

Keragaman Genetik berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA pada *Amorphophallus muelleri* Blume di Jawa

Genetic variability of *Amorphophallus muelleri* Blume in Java based on Random Amplified Polymorphic DNA

YUYU SURYASARI POERBA[✉], DIYAH MARTANTI

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center - Bogor 16911.

Received: 16 Agustus 2008. Accepted: 25 September 2008.

ABSTRACT

Amorphophallus muelleri Blume (Araceae) is valued for its glucoman content for use in food industry (healthy diet food), paper industry, pharmacy and cosmetics. The species is triploid ($2n=3x=39$) and the seed is developed apomictically. The present research is aimed to identify genetic variability of six population of *A. muelleri* from Java (consisted of 50 accessions) using *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). The six populations of the species are: East Java: (1) Silo-Jember, (2) Saradan-Madiun, (3) IPB (cultivated, from Saradan-Madiun), (4) Panti-Jember, (5) Probolinggo; and Central Java: (6) Cilacap. The results showed that five RAPD primers generated 42 scorable bands of which 29 (69.05%) were polymorphic. Size of the bands varied from 300bp to 1.5kbp. The 50 accessions of *A. muelleri* were divided into two main clusters, some of them were grouped based on their populations, and some others were not. The range of individual genetic dissimilarity was from 0.02 to 0.36. The results showed that among six populations investigated, Saradan population showed the highest levels of genetic variation with mean values of $na = 1.500 \pm 0.5061$, $ne = 1.3174 \pm 0.3841$, PLP = 50% and $H_e = 0, 0.1832 \pm 0.2054$, whereas Silo-Jember population showed the lowest levels of genetic variation with mean values $na = 1.2619 \pm 0.4450$, $ne = 1.1890 \pm 0.3507$, PLP = 26.19% and $H_e = 0.1048 \pm 0.1887$. Efforts to conserve, domesticate, cultivate and improve genetically should be based on the genetic properties of each population and individual within population, especially Saradan population which has the highest levels of genetic variation, need more attention for its conservation.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Amorphophallus muelleri*, RAPD, genetic variability.

PENDAHULUAN

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) adalah satu dari 27 jenis *Amorphophallus* di Indonesia dan dari 170 jenis yang dikenal di dunia. Jenis ini merupakan tanaman sumber karbohidrat alternatif yang mengandung glukoman tertinggi di antara jenis *Amorphophallus* lainnya di Indonesia (Jansen *et al.*, 1996; Sumarwoto, 2004). Sebagian besar iles-iles Indonesia diekspor ke Jepang, yang membutuhkan iles-iles sedikitnya 3000 ton/tahun. Kebutuhan tersebut belum terpenuhi sehingga prospek pengembangan dan peluang ekspor iles-iles ini masih cukup tinggi (Suara Merdeka 22/11/2001).

Amorphophallus muelleri merupakan tanaman tahunan dan beregenerasi melalui organ vegetatif yaitu umbi atau potongan umbi, bulbil, stek daun dan secara generatif yaitu dengan biji. Jenis ini merupakan tanaman triploid dengan kromosom dasar $x = 13$ (Jansen *et al.*, 1996; Ishida, 2002). Walaupun tanaman ini dapat bereproduksi melalui biji, namun biji yang terbentuk adalah apomik (Jansen *et al.*, 1996). Dengan demikian keturunan dari tanaman ini secara genetik akan identik dengan induk betinanya.

Penanda molekuler banyak digunakan dalam analisis

keragaman genetik tumbuhan, salah satunya adalah *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi genotipe tumbuhan, karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaan dan analisisnya. Dibandingkan dengan penanda DNA yang lain, seperti *restriction fragment length polymorphisms* (RFLP) dan *simple sequence repeats* (SSR), teknik RAPD lebih murah, mudah dilakukan, cepat memberikan hasil, menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak, tidak memerlukan pengetahuan tentang latar belakang genom yang dianalisis dan mudah memperoleh primer acak yang diperlukan untuk menganalisis genom semua jenis organisme (Tingey *et al.*, 1994). Walaupun metode ini kurang sempurna dan memiliki kelemahan dalam konsistensi produk amplifikasi (Jones *et al.*, 1997), tetapi kelemahan ini dapat diatasi dengan mengoptimalkan ekstraksi, dan kondisi PCR serta pemilihan primer yang tepat. Marka RAPD sudah banyak digunakan pada jenis-jenis tumbuhan tropis, khususnya dari suku Araceae (Irwin *et al.*, 1998; Jiménez *et al.*, 2002; Prana dan Hartati, 2003; Nowbuth *et al.*, 2005; Poerba dan Yuzammi, 2008).

Hingga saat ini, pengetahuan tentang genetika populasi tanaman ini *A. muelleri* belum terungkap. Diharapkan dengan diketahuinya informasi genetik ini akan membantu dalam pelestarian maupun dalam upaya pemuliaannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari karakter genetik populasi *A. muelleri* yang ada di Jawa dengan menggunakan marka RAPD.

✉ Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong Bogor 16911
Tel.: +62-21-8765066/7, Fax.: +62-21-8765063
e-mail: yyspoerba@yahoo.com

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian yang digunakan adalah sampel *A. muelleri* yang dikoleksi dari Jawa Tengah dan Jawa Timur serta koleksi Institut Pertanian Bogor (IPB). Bahan penelitian tersebut terdiri atas enam populasi, yaitu Jawa Timur: (1) Silo, Jember, (2) Saradan, Madiun, (3) IPB (budidaya, dikoleksi dari Saradan), (4) Panti, Jember, (5) Probolinggo; dan Jawa Tengah: (6) Cilacap, dengan masing-masing populasi terdiri atas 7-10 individu (Tabel 1). Bahan penelitian dikoleksi dari habitat alami, kecuali koleksi IPB dari lahan budidaya. Metode pengambilan sampel dilakukan sesuai dengan panduan pengambilan sampel DNA di lapangan (Widjaja dan Poerba, 2004).

Tabel 1. Koleksi sampel *Amorphophallus muelleri* Blume dari enam populasi di Jawa.

No. populasi/No. sampel	Populasi	No. aksesi
1/1	Silo	DM004
1/2	Silo	DM005
1/3	Silo	DM006
1/4	Silo	DM008
1/5	Silo	DM009
1/6	Silo	DM010
1/7	Silo	DM011
1/8	Silo	DM012
1/9	Silo	DM013
Jumlah sampel		9
2/10	Saradan	YSP101
2/11	Saradan	YSP127
2/12	Saradan	YSP129
2/13	Saradan	YSP130
2/14	Saradan	YSP144
2/15	Saradan	YSP146
2/16	Saradan	YSP147
2/17	Saradan	YSP158
2/18	Saradan	YSP159
2/19	Saradan	YSP160
Jumlah sampel		10
3/20	IPB	YSPR-1
3/21	IPB	YSPB-1
3/22	IPB	YSPB-4
3/23	IPB	YSPB-6
3/24	IPB	YSPB-7
3/25	IPB	YSPB-9
3/26	IPB	YSPB-13
3/27	IPB	YSPB-15
3/28	IPB	YSPB-19
Jumlah sampel		9
4/29	Panti	DM014
4/30	Panti	DM015
4/31	Panti	DM016
4/32	Panti	DM017
4/33	Panti	DM018
4/34	Panti	DM019
4/35	Panti	DM021
Jumlah sampel		7
5/36	Probolinggo	DM068
5/37	Probolinggo	DM069
5/38	Probolinggo	DM070
5/39	Probolinggo	DM073
5/40	Probolinggo	DM074
5/41	Probolinggo	DM079
5/42	Probolinggo	DM080
5/43	Probolinggo	DM083
Jumlah sampel		8
6/44	Cilacap	DM088
6/45	Cilacap	DM089
6/46	Cilacap	DM090
6/47	Cilacap	DM091
6/48	Cilacap	DM092
6/49	Cilacap	DM093
6/50	Cilacap	DM094
Jumlah sampel		7
Jumlah sampel total		50

Ekstraksi dan isolasi DNA

Ekstraksi dan isolasi DNA genom *A. muelleri* dilakukan berdasarkan metode CTAB (Delaporta *et al.*, 1983) yang dimodifikasi. Kuantitas setiap DNA hasil isolasi diukur dengan Fluorometer (Shimadzu UV1201), sedangkan kualitasnya dilihat pada gel elektroforesis 0.8%. Hasil ekstraksi DNA yang menghasilkan kuantitas dan kualitas DNA yang cukup baik, dilanjutkan dengan *polymerase chain reaction* (PCR).

Optimasi PCR dan Amplifikasi DNA

DNA genom *A. muelleri* diamplifikasi menggunakan primer acak yang terdiri dari 10 basa (dekamer) (Operon Tech). Optimasi PCR dilakukan untuk mendapatkan kondisi PCR yang optimal. Beberapa variabel seperti konsentrasi primer, konsentrasi cetakan DNA, dan suhu penempelan primer yang digunakan untuk PCR dipelajari dan dicoba untuk mendapatkan produk PCR yang optimal. Untuk memilih primer yang akan digunakan dalam analisis RAPD, setiap populasi *A. muelleri* diwakili oleh satu individu yang diambil secara acak dan diamplifikasi menggunakan 12 primer dari Operon Tech. (OPA 11, OPA 19, OPB 17, OPC 04, OPC-07, OPD-04, OPU 03, OPU 06, OPU 07, OPU 14, OPN 19 dan OPN-18E). Primer yang memberikan pita amplifikasi yang tegas dan jelas serta menghasilkan pita DNA polimorfik dipilih untuk mengamplifikasi DNA seluruh contoh *A. muelleri*. Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode Williams *et al.* (1990) yang dimodifikasi. Selanjutnya PCR dilakukan pada total volume 15 µl. Primer yang digunakan pada penelitian selanjutnya adalah lima primer dari Operon Technology (Tabel 2). Masing-masing tabung PCR berisi 0.2 nM dNTPs; 1.5 µl bufer reaksi; 2mM MgCl₂; 10 ng DNA ; 5 pmol primer tunggal; dan 1 unit *Taq* DNA polymerase (Promega).

Reaksi PCR dengan menggunakan *thermocycler* (Takara) selama 45 siklus. PraPCR pada suhu 94°C selama 5 menit, kemudian diikuti oleh 45 siklus yang terdiri atas denaturasi 1 menit pada suhu 94°C, penempelan primer 1 menit pada suhu 36°C, dan 2 menit pemanjangan pada suhu 72°C. Setelah 45 siklus selesai, kemudian diikuti pascaPCR 4 menit pada suhu 72°C dan pendinginan pada suhu 4°C selama 30 menit. Hasil amplifikasi difraksinasi secara elektroforesis dengan menggunakan Mupid Mini Cell pada gel agarosa 2.0% dalam bufer TEA (Tris-EDTA) selama 60 menit pada 50 V. Kemudian direndam dalam larutan etidium bromida dengan konsentrasi akhir 1µg ml⁻¹ selama 10 menit. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi dan difoto menggunakan *gel documentation system*. Sebagai standar digunakan 100 bp DNA ladder (Promega) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

Analisis data

Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang digunakan untuk skoring: ada (1) dan kosong (0). Matriks binari fenotipe RAPD ini kemudian disusun untuk digunakan pada analisis kluster individu dengan menggunakan UPGMA (*unweighted pair group with arithmetic average*) program NTSYS-pc (*numerical taxonomy system*) versi 2.0 (Rohlf, 1997). Nilai kesamaan genetika diambil dari *Simple Matching Coefficient* (Dunn dan Everitt, 1982), sedangkan nilai ketidaksamaan genetik merupakan pengurangan nilai dalam matrik kemiripan oleh nilai 1 (Dunn dan Everitt, 1982). Matrik jarak genetik antar populasi dihitung dengan menggunakan *Nei's unbiased genetic distances* (Nei, 1978) dengan program POPGENE (Yeh *et al.*, 1997). Dendrogram populasi yang dihasilkan dari analisis dilihat menggunakan program TREEVIEW software (Page, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil RAPD

Hasil amplifikasi total genom DNA dengan menggunakan lima primer RAPD pada 50 sampel *A. muelleri* menghasilkan produk PCR yang dapat dibaca dan diskor, sehingga hasilnya dapat dianalisis. Hasil PCR dengan salah satu primer (OPB-17) dapat dilihat pada Gambar 1. Sekuens dari kelima primer ini dan jumlah marka RAPD yang dihasilkan tertera pada Tabel 2. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa diperoleh 42 fragmen DNA yang berukuran dari 300bp hingga 1.5 kb, dengan 29 fragmen DNA (69.05%) polimorfik dan hanya 13 fragmen DNA (30.95%) yang monomorfik. Hal ini menunjukkan marka RAPD yang digunakan memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi (>50% pita polimorfik). Kelima primer menghasilkan 6-11 pita DNA yang dapat dideteksi dan diskor. Jumlah maksimum pita polimorfik 9 terdapat pada primer OPD-04 (Tabel 2).

Tabel 2. Primer yang digunakan dan jumlah pita DNA hasil amplifikasi dan tingkat polimorfisme pada 50 aksesi *Amorphophallus muelleri* Blume

Primer	Urutan basa 5'-3'	Pita polimorfik	Pita monomorfik	Jumlah
OPB-17	AGGGAACGAG	7	1	8
OPC-07	CACACTCCAG	5	3	8
OPD-04	TCTGGTGAGG	9	2	11
OPU-03	CTATGCCGAC	3	6	9
OPN-18E	AAGGTGAGGTCA	5	1	6
	Jumlah	29	13	42
		(69.05%)	(30.95%)	(100%)

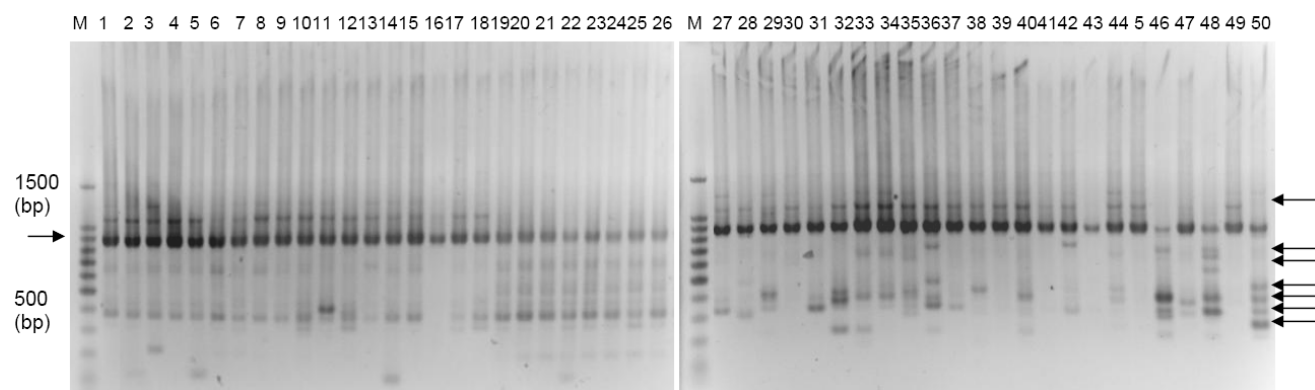
Jumlah dan intensitas pita DNA yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat tergantung bagaimana primer mengenal urutan DNA komplementernya pada cetakan DNA (*DNA template*) yang digunakan (Tingey *et al.*, 1994). Hasil amplifikasi DNA *A. muelleri* menggunakan lima primer acak diatas tidak selalu memperoleh pita dengan intensitas yang sama. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi cetakan DNA. Cetakan DNA yang mengandung senyawa-senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik, serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas (Weeden *et al.*,

1992). Sebaran situs penempelan primer pada cetakan DNA dan adanya kompetisi tempat penempelan primer pada cetakan DNA menyebabkan satu fragmen diamplifikasi dalam jumlah banyak dan fragmen lainnya sedikit. Proses amplifikasi mungkin saja diinisiasi pada beberapa tempat, namun hanya beberapa set yang dapat dideteksi sebagai pita sesudah diamplifikasi (Weeden *et al.*, 1992). Pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri, akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran banyaknya pasang basa maupun jumlah pita DNA.

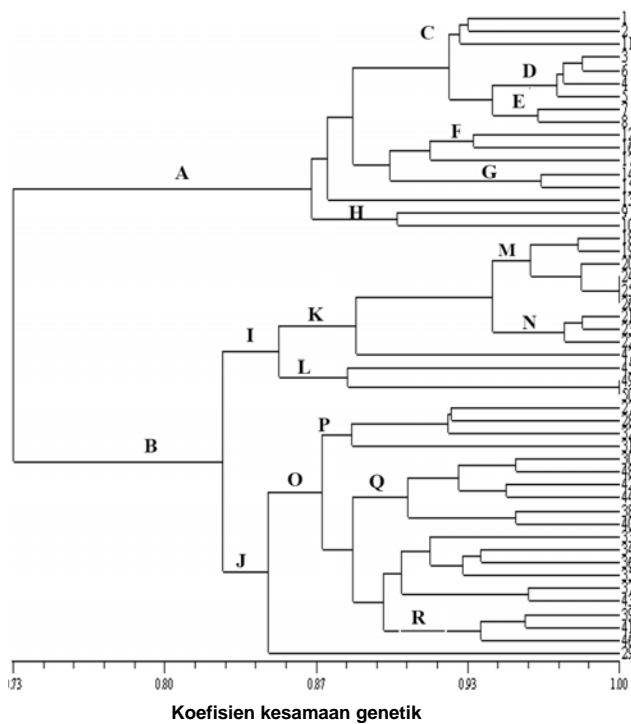
Analisis kluster antar individu dan antar populasi

Analisis kluster kesamaan genetik pada 50 aksesi *A. muelleri* menunjukkan pemisahan aksesi ke dalam dua kluster utama, yaitu (A) koefisien kesamaan 0.86 dan (B) koefisien kesamaan 0.83. Kluster A terdiri atas dua subkluster yaitu subkluster yang terdiri atas H (aksesi no 9 dan 10 masing-masing dari populasi Silo dan Saradan) dan subkluster lain yang terdiri atas beberapa kelompok kecil yang sebagian besar mengelompok mayoritas berdasarkan populasinya (D, E, F dan G), dan mengelompok secara acak (C). Kluster B terdiri atas dua subkluster, yaitu I dan J. Subkluster I terbagi lagi menjadi dua kelompok kecil yang terdiri L (populasi Cilacap) dan K yang mengelompok lagi berdasarkan populasinya (N, populasi IPB) dan mengelompok secara acak (M). Subkluster J terbagi atas aksesi nomor 29 (Panti) dan O yang mengelompok berdasarkan populasinya (R, populasi Probolinggo) dan mengelompok secara acak (P dan Q).

Amorphophallus muelleri merupakan jenis triploid, apomiksis, dan diperbanyak secara vegetatif. Nampaknya, apomiksis memegang peranan penting pada jenis tanaman ini. Analisis kluster kesamaan genetik pada 50 aksesi *A. muelleri* menunjukkan pemisahan aksesi ke dalam dua kluster utama yang sebagian mengelompok berdasarkan populasinya dan sebagian lainnya mengelompok secara acak (Gambar 2). Fenomena yang menarik dari hasil analisis kluster ini adalah mengelompoknya individu dari populasi yang berlainan ke dalam satu kluster. Hal ini mengindikasikan adanya keragaman genetik pada *A. muelleri* yang mungkin disebabkan adanya rekombinasi genetik. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa biji *A. muelleri* yang bersifat apomiktik bukan merupakan obligat apomiktik.



Gambar 1. Hasil PCR 50 sampel *Amorphophallus muelleri* Blume dengan primer OPB-17. Keterangan: M = DNA marker (100 bp ladder Promega); Aksesi:1-9 = Silo, 10-19 = Saradan, 20-28 = IPB, 29-35 = Panti, 36-43 = Probolinggo, 44-50 = Cilacap. —▶ = pita monomorfik, ◀ = pita polimorfik.



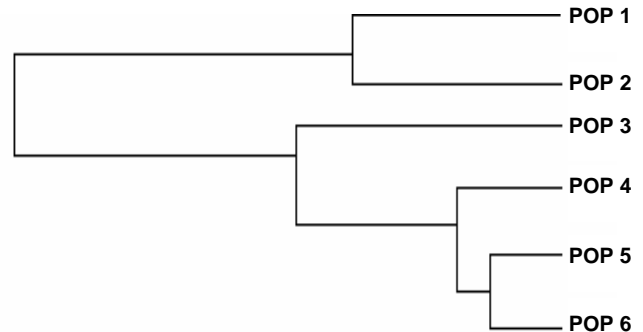
Gambar 2. Dendrogram 50 aksesasi *Amorphophallus muelleri* Blume. Keterangan: Aksesasi: 1-9 = Silo, 10-19 = Saradan, 20-28 = IPB, 29-35 = Panti, 36-43 = Probolinggo, 44-50 = Cilacap.

Nilai ketidaksamaan genetik (Dunn and Everitt, 1982) untuk ke-50 aksesasi berkisar dari 0.02 hingga 0.36 dengan yang tertinggi (0.36) terdapat antara aksesasi 16 (Saradan) dan 21 (IPB) dan paling rendah 0.02 antara aksesasi 20 dan 26 (keduanya termasuk dalam populasi IPB). Hal ini menunjukkan adanya keragaman genetik antar individu dan antar populasi. Pendugaan pertama adalah lokus polimorfik yang digunakan dalam analisis ini sudah dipilih yang memiliki polimorfisme yang tinggi.

Keragaman genetik antar aksesasi pada tiap populasi bervariasi (Tabel 3). Populasi Saradan memiliki nilai n_a , n_e , dan H_e tertinggi dibandingkan dengan populasi lainnya yaitu $n_a = 1.500 \pm 0.5061$, $n_e = 1.3174 \pm 0.3841$, PLP = 50% dan $H_e = 0, 0.1832 \pm 0.2054$. Populasi Silo menunjukkan nilai keragaman genetik yang paling rendah dengan nilai rata-rata $n_a = 1.2619 \pm 0.4450$, $n_e = 1.1890 \pm 0.3507$, PLP = 26.19% dan $H_e = 0.1048 \pm 0.1887$.

Hubungan kekerabatan genetik antar populasi dianalisis dengan jarak genetik *Nei* (1978) dengan metode UPGMA (Gambar 4). Secara umum, populasi *A. muelleri* membentuk dua kelompok utama. Kelompok pertama, terdiri atas populasi 1 (Silo) dan 2 (Saradan) mengelompok

menjadi satu yang menunjukkan kesamaan properti genetik. Kelompok lainnya, dua populasi yaitu populasi 5 (Probolinggo) dan 6 (Cilacap) mengelompok menjadi satu, sedangkan populasi 4 (Panti) dan populasi 3 (IPB) berdiri sendiri-sendiri.



Gambar 3. Dendrogram enam populasi *Amorphophallus muelleri* Blume berdasarkan jarak genetik *Nei* (1978). Populasi: (1) = Silo, 2 = Saradan 3 = IPB, 4 = Panti-Jember, 5 = Probolinggo dan 6 = Cilacap.

Nilai pasangan jarak genetik (*Nei*, 1978) di antara populasi yang diuji tertera pada Tabel 4. Jarak genetik tertinggi terdapat antara populasi Silo dengan populasi IPB (0.3593), dan yang terkecil terdapat antara populasi Probolinggo dan Cilacap (0.0255).

Tabel 4. Nilai jarak genetik (*Nei*, 1978) pada enam populasi *Amorphophallus muelleri* Blume

Populasi	1	2	3	4	5	6
1	****					
2	0.0862	****				
3	0.3593	0.1736	****			
4	0.2849	0.1408	0.1086	****		
5	0.2958	0.1225	0.1184	0.0283	****	
6	0.2777	0.1084	0.0849	0.0491	0.0255	****

Keterangan: Populasi 1=Silo, 2 = Saradan 3 = IPB, 4 = Panti, 5 = Probolinggo dan 6 = Cilacap.

Populasi Saradan memiliki nilai keragaman genetik tertinggi 0.1832 ± 0.2054 (Tabel 3) dibandingkan populasi lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa daerah Saradan merupakan salah satu pusat keragaman *A. muelleri* di Jawa. Analisis lebih mendalam diperlukan dengan menggunakan aksesasi dari populasi lain dan primer yang lebih banyak untuk membuktikan hasil ini. Walaupun tanaman ini merupakan triploid apomiksis, nampak adanya fakultatif apomiksis dalam jenis ini yang memelihara keragaman genetik melalui reproduksi seksual, yang memungkinkan genotipe baru berkembang dalam kondisi lingkungan yang baru. Keragaman genetik pada *A. muelleri* lebih rendah dibandingkan dengan *A. titanum* (tumbuhan yang menyerbuk silang) yang berkisar antara 0,14-0,59 (Poerba dan Yuzammi, 2008). Populasi Panti merupakan populasi yang memiliki keragaman genetik yang paling rendah. Hal ini mengindikasikan bahwa populasi mungkin berasal dari induk yang terbatas atau sama.

Tabel 3. Keragaman genetik enam populasi *Amorphophallus muelleri* Blume

Populasi	Ukuran sampel	n_a	N_e	Persentase lokus polimorfik	H_e^*
Silo	9	1.2619±0.4450	1.1890±0.3507	26.19 %	0.1048±0.1887
Saradan	10	1.500±0.5061	1.3174±0.3841	50.0%	0.1832±0.2054
IPB	9	1.3095±0.4679	1.2048±0.3663	30.95%	0.1130±0.1927
Panti	7	1.3095±0.4679	1.1708±0.3076	30.95%	0.1019±0.1727
Probolinggo	8	1.4524±0.5038	0.1270±0.3090	45.24%	0.1270±0.1728
Cilacap	7	1.4286±0.5009	1.2336±0.3387	42.86%	0.1404±0.1858

Keterangan: * n_a = jumlah alel yang diamati, * n_e = Jumlah alel yang efektif (Kimura dan Crow, 1964), * H_e = Heterozigotas harapan = keragaman gen (*Nei*, 1978)

Nilai jarak genetik di antara populasi berkisar dari 0.0255-0.3593. Jarak genetik tertinggi terdapat antara populasi Silo dengan populasi IPB (0.3593). Hal ini menunjukkan bahwa kecil kemungkinan populasi IPB berasal dari Silo. Jarak genetik terdekat terdapat antara populasi Probolinggo dan Cilacap (0.0255) yang menunjukkan bahwa populasi Probolinggo dan Cilacap berkerabat dekat, kemungkinan kedua populasi berasal dari sumber yang sama. Upaya konservasi dan pembudidayaan dan pemuliaan *A. muelleri* hendaknya didasarkan atas kondisi properti genetika setiap populasi dan individu dalam setiap populasi, khususnya populasi Saradan yang memiliki keragaman genetik tertinggi perlu mendapat perhatian dalam pelestariannya.

KESIMPULAN

Hasil pengamatan genetik *A. muelleri* dengan menggunakan lima primer RAPD menunjukkan bahwa 50 aksesori yang digunakan dalam penelitian memiliki 42 fragmen DNA yang berukuran dari 300bp hingga 1.5kb. Dari 42 fragmen DNA, 29 fragmen (69.05%) diantaranya polimorfik, dengan indeks marka tertinggi terdapat pada primer OPD-04. Ke-50 aksesori memiliki ketidaksamaan genetik antara 0.02-0.36. Analisis kluster kesamaan genetik pada 50 aksesori *A. muelleri* menunjukkan pemisahan aksesori ke dalam dua kluster utama, sebagian mengelompok berdasarkan populasinya dan sebagian lainnya mengelompok secara acak. Populasi Saradan memiliki nilai keragaman genetik tertinggi 0.1832±0.2054 dibandingkan populasi lainnya, sedangkan populasi Panti merupakan populasi yang memiliki keragaman genetik yang paling rendah 0.1019±0.1727. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya keragaman genetik pada *A. muelleri*, walaupun lebih rendah apabila dibandingkan dengan *A. titanum*. Untuk mendapatkan gambaran lebih lengkap mengenai keragaman genetik *A. muelleri* sebaiknya penelitian dilanjutkan dengan menggunakan primer yang lebih banyak dan/atau dengan menggunakan primer yang lain dengan jumlah populasi serta jumlah individu dalam populasi lebih banyak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek Kompetitif Domestikasi Flora dan Fauna Indonesia, LIPI Tahun 2006 dan 2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Delaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep. Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 4: 19-21.
- Dunn, G. dan B.S. Everitt. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Irwin, S.V., P. Kaufusi, L. Banks, R. de la Pena, and J.J. Cho. 1998. Molecular characterization of taro (*Colocasia esculenta*) using RAPD markers. *Euphytica* 99 (3): 183-189.
- Ishida G. 2002. Karyomorphological observations on some Aroids cultivated in the Hiroshima Botanical Garden II. *Amorphophallus*. *Bulletin of the Hiroshima Botanical Garden* 21:7-30.
- Jansen, P.C.M., C. van der Wilk, and W.L.A. Hettterscheid. 1996. *Amorphophallus Blume ex Decaisne*. In: Flach M dan F. Rumawas (eds.). *Plant Resource of South East Asia, No 9, Plant Yielding non-Seed Carbohydrates*. Bogor: Prosea.
- Jiménez, J.F., P. Sánchez-Gómez, J. Güemes, O. Werner, and J.A. Rosselló. 2002. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subbaeticum*, Scrophulariaceae) using RAPD markers. *Heredity* 89 (5): 387-393.
- Jones, C.J., K.J. Edwards, S. Castagiolo, M.O. Winfield, F. Sala, C. van del Wiel, G. Bredemeijer, B. Vosman, M. Matthes, A. Daly, R. Brettshneider, P. Bettini, M. Buiatti, E. Maestri, A. Malcevski, N. Marmiroli, R. Aert, G. Volckaert, J. Rueda, R. Linacero, A. Vasquez and A. Karp. 1997. A reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding* 3 (5): 382-390.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small numbers of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nowbuth, P., G. Khittoo, T. Bahorun, and S. Venkatasamy. 2005. Assessing genetic diversity of some *Anthurium andraeanum* Hort. cut-flower cultivars using RAPD markers. *African Journal of Biotechnology* 4 (10): 1189-1194.
- Page, RDM. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.
- Poerba, Y.S. dan Yuzammi. 2008. Pendugaan keragaman genetik *Amorphophallus titanum* Becc. berdasarkan marka Random Amplified DNA. *Biodiversitas* 9 (2): 103-107.
- Prana, T.K. dan N.S. Hartati. 2003. Identifikasi sidik jari DNA talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan teknik (RAPD): Skrinng primer dan optimalisasi kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia* 5 (2): 107-112.
- Rohlf, F.J. 1997. NTSYS-pc. *Numerical taxonomy and multivariate analysis*. Version 2.0. New York: Exeter Software.
- Suara Merdeka 22/11/2001. *Tanaman Iles-iles Bernilai Ekspor Tinggi*.
- Sumarwoto. 2004. *Beberapa Aspek Agronomi Iles-iles (Amorphophallus muelleri Blume)*. [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Tingey, S.V., J.A. Rafalski, and M.K. Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: Coruzzi, C. and P. Puidormenech (eds.). *Plant Molecular Biology*. Belin: Springer-Verlag.
- Weeden, N.F., G.M. Timmerman, M. Hemmat, B.E. Kneen, and M.A. Lodhi. 1992. Inheritance and reliability of RAPD markers. In: *Applications of RAPD Technology to Plant Breeding*. Joint Plant Breeding Symposia Series, November 1, 1992, Minneapolis, MN. Crop Science Society of America, Madison, WI.
- Widjaja, E.A. dan Y.S. Poerba. 2004. Pengumpulan data plasma nutfah dan genetika. Dalam: Rugayah, EA Widjaya dan Praptiwi (ed.). *Pedomam Pengumpulan Data Keanekaragaman Flora*. Bogor: Pusat Penelitian Biologi, LIPI.
- Williams, J.G., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalsky, and S.V. Tingev. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18 (22): 6531-6535.
- Yeh, F.C., Y. Rongcai and T. Boyle. 1997. *POPGENE version 1.2: Microsoft Window-based Software for Population Genetic Analysis. A Quick User's Guide*. Alberta: University of Alberta and CIFOR.