

KERAGAAN MOLEKULAR AREN SUMATERA UTARA DAN AREN SULAWESI TENGGARA BERDASARKAN PRIMER OPD-20 DAN OPH-06

Lollie Agustina P. Putri^{1*}, Giovana¹, M. Basyuni², dan Mahyuni K. Harahap³

¹ Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU Medan, 20155

² Program Studi Kehutanan Fakultas Pertanian USU Medan, 20155

³ Fakultas Pertanian Universitas Graha Nusantara Padang Sidempuan, 22718

*Corresponding author : lollie_agustina@yahoo.com

ABSTRACT

This study aims to determine patterns of kinship based on the molecular nature palm plant populations from North Sumatra (South Tapanuli) and Southeast Sulawesi using Random Amplified Polymorphic DNA markers (RAPD). Each of these ten individuals aren natural populations from North Sumatra and Southeast Sulawesi origin have been analyzed with the molecular-based primer OPD 2-20 and OPH-06. The results indicate the formation of three groups, namely the group 1 is formed of people from North Sumatra, group 3 is formed of sugar origin Southeast Sulawesi, while the second group is formed of two palm from North Sumatra and Southeast Sulawesi.

Keywords: Natural population, South Tapanuli, RAPD analysis.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola kekerabatan berdasarkan molekuler pada tanaman aren populasi alam asal Sumatera Utara (Tapanuli Selatan) dan Sulawesi Tenggara menggunakan marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Masing-masing sepuluh individu aren populasi alam asal Sumatera Utara dan asal Sulawesi Tenggara telah dianalisis berbasis molekuler dengan 2 primer OPD-20 dan OPH-06. Hasil menunjukkan terbentuknya 3 group yaitu pada group 1 dibentuk dari individu asal Sumatera Utara, group 3 dibentuk dari aren asal Sulawesi Tenggara, sedangkan group 2 dibentuk dari kedua aren asal Sumatera Utara dan Sulawesi Tenggara.

Kata kunci : Populasi alam, Tapanuli Selatan, analisis RAPD.

PENDAHULUAN

Tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr) adalah tanaman kehutanan dan termasuk hasil hutan non kayu yang sangat potensial untuk mengatasi kekurangan pangan. Pengusahaan tanaman aren sebagian besar diusahakan oleh petani dan belum diusahakan dalam skala besar, karena pengelolaan

tanaman belum menerapkan teknik budidaya yang baik dan menyebabkan produktivitasnya rendah (Baharuddin et al., 2007).

Hampir semua bagian pohon tanaman aren dapat dimanfaatkan, mulai dari akar sampai tandan. Akar yang segar menghasilkan arak sebagai obat sembelit, obat disentri dan obat penyakit paru-paru. Batangnya

menghasilkan sagu sebagai sumber karbohidrat bahan keperluan rumah tangga dalam pembuatan roti, soun, mie dan campuran lem. Disamping itu batang yang keras biasa digunakan bahan bangunan, jembatan, tongkat dan ijuk bahan tali/atap. Daun muda dijadikan pembungkus rokok/kelobot, daun tua sebagai atap rumah. Pelepah daun untuk tutup botol. Tulang daun dijadikan sapu dan keranjang bunga. Tandan bunga jantan sebagai penghasil nira bahan gula. Buahnya diolah menjadi bahan makanan seperti kolong kaling (Tambunan *et al.*, 2009).

Peluang mengembangkan tanaman aren didukung oleh ketersediaan teknologi yang ada, selain itu tanaman aren mudah beradaptasi pada berbagai tipe tanah di seluruh Indonesia termasuk lahan kritis, alang-alang dan untuk program reboisasi dan konservasi hutan. Sedangkan tantangan yang perlu ditanggulangi untuk mengembangkan tanaman ini meliputi: input teknologi masih minim, perbaikan manajemen produksi, perbaikan pengolahan, pemasaran masih tradisional, diseminasi masih terbatas pada sebagian kecil petani, dan kesulitan bibit unggul.

Keragaman genetik penting diketahui untuk menentukan kekerabatan tanaman yang dapat didasarkan pada sifat agronomi, morfologi, biokimia dan marka molekuler. Namun penanda molekuler dapat menunjukkan perbedaan genetik pada tingkat yang lebih rinci dan tanpa gangguan faktor lingkungan serta melibatkan teknik yang memberikan hasil keragaman genetik yang cepat. Berbagai jenis penanda molekuler berbeda potensinya dalam mendeteksi perbedaan antara individu, biayanya, fasilitas yang dibutuhkan, konsistensi dan replikasi hasil (Mohammadi dan Prasanna, 2003; Sudré *et al.*, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola kekerabatan

berdasarkan molekuler pada tanaman aren populasi alam asal Sumatera Utara (Tapanuli Selatan) dan Sulawesi Tenggara berdasarkan marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

BAHAN DAN METODE

Semua kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur jaringan Faklutas Pertanian dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sampel daun aren diambil dari daerah Tapanuli Selatan dan Sulawesi Tenggara pada populasi alamiahnya.

Isolasi, Penetapan Kemurnian dan Konsentrasi DNA Genom Asal Daun

Ekstraksi DNA dari daun aren dilakukan sesuai dengan prosedur standard Sambrook *et al.*, (2001) dan Orozco-Castillo *et al.*, (1994) dilakukan menurut metode CTAB yang dimodifikasi khususnya penambahan antioksidan *polivinilpolipirolidon* (PVPP) (Toruan-Matius *et al.*, 1996) dan *merkptoetanol* selama melakukan penggerusan contoh dan ke dalam buffer ekstrak dan tanpa nitrogen cair. Sebanyak 0.3 g daun digerus sampai halus di dalam mortar dengan penambahan buffer CTAB 2 %.

Pemurnian DNA genom dilakukan dengan menggunakan campuran kloroform : isoamilalkohol (24 : 1), disentrifusi dengan mesin Eppendorf 5415D pada kecepatan 11.000 rpm selama 5 menit. Pemurnian dilakukan dua kali sampai terbentuk emulsi. Cairan bagian atas ditambahkan dengan 1 ml isopropanol dingin dan dikocok perlahan-lahan sampai terbentuk benang-benang halus berwarna putih. Pelet DNA yang diperoleh dari hasil sentrifusi dikering-anginkan dengan membalikkan tabung selama 5 menit, pada suhu kamar. Pelet yang dihasilkan dicuci dengan 5 ml alkohol dingin 70%, disentrifusi dan

peletnya dilarutkan dalam 5 ml Tris EDTA (TE). Pencucian dilakukan beberapa kali, selanjutnya DNA dilarutkan dalam 1 ml larutan TE di tabung Ependorf dan disimpan pada suhu -20 °C.

Amplifikasi dengan Teknik PCR

DNA daun aren diamplifikasi dengan metode PCR menggunakan primer acak RAPD. Komposisi master mix yang digunakan adalah Go Green Taq (Promega) dan primer acak dan berbagai suhu penempelan (*annealing*). Hasil amplifikasi dengan metode PCR dapat diketahui dari elektroforesis DNA menggunakan gel agarose (Invitrogen) 1.4 % di dalam buffer TAE 1X.

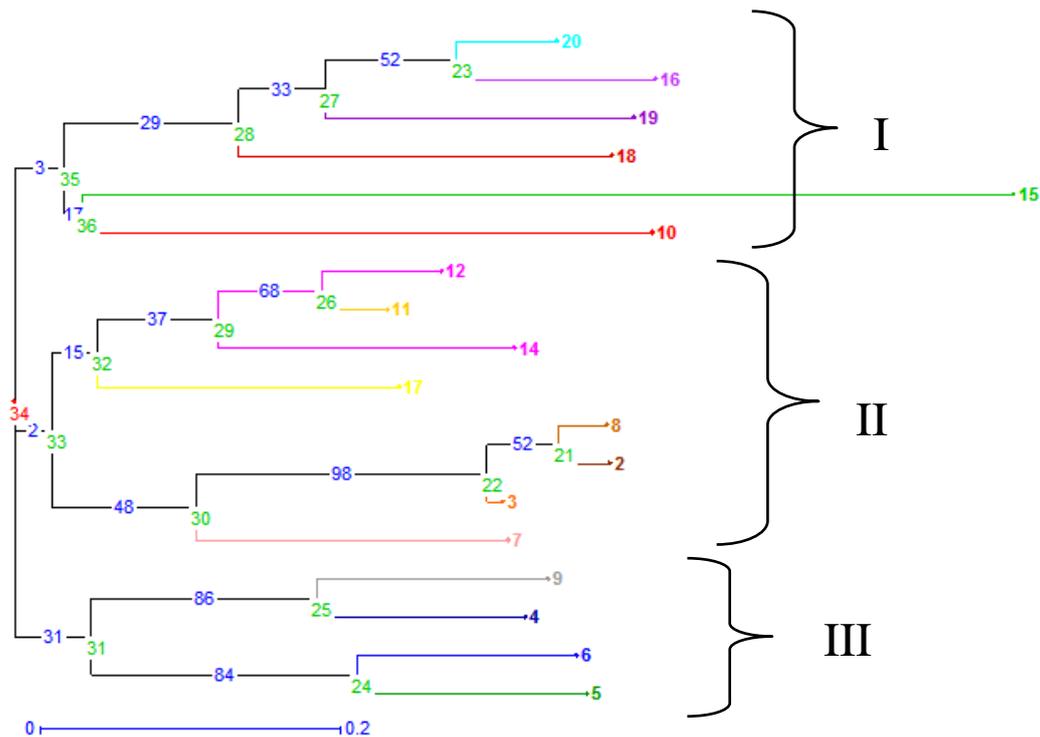
Untuk amplifikasi, 2 µl ekstrak DNA ditambahkan ke 12.5 µl *reaction mix*, 9.5 µl *nuclease free water* dan 1 µl primer acak. AB Biosystem thermocycler diprogram sebagai berikut: sesudah 2 menit pemanasan pada 94 °C, amplifikasi DNA dilakukan pada 45 siklus dari 1 menit denaturasi pada 94 °C, 1 menit pada 36-37 °C, dan 2 menit *extensión* pada 72 °C. Empat puluh lima siklus diakhiri sesudah 4 menit *extensión* pada 72 °C dan didinginkan hingga 4 °C. Fragmen DNA dari hasil amplifikasi dipisahkan dengan

menggunakan elektroforesis 1.4 % agarose yang diberi pewarnaan ethidium bromida, selama 80 menit dengan voltase 50 V. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV-transiluminator dan didokumentasi dengan *UV-transilluminator* (UV Tec Cambridge 20 UV), elektroforesis (Power PAC 3000, Biorad).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentasi pita polimorfik dari dua primer adalah 100 %, pada aksesi yang berasal dari Sumatera Utara berturut turut primer OPD-20 dan OPH-06 menghasilkan 7 dan 9 pita DNA sedangkan pada aksesi asal Sulawesi Tenggara menghasilkan 16 dan 12 pita DNA.

Hasil analisis pada Gambar 1. menunjukkan kekerabatan genetik berdasarkan *dissimilarity* menunjukkan terdapat 3 kelompok utama dari materi yang digunakan. Kelompok 1 terdiri dari semua aksesi aren asal Sumatera Utara, kelompok 3 terdiri dari semua aksesi aren asal Sulawesi Tenggara, sedangkan kelompok 2 terdiri dari campuran aksesi aren asal kedua wilayah tersebut (Gambar 1.)



Gambar 1. Profil pohon filogenetik *neighbor-joining* dari 20 genotip aren Sulawesi Tenggara dan Sumatera Utara berdasarkan *matrix dissimilarity simple Matching* dengan 2 primer. Keterangan : aksesori 1-10 aren asal Sulawesi Tenggara dan aksesori 11-20 aren asal Sumatera Utara

SIMPULAN

Dua primer polimorfik OPD-20 dan OPH-06 menghasilkan polimorfisme yang cukup tinggi dan terdapat 3 kelompok utama. Aksesori Sumatera Utara berbeda dari aksesori Sulawesi Tenggara. Keragaman molekuler yang dapat dijelaskan dari 2 primer yang digunakan sebesar 40.25 %.

DAFTAR PUSTAKA

Baharuddin, Musrizal, M., dan Bandaso, H., 2007. Pemanfaatan Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr) sebagai Bahan Pembuatan Gula Putih Kristal. *Jurnal Perennial*, 3(2) : 40-43.

Fahmi, Z. I., 2011. Studi Teknik Pematahan Dormansi dan Media Perkecambahan Terhadap Viabilitas Benih Aren (*Arenga pinnata* Merr.). *Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan*, Surabaya.

Maliangkay, R, B., 2007. Teknik budidaya dan rehabilitasi tanaman aren. *Buletin Palma* No.33, 67-77

Mohammadi, S.A. dan Prasanna B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants - salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43: 1235-1248.

Orozco-Castillo, K., J. Chalmers, R. Waugh and W. Powell. 1994. Detection or genetic diversity and selective gene introgression

- in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87: 934-940.
- Sambrook, J., E. F. Fritzh and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Laboratory. C. S. H., New York.
- Tambunan, S., E., Suherman, dan Tocin, 2009. Informasi Singkat Benih. No : 89, Juni. *Arenga pinnata* (Wurmb) Merr. bpthbalinusra.net. <http://bpthbalinusra.net/isbseedleaflet/201-arenga-pinnata-wurmbmerr.html>
- Toruan-Matius, N., T. Hutabarat dan Titis-Sundari. 1996. Pengaruh pengemasan dan penyimpanan terhadap DNA tanaman perkebunan untuk analisis RAPD. *Men. Perkeb.* 64 (1) : 3-12.