

Pendugaan Keragaman Genetik *Amorphophallus titanum* Becc. Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA

Estimation of genetic variation of *Amorphophallus titanum* Becc. based on Random Amplified Polymorphic DNA

YUYU SURYASARI POERBA^{1,✉}, YUZAMMI²

¹ Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center - Bogor 16911.

² Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16122.

Diterima: 19 Januari 2008. Disetujui: 13 Februari 2008.

ABSTRACT

Amorphophallus titanum Becc. (Araceae), is known by titan arum (western) or bunga bangkai (Indonesian), is the bulkiest inflorescence in the world. The species is valued for its unique character of their inflorescence. The species has been overexploited and is considered as vulnerable plant species. The present study is carried out to assess genetic diversity and to estimate genetic relationship among 22 accessions collected from two different populations in Sumatra using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Nine RAPD primers generated 143 scorable bands which 137 (95.84%) of them were polymorphic. Clustering analysis was performed based on RAPD profiles using the UPGMA method. The range of genetic dissimilarity value among accessions was from 0.14 to 0.59, while the range of genetic dissimilarity among populations was from 0.67 and 0.77. These values showed that *A. titanum* from Sumatra were more genetically diverse among genotypes than that of among populations.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Amorphophallus titanum* Becc. random amplified polymorphic DNA.

PENDAHULUAN

Amorphophallus titanum Becc (Araceae), yang dikenal dengan nama bunga bangkai (atau bunga bangkai raksasa) merupakan tanaman dengan perbungaan terbesar di dunia dan termasuk tumbuhan langka Indonesia (IUCN, 2000; Moge *et al.*, 2001). Tanaman ini pertama kali dikenal dalam dunia ilmu pengetahuan setelah ditemukan oleh Dr. Odoardo Beccari pada tahun 1878 di Lembah Anai, Sumatera Barat. Secara alami *A. titanum* tersebar di seluruh hutan hujan Sumatera sebagai tumbuhan bawah kanopi (*undergrowth*) pada tanah berkapur, namun tumbuhan ini ditemukan pula di tempat terbuka, di hutan sekunder, pinggir jalan, pinggir sungai, atau di tepi hutan. *A. titanum* memiliki tiga siklus hidup yang jelas, yaitu: tahap vegetatif, dorman, dan generatif. Siklus vegetatif terutama untuk pertumbuhan umbi yang dapat mencapai bobot hingga 100 kg. Siklus ini dimulai pada awal musim hujan dengan dihasilkannya satu daun tunggal yang besar, dan berlangsung selama 6-12 bulan, dilanjutkan siklus dorman selama 1-4 tahun sebelum memasuki siklus pembungaan. Siklus pembungaan umumnya tidak teratur (Bown, 1988; Graham dan Hadiyah, 2004; Hettterscheid dan Ittenbach, 1996).

Kelestarian *A. titanum* terancam sehingga dilindungi dengan Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1999

(Lampiran PP. No. 7/1999). Kerusakan habitat merupakan ancaman utama kelangsungan jenis tumbuhan ini di alam, di samping hilangnya vektor alami penyebar biji (burung rangkong). Penangkapan dan pemburuan hewan yang memegang peranan dalam ekologi jenis ini merupakan ancaman yang serius terhadap keberadaan tumbuhan ini di alam (Graham dan Hadiyah, 2004). *A. titanum* memerlukan penyerbukan silang untuk membentuk biji, karena saat masak bunga betina dan jantan tidak sama, sedangkan bunga betina dan bunga jantan masak atau siap melakukan penyerbukan hanya dalam satu malam. Jarangnya tumbuhan ini berbunga dan semakin jarangny tumbuhan ini ditemukan di alam, menyebabkan kesempatan tumbuhan ini untuk melakukan penyerbukan semakin kecil. Kelestarian tanaman ini dengan demikian memerlukan bantuan manusia dalam bentuk pembibitan masal dan cepat, misalnya kultur jaringan dan diikuti reintroduksi di alam.

Di Sumatera, *A. titanum* memiliki morfologi yang relatif homogen. Hal ini menunjukkan struktur genomnya yang terbatas, sehingga dapat menguntungkan untuk konservasi *ex situ* dan pengembalian spesimen tanaman ke alam. Karena tanaman ini nampaknya tidak memerlukan adaptasi spesifik terhadap kawasan tertentu, maka program translokasi dan reintroduksi yang berkaitan dengan upaya konservasi *ex situ* tidak harus dibatasi pada lokasi spesimennya dikoleksi (Graham dan Hadiyah, 2004). Hingga saat belum ada penelitian genetik yang dapat mendukung upaya konservasi dan reintroduksinya.

Informasi keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan

✉ Alamat korespondensi:

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

untuk adaptasi ekologi dalam jangka waktu pendek dan evolusi dalam jangka panjang. Penanda molekuler banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik tanaman, salah satunya adalah *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). RAPD digunakan untuk mengidentifikasi genotipe tanaman karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaan dan analisis. RAPD memerlukan ekstraksi DNA, kondisi amplifikasi optimum, dan analisis data yang kesemuanya dapat dilakukan dalam waktu yang relatif cepat. Penanda RAPD diperoleh dengan amplifikasi segmen DNA random (acak) dari primer tunggal arbitrari. Primer yang digunakan biasanya berukuran 10 bp dan memiliki kandungan GC 50-80% dan tidak mengandung sekuen palindrom.

Kondisi reaksi PCR membatasi ukuran pita hingga 100-3000 bp. Oleh karena itu hanya fragmen komplemen DNA dalam kisaran ukuran inilah yang akan diamplifikasi oleh sekuen DNA primer. Secara umum keuntungan menggunakan penanda RAPD antara lain: (i) primer umum (universal) dapat digunakan untuk semua jenis; (ii) tidak memerlukan pustaka probe (*probe libraries*), radioaktif, transfer 'southern', atau informasi sekuen primer; (iii) hanya sekuen primer yang diperlukan untuk transfer informasi, dan (iv) prosesnya dapat dilakukan secara otomatis (Williams *et al.*, 1990). Walaupun metode ini tidak 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 digunakan karena selain relatif mudah dan murah, juga 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). Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari karakter genetik populasi *A. titanum* yang ada di dua lokasi habitat alami di Sumatera, yaitu: Sumatera Barat dan Bengkulu menggunakan marka RAPD.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 nomor aksesori *Amorphophallus titanum* Becc. hasil koleksi dari Kabupaten Padang, Sumatera Barat dan Kabupaten Bengkulu, Bengkulu masing-masing diwakili oleh 12 dan 13 sampel (Tabel 1.), Seluruh material DNA *A. titanum* ini berupa daun-daun dari kedua lokasi tersebut yang dikeringkan dengan silika gel (3:1), dengan merujuk pada Widjaya dan Poerba (2004).

Ekstraksi dan isolasi DNA

Ekstraksi DNA 25 aksesori *A. titanum* dilakukan dengan metode CTAB yang dimodifikasi (Delaporta *et al.*, 1983).

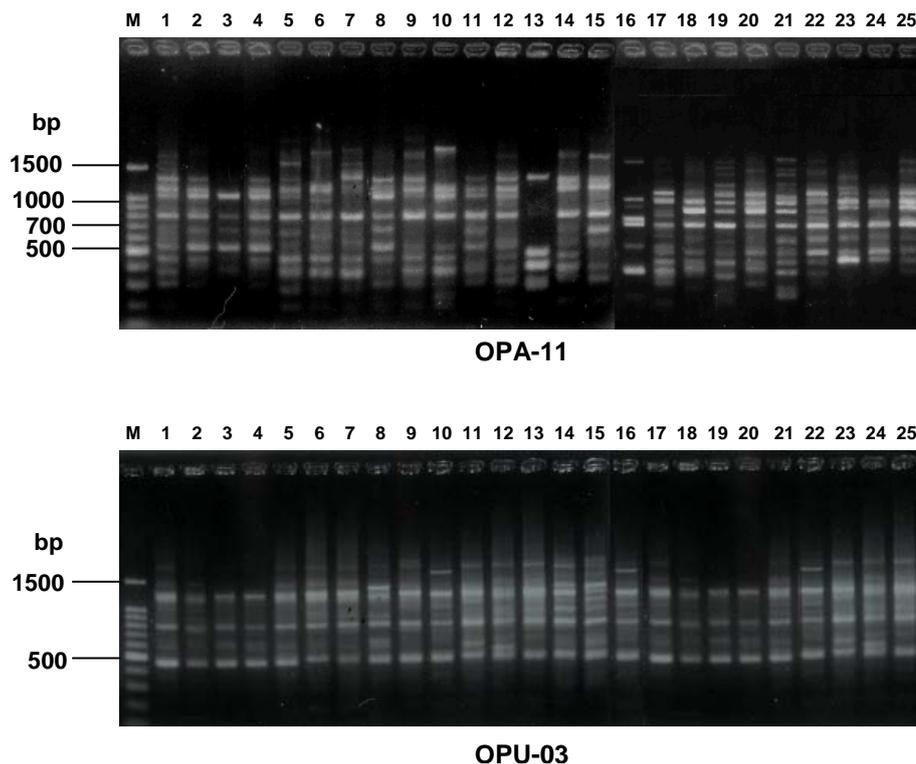
Optimasi dan amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode William *et al.* (1990) yang dimodifikasi. Amplifikasi DNA dengan *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan *arbitrary primer* yang disusun oleh 10 oligonucleotide (10-oligomer). Sebelumnya dilakukan optimasi PCR. Beberapa variabel seperti konsentrasi primer, konsentrasi DNA template, konsentrasi Taq DNA Polymerase, dan suhu *annealing* yang digunakan untuk PCR diteliti dan dicoba untuk mendapatkan produk PCR yang optimal. Sebanyak 8 jenis primer Kit A, C, N, dan U dari Operon Technology Ltd. (OPA 11, OPA 19, OPC 04, OPU 03, OPU 06, OPU 07, OPU 14 dan OPN 19), dengan urutan basa nitrogen yang berbeda dan mengandung G+C *f* 60% telah diaplikasikan pada reaksi PCR, sedangkan sebagai cetakan DNA (DNA template) adalah 25 aksesori *A. titanum* hasil koleksi dari dua lokasi di Sumatera. Berdasarkan hasil optimasi PCR di atas, PCR dilakukan pada total volume 15 µL pada setiap tabung PCR 200 µL. Masing-masing tabung PCR berisi 0,2 nM dNTPs; 1,5 µL bufer reaksi; 2 mM MgCl₂; 25 ng DNA sampel; 5 pmole primer tunggal; dan 1 unit Taq DNA polymerase (Promega).

Tabel 1. Aksesori *A. titanum* yang digunakan dalam analisis RAPD.

No.	No. koleksi	Populasi	Lokasi	Letak geografi
1	YSP 665	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
2	YSP 666	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
3	YSP 667	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
4	YSP 668	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
5	YSP 669	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
6	YSP 670	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
7	YSP 671	1	Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°19'00.02"E100°22'00.21"*
8	YSP 672	2	Sungai Batang Anai, Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°18'59.98"E100°22'00.54"*
9	YSP 673	2	Sungai Batang Anai, Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°18'59.98"E100°22'00.54"*
10	YSP 674	2	Sungai Batang Anai, Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°18'59.98"E100°22'00.54"*
11	YSP 675	2	Sungai Batang Anai, Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°18'59.98"E100°22'00.54"*
12	YSP 678	2	Sungai Batang Anai, Lembah Anai, Kabupaten Padang, Sumatera Barat	S0°18'59.98"E100°22'00.54"*
13	YSP 682	-	CA Batang Palupuh, Kabupaten Agam, Sumatera Barat	S0°12'41.89"E100°22'15.37"*
14	YSP 685	3	Desa Bukit Ganting, Kayu Tanam, Sumatera Barat	S0°14'00.53"E100°20'56.53"*
15	YSP 687	3	Desa Bukit Ganting, Kayu Tanam, Sumatera Barat	S0°14'00.53"E100°20'56.53"*
16	YZ011	-	Air Ketapang, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°39'57.7"E102°33'50.5"
17	YZ032	4	Rimbo Lengkadang, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'19.5"E102°33'33.27"
18	YZ043	4	Rimbo Lengkadang, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'19.5"E102°33'33.27"
19	YZ094	4	Rimbo Lengkadang, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'19.5"E102°33'33.27"
20	YZ115	4	Rimbo Lengkadang, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'19.5"E102°33'33.27"
21	YZ196	5	Bukit Kambing, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°41'14.49"E102°30'23.2"
22	YZ207	5	Bukit Kambing, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°41'14.49"E102°30'23.2"
23	YZ258	6	Air terjun Cuup, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'55.1"E102°30'38.4"
24	YZ279	6	Air terjun Cuup, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'55.1"E102°30'38.4"
25	YZ3110	6	Air terjun Cuup, Kabupaten Bengkulu, Bengkulu	S03°40'55.1"E102°30'38.4"

Keterangan: *) Lokasi diperkirakan dengan program "Google Earth" (<http://earth.google.com>).



Gambar 1. Pola pita-pita RAPD pada 25 aksesi *A. titanum* dengan primer OPA-11 dan OPU-03.

Tabel 4. Matriks ketidaksamaan genetik 25 koleksi *A. titanum*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		
1	0,00																										
2	0,26	0,00																									
3	0,28	0,26	0,00																								
4	0,25	0,19	0,22	0,00																							
5	0,21	0,24	0,26	0,19	0,00																						
6	0,24	0,28	0,29	0,27	0,15	0,00																					
7	0,22	0,30	0,30	0,27	0,18	0,14	0,00																				
8	0,22	0,27	0,23	0,22	0,17	0,19	0,16	0,00																			
9	0,28	0,27	0,33	0,25	0,17	0,19	0,23	0,28	0,00																		
10	0,23	0,35	0,26	0,28	0,23	0,25	0,24	0,19	0,25	0,00																	
11	0,32	0,21	0,27	0,21	0,23	0,30	0,31	0,24	0,26	0,34	0,00																
12	0,24	0,29	0,28	0,23	0,19	0,22	0,21	0,18	0,24	0,25	0,29	0,00															
13	0,22	0,23	0,22	0,21	0,18	0,18	0,21	0,19	0,22	0,21	0,26	0,19	0,00														
14	0,26	0,29	0,27	0,28	0,23	0,23	0,26	0,23	0,27	0,27	0,27	0,21	0,21	0,00													
15	0,25	0,26	0,22	0,26	0,21	0,22	0,25	0,18	0,27	0,23	0,27	0,23	0,18	0,19	0,00												
16	0,50	0,47	0,44	0,48	0,46	0,43	0,49	0,47	0,47	0,50	0,51	0,47	0,47	0,45	0,42	0,00											
17	0,43	0,45	0,38	0,40	0,38	0,42	0,41	0,39	0,45	0,44	0,44	0,44	0,44	0,39	0,39	0,36	0,00										
18	0,50	0,49	0,44	0,44	0,47	0,54	0,52	0,48	0,52	0,48	0,52	0,51	0,46	0,46	0,49	0,44	0,34	0,00									
19	0,49	0,51	0,45	0,48	0,47	0,47	0,44	0,42	0,47	0,45	0,51	0,42	0,46	0,45	0,45	0,41	0,32	0,40	0,00								
20	0,42	0,47	0,45	0,46	0,45	0,46	0,45	0,44	0,47	0,42	0,51	0,44	0,43	0,42	0,42	0,36	0,28	0,31	0,30	0,00							
21	0,48	0,54	0,45	0,51	0,48	0,49	0,49	0,48	0,50	0,50	0,59	0,47	0,48	0,49	0,47	0,35	0,27	0,29	0,21	0,25	0,00						
22	0,44	0,43	0,48	0,45	0,43	0,46	0,45	0,43	0,45	0,45	0,50	0,45	0,46	0,42	0,42	0,47	0,32	0,36	0,33	0,23	0,34	0,00					
23	0,47	0,48	0,48	0,49	0,48	0,54	0,50	0,47	0,54	0,49	0,54	0,49	0,50	0,46	0,47	0,52	0,34	0,33	0,33	0,33	0,40	0,24	0,00				
24	0,48	0,50	0,46	0,48	0,48	0,55	0,54	0,47	0,56	0,47	0,55	0,50	0,49	0,46	0,47	0,51	0,31	0,33	0,35	0,33	0,37	0,27	0,14	0,00			
25	0,53	0,56	0,53	0,55	0,51	0,56	0,51	0,52	0,57	0,52	0,57	0,51	0,55	0,49	0,51	0,53	0,39	0,32	0,37	0,35	0,39	0,27	0,23	0,31	0,0		

Reaksi PCR menggunakan Thermocycler (Perkin Elmer 480) selama 45 siklus. Pemanasan pertama pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti oleh 45 siklus yang terdiri atas denaturasi 1 menit pada suhu 94°C, *annealing* 1 menit pada suhu 36°C, dan 2 menit ekstensi pada suhu 72°C. Setelah 45 siklus selesai, kemudian diikuti 4 menit pada suhu 72°C dan pendinginan pada suhu 4°C selama 30 menit. Hasil amplifikasi difraksinasi secara elektroforesis menggunakan Mupid Mini Cell pada gel agarosa 2,0%

dalam bufer TEA (Tris-EDTA) selama 50 menit pada 50 V. Kemudian direndam dalam larutan ethidium bromida dengan konsentrasi akhir 15 µL/100 mL selama 10 menit. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi dengan UV transluminator, kemudian difoto dengan kamera polaroid. Sebagai standar digunakan 1 KB DNA ladder (Promega) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA. Pita hasil amplifikasi kemudian dicatat dan diberi nilai.

Analisis data

Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang diberi nilai, yaitu: ada (1) dan kosong (0). Matriks binari fenotipe RAPD ini digunakan untuk analisis kluster menggunakan UPGMA program NTSYS-pc versi 2.0 (Rohlf, 1997). Nilai kesamaan genetika diambil dari *simple matching coefficient* (Dunn dan Everitt, 1982; Rohlf, 1997), sedang nilai ketidaksamaan genetika merupakan pengurangan nilai dalam matriks kemiripan oleh nilai 1 (Dunn dan Everitt, 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi dan isolasi DNA ke-25 aksesi *A. titanum* dengan metode ini menunjukkan kualitas DNA yang cukup bagus dengan kuantitas bervariasi dari 50-200 ng/ μ L, sehingga amplifikasi DNA dapat dilanjutkan.

Analisis profil RAPD

Hasil amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan 8 jenis primer RAPD menunjukkan ke-25 aksesi *A. titanum* menghasilkan produk PCR yang dapat dibaca dan diberi nilai, sehingga hasilnya dapat dianalisis (Gambar 1). Sekuens dari kedelapan primer ini dan jumlah marka RAPD yang dihasilkan tertera pada Tabel 2.

Pengamatan terhadap *DNA banding pattern* setelah gel elektroforesis menunjukkan bahwa setiap jenis primer menghasilkan pita DNA yang berbeda. Jumlah pita yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat tergantung bagaimana primer mengenal homolognya pada cetakan DNA yang digunakan (Tingey *et al.*, 1994). Semakin banyak situs penempelan dari primer yang digunakan semakin banyak jumlah pita DNA yang dihasilkan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa diperoleh 143 fragmen DNA yang berukuran dari 100 bp hingga 1,1 Kb, dimana 137 (95,80%) di antaranya merupakan pita polimorfik. Tingkat polimorfisme yang relatif tinggi dengan marka RAPD menunjukkan indeks marka yang tinggi. Rata-rata setiap primer menghasilkan 17,8 pita yang dapat dideteksi dan diberi nilai. Jumlah pita polimorfik tertinggi (23) terdapat pada primer OPU-07, sedangkan jumlah terendah (13) terdapat pada primer OPU-03 (Tabel 2.). Hal ini sesuai dengan hasil seleksi primer sebelumnya (Poerba, 2007, data tidak ditunjukkan), dimana kedelapan primer ini merupakan primer yang menghasilkan pola pita polimorfik untuk *A. titanum*.

Tabel 2. Primer yang digunakan dan jumlah pita DNA hasil amplifikasi pada 25 sampel *A. titanum*.

Kode Primer	Urutan basa 5'-3"	Jumlah fragmen DNA	Fragmen DNA polimorfik
OPA-11	CAATCGCCGT	21	20 (95,24%)
OPA-19	CAAACGTCCG	20	20 (100%)
OPC-04	CCGCATCTAC	14	14 (100%)
OPN-14	TCGTGCGGGT	15	13 (86,67%)
OPN-19	GTCCGTA CTG	16	16 (100%)
OPU-03	CTATGCCGAC	13	11 (84,61%)
OPU-06	ACCTTTGCGG	21	20 (95,24%)
OPU-07	CCTGCTCATC	23	23 (100%)
Jumlah		143	137 (95,80%)

Hasil pengamatan menunjukkan adanya sembilan fragmen DNA unik yang dideteksi pada empat primer, yaitu: OPA-11, OPC-04, OPU-03, dan OPU-06. Fragmen-fragmen unik tersebut terdapat pada aksesi no. 3 pada OPU-06₁₅₀, aksesi no. 4 pada OPA-11₁₀₀, OPC-04₅₀₀, aksesi no. 12

pada OPC-04₅₀₀, aksesi no. 16 pada OPA-11₁₁₀₀, OPU-06₅₅₀, aksesi no. 19 pada OPA-11₃₅₀, dan aksesi no. 23 pada OPU-03₃₀₀. (Tabel 3.).

Tabel 3. Pita DNA unik pada *A. titanum*

Kode Primer	Jumlah pita unik	Ukuran (nomor aksesi)
OPA-11	3	OPA-11 ₁₀₀ (4), OPA-11 ₃₅₀ (19), OPA-11 ₁₁₀₀ (16)
OPC-04	2	OPC-04 ₅₀₀ (4, 12)
OPU-03	1	OPU-03 ₃₀₀ (23)
OPU-06	3	OPU-06 ₁₅₀ (3) OPU-06 ₄₅₀ (3)

Analisis ketidaksamaan genetika

Data RAPD digunakan untuk membuat *pair-wise comparison* 25 aksesi *A. titanum* berdasarkan produk amplifikasi DNA. Nilai ketidaksamaan genetika untuk ke-25 aksesi *A. titanum* berkisar dari 0,14-0,59 dengan yang tertinggi (0,59) terdapat antara no. 11 dan no. 21 (Tabel 4.), yang berarti kedua aksesi ini sangat berbeda secara genetika satu dengan yang lain. Kedua aksesi ini berasal dari dua lokasi yang berbeda. Nilai ketidaksamaan genetika terendah 0,14 terdapat antara aksesi no. 23 dan no. 24, artinya kedua aksesi ini memiliki properti genetika yang sangat mirip satu dengan yang lain. Kedua aksesi ini berasal dari lokasi yang sama.

Indeks ketidaksamaan genetika antar populasi diperkirakan dan ditabulasi (Tabel 5.). Nilai ketidaksamaan genetika antar populasi berkisar antara 0,24-0,52, mengindikasikan bahwa ketidaksamaan genetika antar populasi *A. titanum* yang diteliti ini cukup tinggi, artinya populasi *A. titanum* merupakan populasi yang beragam. Nilai ketidaksamaan genetika tertinggi (0,52) terdapat antara populasi 2 (Sungai Batang Anai, Sumbar) dan populasi 6 (Air terjun Cuup, Bengkulu); lalu antara populasi 1 (Lembah Anai, Sumbar) dan populasi 6 (Air terjun Cuup, Bengkulu) (0,51), dan antara populasi 3 (Kayu Tanam, Sumbar) dan populasi 6 (0,48), serta antara populasi 2 (Lembah Anai, Sumbar) dan populasi 5 (Bukit Kambing, Bengkulu) (0,48). Nilai ketidaksamaan genetika yang paling rendah, terjadi antara populasi 1 dan 2 (0,24), populasi 2 dan 3 (0,24) serta populasi 1 dan 3 (0,25). Hal ini mengindikasikan bahwa pemisahan geografis menyebabkan persilangan (rekombinasi genetika) terjadi hanya di dalam populasi terdekat, sehingga nilai ketidaksamaan genetika antar populasi yang terpisah secara geografis cenderung lebih besar.

Tabel 5. Perkiraan nilai ketidaksamaan genetika antar populasi *A. titanum*.

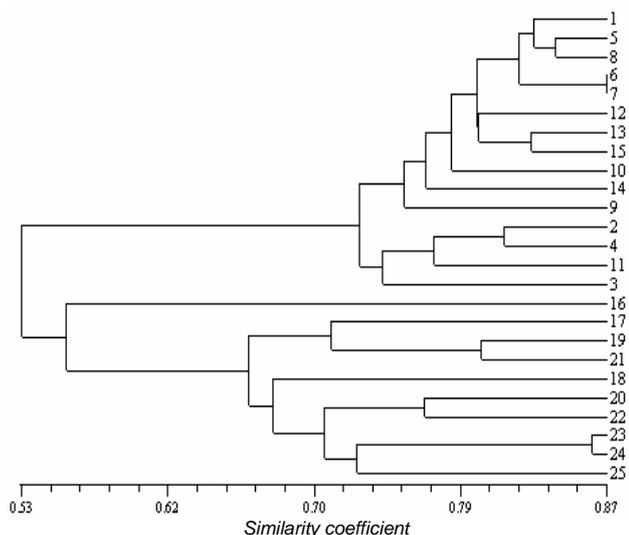
Populasi	1	2	3	4	5	6
1	-					
2	0,24	-				
3	0,25	0,24	-			
4	0,45	0,46	0,43	-		
5	0,47	0,48	0,45	0,28	-	
6	0,51	0,52	0,48	0,34	0,32	-

Keterangan: 1 = Lembah Anai Sumbar, 2 = Sungai Batang Anai Sumbar, 3 = Kayu Tanam Sumbar, 4 = Rimbo Legadang Bengkulu, 5 = Bukit Kambing Bengkulu, 6 = Air Terjun Cuup, Bengkulu.

Analisis kluster

Analisis kluster pada 25 aksesi *A. titanum* menunjukkan pemisahan aksesi ke dalam dua kluster utama, sejalan dengan letak geografis asal populasi. Populasi *A. titanum* dari Sumatera Barat mengelompok tersendiri dalam satu kluster yang terpisah dengan populasi dari Bengkulu pada koefisien kesamaan 0,53 (Gambar 2). Dengan demikian, *A.*

titanum yang berasal dari Sumatera Barat dan Bengkulu mempunyai karakter genetik yang berbeda. Pendugaan pertama adalah lokus polimorfik yang digunakan dalam analisis ini sudah dipilih yang memiliki polimorfisme tinggi, sehingga perbedaan genetik dapat dideteksi dengan jelas.



Gambar 2. Dendrogram 25 aksesori *A. titanum*

Hasil ini menunjukkan adanya keragaman genetik di antara individu dalam populasi, demikian juga keragaman genetik terdeteksi antar populasi, walaupun keduanya memiliki nilai tidak terlalu besar. Keragaman genetik individu *A. titanum* yang tercermin dalam nilai kisaran ketidaksamaan genetik (0,14-0,59), relatif sedang apabila dibandingkan dengan tanaman cendana yang memiliki nilai ketidaksamaan genetik 0,06-0,91 (Poerba *et al.*, 2007, data tidak ditunjukkan).

Hasil penelitian mengenai pendugaan keragaman genetika pada *A. titanum* ini dapat diterapkan untuk tujuan konservasi dan pembudidayaan. Untuk tujuan konservasi *ex situ* ada dua tahap yang perlu dilakukan, yaitu: pemilihan provenans (sumber/asal) dan pemilihan individu. Pemilihan provenans dilakukan dengan mengacu nilai ketidaksamaan genetika. Dalam area konservasi *ex situ*, provenans yang akan dipilih untuk ditanam dalam suatu lokasi sebaiknya merupakan kombinasi provenans yang memiliki kisaran nilai ketidaksamaan genetik yang cukup luas, sehingga keturunan yang dihasilkan nantinya merupakan hasil perkawinan acak yang diharapkan memiliki variasi genetika yang lebih luas dari induknya. Setelah itu, baru ditentukan individu yang akan dipilih untuk ditanam dari hasil seleksi provenans. Pemilihan individu dapat dilakukan dengan mengacu hasil analisis kluster kesamaan genetik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai kondisi keragaman genetika *A. titanum* di berbagai populasi yang ada di Sumatera menggunakan lebih banyak primer RAPD dan/atau menggunakan marka molekuler selain RAPD.

KESIMPULAN

Keragaman genetik *A. titanum* dapat dideteksi menggunakan marka RAPD. Dari 8 primer RAPD diperoleh 143 pita DNA yang 95,8% diantaranya merupakan pita

polimorfik. Hasil dendrogram menunjukkan terdapat dua kelompok utama, kelompok pertama terdiri dari 15 aksesori dari Padang, Sumatera Barat dan kelompok kedua terdiri atas 10 aksesori dari Bengkulu. Nilai ketidaksamaan genetik ke 25 individu *A. titanum* berkisar antara 0,14 hingga 0,59, yang menunjukkan keragaman genetik yang sedang. Nilai ketidaksamaan genetika tertinggi (0,58) tercatat antara populasi 2 (Sungai Batang Anai, Sumbar) dan populasi 6 (Air Terjun Cuup, Bengkulu), sedangkan ketidaksamaan genetik terendah (0,24) tercatat antara populasi 1 (Lembah Anai, Sumbar) dan populasi 2 (Sungai Batang Anai, Sumbar) serta antara populasi 2 (Sungai Batang Anai) dan populasi 3 (Kayu Tanam, Sumbar). Upaya konservasi dan pembudidayaan *A. titanum* hendaknya didasarkan atas kondisi properti genetika setiap populasi dan individu dalam setiap populasi. Untuk memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai kondisi keragaman genetika *A. titanum* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai populasi yang ada di Sumatera menggunakan lebih banyak primer RAPD dan/atau menggunakan marka molekuler selain RAPD untuk mendeteksi keragaman genetika yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Bown, D. 1988. *Aroids, Plants of The Arun Family*. London: Century.
- Delaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep preparation. *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.
- Graham, C. and J.T. Hadiah. 2004. *Amorphophallus titanum* Becc. *Eksplorasi* (4): 2: 12-15.
- Hettterscheid, W. and S. Ittenbach. 1966. Everything you always wanted to know about *Amorphophallus*, but were afraid to stick your nose into !!! *Aroideana* 19: 7-131.
- 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.
- IUCN. 2000. *IUCN Red List Categories: Version 3.1*. Gland, Switzerland and Cambridge, UK.: IUCN
- 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.
- Lampiran Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1999 Tanggal 27 Januari 1999, tentang: *Jenis-jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi*.
- Mogea, J.P., D. Gandawidjaja, H. Wiriadinata, R.E. Nasution, dan Irawati. 2001. *Tumbuhan Langka Indonesia*. Bogor: Puslitbang Biologi.
- 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.
- Prana, T.K. dan N.S. Hartati. 2003. Identifikasi sidik jari DNA talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan teknik (RAPD): Skrinirng 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.
- 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.
- Widjaja, E.A. dan Y.S. Poerba. 2004. Pengumpulan data plasma nutfah dan genetika. Dalam: Rugayah, E.A. Widjaya dan Praptiwi (ed). *Pedoman 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.