. (2016). Aktivitas antioksidan daun iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 8(1), 271-276.
- Mohamed, A. A., El-Far, M. M. M., & Saad, M. E. (2016). Fingerprinting of sweet potato germplasm using aflp, rapd, and sampl analysis. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*, 45(2), 383-401. doi: 10.21608/ejgc.2016.9591.
- Nagpal, A., Balwinder, S., Sharma, S., Rani, G., & Virk, G.S. (2008). *Coleus* spp.: Micropropagation and *in vitro* production of secondary metabolites. *Medicinal Aromatic Plant Science Biotechnology*, 2(1), 1-1.
- Nandariyah. (2010). Morphology and rapd (random amplification of polymorphic dna) based classification of genetic variability of Java Salacca (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss). *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 1(1), 8-13.
- Nugroho, Y. A. (2012). Efek pemberian kombinasi buah sirih (*Piper betle* L), daun miyana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. BR.), madu dan kuning telur terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. *Media Litbang Kesehatan*, 22(1), 1-5.
- Osman, R. A. (2013). Variation of the phenolic contents of leaves and genetic variation of some commercial varieties of *Coleus blumei*. *Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 12(2), 1-17.
- Padri, M., & Umponstira, C. (2019). Coleus cultivars (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd.) as potential bioindicators of chronic ozone exposure. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 308(1). doi: 10.1088/1755-1315/308/1/012004.
- Paul, A., Venu, A., & Dev, S. S. (2015). Assessment of genetic diversity between and within populations of *Coleus* sp using RAPD marker. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(2), 623-628.
- Pratiwi, E. E., Mahariwijaya, A., & Dinarty, D. (2020). Keragaman genetik bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) berdasarkan marka morfologi dan molecular. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 11(1), 51-60. doi: 10.29244/jhi.11.1.51-60.
- Rahadi, V. P., Khomaeni, H. S., Chaidir, L., & Martono, B. (2016). Genetic diversity and relationships of tea germplasm collection based on leaf morphology character and yield components. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 3(2), 103-108. doi: 10.21082/jtidp.v3n2.2016.p103-108.

- Singh, D. R., Srivastava, A. K., Srivastava, A., & Srivastava, R. C. (2011). Genetic diversity among three *morinda* species using rapd and issr markers. *Indian Journal of Biotechnology*, 10(7), 285-293.
- Subositi, D., Rosdiana, D., Yuniaty, A., Susanti, D., Maruzy, A., & Rahmawati, N. W. (2021). Genetic characterization of iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.) based on rapd molecular marker. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 637(1), 1-6. doi: 10.1088/1755-1315/637/1/012038.
- Susilawati, Y., Muhtadi, A., Moektiwardoyo, M., & Arifin, P. C. (2016). Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) pada tikus putih galur Wistar dengan metode induksi aloksan. *Jurnal Farmaka*, 14, 82.
- Suva, M. A., Patel, A. M., & Sharma, N. (2016). *Coleus* species: *Solenostemon scutellarioides*. *Inventi Rapid: Planta Activa*, 2015(2), 1-5.
- Tjitrosoepomo, G. (2020). *Morfologi tumbuhan*. Yogyakarta:Gadjah Mada University Press.
- Venkateshappa, S. M., & Sreenath, K. (2013). Potential medicinal plants of *Lamiaceae*. *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, 3(1), 86-87.