

KERAGAMAN GENETIK JAHE (*Zingiber officinale* Roscoe) MENGGUNAKAN TEKNIK PENANDA MOLEKULER Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Choirul Rizka Putri Istiqomah¹, Hermin Pancasakti¹, Endang Kusdiyantini¹
¹Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Semarang 50275 Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690
email : putririzkaistiqomah@yahoo.com

ABSTRACT

Ginger plant in Indonesia is known there are three kinds of varieties, namely red ginger, emprit ginger and big ginger. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is one of the medicinal plants that could potentially be produced in increasing quantities and wide distribution in Indonesia that may affect patterns of genetic diversity. This study aims to determine patterns of genetic diversity of three varieties of ginger (red ginger, big ginger and emprit ginger) obtained from BALITRO, Bogor and BPTP, Ungaran using two primers (OPA1 and OPA2). Techniques of molecular markers RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) is one of the techniques used for the analysis of genetic diversity. The study begins by isolating DNA from 30 samples of ginger leaves, then amplification with primers OPA1 and OPA2 which then results of electrophoresis converted into the form of binary data and phylogenetic tree construction with 2:02 NYTSYS program. The results obtained are worth a total of 20 polymorphic band (86.9%) and 3 pita monomorphic (13%) with primary OPA1 and OPA2. Heterozygosity values in a row is worth 0.9026 and 0.889. Distance genetic similarities in this sample has the highest value is 1 and the lowest is 0.3. The relationship between the three varieties of big ginger are distant relationship with red ginger and emprit ginger. Red ginger and emprit ginger still have a close genetic relationship.

Key Word : Genetic Diversity, *Zingiber officinale*, RAPD

ABSTRAK

Tanaman jahe di Indonesia dikenal 3 macam varietas yaitu jahe merah, jahe emprit dan jahe gajah. Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) adalah salah satu tanaman obat-obatan yang berpotensi diproduksi dalam jumlah yang meningkat dari tahun ke tahun dan distribusi luas di wilayah Indonesia yang dapat berpengaruh terhadap pola keragaman genetiknya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola keragaman genetik tiga varietas jahe (jahe merah, jahe emprit dan jahe gajah) yang diperoleh dari BALITRO Bogor dan BPTP Ungaran menggunakan RAPD dengan dua primer (OPA1 dan OPA2). Teknik penanda molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic* DNA) merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk analisis keragaman genetik. Penelitian diawali dengan mengisolasi DNA dari 30 sampel daun jahe, kemudian amplifikasi dengan

primer OPA1 dan OPA2 yang kemudian hasil elektroforesis diubah kedalam bentuk data biner dan konstruksi pohon filogenetik dengan program NYTSYS 2.02. Hasil menunjukkan nilai total pita polimorfik 20 (86.9%) dan 3 pita monomorfik (13%) dengan primer OPA1 dan OPA2. Nilai Heterogeztas (He) bernilai 0.9026 dan 0.889. Jarak kesamaan genetik tiap individu pada sampel ini memiliki nilai tertinggi 1 dan terendah 0.32. Hubungan kekerabatan antara ketiga varietas ini adalah jahe gajah memiliki kekerabatan yang jauh dengan jahe merah dan jahe emprit. Jahe merah dan jahe emprit masih memiliki kekerabatan genetik yang dekat.

Kata Kunci : Keragaman genetik, *Zingiber officinale*, RAPD

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman dengan rimpangnya yang banyak terdapat di Indonesia dan menjadi khas Indonesia adalah jahe. Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) merupakan salah satu dari temu-temuan suku *Zingiberaceae* yang menempati posisi sangat penting dalam perekonomian masyarakat Indonesia. Harga kisaran jahe merah yaitu Rp. 25.000/kg, jahe gajah Rp. 15.000/kg, dan jahe emprit Rp. 6.000/kg. Produksi jahe dari tahun 2005 sampai 2014 menunjukkan peningkatan yang berarti. Peningkatan tertinggi sebesar 40,78 persen, dari 125,8 ribu ton pada tahun 2005 menjadi 177,1 ribu ton pada tahun 2006. Periode 2008–2011, produksi jahe menurun, namun secara rata-rata produksi jahe selama 10 tahun terakhir masih meningkat sebesar 6,04 persen per tahun (BPS, 2015).

Jahe juga berperan penting dalam berbagai aspek berupa kegunaan, perdagangan, dan adat kebiasaan. Jahe memiliki khasiat sebagai bahan obat-obatan karena kandungan dari minyak jahenya. Menurut Evizal (2013), efek farmakologis dari konsumsi jahe adalah stimulasi (perangsang pencernaan), karminatif (peluruh kentut), diaforetika (peluruh keringat), dan *aphrodisiac* (perangsang syahwat), dan ramuan obatnya dapat digunakan untuk batuk, inflamasi, sakit pada sendi atau

rematik, sakit kepala, kolik (mules), dan sesesma lambung.

Jahe yang dikenal di Indonesia terdiri dari 3 varietas, yaitu jahe merah, jahe gajah dan jahe emprit. Ketiga jahe ini memiliki variasi genetik yang berbeda, dan dilihat dari morfologi rimpangnyaapun berbeda.

Jika terjadi penurunan produksi dan mutu jahe ini salah satunya bisa disebabkan karena sedikitnya ketersediaan bibit jahe unggul. Bibit jahe unggul dapat didapatkan melalui pemuliaan tanaman yang ditentukan oleh tersedianya keragaman genetik yang luas. Penelitian ini mencoba mencari adanya keragaman genetik dari jahe merah, jahe emprit, jahe gajah yang berasal dari BPTP Ungaran dan BALITRO Bogor.

Keragaman genetik dari jahe ini bisa dilihat dengan penanda molekuler. Menurut Setiyo (2001) dan Ribaut (2002) menjelaskan bahwa penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Ada beberapa metode untuk mengetahui keragaman genetik dengan penanda molekuler. Penanda molekuler ini salah satunya adalah RAPD. Teknik RAPD ini merupakan cara untuk melihat polimorfisme DNA secara acak (tidak spesifik) menggunakan PCR.

Pelaksanaannya pada teknik RAPD ini tidak perlu diketahui urutan basanya (*sequencing*) yang mengeluarkan cukup biaya, sehingga teknik RAPD ini terbilang lebih murah. Penelitian ini menggunakan teknik penanda molekuler RAPD untuk mendapatkan informasi keragaman genetik jahe. Harapannya dengan diketahuinya informasi genetik ini akan membantu dalam pelestarian bibit-bibit unggul jahe maupun dalam upaya pemuliaannya.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian di lakukan di Laboratorium Sistematika Molekuler di Bidang Botani, Pusat Penelitian BIOLOGI (LIPI), Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46 Cibinong 16911 dimulai pada bulan Mei – Juni 2016.

Alat dan Bahan

Alat alat yang digunakan adalah mortar dan pestle, pipet, *Water bath* TAITEC, *incubator*, vortex, neraca analitik OHAUS, mikropipet Eppendorf, tip, *sentrifuge* Kubota 6800, mesin PCR Takara, Perangkat elektroforesis gel agarosa, *gel tray*, sisir, *power supply*, *parafilm*, ATTO *Printgraph*, gelas ukur, *microwave*, autoklaf, masker, sarung tangan, tisu, *freezer* dan perangkat lunak.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas bahan untuk ekstraksi DNA terdiri atas sampel daun jahe, 2x CTAB (1,4 M NaCl, 20mM EDTA, 100mM Tris HCl, De-ion) PVP (*polyvinyl pyrrolidone*), pasir kwarsa, merkcaptoetanol, kloroform, isoamil alkohol, isopropanol dingin, 70% ethanol, *TE buffer*. Bahan – bahan untuk visualisasi

hasil isolasi dan amplifikasi terdiri atas gel agarosa, bufer 1xTBE (Tris Borat-EDTA), Gel Red 1st Base, Marker DNA 100bp Geneaid.

Bahan – bahan untuk PCR RAPD meliputi GoTaq® Green Master Promega, *Nuclease Free Water* Promega, DNA, Primer OPA 1 dan OPA 2 IDT.

Cara Kerja

Persiapan Sampel

Sampel jahe diperoleh dari BPTP, Ungaran dan Balitro, Bogor. Setiap varietas berjumlah 5 dari setiap asalnya. Sehingga, jumlah total sampel jahe adalah 30. Daun setiap sampel dipetik dan disimpan dengan *silica gel* biru agar terjaga kelembapannya agar daun juga mengering dan mudah untuk digerus, kemudian diberi nama aksesori setiap sampelnya.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan metode dari Doyle dan Doyle (1987) dengan modifikasi. Sampel daun yang telah kering dipotong kecil - kecil dengan ukuran 2cm. Sampel daun yang berukuran 2cm, PVP, dan pasir kwarsa kemudian digerus di atas mortar. Setelah halus menjadi bubuk, dipindahkan ke tabung *microtube* 1,5ml, lalu ditambahkan 600 µl 2X CTAB dan 2% merkcaptoetanol sebanyak 12 µl.

Sampel dihomogenkan dan divortex. Sampel juga diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Sampel disentrifugasi dalam kecepatan 13.000rpm, selama 15 menit dalam suhu 20°C, kemudian akan didapatkan supernatan. Supernatan dipindahkan ke *microtube* 1,5ml baru.

Supernatan ditambahkan kloroform isoamil sebanyak volume 1X supernatan, lalu *dishaker* selama 15 menit, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit dalam suhu 20°C. Supernatan didapatkan kembali dan kemudian dipindahkan ke *microtube* 1,5 ml baru.

Kloroform isoamil ditambahkan kembali kedalam supernatan sebanyak volume 1X supernatan, lalu dihomogenkan dan digojog selama 15 menit. Campuran supernatan dan kloroform isoamil disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit dalam suhu 20°C, dan akan didapatkan supernatan dan pelet.

Supernatan dikeluarkan sehingga hanya ada pelet. Pelet ditambahkan dengan Isopropanol dingin sebanyak 2/3 volume supernatan yang dibuang. Setelah itu, pelet diinkubasi didalam lemari pendingin pada suhu 4°C semalaman (*overnight*).

Pelet yang telah diinkubasi semalaman disentrifugasi dengan kecepatan 13.000rpm selama 10 menit dalam suhu 20°C, dan akan terbentuk supernatant. Supernatan dibuang, lalu pelet dicuci dengan 500 µl etanol 70% dan disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm, selama 5 menit dalam suhu 20°C. Supernatan akan didapatkan dan dibuang kembali, untuk menghilangkan penambahan etanol tadi pelet dikeringanginkan didalam oven pada suhu 37°C selama 1 jam, kemudian ditambahkan TE ph 8,4 dan bisa disimpan pada suhu 4°C. DNA yang didapatkan siap untuk dipakai.

Visualisasi DNA Hasil Isolasi

Visualisasi DNA hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan alat elektroforesis. Gel agarosa 1% dibuat

dengan 0.4 gram agarosa didalam 40 ml 1X TBE, lalu di panaskan dengan *microwave* selama 2 menit, kemudian setelah agak dingin ditambahkan 2 µl *Gel Red*. Campuran agar kemudian dituang ke dalam cetakan gel elektroforesis yang telah dipasang sisir (cetakan sumur). Agar didiamkan hingga memadat. Agar yang sudah padat dipindahkan ke dalam bak elektroforesis yang berisi larutan bufer TBE 1x.

Sampel dan marker diinjeksikan ke dalam sumur gel sebanyak 2 µL yang telah dicampur dengan 1 µL *loading dye*. Marker yang digunakan berukuran 100 bp sebanyak 2 µL. Setelah semua sampel selesai diinjeksi, alat elektroforesis dihubungkan pada *power supply* yang dialiri tegangan listrik sebesar 100 volt selama 30 menit. Kemudian, hasil akan diamati dengan menggunakan ATTO Printgraph.

Uji Kuantitatif DNA.

Uji kuantitatif dilakukan dengan alat *NanoPhotometer 7122* dengan menggunakan 1 µL sampel dan dilihat konsentrasi dari DNA.

PCR-RAPD

Analisis RAPD dilakukan dengan menggunakan 2 primer (OPA1, OPA2). Reaksi PCR dilakukan menggunakan kit GMM (*Green Master Mix*) dengan komposisi reaksi 15 µL. GMM 7.5µL, Primer 1.5µL, DNA 1.5µL, dan *Nuclease Free Water* 4.5 µL. Siklusnya 45x.

Program PCR yang digunakan :

Pra denaturasi	: 94°C selama 2'
Denaturasi	: 94 °C selama 1'
Annealing	: 36 °C selama 1'
Extension	: 72 °C selama 2'
Final Extension	: 72 °C selama 5'

Hasil PCR kemudian diamati dengan alat elektroforesis.

Visualisasi Hasil PCR-RAPD

Visualisasi DNA hasil isolasi dilakukan dengan alat elektroforesis menggunakan gel agarosa 1% yang dibuat dengan 0.8 gram agarosa didalam 80 ml 1X TBE, kemudian di panaskan didalam *microwave* selama 2 menit, setelah campuran agar agak dingin ditambahkan 4 μ l *Gel Red* (Biotium). Campuran agar dituang ke dalam cetakan agar yang telah dipasang sisir (cetakan sumur) dan didiamkan hingga agar memadat. Agar yang sudah padat dipindahkan ke dalam bak elektroforesis yang berisi larutan bufer TBE 1x.

Sampel dan marker diinjeksikan ke dalam sumur agar sebanyak 4 μ L. Marker yang digunakan berukuran 100bp, setelah semua sampel selesai diinjeksi, alat elektroforesis dihubungkan pada *power supply* yang dialiri tegangan listrik 100 volt selama \pm 1 jam. Hasil diamati dengan menggunakan ATTO *Printgraph*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kuantitatif Isolasi DNA

Uji kuantitatif dilakukan dengan mengukur nilai konsentrasi dan kemurnian DNA. Sampel tanaman jahe dari BALITRO yang memiliki nilai rasio $A_{260/280}$ lebih dari 2 ada 6 sampel yaitu, JGB1, JGB4, JGB5, JMB1, JEB4, JEB5. Sampel tanaman jahe dari BPTP yang memiliki nilai rasio $A_{260/280}$ lebih dari 2 ada dua sampel yaitu, JGBP5, JMBP1 Hasil pengukuran nilai rasio $A_{260/230}$ pada semua sampel memiliki nilai rasio dibawah 2.0 – 2.2. Konsentrasi DNA semua sampel baik dari BALITRO

maupun dari BPTP memiliki nilai antara 109 – 934 ng/ μ l.

Asam nukleat dan protein memiliki maksimal absorbansi pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Absorbansi pada gelombang 230 nm menyatakan adanya kontaminasi lain. Nilai rasio $A_{260/280}$ berkisar diantara 1.8–2.0 sedangkan untuk nilai rasio $A_{260/230}$ berkisar antara 2.0-2.2. Menurut William *et al.*, (1997), rendahnya nilai rasio $A_{260/230}$ bisa disebabkan masih terbawanya residu fenol yang berasal dari sampel atau dari proses ekstraksi.

Uji Kualitatif Isolasi DNA

Uji Kualitatif DNA ini dilihat dari hasil elektroforesis sampel hasil isolasi DNA. Elektroforesis adalah suatu proses migrasi molekul bermuatan didalam suatu media yang bermuatan listrik, dan kecepatan migrasinya bergantung terhadap ukuran dan bentuk molekul yang terlibat. Hasil Uji Kualitatif DNA ini *band* yang terlihat tebal, tetapi beberapa sampel masih kurang jelas (tipis) *band* nya.

Ketebalan pita-pita ini berbeda beda, padahal ukuran *band* yang dihasilkan sama. Banyak faktor yang mempengaruhi uji kualitatif DNA ini, seperti pada saat pemipetan sampel untuk dimasukkan kedalam sumur agarose tidak merata, tetapi hasil elektroforesis ini cukup bersih, karena *smear* yang terbentuk sangat tipis, sehingga isolasi DNA yang dilakukan berhasil dan bisa digunakan untuk PCR.

Analisis PCR RAPD

Keragaman genetik antara jahe BPTP dengan jahe Balitro dengan primer OPA1 dan OPA2 tidak beragam, karena fragmen polimorfik

yang ditemukan masih sedikit (<50% pita polimorfik). Polimorfik yang tinggi ditemukan pada tiga varietas jahe *Zingiber officinale* sesuai dengan Tabel 4.4 menggunakan primer OPA1

dan primer OPA2. Kedua primer dapat mengamplifikasi DNA tanaman jahe dan menghasilkan fragmen-fragmen dan terdapat pita-pita polimorfik maupun monomorfik.

Primer (Primer)	Urutan Basa (Base sequence) (5'-3')	Jumlah Pita Monomorfik (Number of Monomorphic Bands)	Jumlah Pita Polimorfik (Number of Polymorphic Bands)	Jumlah Total (Total number)
OPA1	CAGGCCCTTC	0	12	12
OPA2	TGCCGAGCTG	3	8	11
Total		3	20	23

Tabel 1. Sekuens Primer PCR RAPD tiga varietas *Zingiber officinale*

Hasil pengamatan produk PCR yang dihasilkan diperoleh 23 fragmen yang berukuran 200 bp hingga 1.1kb dan yang memiliki polimorfik sebesar 12 pada primer OPA1, dengan total 20 pita polimorfik (86.9%) dan 3 pita monomorfik (13%). Hal ini menunjukkan penanda RAPD yang digunakan memiliki polimorfik yang tinggi (>50% pita polimorfik). Menurut Primrose & Twyman (2006), pita polimorfik dapat menggambarkan keadaan genom tanaman. Semakin banyak pita polimorfik semakin tinggi pula keragaman genetiknya. Ukuran pita polimorfik dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4

Hasil yang diperoleh sesuai dengan jurnal Ashraf *et al.*, (2013), persentasi polimorfik jahe dengan menggunakan marka RAPD tinggi yaitu dihasilkan dari 275 fragmen ditemukan 261 produk fragmen yang polimorfik (94.90%). Keragaman genetik pada populasi dapat terjadi karena berbagai proses, seperti

rekombinasi, mutasi, aliran gen atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain (Campbell *et al.*, 2002).

Keragaman genetik juga dianalisis dari matriks kesamaan dan nilai heterozigositas (He). Matriks kesamaan berfungsi untuk menguji kesamaan antara individu. Matriks kesamaan ini dihitung dengan rumus koefisien kesamaan Nei (1978).

Koefisien kesamaan genetik pada semua sampel yang tertinggi bernilai 1 dan terendah bernilai 0.32, koefisien kesamaan genetik yang semakin tinggi artinya pada kedua sampel memiliki kesamaan genetik atau bisa disebutkan antara kedua individu seragam. Nilai tertinggi 1 dimiliki antara individu dengan varietas yang sama. Semakin rendah nilai koefisien kesamaan genetiknya maka kesamaan genetiknya rendah artinya semakin berbeda pula genetiknya.

Analisis nilai He (Heterozigositas), digunakan untuk mengetahui tingkat heterozigositas atau keragaman dari suatu populasi. Nilai heterozigositas merupakan salah satu parameter yang dapat mengukur tingkat keragaman genetik suatu populasi.

Semakin tinggi nilai H_e (Heterozigositas) maka semakin tinggi tingkat keragamannya.

Nilai H_e yang didapatkan pada penelitian ini berturut turut adalah untuk OPA1 adalah 0.9026 dan untuk OPA2 adalah 0.889. Heterozigositas yang tinggi mewakili keragaman genetik yang lebih tinggi, yang artinya keragaman genetik sampel jahe hasil amplifikasi OPA1 lebih tinggi dari amplifikasi OPA2.

Heterozigositas ini berhubungan dengan genetika populasi, genetika populasi terdapat frekuensi alel yang sangat penting karena alel dapat mengakibatkan individu memiliki sifat yang bervariasi. Gen juga berhubungan dengan faktor lingkungan, seperti seleksi alam yang memiliki kecenderungan merubah frekuensi gen. Nilai H_e ini diolah dari hasil amplifikasi fragmen setiap primer yang digunakan, sehingga hasil amplifikasi sangat penting untuk menentukan keragaman genetiknya.

ANALISIS KLUSTER

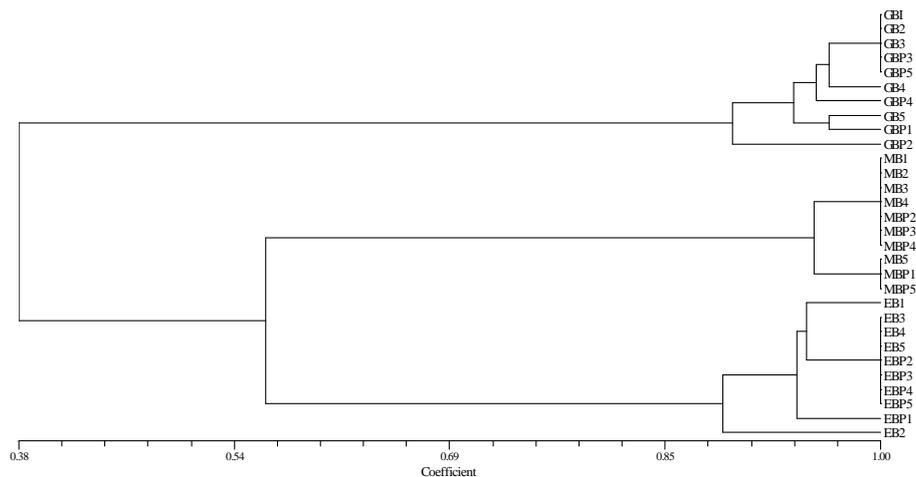
Analisis hubungan kekerabatan genetik dalam suatu tanaman dapat ditentukan berdasarkan kemiripan genetik antar individu. Kekerabatan genetik di antara tanaman jahe gajah, jahe merah dan jahe emprit dilakukan dengan *cluster analysis* dalam bentuk dendrogram menggunakan metode pemasangan kelompok artimatika tidak berbobot (*Unweighted Pair Grouping Method with Arithmetic Averaging, UPGMA*) dengan perangkat lunak NTSYS. Hasil elektroforesis diubah dalam bentuk data biner dengan sistem *scoring* dengan nilai 1 pada pita yang ada dan nilai 0 untuk yang tidak menghasilkan pita. Kedua primer (OPA1 dan OPA2) ini menghasilkan

hasil yang dapat di *scoring*. Kemudian data biner ini yang akan diolah di NTSYS dan didapatkan dendrogram.

Hasil analisis UPGMA pada 30 spesies *Zingiber officinale* antara 3 varietas jahe menggunakan primer OPA1 dan primer OPA2 sesuai pada Gambar 4.7. Pohon filogenetik yang terbentuk menunjukkan adanya 2 kluster utama sejalan dengan bentuk rimpang yang berbeda, pada koefisien lebih dari 0.54. Kelompok pertama berisi satu populasi jahe gajah BPTP dan jahe gajah Balitro. Kelompok kedua berisi 2 populasi yaitu populasi jahe merah dan jahe emprit yang diperoleh dari Balitro dan BPTP.

Garis putus-putus berwarna merah pada pohon filogenetik merupakan alternatif pilihan dalam pengelompokan individu. Garis merah pertama menunjukkan adanya pemisahan kluster antara populasi jahe merah dan populasi jahe emprit (Gambar 1). Garis merah kedua pada koefisien lebih dari 0.85 (Gambar 1) menunjukkan adanya pemisahan populasi jahe emprit menjadi dua kelompok yaitu, individu jahe emprit balitro 2, dan populasi jahe emprit lainnya.

Jahe emprit cabang berikutnya membentuk percabangan kembali, yaitu individu jahe emprit BPTP1 (JEBP1) dan individu jahe emprit Balitro 1 (JEB1) terpisah dengan populasi jahe emprit lainnya (JEB3, JEB4, JEB5, JEBP2, JEBP3, JEBP4, JEBP4). Garis merah selanjutnya No.3 membuat percabangan antara individu jahe gajah. Jahe gajah yang membentuk group yaitu (JGB1, JGB2, JGB3, JGBP3 dan JGBP5).



Gambar 1. Pohon filogenetik Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) dengan primer OPA1 dan OPA2.

Pohon filogenetik ini menjelaskan secara genetik jahe gajah memiliki kekerabatan yang jauh dengan jahe merah dan jahe emprit. Jahe merah dan jahe emprit masih memiliki kekerabatan genetik yang dekat.

KESIMPULAN

Keragaman genetik dari Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) antara tiga varietas yaitu jahe gajah, jahe merah dan jahe emprit yang berasal dari Balitro dan BPTP dapat diketahui dengan menggunakan teknik RAPD dengan primer OPA1 dan OPA2. Keragaman genetik dengan nilai total pita polimorfik 20 (86.9%) dan 3 pita monomorfik (13%) dengan primer OPA1 dan OPA2. Hubungan kekerabatan antara ketiga varietas ini adalah jahe gajah memiliki kekerabatan yang jauh dengan jahe merah dan jahe emprit. Jahe merah dan jahe emprit masih memiliki kekerabatan genetik yang dekat..

DAFTAR PUSTAKA

Ardiana, D.W. 2009. Teknik isolasi DNA genom tanaman pepaya dan jeruk dengan menggunakan modifikasi buffer CTAB.

Buletin Teknik Pertanian 14(1): 12-16.

Ashraf, K., Ahmad A., Chaudhary A., Mujeeb M., Ahmad S., Amir M., Mallick N., 2013. Genetic diversity analysis of *Zingiber officinale* Roscoe by RAPD collected from subcontinent of India. *Biological Science*(2014) 21, 159-165.

Bardakci, F. 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turk. J. Biol.* 25: 185-196.

BB-Pascapanen. 2008. *Teknologi Pascapanen Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.

Beaumont R. and Hoare. K. 2003. *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*. London. Blackwell Publishing.

Bermawie N., dan Purwiyanti S. 2011. *Jahe (Zingiber officinale Rosc.)*. BALITRO. Bogor

BPS. 2015. *Statistik Tanaman Obat-obatan (Biofarmaka)*. Badan Pusat Statistik Jakarta.

Campbell, N.A., Reece, J.B and Mitchell, L.G. 2002. *Biologi*. edisi kelima, jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.

- Clark, D. P. 2010. *Molecular Biology*. Academic Cell. ISBN-10: 0123785944.
- Evizal R. 2013. *Tanaman Rempah dan Fitofarmaka*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ghasemzadeh, A.; Jaafar, H.Z.E.; Rahmat, A.; Wahab, P.E.M.; Halim, M.R.A. 2010. Effect of Different Light Intensities on Total Phenolics and Flavonoids Synthesis and Anti-oxidant Activities in Young Ginger Varieties (*Zingiber officinale* Roscoe). *Int. J. Mol. Sci.* 11:3885–3897.
- Hasanah, M., Sukarman dan D. Rusmin. 2004. Teknologi Produksi Benih Jahe Plasma nutfah dan Perbenihan Tanaman Rempah dan Obat. *Perkembangan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat XVI(1)*: 9–16.
- Jusuf M. 2001. *Genetika I: Struktur dan Ekspresi Gen*. Sagung Seto. Bogor.
- Koswara, S., A. Diniari dan Sumarto. 2012. *Panduan Proses Produksi Minuman Jahe Merah Instan*. IPB. Bogor.
- Kumar, N.S and G. Gurusubramanian. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Applications. 2011. *Sci Vis* 11 (3), 116-124.
- Lowe A, Harris S, Ashton P. 2004. *Ecological Genetics: Design, Analysis and Application*. United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Meryalita R. Analisis Keragaman Genetik Kunyit (*Curcuma longa* Linn) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Budidaya Tanah Jawa Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD. 2012. *Skripsi*. IPB. Bogor
- Muhlisah F. 2007. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA)*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Napitupulu R, Wisakmono S, Efizal, Mooduto L, Herawaty T, Novianti A, Wahyu S, dan Tumino. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Badan POM RI. Jakarta.
- Nayak S, Naik PK, Acharya LK, Pattnaik AK. 2006. Detection and evaluation of genetik variation in 17 promising cultivars of turmeric (*Curcuma longa* L.) using nuclear DNA content and RAPD markers. *Cytologia*. 71: 4975.
- Nei, M. 1978. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic distance From a Small Numbers of Individuals. *Genetic*. 89:583590.
- Padmalatha, K and M.N.V. Prasad. 2006. Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of selected medicinal and aromatic plants of conservation concern from Peninsular India. *African J. Biotech*. 5: 230-234.
- Paimin F.B dan Murhananto. 2008. *Seri Agribisnis Budi Daya Pengolahan, Perdagangan Jahe*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Primrose SB, Twyman RM. 2006. *Principles of Gene Manipulation and Genomics 7th Ed*. USA: Blackwell Publishing
- Puspendra K, Gupta, Rajeev K, Varshney and Manoj P. 2002.

- Molecular Markers: Principles and Methodology*. In *Molecular Techniques in Crop Improvement*. SM. Jain S.M., D.S. Brar and B.S. Ahloowalia, editor. Netherland: Kluwer Academic Publishers.
- Qian, W., Ge, S and Hong, D.Y. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor. App. Genet.* 102: 440-449.
- Ribaut J.M, Bänzinger M, Betran J, Jiang C, Edmeades GO and Dreher K, Hoisington D. 2002. *Use of Molecular Markers in Plant Breeding: Drought Tolerance Improvement in Tropical Maize*. Di dalam: Manjit SK, editor. *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*. UK: CAB International.
- Ribeiro RA, Lovato MB. 2007. Comparative analysis of different DNA extraction protocols in fresh and herbarium specimens of the genus *Dalbergia*. *Genet. Mol. Res.* 6: 173-187
- Rukmana, R. 2000. *Usaha Tani Jahe*. Penerbit. Kanisius. Yogyakarta :12-16.
- Samal S., Rout G.R and Lenka P.C. 2003. Analysis of Genetic Relationship between Populations of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) by Using Morphological Characterisation and RAPD Markers. *Plant Soil Environ.* 49(4):176-182.
- Santoso, H.B., 2008. *Ragam & Khasiat Tanaman Obat Sehat Alami dari Halaman Asri*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Setiyo I.E. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit sungai pancur (RISPA). *Tesis*. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Shukla N, Sangwan NS, Misra OH and Sangwan RS. 2004. Characterization of *Boerhavia diffusa* L. mutant lines by RAPD and isozyme selected for agronomically valuable traits. *J. Genetic & Breed* 58:37-46.
- Singh, G., Kapoor, LP.S., Singh, P., Heluani, C.CS., Lampasona, M.P and Catalan. C.A.N. 2008. Chemistry, antioxidant, and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3259-3302.
- Suprapti, lies. 2003. *Aneka Awetan Jahe*. Kanisius. Yogyakarta.
- Suryanto, D. 2003. *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. USU Digital Library. Medan.
- Surzycki, S.J. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer-Verlag Publisher ISBN 3-540-66678-8.
- Tjitrosoepomo, G. 2010. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Gadjah Mada Universty Press. Yogyakarta.
- Walker JM, Wilson K. 2000. *Principles and Techniques of Practical Biochemistry*. UK: Cambridge University Press.
- 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 Res.* 18: 6531-6535.

William W. Wilfinger, Karol Mackey, and Piotr Chomczynski, Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity: *BioTechniques* 22:474-481 (March 1997)

Welsh, J and McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Res.* 18: 7213-7218.

Yang H.B, W. H Kang, S. H. Nahm and B. C. Kang. *Current Technology Plant Molecular Breeding.* 2015. New york. London.

Zhang Y.M, H.W. Leung, H.W. Yeung, Ricky N.S. 2000. Differentiation of *Lycium barbarum* from its Related *Lycium* Species using Random Amplified Polymorphic DNA. *Plant Med.* 67 (2001) 379-381.