

**Penentuan Variasi Genetik Dalam Populasi Tumbuhan Andalas  
(*Morus macroura* Miq.) Dengan Teknik *Random Amplified Polymorphic DNA*  
(RAPD)**

**Oleh :**

**Selvia Dewi Pohan  
06208069**

**T e s i s**

**Sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Magister Sains  
pada Program Pascasarjana Universitas Andalas**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2008**

**Penentuan Variasi Genetik Tumbuhan Andalas (*Morus macroura*) dengan  
Teknik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD)**

**Oleh : Selvia Dewi Pohan**

**Pembimbing : 1. Syamsuardi 2. Jamsari**

**RINGKASAN**

Tumbuhan *Morus macroura* merupakan maskot flora Sumatera Barat yang pada saat ini terus mengalami penurunan jumlah individu di dalam populasinya. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain karena secara reproduktif tumbuhan andalas bersifat *dioceous* dan mengalami isolasi reproduktif berupa fenologi bunga yang tidak serentak sehingga menyebabkan sukarnya perbanyakan tumbuhan ini secara seksual. Untuk itu perlu dilakukan upaya konservasi. Namun program konservasi tidak akan berhasil tanpa dukungan informasi diversitas genetik dan tingkat aliran gen dalam populasinya. Data diversitas genetik tumbuhan akan sangat penting karena pengaturan variasi genetiknya menentukan eksistensinya di alam. Data diversitas genetik dan tingkat aliran seharusnya dijadikan suatu ukuran untuk menentukan keefektifan program konservasi baik secara *in situ* maupun *ex situ*.

*Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) merupakan suatu metode yang umum diketahui digunakan untuk studi diversitas genetik dengan tujuan konservasi. Sejauh ini telah banyak studi yang menggunakan metode ini untuk mempelajari diversitas genetik, struktur populasi dan aliran gen tumbuhan misalnya Jover *et al.* (2003) pada *Araucaria araucana*, Allphin *et al.* (1998) pada *Arctomecon humilis*, Batthacarya dan Ranade (2001) pada tumbuhan *Morus spp.* (mulberry) di India.

Tumbuhan andalas merupakan maskot flora Sumatera Barat yang sangat penting untuk dilindungi dengan upaya konservasi. Dan data diversitas genetik dan tingkat aliran gen di dalam populasinya sangat diperlukan dalam hal ini.

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan April 2008 sampai dengan Juli 2008 di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang dengan tujuan untuk mengetahui variasi genetik di dalam dan antar populasi *M. macroura*, mengetahui tingkat aliran gen antar populasi *M. macroura*, mengetahui korelasi antara jarak geografis dengan jarak genetik serta mengetahui korelasi antara similaritas morfologi daun dengan similaritas genetik *M. macroura*.

Dalam penelitian ini didapatkan sebanyak 24 sampel individu *M. macroura* yang dikoleksi dari populasi daerah X Koto (6 individu), Batipuh (8 individu) dan Tanjung Raya (10 sampel). Sampel daun andalas diisolasi DNANYa dengan menggunakan metode berdasarkan Saghai Maarooof *et al.* (1984). Untuk melihat polimorfisme pada individu tumbuhan andalas secara genetik digunakan teknik RAPD, dimana pada penelitian ini diujicobakann sebanyak enam buah primer untuk amplifikasi DNA yaitu primer OPA-14, OPA-16, OPA-17, OPA-18, SBH-13 dan SBH-19.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, semua primer (dari profil pita) menunjukkan persentase polimorfisme yang cukup tinggi (75 %). Hal ini menunjukkan tingginya variasi genetik pada populasi tumbuhan andalas yang diamati. Enam primer pada penelitian ini menghasilkan jumlah total pita sebanyak 40 pita dengan kisaran ukuran antara 300 bp sampai dengan 6000 bp. Berdasarkan analisis diversitas Nei (1979) diketahui bahwa di dalam populasi X Koto diperoleh nilai rata-rata heterozigositas ( $H$ ) sebesar 0.162 dan nilai rata-rata indeks Shannon ( $J$ )

sebesar 0.249. Dalam populasi Btipuh didapatkan nilai  $H = 0.168$  nilai  $I = 0.250$ , sedangkan untuk populasi Tanjung Raya diperoleh nilai  $H$  tertinggi yaitu sebesar 0.179 dan  $I$  tertinggi sebesar 0.270. Tingginya nilai diversitas genetik dalam populasi *M. macroura* diasumsikan salah satu penyebab adalah karena populasi *M. macroura* di Tanjung Raya memiliki ukuran populasi yang lebih besar dibandingkan dengan populasi X Koto dan Batipuh. Secara keseluruhan diperoleh nilai heterozigositas dalam subpopulasi ( $H_S$ ) sebesar 0.170 sedangkan nilai heterozigositas pada populasi total ( $H_T$ ) sebesar 0.225 dengan nilai aliran gen ( $Nm$ ) sebesar 1.549. Nilai heterozigositas antar populasi ( $D_{ST}$ ) diperoleh sebesar 0.055 sedangkan nilai koefisien diferensiasi genetik antar populasi ( $G_{ST}$ ) pada penelitian ini cukup tinggi yaitu sebesar 0.244.

Dari hasil analisis Jaccard (1908) untuk penentuan similaritas genetik di antara individu, ditemukan adanya pengelompokan yang sebagian tidak mengikuti pola tempat dikoleksinya sampel. Dimana hal tersebut menunjukkan adanya diferensiasi genetik di antara individu. Ketika dihitung nilai koefisien korelasi antara jarak genetik dengan jarak geografis (berdasarkan Mantel test) didapatkan adanya korelasi yang signifikan antara diversitas genetik dengan jarak geografis ( $r = -0.186$ , Mantel t-test = -3.1305,  $p = 0.0009$ ). Sedangkan antara similaritas morfologi daun dengan similaritas genetik tidak ditemukan adanya korelasi di antara keduanya ( $r = 0.025$ , Mantel t-test = 0.604,  $p = 0.2587$ ).

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan Andalus (*Morus macroura* Miq.) merupakan flora identitas Sumatera Barat yang termasuk ke dalam famili Moraceae. Tumbuhan ini dapat mencapai tinggi 30 meter, bahkan ada yang dapat mencapai 60 meter (Dahlan, *et al.*, 1996).

Tumbuhan andalus saat ini terus mengalami penurunan jumlah individu ataupun populasi yang akhirnya dapat menjadi punah. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain adalah karena secara reproduktif tumbuhan andalus yang bersifat *dioceous* mengalami isolasi reproduktif berupa fenologi bunga yang tidak serentak sehingga menyebabkan sukarnya perbanyakan tumbuhan ini secara seksual. Selain itu juga disebabkan karena eksploitasi yang berlebihan oleh penduduk tanpa diikuti dengan upaya budidaya (Heyne, 1987; Dahlan, 1993). Hal tersebut menyebabkan tumbuhan ini menjadi langka sehingga perlu dilakukan upaya konservasi, apalagi tumbuhan ini merupakan maskot flora Sumatera Barat.

Upaya konservasi dapat dilakukan secara *in situ* (di habitat aslinya) dan *ex situ* (misalnya dengan penangkaran) di luar habitat aslinya. Namun program konservasi secara *in situ* dan *ex situ* tidak akan berhasil tanpa dukungan informasi diversitas genetik serta tingkat *gene flow* dalam populasi tersebut (Frankham *et al.*, 2005).

Pemeliharaan diversitas genetik telah menjadi sasaran umum dari kebanyakan program konservasi dan menggambarkan diversitas genetik di dalam dan di antara populasi alami. Data diversitas genetik suatu tumbuhan sangat penting karena

pengaturan variasi genetiknya mempengaruhi eksistensinya di alam. Hamrick *et al.*, (1991, dalam Kang dan Chung, 1997) berpendapat bahwa data diversitas genetik serta mekanisme *gene flow* seharusnya dijadikan suatu ukuran untuk menentukan keefektifan program konservasi secara *in situ* dan *ex situ*. Studi variasi genetik dalam populasi alami juga dapat memberikan informasi penting mengenai proses evolusi suatu spesies

Persebaran spesies yang lebih luas serta variasi gen yang lebih banyak menyebabkan gen lebih cepat tersebar luas. Gen yang sangat menguntungkan dapat tersebar melewati sistem populasi yang besar dalam beberapa ribu generasi, jika *gene flow* di antara populasinya substansial. Sebaliknya gen yang tidak mempunyai efek atau hanya sedikit sekali akan melewati jarak yang lebih kecil pada jumlah generasi yang sama (Levin, 2000).

Selain penentuan diversitas genetik, penentuan nilai aliran gen antar populasi juga diperlukan untuk melihat tingkat migrasi antar populasi tersebut. Tingkat rata-rata aliran gen di antara populasi dapat diperkirakan dari pengukuran frekuensi gen. Menurut Slatkin (1977) efek aliran gen (*gene flow*) di antara populasi lokal suatu spesies dengan kepunahan yang signifikan dan kecepatan rekolonisasi mempunyai peran yang penting pada kemungkinan seleksi kelompok pada spesies tersebut karena keefektifan seleksi kelompok tergantung pada adanya perbedaan genetik di antara populasi lokal.

Sejauh ini telah dilakukan beberapa penelitian tentang diversitas genetik pada tumbuhan antara lain oleh Jover *et al.* (2003) yang menilai diversitas genetik pada tumbuhan *Posidonia oceanica*. Bekessy *et al.* (2002) juga telah menilai variasi genetik tumbuhan langka di Amerika Selatan yaitu *Araucaria araucana* (Monkey Puzzle) serta Allphin *et al.* (1998) pada tumbuhan *Arctomecon humilis*

(Papaveraceae) di Menkopi shale, Washington County, Utah. Mereka semua menilai variasi genetik dengan menggunakan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

Untuk tumbuhan mulberry (*Morus* spp.) Bhattacharya dan Ranade (2001) telah melakukan penelitian mengenai analisis diversitas genetik pada 9 varietasnya dengan menggunakan profil RAPD dan DAMD (*Directed Amplification of Minisatellite DNA*). Hasil penelitian menunjukkan terdapatnya sekitar 85% pita polimorfik pada RAPD dan 91 % pita polimorfik pada DAMD pada tumbuhan tersebut. Sedangkan untuk *Morus macroura* sendiri baru dilakukan sebatas karakterisasi molekuler saja (Syamsuardi dan Jamsari, 2006).

Umumnya penilaian variasi genetik sangat tepat dilakukan dengan menggunakan isozim karena banyak gen yang dapat digunakan (Syamsuardi, 2002). Namun hal ini sulit dilakukan pada *M. macroura* karena lokasi pengambilan sampel yang jauh dari laboratorium sehingga sulit untuk mendapatkan sampel daun segar. Penggunaan teknologi RAPD dengan menggunakan sampel kering akan dapat mengatasi hal tersebut.

RAPD merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengetahui hubungan genetik pada spesies-spesies tumbuhan, menjelaskan aliran gen, spesiasi hibrid dan untuk mengetahui bagaimana tumbuhan langka dan terancam punah mengatur variasi genetiknya di alam dan untuk mempertahankan spesiesnya (Jover *et al.*, 2003; Waycott, 1995; DeLaat *et al.*, 2005). Menurut Jamsari (2007) teknik ini cukup cepat untuk menyeleksi polimorfisme, selain juga tergolong teknik yang cukup mudah dan ekonomis. Dengan alasan tersebut teknik ini banyak digunakan untuk studi-studi diversitas genetik dan struktur populasi.

William *et al.* (1990) telah mengembangkan metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) yang hanya menggunakan random primer dalam PCR untuk menghasilkan marker polimorfik yang tepat yang dapat digunakan untuk menentukan variasi dan kekerabatan genetik pada tumbuhan. Marker RAPD yang dihasilkan dengan PCR dapat digunakan untuk diferensiasi untuk membedakan strain dan varietas yang berbeda secara morfologi (Albayrak dan Gozukirmizi, 1998).

Tumbuhan andalas merupakan tumbuhan langka dan maskot flora Sumatera Barat yang sangat penting untuk dilindungi dengan upaya konservasi. Namun upaya konservasi tidak akan berarti bila tidak didukung oleh data diversitas genetik serta mekanisme *gene flow* dalam populasinya karena dalam upaya konservasi perlu dipertimbangkan tinggi atau rendahnya diversitas genetik spesies tersebut. Berdasarkan penjelasan-penjelasan di atas maka penelitian tentang variasi genetik dan tingkat *gene flow* tumbuhan andalas ini sangat perlu dilakukan.

### 1.2 Perumusan masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah seperti yang telah dijelaskan di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana variasi genetik dalam dan antar populasi tumbuhan *M. macroura* ?
2. Bagaimanakah tingkat aliran gen (*gene flow*) antar populasi tumbuhan *M. macroura* ?
3. Adakah dan berapa besar korelasi antara jarak genetik dengan jarak geografis?
4. Adakah dan berapa besar korelasi antara similaritas genetik dengan similaritas morfologi daun?

### 1.3 Tujuan dan manfaat penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :



1. Mengetahui variasi genetik di dalam dan antar populasi tumbuhan *M. macroura*.
2. Mengetahui tingkat aliran gen (*gene flow*) antar populasi tumbuhan *M. macroura*.
3. Mengetahui korelasi antara jarak genetik dengan jarak geografis.
4. Mengetahui korelasi antara similaritas genetik dengan similaritas morfologi daun.

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat:

1. Menyediakan data fundamental untuk upaya konservasi genetik atau jenis tumbuhan langka.
2. Memberikan kontribusi penting agar diversitas genetik tumbuhan *Morus macroura* dapat dikelola dengan baik.
3. Memberikan kontribusi pada bidang genetika populasi dan biosistematik tumbuhan khas Indonesia.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Populasi *M. macroura* di Tanjung Raya memiliki diversitas genetik yang lebih tinggi ( $N_a = 2$ ,  $N_e = 1.307$ ,  $H = 0.179$ ,  $I = 0.270$ ) dibandingkan dengan populasi di Batipuh ( $N_a = 1$ ,  $N_e = 1.291$ ,  $H = 0.168$ ,  $I = 0.250$ ) dan X Koto ( $N_a = 2$ ,  $N_e = 1.264$ ,  $H = 0.162$ ,  $I = 0.249$ ).
2. Nilai heterozigositas *M. macroura* lebih tinggi dalam populasi ( $H_S = 0.225$ ) dibandingkan heterozigositas antar populasi ( $D_{ST} = 0.055$ ). Diferensiasi genetik antar populasi cukup tinggi ( $G_{ST} = 0.244$ ) dengan nilai aliran gen ( $Nm$ ) sebesar 1.549.
3. Terdapat korelasi yang signifikan antara jarak geografis dengan jarak genetik pada *M. macroura* ( $r = -0,186$ , Mantel t-test = - 3.1305,  $p = 0.0009$ ).
4. Tidak terdapat korelasi yang signifikan antara bentuk morfologi daun dengan diferensiasi genetik ( $r = 0.025$ , Mantel t-test  $t = 0.604$ , dan  $p = 0.2587$ ) pada *M. macroura*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akimoto, M., Shimamoto Y. & Morishima H. 1998. *Population genetic structure of wild rice Oryza glumaepatula distributed in the Amazon flood area influenced by its life-history traits*. *Molecular Ecology*. 7 : 1371-1381.
- Albayrak, G. and N. Gozukirmizi. 1999. *RAPD Analysis of genetic variation in Barley*. *Tr. Journal of Agriculture and Forestry*. 23 : 627-630.
- Allphin, L., M.D. Windham & K.T. Harper, 1998. *Genetic diversity and gene flow in the endangered dwarf bear poppy, Arctomecon humilis (Papaveraceae)*. *American Journal of Botany*. 85 (9) : 1251-1261.
- Bhattacharya, E., S. B. Dandin dan S. A. Ranade. 2005. *Single primer amplification reaction methods reveal exotic and indigenous mulberry varieties are similarly diverse*. *J. Biosci.* 30 (5) : 669-677.
- Bhattacharya, E. & S.A. Ranade. 2002. *Molecular distinction amongst varieties of mulberry using RAPD and DAMD profiles*. *BMC Plant Biology*. [Http://www.biomedcentral.com/1471-2229/1/3](http://www.biomedcentral.com/1471-2229/1/3).
- Bekessy, S.A., T.R. Allnutt, A.C. Premoli, A. Lara, R.A. Ennos, M.A. Burgman, M. Cortes and A.C. Newton. 2002. *Genetic variation in the vulnerable and endemic Monkey Puzzle tree, detected using RAPDs*. *Heredity* 88 : 243-249.
- Camacho, F.J. dan A. Liston. 2001. *Population structure and genetic diversity of Botrychium pumicula (Ophioglossaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR)*. *American Journal of Botany* 88 (6): 1065-1070.
- Culley, T. M. 2004. *Population genetic analysis of ISSR data*. *Molecular ecology* 16: 3760-3770.
- Dahlan, S., Mansyurdin dan A. Salsabila. 1993. *Beberapa aspek biologi perbungaan pohon Andalus (Morus macroura Miq.)*. Laporan Bahan Seminar Basic Science. FMIPA UNAND. Padang.
- Dahlan, S. 1994. *Mengenal Morus macroura Miq. maskot flora Sumatera Barat*. *Jurnal Penelitian Andalas* (15) : 17-20.
- Dahlan, S., Mansyurdin dan A. Salsabila. 1996. *Viabilitas polen dan daya reseptif dari stigma bunga Andalus (Morus macroura Miq.)*. *Jurnal Biologi Perhimpunan Biologika* 1 (1) : 33-39.