

**KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH SAGU
(*Metroxylon* sp.) BERDASARKAN KARAKTER
MORFOLOGIS DAN MOLEKULER RAPD
(*Random amplified polymorphi DNA*)
DI SUMATERA BARAT**

TESIS

Oleh

**MELIA AKTRINISIA
BP. 07 201 003**



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010**

**KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH SAGU
(*Metroxylon* sp.) BERDASARKAN KARAKTER
MORFOLOGIS DAN MOLEKULER RAPD
(*Random amplified polymorphi DNA*)
DI SUMATERA BARAT**

Oleh

**MELIA AKTRINISIA
BP. 07 201 003**

T e s i s

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Megister
Pertanian pada Program Pascasarjana Universitas Andalas**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010**

**Judul Penelitian :KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH SAGU
(*Metroxylon* sp.) BERDASARKAN KARAKTER
MORFOLOGIS DAN MOLEKULER RAPD (*Random
amplified polymorphi* DNA) DI SUMATERA BARAT**

Nama Mahasiswa : MELIA AKTRINISIA

Nomor Buku Pokok : 07 201 003

Program Studi : AGRONOMI

**Tesis ini telah diuji dan dipertahankan di hadapan sidang panitia ujian akhir
Megister Pertanian pada Program Pascasarjana Universitas Andalas dan
dinyatakan lulus pada tanggal 26 Oktober 2010.**

Menyetujui

1. Komisi Pembimbing

**Prof. Dr. Ir. Zulfadly Syarif, MP
Ketua**

**Prof. Dr. Ir. Reni Mayerni, MP
Anggota**

2. Ketua Program Studi

3. Direktur Progam Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Zulfadly Syarif, MP

NIP. 195303131984011001

Prof. Dr. Ir. Novirman Jamarun, MSc

NIP. 195511061980031001

**Keragaman Genetik Plasma Nutfah Sagu (*Metroxylon* sp.)
Berdasarkan Karakter Morfologis dan Molekuler RAPD
(*Random amplified polymorphi* DNA) di Sumatera Barat**

Oleh

Melia Aktrinisia
BP. 07 201 003

(Di bawah Bimbingan Prof. Dr. Ir. Zulfadly Syarif, MP sebagai pembimbing I dan
Prof. Dr. Ir. Reni Mayerni, MP sebagai pembimbing II)

RINGKASAN

Sagu merupakan salah satu komoditi tanaman pangan yang dapat di pergunakan sebagai sumber karbohidrat yang cukup potensial di Indonesia khususnya di wilayah Indonesia bagian timur seperti Maluku dan Papua. Sebagai penghasil tepung, peranan sagu untuk mengisi kebutuhan pangan tidak diragukan lagi, bahkan dapat diolah menjadi beberapa jenis makanan yang tersedia dipasaran lokal dan regional.

Di Sumatera Barat sagu dikenal dengan nama rumbia, namun belum banyak diketahui karakteristiknya dan relative tidak pernah dilakukan koleksi tanaman ini. Perusakan lingkungan hidup dan serangan penyakit menyebabkan keanekaragaman hayati plasma nutfah berangsur-angsur berkurang. Kehilangan sumber suatu plasma nutfah akan sangat merugikan terutama bagi para pemulia tanaman yang ingin merakit varietas baru.

Dalam kegiatan pemuliaan tanaman, keragaman genetik merupakan hal yang penting. Plasma nutfah sebagai substansi sifat keturunan perlu mendapat perhatian, tidak hanya mengumpulkan dan memelihara, tetapi juga mengkarakterisasi dan mengevaluasi keragaman genetik dan fenotipnya. Informasi tentang keragaman genetik penting untuk membedakan genotipe individu intra maupun inter-spesies secara tepat yang sangat diperlukan dalam pengembangan program pemuliaan tanaman. Potensi penggunaan penanda sebagai alat untuk melakukan karakterisasi genetik telah dikenal sejak lama, yang meliputi penanda morfologis, sitologi dan yang terbaru adalah penanda molekuler.

Penanda morfologis merupakan langkah awal yang diamati langsung berdasarkan sifat sekunder antara lain ciri morfologis dan anatomi tanaman, yang meliputi : tinggi batang, lingkaran batang, bentuk daun, warna daun dan lain-lain. Suketi (1994) menegaskan bahwa, penanda morfologis sering mengalami penyimpangan terhadap keragaman genotipe, akibat perubahan lingkungan. Penggunaan penanda molekuler yang dapat memberikan informasi secara genetik dengan akurasi yang lebih tinggi.

Penanda molekuler seperti isozym, RFLP (*restriction frahgment length polymorphism*), RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), AFLP (*amplified frahgment length polymorphism*) dan yang lainnya telah digunakan sebagai penciri genetik dalam pemuliaan. Aplikasi penanda molekuler dalam kegiatan pemuliaan tanaman telah banyak dilakukan, walaupun demikian pemanfaatan dari masing-masing penanda molekuler tersebut mempunyai keterbatasan. Penggunaan penanda isozym mempunyai keterbatasan yaitu karena isozym merupakan produk ekspresi gen maka umur tanaman berpengaruh terhadap pola pita yang dihasilkan (Asins *et al.*, 1995). Disamping itu, polimorfisme yang dihasilkan sedikit sehingga sulit untuk membedakan antar kultivar yang berkerabat dekat.

Kemampuan untuk mengisolasi DNA dari jaringan tanaman merupakan faktor penting dalam prosedur yang memanfaatkan penanda molekuler. Dalam praktek, material sebagai sumber DNA berasal dari daun muda dalam keadaan segar atau dibekukan. Hal ini sulit diterapkan untuk tanaman tahunan yang mempunyai fase pertumbuhan dorman dan berjarak jauh dari fasilitas laboratorium. Dengan demikian studi tentang isolasi DNA dan cara penyimpanan sampel sangat mendukung bagi keberhasilan berbagai analisis DNA.

Tujuan penelitian ini adalah untuk: 1) Mengetahui keragaman genetik plasma nutfah sagu berdasarkan karakter morfologis. 2) Mengetahui keragaman genetik plasma nutfah sagu berdasarkan karakter molekuler RAPD. 3) Mendapatkan cara atau metode untuk mengisolasi DNA. 4) Mendapatkan cara penyimpanan contoh daun sebagai sumber DNA untuk analisis RAPD.

Pengumpulan data morfologis tanaman sagu dilakukan di 8 Kabupaten dan Kota di Sumatera Barat yaitu, Kabupaten Dharmasraya, Padang Pariaman,

Pasaman Barat, Pasaman Timur, Pesisir Selatan, Agam, Mentawai dan Kodya Padang. Analisis RAPD dilakukan di Laboratorium.

Hasil dari penelitian dapat disimpulkan: a) Keragaman berdasarkan karakteristik morfologis dengan koefisien kemiripan dibentuk pada 0,51 membagi menjadi 5 kelompok utama. Kelompok I dibentuk oleh 2 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Dharmasraya (DM1, DM3), Kelompok ke II terdiri dari 7 genotipe yaitu yang berasal dari Dharmasraya (DM2), Pasaman Barat (PB1, PB2), Agam (A1, A2), Pesisir Selatan (PS1), Padang (P1), Kelompok ke III dibentuk dari 10 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Padang Pariaman (PP1, PP2, PP3), Padang (P2, P3), Mentawai (M) Pasaman Timur (PT2, PT3), Pesisir Selatan (PS4), Agam (A2), Kelompok IV dibentuk dari 3 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Pasaman Barat (PB3), Pesisir Selatan (PS2, PS3), Kelompok ke V dibentuk dari 1 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Pasaman Timur (PT1). b) Keragaman berdasarkan karakteristik molekuler dengan koefisien kemiripan dibentuk pada 0,61 membagi menjadi 3 kelompok utama. Kelompok I terdiri dari 21 genotipe yaitu berasal dari Dharmasraya (DM1, DM2, DM3), Pasaman Barat (PB2, PB3, PB1), Padang Pariaman (PP1, PP2, PP3), Pasaman Timur (PT2, PT3, PT1), Agam (A3, A2, A1), Mentawai (M), Pesisir Selatan (PS1, PS2, PS4), Padang (P2, P1). Kelompok ke II terdiri dari 1 genotipe yaitu genotipe yang berasal dari Pasisir Selatan (PS3) dan Kelompok ke III terdiri dari 1 genotipe yaitu berasal dari Padang (P2). c) dari beberapa metode isolasi yang digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman sagu, metode isolasi yang diperkenalkan oleh Doyle-doyle (1990) yang telah dimodifikasi dapat digunakan untuk mengisolasi DNA dari jaringan daun tanaman sagu. d) jenis material yang baik digunakan untuk mendapatkan DNA dari tanaman sagu adalah daun muda yang telah disimpan di freezer (-20°C) dan disimpan di suhu ruang selama 3 hari.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman sagu (*Metroxylon* sp.), merupakan salah satu tanaman penghasil karbohidrat yang penting kedudukannya sebagai bahan makanan sesudah padi, jagung dan umbi-umbian. Krisis pangan, khususnya beras dewasa ini telah membuka mata akan pentingnya keanekaragaman pangan sumber karbohidrat seperti sagu. Tanaman ini mempunyai nilai penting karena merupakan tanaman pangan penghasil pati paling produktif. Selain dijadikan sebagai bahan makanan, pati sagu juga dimanfaatkan dalam bidang industri seperti bioetanol, sirup berkadar fruktosa tinggi, plastik dan bahan perekat.

Sagu merupakan salah satu komoditi tanaman pangan yang dapat di pergunakan sebagai sumber karbohidrat yang cukup potensial di Indonesia khususnya di wilayah Indonesia bagian timur seperti Maluku dan Papua. Sebagai penghasil tepung, peranan sagu untuk mengisi kebutuhan pangan tidak diragukan lagi, bahkan dapat diolah menjadi beberapa jenis makanan yang tersedia dipasaran lokal dan regional. Sagu telah lama dikenal di Indonesia, namun dalam budidayanya masih secara tradisional dan bahkan sagu masih tumbuh secara liar atau secara alami. Selain sebagai bahan pangan, sagu dapat digunakan sebagai bahan baku berbagai macam industri pangan, industri perekat, kosmetik dan berbagai macam industri kimia. Dengan demikian pemanfaatan dan pendayagunaan sagu dapat menunjang berbagai macam industri baik industri kecil, menengah maupun industri berteknologi tinggi.

Sumatera Barat merupakan salah satu provinsi yang cukup berpotensi untuk dijadikan daerah pengembangan sagu. Tanaman sagu ini dapat dijumpai di sepanjang pantai barat Sumatera Barat seperti di pesisir pantai Kabupaten Pasaman Barat, Agam, Padang Pariaman, Pesisir Selatan, Kotamadya Padang, Kabupaten Mentawai

dan tidak hanya dipesisir pantai, sagu juga dapat dijumpai di daerah Pasaman Timur dan Dharmasraya yang jauh dari pantai.

Di Sumatera Barat sagu dikenal dengan nama rumbia, namun belum banyak diketahui karakteristiknya dan relative tidak pernah dilakukan koleksi tanaman ini. Perusakan lingkungan hidup dan serangan penyakit menyebabkan keanekaragaman hayati plasma nutfah berangsur-angsur berkurang. Kehilangan sumber suatu plasma nutfah akan sangat merugikan terutama bagi para pemulia tanaman yang ingin merakit varietas baru.

Keragaman genetik dalam kegiatan pemuliaan tanaman, merupakan hal yang penting. Plasma nutfah sebagai substansi sifat keturunan perlu mendapat perhatian, tidak hanya mengumpulkan dan memelihara, tetapi juga mengkarakterisasi dan mengevaluasi keragaman genetik dan fenotipnya. Informasi tentang keragaman genetik penting untuk membedakan genotipe individu intra maupun inter-spesies secara tepat yang sangat diperlukan dalam pengembangan program pemuliaan tanaman. Potensi penggunaan penanda sebagai alat untuk melakukan karakterisasi genetik telah dikenal sejak lama, yang meliputi penanda morfologis, sitologi dan yang terbaru adalah penanda molekuler.

Penanda morfologis merupakan langkah awal yang diamati langsung berdasarkan sifat sekunder antara lain ciri morfologis dan anatomi tanaman, yang meliputi: tinggi batang, lingkaran batang, bentuk daun, warna daun dan lain-lain. Suketi (1994) menegaskan bahwa, penanda morfologis sering mengalami penyimpangan terhadap keragaman genotipe, akibat perubahan lingkungan. Penggunaan penanda molekuler dapat memberikan informasi secara genetik dengan akurasi yang lebih tinggi.

Kegiatan pemuliaan yang bertujuan untuk menghasilkan varietas unggul memerlukan waktu yang lama. Karakterisasi genetik yang mendasarkan pada penanda morfologis memerlukan observasi yang intensif dari tanaman dewasa. Disamping itu, penanda ini belum dapat memberikan informasi genetik yang

sebenarnya dari individu yang diteliti karena karakter ini masih dipengaruhi oleh lingkungan. Dengan demikian untuk melakukan kegiatan pemuliaan tanaman tidak cukup hanya memanfaatkan informasi yang didasarkan pada karakter morfologis. Informasi dasar yang lebih rinci tentang keanekaragaman genetik dan hubungan kekerabatan intra-spesies maupun inter-spesies sangat penting dalam menentukan strategi dalam pengambilan sampel gen-gen yang penting secara agronomi yang akan dimanfaatkan dalam program pemuliaan untuk memperbaiki karakter-karakter dari kultivar terpilih.

Penanda molekuler seperti isozym, RFLP (*restriction frahgment length polymorphism*), RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), AFLP (*amplified frahgment length polymorphism*) dan yang lainnya telah digunakan sebagai penciri genetik dalam pemuliaan. Perbedaan yang mendasar antara metode isozym, RFLP, RAPD dan AFLP adalah bahwa masing-masing mendeteksi keragaman genetik pada tingkat yang berbeda. Isozym adalah produk ekspresi gen, sedangkan RFLP (*restriction frahgment length polymorphism*), RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) dan AFLP (*amplified frahgment length polymorphism*) mengungkap perbedaan antara tingkat struktur molekul DNA baik pada daerah penyandi maupun bukan penyandi. Penanda molekuler dapat memberikan resolusi yang cukup tinggi tentang perbedaan genetik diantara individu, baik pada tingkat spesies maupun dengan kerabatnya (Herrero *et al.*, 1996). Disamping itu penanda molekuler dapat mendeteksi keragaman genetik pada tingkat jaringan dan selluler, sehingga merupakan pilihan yang ideal untuk mengevaluasi plasma nutfah.

Aplikasi penanda molekuler dalam kegiatan pemuliaan tanaman telah banyak dilakukan, walaupun demikian pemanfaatan dari masing-masing penanda molekuler tersebut mempunyai keterbatasan. Penggunaan penanda isozym mempunyai keterbatasan yaitu karena isozym merupakan produk ekspresi gen maka umur tanaman berpengaruh terhadap pola pita yang dihasilkan (Asins *et al.*, 1995). Disamping itu, polimorfisme yang dihasilkan sedikit sehingga sulit untuk membedakan antar kultivar yang berkerabat dekat. Penanda RFLP dan AFLT dapat

memberikan tingkat polimorfisme dan stabilitas yang tinggi, namun demikian teknik ini memerlukan beberapa tahapan pelaksanaan, biayanya tinggi dan menggunakan radioisotop (Lin *et al.*, 1996, Karp *et al.*, 1997). Penanda RAPD yang dikembangkan oleh Williams *et al.*, (1990) merupakan teknik yang lebih cepat, lebih mudah dan memerlukan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan RFLP dan AFLT. Walaupun demikian, penanda RAPD mempunyai keterbatasan yaitu sangat sensitive terhadap kondisi reaksi, kualitas DNA dan temperatur (Weising *et al.*, (1995).

Penanda molekuler RAPD dihasilkan melalui proses amplifikasi DNA secara in-vitro dengan *polymerase chain reaction* (PCR) yang dikembangkan oleh Williams *et al.*, (1990). Menurut Demake dan Adams (1994), prosedur RAPD lebih murah, lebih cepat, membutuhkan sampel DNA lebih rendah (0,5-50 ng), tidak memerlukan radioisotop dan tidak terlalu membutuhkan keahlian untuk pelaksanaannya dibandingkan dengan RFLP. Teknik RAPD telah banyak diaplikasikan dalam kegiatan pemuliaan tanaman, antara lain untuk analisis keragaman genetik plasma nutfah tanaman padi (Virk *et al.*, 1995), kapas (Tatineni *et al.*, 1996), jeruk (Karsinah *et al.*, 1999), jeruk mandarin (Filho *et al.*, 1998), Papaya (Galingging, 2005), Nenas (Apriyani, 2005).

Kemampuan untuk mengisolasi DNA dari jaringan tanaman merupakan faktor penting dalam prosedur yang memanfaatkan penanda molekuler. Dalam praktek, material sebagai sumber DNA berasal dari daun muda dalam keadaan segar atau dibekukan. Hal ini sulit diterapkan untuk tanaman tahunan yang mempunyai fase pertumbuhan dorman dan berjarak jauh dari fasilitas laboratorium. Dengan demikian studi tentang isolasi DNA dan cara penyimpanan sampel sangat mendukung bagi keberhasilan berbagai analisis DNA.

1.2 Identifikasi dan Perumusan Masalah

Berkaitan dengan masalah yang telah dikemukakan dalam latar belakang, masalah yang telah diidentifikasi dapat dirumuskan sebagai berikut:

- 1) Bagaimanakah keragaman tanaman sagu (*Metroxylon* sp.) berdasarkan karakter morfologis dan karakter molekuler RAPD.
- 2) Bagaimanakah cara yang efisien untuk mengisolasi DNA dan cara menyimpan contoh daun sebagai sumber DNA untuk analisis RAPD tanaman sagu (*Metroxylon* sp.)

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan:

- 1) Mengetahui keragaman genetik plasma nutfah sagu berdasarkan karakter morfologis.
- 2) Mengetahui keragaman genetik plasma nutfah sagu berdasarkan karakter molekuler RAPD.
- 3) Mendapatkan cara atau metode untuk mengisolasi DNA.
- 4) Mendapatkan cara penyimpanan contoh daun sebagai sumber DNA untuk analisis RAPD.

Manfaat:

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keragaman genetik plasma nutfah sagu ditinjau dari karakterisasi morfologis dan molekuler yang menjadi langkah awal dalam konservasi sumber alam hayati. Memberikan sumbangan pada ilmu pengetahuan yakni dalam bidang bioteknologi dalam karakterisasi tanaman sagu secara morfologis dan molekuler.

1.4 Kerangka Pemikiran

Semakin berkembangnya berbagai teknik pemulia saat ini sagu tidak hanya merupakan sumber karbohidrat, protein dan vitamin saja. Dapat dikatakan sagu sebagai bahan multi fungsi, misalnya sebagai pembuatan bioetanol.

Provinsi Sumatera Barat merupakan salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki wilayah yang luas dan dilewati oleh garis khatulistiwa. Keadaan ini menjadikan Sumatera Barat memiliki iklim yang spesifik yaitu iklim hutan tropis basah (*tropical rain forest*) dengan ciri-ciri hujan sepanjang tahun dengan penyebaran yang merata. Kondisi iklim yang demikian memungkinkan Sumatera Barat menyimpan sumber keragaman genetik yang eksotik dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Salah satu sumber plasma nutfah yang ditemukan adalah tanaman sagu.

Perusakan lingkungan hidup dan serangan penyakit menyebabkan keanekaragaman hayati plasma nutfah berangsur-angsur berkurang. Keragaman plasma nutfah tidak akan memberikan manfaat apabila tidak dimanfaatkan secara optimal bagi kesejahteraan masyarakat. Kehilangan sumber suatu plasma nutfah akan sangat merugikan terutama bagi para pemulia tanaman yang ingin merakit varietas baru. Untuk menghasikan varietas unggul baru dengan produktivitas dan stabilitas hasil tinggi membutuhkan sumber-sumber gen dari sifat-sifat tanaman yang mendukung tujuan tersebut. Sumber-sumber gen dari sifat-sifat tersebut perlu diidentifikasi dan ditemukan pada plasma nutfah melalui kegiatan karakterisasi dan evaluasi untuk dapat diberdayakan dalam program pemuliaan. Plasma nutfah yang ada harus dilestarikan agar selalu tersedia baik untuk masa sekarang maupun masa yang akan datang. Gen-gen yang nampaknya sekarang belum berguna, dimasa yang akan datang mungkin diperlukan dalam pembentukan varietas unggul baru.

Berkembangnya berbagai teknik pemuliaan saat ini sehingga sagu tidak hanya merupakan sumber energi dan protein saja tetapi juga dapat dijadikan sebagai sumber

bahan bakar bioetanol. Pada pemuliaan tanaman diperlukan data-data tentang sumber plasma nutfah tersebut, yaitu melalui eksplorasi dan karakteristik.

Eksplorasi adalah kegiatan mencari, mengumpulkan, serta meneliti jenis varietas tertentu (daerah tertentu) untuk mengamankan dari kepunahannya. Langkah ini diperlukan guna menyelamatkan varietas-varietas lokal dan kerabat liar yang semakin terdesak keberadaannya. Kegiatan eksplorasi sebaiknya dilakukan di daerah produksi tradisional, daerah terisolir, pulau terpencil, daerah yang masyarakatnya menggunakan komoditas-komoditas yang bersangkutan sebagai makanan pokok, daerah endemik hama/penyakit serta daerah transmigrasi lama dan baru.

Karakteristik merupakan kegiatan dalam rangka mengidentifikasi sifat-sifat penting yang bernilai ekonomis atau yang merupakan penciri dari varietas yang bersangkutan. Karakter yang dapat diamati dapat berupa karakter morfologis, karakter agronomi, karakter fisiologi, dan karakter molekuler (DNA).

Pengembangan potensi sagu dewasa ini cukup besar, informasi tentang keragaman genetik sagu masih sangat terbatas terutama untuk analisis hubungan kekerabatan sagu di Indonesia terutama di Sumatera Barat. Materi genetik yang beragam tersebut perlu dikarakterisasi berdasarkan a) penampilan morfologis dan karakter agronomi. b) pola pita enzim. c) pola pita DNA, agar dapat dimanfaatkan oleh pemulia tanaman.

Karakter morfologis dapat diamati secara visual di lapangan, hanya saja penanda ini sering dipengaruhi oleh lingkungan, sedangkan penanda molekuler adalah penanda yang tidak dipengaruhi oleh lingkungan. Hasil karakterisasi secara morfologis dapat dibandingkan dengan penanda molekuler agar data yang dihasilkan lebih akurat dan saling melengkapi.

Penanda morfologis merupakan penanda yang sudah lama digunakan dalam melakukan deskripsi taksonomi karena lebih mudah, cepat, sederhana dan relative

lebih murah. Karakter morfologis yang diamati di lapangan terdiri atas karakter morfologis yang bersifat kualitatif dan kuantitatif. Karakter yang diamati hendaknya tidak dipengaruhi oleh lingkungan. Penanda morfologis digunakan untuk mengidentifikasi variasi yang selanjutnya diseleksi sebagai materi perbaikan sifat suatu tanaman pada program pemuliaan tanaman.

Salah satu kelemahan penggolongan yang digunakan saat ini adalah masih berdasarkan pada pengamatan karakter morfologis yang sangat sensitive terhadap pengaruh lingkungan, seperti ketinggian tempat (elevasi), tanah, suhu/kelembaban(RH), keadaan tempat tumbuh apakah itu di rawa atau lahan kering. Oleh karena itu dibutuhkan suatu system penggolongan yang lebih stabil dan akurat. Salah satu cara untuk itu adalah penggolongan dengan parameter molekuler yang didasarkan langsung kepada komposisi dasar material genetik (DNA) suatu organisme. Berbagai keunggulan karakterisasi berbasis molekuler telah banyak dilaporkan oleh berbagai peneliti antara lain: dengan menggunakan karakter molekuler bisa lebih akurat dalam melakukan tindakan perbaikan sifat atau karakter suatu individu. Disamping itu waktu yang dibutuhkan jauh lebih cepat, sifatnya yang lebih stabil dibandingkan dengan karakter morfologis, dimana karakter morfologis dipengaruhi oleh lingkungan sekitarnya (Jamsari, 2007).

Untuk keperluan analisis dan karakterisasi molekuler, persyaratan dasar yang mutlak harus tersedia adalah ketersediaan DNA. Saat ini publikasi tentang analisis molekuler pada tanaman sagu belum ada laporan, oleh karena itu langkah awal yang dipandang penting adalah menemukan metode penyimpanan isolasi DNA dari tanaman sagu yang efektif dan efisien. Berkaitan dengan hal tersebut penelitian ini ditujukan untuk mendapatkan metode isolasi DNA yang optimum dari jaringan daun tanaman sagu.

Analisis DNA tanaman dengan RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) berdasarkan pada amplifikasi DNA secara invitro dengan *polymerase chain reaction* (PCR) sebagaimana yang dikembangkan oleh Williams *et al.*, (1990). Teknik ini

telah banyak diterapkan dalam berbagai studi pemuliaan tanaman antara lain untuk studi keragaman genetik plasma nutfah. Langkah pertama yang menentukan keberhasilan analisis RAPD adalah kemampuan untuk mengisolasi DNA dengan kuantitas yang cukup dan kualitas yang baik sehingga dapat diamplifikasi dengan PCR.

Untuk melakukan analisis DNA tanaman biasanya menggunakan jaringan segar, yang dibekukan dengan es atau nitrogen cair maupun jaringan yang dikering bekukan (Couch dan Fritz, 1990). Cara ini kurang efisien dan sulit diterapkan jika bahan tanaman berasal dari lapangan yang jauh dari fasilitas laboratorium dan jumlah sampelnya banyak. Alternative yang dapat digunakan adalah menyimpan jaringan dalam larutan NaCl-CTAB atau buffer ekstraksi sebelum analisis dilakukan (Weising *et al.*, 1995). Cara ini memerlukan biaya yang tinggi karena menggunakan bahan kimia yang mahal. Thomson dan Henry (1993) berhasil mengamplifikasi DNA yang diisolasi dari daun peach kering yang disimpan dalam amplop pada suhu kamar sampai 122 hari.

Keberhasilan isolasi DNA dapat dicapai melalui beberapa tahapan yaitu: (1) memecah dinding sel, yang dilakukan dengan menggerus jaringan dengan nitrogen cair, (2) mengganggu membrane sel sehingga DNA terlepas ke dalam buffer ekstrak, yang dilakukan dengan menggunakan CTAB dan (3) melindungi DNA dilakukan dengan menggunakan EDTA, dan senyawa lain yang berfungsi untuk menjaga keutuhan DNA dan memisahkan DNA dari kontaminan protein dan polisakarida, untuk denaturasi dan pemisahan protein dari DNA dapat digunakan fenol atau kloroform (Rogers dan Bendich, 1994).

Menurut William *et al.*, (1990) RAPD merupakan salah satu penanda molekuler yang menggunakan prinsip kerja mesin PCR yang mampu mengamplifikasi DNA genom dengan menggunakan primer tunggal dari sequen nukleotida acak. RAPD sangat banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik dan organisasi plasma nutfah tanaman padi (Virk *et al.*, 1995), kapas (Tatineni *et al.*,

1996). Namun sampai saat ini informasi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan tanaman sagu (*Metroxylon* sp.) pada tingkat DNA dengan penanda RAPD sangat terbatas.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

- 1) Terdapat perbedaan keragaman genetik tanaman sagu (*Metroxylon* sp.) berdasarkan penanda morfologis.
- 2) Terdapat perbedaan keragaman genetik tanaman sagu (*Metroxylon* sp.) berdasarkan penanda molekuler RAPD.
- 3) Didapatkannya metode isolasi DNA.
- 4) Didapat cara penyimpanan contoh daun sebagai sumber DNA untuk analisis RAPD tanaman sagu (*Metroxylon* sp.).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Survey Pendahuluan dan Identifikasi Morfologis

Pengumpulan data karakter morfologis tanaman sagu di Sumatera Barat dilakukan di delapan Kabupaten dan Kotamadya yaitu: Dharmasraya, Padang Pariaman, Pasaman Barat, Pasaman Timur, Pesisir Selatan, Agam, Padang dan Mentawai. Kondisi geografis, iklim dapat dilihat pada Gambar 1, Tabel 1.



Gambar 1. Peta Wilayah Provinsi Sumatera Barat

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapat beberapa kesimpulan yaitu:

- 1) Keragaman berdasarkan karakteristik morfologis dengan Koefisien kemiripan dibentuk pada 0,51 membagi menjadi 5 kelompok utama Kelompok I dibentuk oleh 2 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Dharmasraya (DM1, DM3), Kelompok ke II terdiri dari 7 genotipe yaitu yang berasal dari Dharmasraya (DM2), Pasaman Barat (PB1, PB2), Agam (A1, A2), Pesisir Selatan (PS1), Padang (P1), Kelompok ke III dibentuk dari 10 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Padang Pariaman (PP1, PP2, PP3), Padang (P2, P3), Mentawai (M), Pasaman Timur (PT2, PT3), Pesisir Selatan (PS4), Agam (A2), Kelompok IV dibentuk dari 3 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Pasaman Barat (PB3), Pesisir Selatan (PS2, PS3); Kelompok ke V dibentuk dari 1 genotipe tanaman sagu yang berasal dari Pasaman Timur (PT1).
- 2) Keragaman berdasarkan karakteristik molekuler dengan Koefisien kemiripan dibentuk pada 0,61 membagi menjadi 3 kelompok utama. Kelompok I terdiri dari 21 genotipe yaitu berasal dari Dharmasraya (DM1, DM2, DM3), Pasaman Barat (PB2, PB3, PB1), Padang Pariaman (PP1, PP2, PP3), Pasaman Timur (PT2, PT3, PT1), Agam (A3, A2, A1), Mentawai (M), Pesisir Selatan (PS1, PS2, PS4), Padang (P2, P1). Kelompok ke II terdiri dari 1 genotipe yaitu genotipe yang berasal dari Pesisir Selatan (PS3) dan Kelompok ke III terdiri dari 1 genotipe yaitu berasal dari Padang (P2).
- 3) Dari beberapa metode isolasi yang digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman sagu, metode isolasi yang diperkenalkan oleh Doyle-Doyle (1990) yang telah dimodifikasi dapat digunakan untuk mengisolasi DNA dari jaringan daun tanaman.

- 4) Jenis material yang baik digunakan untuk mendapatkan DNA dari tanaman sagu adalah pucuk daun muda yang telah disimpan di freezer (-20°C) dan disimpan di suhu ruang selama 3 hari.

4.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan diatas, untuk mengetahui keragaman yang lebih jelas dan akurat dapat dilakukan dengan menambah jumlah primer lain untuk karakter molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Allard, R.W. 1960. Principles of Plant Breeding. John Wiley & Sons. Inc. New York. London.
- Apriyani, S.I. 2005. Analisis Keragaman Nenas Koleksi PKBT berdasarkan Penanda Morfologi dan Penanda RAPD. Thesis. Bogor. Program Pasca Sarjana IPB.
- Asins, M.J., R. Herrero and L. Navarro. 1995. Factors affecting citrus tree isozyme-gene expression. Theor. Appl. Genet. 90: 892-898.
- Aulia, D, 2010. Inventarisasi dan Karakterisasi Morfologi Sagu (*Metroxylon* sp.) di Kabupaten Agam. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang. (tidak dipublikasi).
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Agam. 2009. Kabupaten Agam dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Agam.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Dharmasraya. 2009. Kabupaten Dharmasraya dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Dharmasraya.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Kepulauan Mentawai. 2009. Kabupaten Kepulauan Mentawai dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Kepulauan Mentawai..
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Padang Pariaman. 2009. Kabupaten Padang Pariaman dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Padang Pariaman.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Pasaman Barat. 2009. Kabupaten Pasaman Barat dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Pasaman Barat.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Pasaman Timur. 2009. Kabupaten Pasaman Timur dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Pasaman Timur.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Pesisir Selatan. 2009. Kabupaten Pesisir Selatan dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kabupaten Pesisir Selatan.
- Badan Pusat Statistik Kotamadya Padang . 2009. Kotamadya Padang dalam Angka 2009. Badan Pusat Statistik Kotamadya Padang.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Papua. 2004. Kelapa dan palma lain, Menado. Papua dalam angka Tahun 2004/2005. Badan pusat Statistic Propinsi Papua.
- Barahima, J. Renwarin, L. N. Mawikere and Sudarsono. 2001. Diversity of Sago Palm From irian Jaya Based on Morphological Caracters and RAPD. Sago Palm. Abstracts of the International Symposium on Sago g(2) : 48 – 49.

- Beer, S.C., J. Goffreda, T.D. Phillips, J.P. Murphy, and M.E. Sorrells. 1993. *Assessment of genetic variation in Avena sterilis using morphological traits isozymes, and RFLPs*. *Crop. Sci.* 33:1386-1393.
- Bennet, J. 1993. Maps and marker, In genom analysis of plant and pathogen. Workshop handbook. Central Research institute for food crops. Bogor Indonesia 14-16 Juni 1993. IRRI. Manila.
- Bintoro, H.M.H. 1999. Pemberdayaan tanaman sagu sebagai penghasil bahan pangan alternative dan bahan baku agroindustri yang potensial dalam rangka ketahanan pangan nasional. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Ilmu Tanaman Perkebunan. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor. 70 hal.
- Couch, J. A and P. J. Fritz. 1990. Isolation of DNA from plants high in polyphenolics. *Plant Molecular Biology Reporter* 8(1): 8-12.
- Darma, V. 2010. Identifikasi dan Karakterisasi Morfologis Tanaman Sagu (*Metroxylon* sp.) di Kabupaten Padang Pariaman. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang. (Tidak dipublikasikan).
- Doyle, J.J. and J. L. Doyle, 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus* (12): 13-15.
- Demeke, T. and R.P. Adams. 1994. The use of PCR-RAPD analysis plant taxonomy and evolution. p. 179-191. In Griffin, H. G and A. M. Grift (Eds). *PCR TECHNOLOGY Current Innovations*. CRC Press. Ing London.
- Filho, C. H. D., M. A. Machado, M. L. P. N. Targon, M. C. P. Q. D. G. Moreira, and J. Pompeu Jr. 1998. Analysis of the genetic diversity among Mandarin (*Citrus* spp.) using RAPD markers. *Euphytica* 102: 133-139.
- Flach, M. 1983. The Sago Palm. Plant production and Protection Paper. FAO. Rome.
- Flach, M. 1997. Sago Palm. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) Promoting the Concervation and Use of Underutilized and Neglected Crops. 13 IPGRI. Italy and IPK Germany.
- Galingging, R.Y. 2005. Analisis keragaman 20 Genotipe Pepaya berdasarkan Penanda Morfologi dan RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Thesis. Bogor. Program Pasca Sarjana IPB.
- Gardner, F. P., R. Brent Pearce., Roger, L. M. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. Universitas Indonesia, (UI-PRESS). Jakarta.

- Grattapaglia, D., Chaparro, J., Wilcox, P., McCord, S., Werner, D., Amerson, H., McKeand S., Bridgwater, F., Whetten, R., O'Malley, D. dan Sederoff, R. 1992. Mapping in woody plants with RAPD markers: Application to breeding in forestry and horticulture. Application of RAPD Technology to plant breeding. *Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA*. Minneapolis, 1 November 1992.
- Harsanto, B. 1986. Budidaya dan pengolahan sagu. Kanisius. Yogyakarta. 91 hal.
- Haryanto, B dan Pangloli, P. 1992. Potensi dan Pemanfaatan Sagu. Kanisius. Yogyakarta.
- Haska, N dan Pramuda. 2002. Prospek komoditas sagu dalam memenuhi kebutuhan bahan baku industry di masa datang. Pers released symposium nasional sagu ke-IV. Kendari Sulawesi Tenggara. 7 hal.
- Herison, Catur, Rustikawati dan Eliyanti, 2003. Penentuan Protokol yang tepat untuk menyiapkan DNA Genom Cabai (*Capsicum sp*). Jurnal Akta Agrosia vol. (6): 38-43.
- Herrero, R., M. J. Asins, J.A. Pina, E. A. Carbonell, and L Navarro. 1996. Genetic diversity in the orange subfamily Aurantiodeae. II. Genetic relationships among genera and species. *Theor. Appl. Genet.* 93; 1327-1334.
- Irmawati, E. 2010. Identifikasi Karakterisasi Morfologi Tanaman Sagu (*Metroxylon sp.*) di Kabupaten Kepulauan Mentawai. Skripsi Fakultas pertanian Universitas Andalas. Padang. (Tidak dipublikasikan).
- Jamsari. 2007. Bioteknologi Pemula, Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis molekuler. UNRI Press. Pekanbaru: 1-193.
- Jumin. H. B. 1992. Agroekologi suatu pendekatan fisiologi. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Karsinah. 1999. keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. [Thesis]. Bogor. Program Pasca Sarjana IPB.
- Karp, A., S. Kresovich, K.V. Bhat, W.G. Ayad and T. Hodgkin. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI.
- Limbongan, J., A Hanafiah, dan M. Ngobe. 2007. Pengembangan Sagu Papua. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Papua. 25 halaman.
- Lin , J., J. Kuo, J. Ma, J.A. Saunders, H.S. Beard, M.H. MacDonald, W. Kenworthy, G. N. Lide, and B.F. Matthews. 1996. Identification molecular markers in soybean comparing RFLP, RAPD and AFLP DNA mapping techniques. *Plant Molecular Biology Reporter* 14(2): 156-166

- Liu, Z. and G.R. Furnier, 1993. Comparison of allozyme, RFLP and RAPD markers for revealing genetic variation within and between. *Aspen and Bigtooth Aspen. Theor. Appl. Genet.* 87:97-105.
- Mahapetra, K C; C H P Mishra and B Acharya. 1995. *Clustering of rice mutants by different methods of analysis.* *India J, Genet.* 55,2:138-147.
- Makmur. A. 1992. Pengantar pemuliaan tanaman. Rineka Cipta, Jakarta.
- Mangindaan, H. F dan H. Tampake. 2005. Status Plasma Nutfah Tanaman Sagu (*Metroxylon*. Sp). Buku Pedoman Pengelolaan Plasma Nutfah Perkebunan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor. Halaman 319 – 329.
- Miftachorrahman, H. Novarianto dan D. Allolerung. 1996. *Identification of Sago Species and Rehabilitation to Increase Productivity of sago (Metroxylon sp.) in Irian Jaya.* Proceeding of Sixth International Sago Symposium”Sago: The Future Source of Food and Feed. Pekanbaru 9-12 december 1996. Riau.pp.:79-95.
- Moritz, C. and D. M. Hillis. 1996. Molecular Systematics: context and Controversies. p. 1-13. In Hillis, D.M., C. Moritz and B.K. Mable (Eds). *Molecular Systematics*, Second Edition. Sinauer Associates, inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts USA.
- Nair, S. 1993. Detection of polymorphism in DNA. In *Genome analysis of plants, pests and pathogens. Workshop Handbook*, Central Research Institute for Food Crops Bogor. Indonesia 14-16 June 1993. IRRI
- Noverta, A. 2007. Optimasi Isolasi Tanaman Gambir (*Uncharia gambir* Roxb). Dan Seleksi Primer RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang. (Tidak dipublikasikan).
- Riska, K. 2010. Inventarisasi dan Karakterisasi keragaman Morfologi tanaman sagu (*Metroxylon* sp.) di Kabupaten Pesisir Selatan. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang. (Tidak di publikasikan).
- Rogers, S. O. and A. J. Bendich. 1994. Extraction of total cellular DNA from plants algae and fungi. p. 1-8. In Gelvin, S.B. and R.A. Schilperoot (Eds). *Plant Molecular Biology Manual* (Second edition). Kluwer Academic Publishers. London.
- Rostiwati, T., F, S Jong and M Natadiwirya (1995). Penanaman sagu (*Metroxylon sagu* Rottb) berskala besar. Badan penelitian dan Pengembangan Kehutanan dan Perkebunan, Jakarta. 60p.
- Rohlf, F. J. 2000. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Applied Biostatistics Inc. New York.

- Roslim, D. I, A. Hartana, dan Suharsono. 2003. Hubungan Genetika Populasi Kelapa Dalam Banyuwangi, Lubuk Pakam, dan Paslaten berdasarkan Analisis RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). *Jurnal Natur Indonesia*, 6(1): 5-10.
- Ronning, C. M., R.J. Schnell and D.N. Kuhn. 1995. Inheritance of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers in *Theobroma cacao* L. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(4):681-686.
- Sanghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW, (1984). Ribosomal DNA spacer Length Polymorphism in Bearly: Mandelian inheritance, chromosomal location and population dynamis proc. *Natl. Acad. Sci. USA* (81): 8014-8018.
- Schmidt, F, H and J.H. Ferguson. (1951) Rainfall Types Based on Wet and Dry Priod for Indonesia with Western New Guinea. Kementrian Perhubungan djawatan Meteorologi dan Geofisika. *Verhandelingen*. No 42 jakarta.
- Suketi. K. 1994. Studi karakterisasi bibit klonal durian berdasarkan morfologi daun dan pola pita isozim. Tesis Program Pascasarjana IPB. Bogor. 80 hal.
- Tanksley, S.D. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant molecular biology reporter* 1(1): 3-5.
- Tanksley, S.D, N.D. Young, A.H. Peterson, and M.W. Bonierbale, 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Bio/Technology* 7: 257-264.
- Tatineni, V., R. G. Cantrell, and D. D. Davis. 1996. Genetic diversity in catton germplasm determined by morphological characteristics and RAPDs. *Crop Sci.* 36: 186-192.
- Tenda, E. T. 2004. Pemanfaatan Keragaman Genetik untuk Pengembangan Sagu. Prosiding Simposium IV Hasil Penelitian Tanaman Perkebunan. Bogor 28 – 30 September. Buku II. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor. Halaman 313 – 320.
- Thomson, D. and R. Henry. 1993. Use of DNA from dry leaves for PCR and RAPD analysis. *Plant molecular biology reporter* 11(3): 202-206.
- Tjitrosoepomo, G. 2001. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Tokade, M. P dan V. E. Fere (1997). Tinjauan Teknologi Budidaya sagu masyarakat asli Papua. *Jurnal Hipere*. Fakultas pertanian universitas cendrawasil II: 1-10. Species and rehabilitation to increase productifity of sago (*Metroxylon* sp) in papua. In C Jose and Aslim rasyat (eds) *Sago: the future source og food and feed*.

- Virk, P. S., H. J. Newbury, M. T. Jackson, and B. V. Ford-Lloyd. 1995. The identification of duplicate accessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 90: 1049-1055.
- Weeden, N.F., Timmerman, G.M., Hemmat, M., Kneen, B.E. dan Lodhi, M.A. 1992. Inheritance and reliability of RAPD markers. Application of RAPD Technology to Plant Breeding. *Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA*. Minneapolis, 1 November 1992.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and W. Meyer. 1995. DNA finjer printing in plants and fungi. CRC, inc. boca raton. 322 p.
- Widjono, a. and H. Lakuy, (2000). Rekayasa pengukur dan peremas sagu sederhana. Prosiding seminar hasil-hasil system usaha tani papua. Pusat penelitian social ekonomi pertanian. Bogor. Hlm 1-8.
- 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 Acid Research* 18(22): 6531-6535.