

Evaluasi Pertumbuhan dan Keragaman Genetik Tanaman Palahlar Gunung (*Dipterocarpus retusus blume.*) dan Palahlar (*Dipterocarpus hasseltii blume.*) Berdasarkan Penanda RAPD

Growth and Genetic Variation Evaluation of Mountain Palahlar and Palahlar Based on RAPD Marker

Detty Sumiyati², Fifi Gus Dwiwati¹, Istomo¹, dan Iskandar Z Siregar^{1*}

¹Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan IPB, Bogor

²Alumni Fakultas Kehutanan IPB, Bogor

Abstract

Dipterocarpus hasseltii (palahlar) and *Dipterocarpus retusus* (mountain palahlar) are plant species of Dipterocarpaceae family that originate from West Java which population is getting rare. Information about growth development and genetic variation of palahlar is important to support culturing program and its genetic conservation. One of the techniques to study palahlar growth is through observation of the plant height and stem diameter increment. DNA analysis is used to gain information of palahlar genetic diversity. One of the DNA based molecular marker widely used as plant genetic marker is RAPD. There were 2 primary that resulting the best amplifying quality in genetic diversity analysis that was OPO-13 dan OPY 20. Analysis result with POPGENE 32 was resulting average genetic diversity between classes as much as 0.1869. The biggest genetic diversity for palahlar was on the medium growth class as much as 0.2498 dan for mountain palahlar was in small growth class as much as 0.2240. Cluster analysis shows that there were 2 big groups that were medium-high growth class group and small growth class group. Dendrogram shows that there were 2 species in one group, that was palahlar and mountain palahlar that was in one group of small growth class. The closed genetic distance existed between medium growth class group of palahlar and high growth class group (0.0383), while the far distance is between palahlar of small growth class group with mountain palahlar of medium growth class group as much as 0.1826.

Keywords: palahlar, plant height, stem diameter, genetic variation, DNA

*Penulis untuk korespondensi, e-mail: siregar@ipb.ac.id

Pendahuluan

Palahlar adalah nama daerah untuk beberapa jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae. Di Jawa Barat terdapat beberapa pohon yang berasal dari famili tersebut di antaranya adalah *Dipterocarpus hasseltii* (palahlar) dan *Dipterocarpus retusus* (palahlar gunung). Kedua jenis tersebut saat ini populasinya sudah semakin sulit ditemukan. Menurut Al-Rasyid (1999), penyempitan luas hutan alam di Jawa Barat akibat konversi hutan menjadi salah satu faktor penyebab kelangkaan jenis palahlar. Selain itu, kegiatan penanaman (budi daya) juga belum dilakukan. Untuk mengatasi hal tersebut, Perum Perhutani telah bekerjasama dengan Tim Fakultas Kehutanan IPB untuk menyelamatkan palahlar dari kepunahan melalui percobaan penanaman pohon palahlar yang diharapkan dapat berkembang menjadi hutan tanaman.

Secara teoritis diketahui bahwa sifat keragaman tumbuhan dapat diidentifikasi berdasarkan sifat fenotipe dan genotipe. Identifikasi tanaman berdasarkan sifat fenotipe dapat dilakukan dengan cara pengamatan pada tinggi tanaman dan pertumbuhan diameter batang, namun

cara ini memiliki kelemahan yaitu adanya pengaruh lingkungan di sekitarnya, sehingga hasil identifikasi kurang akurat. Untuk memperkuat hasil identifikasi berdasarkan sifat fenotipe, perlu diteliti pengaruh dari faktor genetika terhadap keragaman pertumbuhan tanaman palahlar gunung dan palahlar.

Berbagai teknik untuk menelaah sifat genotipe tumbuhan telah banyak dikembangkan seperti teknik isoenzim maupun dengan analisis DNA. Teknik isoenzim diketahui memiliki kelemahan dalam pendeteksian keragaman genetika di antara gen-gen yang memiliki hubungan dekat jika dibandingkan dengan analisis DNA.

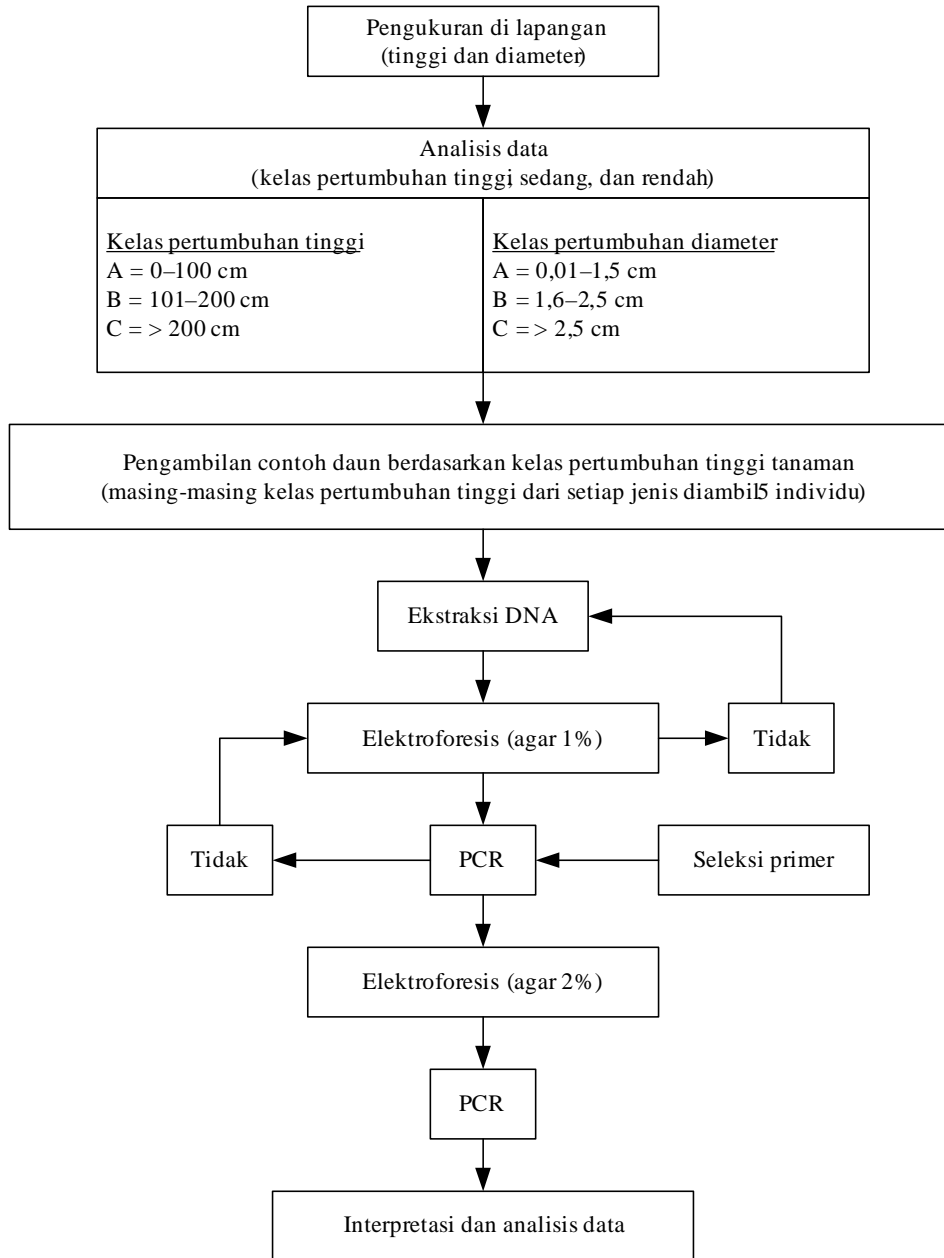
Analisis molekuler merupakan salah satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk mengetahui faktor genetika. Salah satu penanda molekuler berbasis DNA yang telah banyak diaplikasikan sebagai penanda genetika tanaman adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan diameter dan tinggi tanaman palahlar dan palahlar gunung serta mengetahui hubungan antara faktor genetika dengan potensi pertumbuhan kedua tanaman.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni–November 2009 di kawasan hutan Perhutani wilayah kerja RPH Cigudeg, BKPH Jasinga, KPH Bogor, Perum Perhutani Unit III Jawa Barat-Banten dan di Laboratorium Silviculture Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan IPB untuk analisis DNA. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman palahlar dan palahlar gunung berumur 3 tahun. Sumber

benih palahlar berasal dari Cagar Alam Leuweung Sancang dan sumber benih palahlar gunung berasal dari Cakrabuana Sumedang. Bahan-bahan untuk proses ekstraksi DNA dan RAPD adalah *silica gel*, nitrogen cair, Tris-HCL, EDTA, NaCl, CTAB 10%, etanol, propanol, kloroform dan fenol, promega (*green goaq*), primer OPO-06, OPY-09, OPO-16, OPY-20, dan OPO-13. Tahapan penelitian yang dilakukan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Bagan alur tahapan penelitian.

Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan tanaman Dalam penelitian ini pertumbuhan tanaman palahlar dan palahlar gunung dilihat berdasarkan parameter diameter dan tinggi tanaman. Setiap jenis tanaman memiliki dua perlakuan jarak tanam, yaitu jarak tanam 5×5 m dan jarak tanam 3×3 m. Tabulasi hasil pengukuran diameter dan tinggi rata-rata pada selang waktu 3 tahun (Agustus 2004–Juli 2009) serta persen hidup disajikan pada Tabel 1.

Persen hidup yang paling tinggi terdapat pada tanaman dengan perlakuan jarak tanam 3×3 m untuk kedua jenis baik palahlar (78,33%) maupun palahlar gunung (63,33%). Daniel *et al.* (1987) menyebutkan bahwa penggunaan jarak tanam lebih rapat antara lain akan meningkatkan produktivitas kayu total menjadi lebih tinggi karena volume ini akan tersebar pada jumlah tanaman kecil-kecil lebih banyak, terutama pada awal rotasi.

Tabel 1 Rata-rata hasil pengukuran pertumbuhan tanaman Palahlar (*D. hasseltii*) dan Palahlar Gunung (*D. retusus*)

Jenis tanaman	Blok	Jumlah tanaman hidup	Persen hidup (Juli 2009) (%)	Rata-rata pertumbuhan dalam selang waktu 3 tahun*		
				Diameter (cm tahun ⁻¹)	Tinggi (cm tahun ⁻¹)	
<i>D. hasseltii</i>	(D1J1)1	20	83,33	0,30	17,6	
	(D1J1)2	22	91,67	0,39	17,7	
	(D1J1)3	20	83,33	0,53	37,9	
	(D1J1)4	16	66,67	0,33	22,1	
	(D1J1)7	15	62,50	0,29	16,6	
	Jumlah (J1)	93	77,50	0,37	22,4	
	(D1J2)1	13	54,17	0,18	8,8	
	(D1J2)2	24	100,00	0,47	37,8	
	(D1J2)3	18	75,00	0,39	23,1	
	(D1J2)4	21	87,50	0,59	43,1	
	(D1J2)7	18	75,00	0,49	33,1	
	Jumlah (J2)	94	78,33	0,43	26,9	
	Total		187	77,91	0,39	24,6
	<i>D. retusus</i>	(D2J1)1	18	75,00	0,19	19,2
(D2J1)2		18	75,00	0,48	20,0	
(D2J1)3		2	8,33	0,54	40,0	
(D2J1)4		9	37,50	0,52	44,3	
(D2J1)7		11	45,83	0,37	29,0	
Jumlah (J1)		58	48,33	0,43	32,1	
(D2J2)1		19	79,17	0,22	19,9	
(D2J2)2		24	100,00	0,45	29,4	
(D2J2)3		11	45,83	0,35	32,8	
(D2J2)4		16	66,67	0,46	38,9	
(D2J2)7		6	25,00	0,54	31,1	
Jumlah (J2)		76	63,33	0,34	26,0	
Total			134	55,83	0,39	29,0

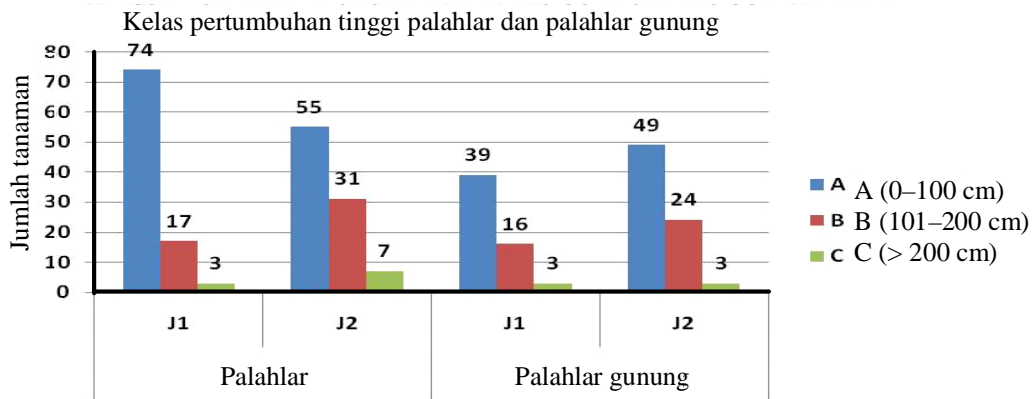
*(Agustus 2005–Juli 2009)

Keterangan : D1 = *D. hasseltii*; D2 = *D. retusus*; J1 = jarak tanam 5×5 m; J2 = jarak tanam 3×3 m; 1, 2, ...,7 = blok 1, 2, ...,7.

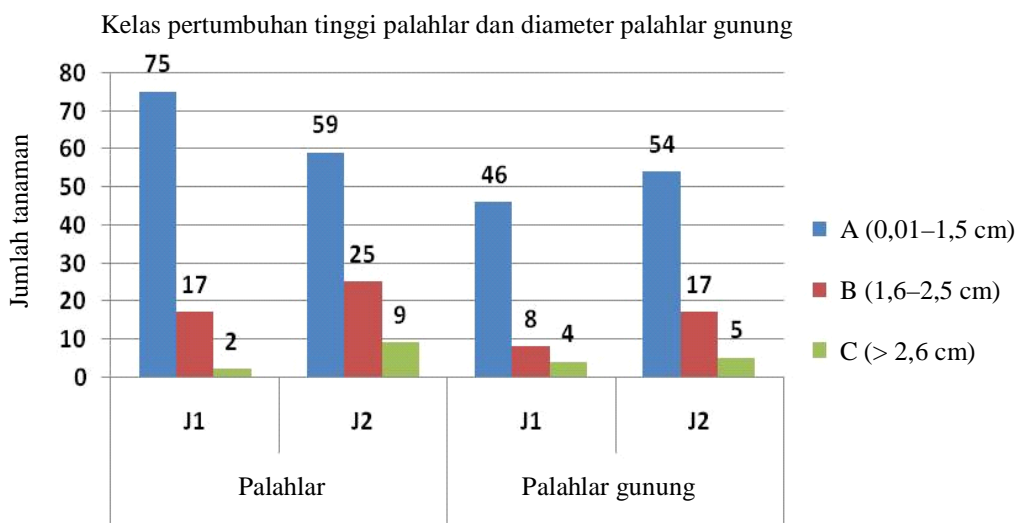
Selain jarak tanam, salah satu faktor yang berpengaruh penting dalam pertumbuhan ini adalah kondisi lapangan, seperti kelerengan, naungan yang berpengaruh terhadap intensitas cahaya, dan intensitas curah hujan yang terjadi. Di antara faktor di atas, salah satu faktor terpenting adalah tingkat naungan di lapangan. Hal ini sejalan dengan pendapat Wardani (1989) yang menyatakan bahwa pertumbuhan tinggi anakan jenis Dipterocarpaceae sangat dipengaruhi oleh tingkat naungan. Pada tingkat naungan berat dan pada tingkat naungan terlalu ringan pertumbuhan tingginya menjadi berkurang. Pertumbuhan tinggi maksimum dapat dicapai pada tingkat naungan sedang.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa, rata-rata pertumbuhan tinggi adalah 24,61 cm th⁻¹ untuk palahlar dan

29,1 cm th⁻¹ untuk palahlar gunung. Sementara untuk pertumbuhan diameter rata-rata kedua jenis adalah 0,39 cm th⁻¹. Untuk memudahkan dalam menganalisis struktur pertumbuhan tanaman, pertumbuhan tinggi dan diameter kedua jenis tanaman dalam penelitian ini digolongkan dalam 3 kelas pertumbuhan yaitu, kelas A, B, dan C. Kelas pertumbuhan tinggi dibagi menjadi kelas A (0–100 cm), kelas B (101–200 cm) dan kelas C (> 200 cm). Sedangkan kelas pertumbuhan diameter dibagi menjadi kelas A (0,01–1,50 cm), kelas B (1,60–2,50 cm) dan kelas C (> 2,50 cm). Hasil analisis struktur pertumbuhan tinggi tanaman disajikan pada Gambar 2 dan hasil analisis struktur diameter tanaman disajikan pada Gambar 3.



Gambar 2 Grafik kelas pertumbuhan tinggi palahlar dan palahlar gunung.

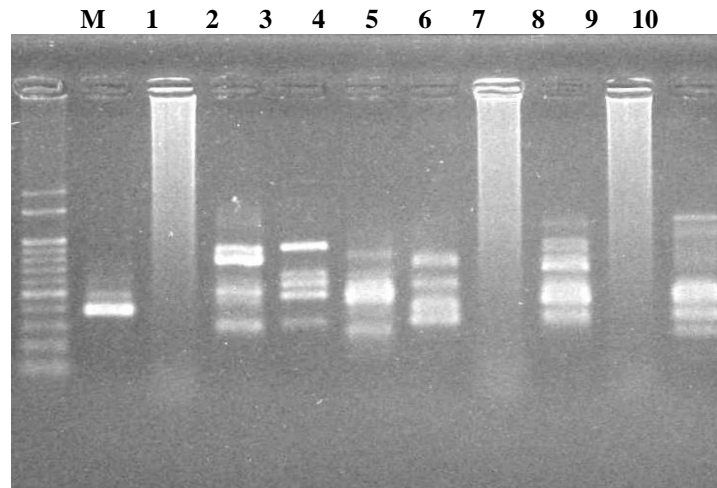


Gambar 3 Grafik kelas pertumbuhan diameter palahlar dan palahlar gunung.

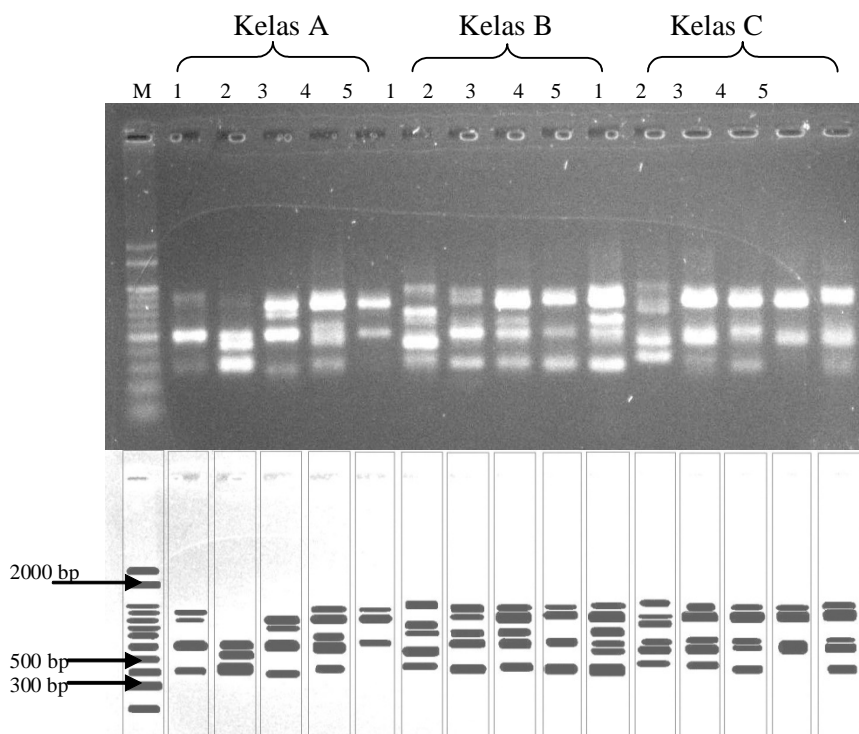
Hasil analisis struktur pertumbuhan tinggi tanaman pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kelas pertumbuhan tinggi A mendominasi, baik untuk jenis palahlar (total 129 tanaman) maupun untuk jenis palahlar gunung (total 88 tanaman). Berdasarkan jarak tanam, tanamana palahlar dengan jarak tanam 3 × 3 m memiliki jumlah tanaman hidup yang paling tinggi yaitu 94 tanaman, sedangkan palahlar dengan jarak tanam 5 × 5 m yang hanya terdapat 93 tanaman. Pada

tanaman palahlar gunung dengan jarak tanam 3 × 3 m terdapat 76 tanaman hidup, dan hanya 58 tanaman hidup ditemukan pada jarak tanam 5 × 5 m.

Hasil analisis struktur pertumbuhan diameter tanaman pada Gambar 3 menunjukkan bahwa dari ketiga kelas pertumbuhan, palahlar memiliki jumlah yang paling banyak dibanding palahlar gunung. Dari kedua jenis tanaman tersebut, yang paling mendominasi untuk palahlar adalah



Gambar 4 Foto hasil seleksi primer. Ket: M (Marker), 1 (D1 OPO-06), 2 (D1 OPY-09), 3 (D1 OPO-13), 4 (D1 OPO-16), 5 (D1 OPY-20), 6 (D2 OPO-06), 7 (D2 OPY-09), 8 (D2 OPO-13), 9 (D2 OPO-16), 10 (D2 OPY-20).



Gambar 5 Hasil proses PCR-RAPD menggunakan primer OPO-13 pada palahlar.

kelas A dengan jumlah 75 tanaman untuk jarak tanam 5×5 m, 59 tanaman untuk jarak tanam 3×3 m dan untuk palahlar gunung adalah 46 tanaman untuk jarak tanam 5×5 m dan 54 tanaman untuk jarak tanam 3×3 m. Jumlah tanaman terkecil adalah kelas C dengan jumlah total sebesar 13 tanaman untuk palahlar dan 9 tanaman untuk palahlar gunung.

Keragaman genetik Penelitian keragaman genetik dari 3 kelas pertumbuhan dilakukan menggunakan penanda RAPD yang dapat digunakan untuk mengetahui informasi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar kelas pertumbuhannya, sehingga didapatkan gambaran penyebaran genetik. Hal ini merupakan salah satu langkah penting, terutama pada usaha eksplorasi sumber-sumber genetik dalam rangka program pemuliaan.

Analisis DNA palahlar dengan penanda RAPD dilakukan pada bahan tanaman yang telah dipilih berdasarkan kelas pertumbuhan tinggi tanaman. Untuk masing-masing kelas pertumbuhan tinggi kelas A, B, dan C dari setiap jenis palahlar diambil 5 individu secara acak, sehingga total bahan tanaman yang diujicobakan adalah 30 contoh. Seleksi primer pada teknik RAPD diujicobakan pada bahan tanaman dengan 5 primer yang dipilih secara acak. Hasil seleksi primer disajikan pada Gambar 4.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa terdapat 4 primer untuk jenis palahlar (D1) dan 3 primer untuk jenis palahlar gunung (D2) yang mampu menghasilkan produk amplifikasi yaitu OPO-06, OPO-16, OPY-20, dan OPO-13 untuk tanaman palahlar dan OPO-06, OPY-20, dan OPO-13 untuk tanaman palahlar gunung.

Dari 4 primer palahlar dan 3 primer palahlar gunung yang teramplifikasi, diambil 2 primer yang sama antara kedua jenis tanaman tersebut yang memiliki jumlah pita polimorfik terbanyak yaitu primer OPO-13 dan OPY-20 (Tabel 2). Selanjutnya kedua primer tersebut digunakan untuk mengamplifikasi 30 contoh DNA dari dua spesies. Hasil PCR menunjukkan terdapat pita yang berbeda-beda (polimorfik) baik antara primer maupun dalam primer yang digunakan (Gambar 5). Skoring dilakukan dengan melihat pola pita hasil PCR, yang kemudian dimasukkan dalam program POPGENE 32 untuk menampilkan dendrogram.

Berdasarkan pengamatan skoring lokus pada jenis palahlar dan palahlar gunung keragaman genetik dapat diukur dengan menggunakan parameter-parameter berupa jumlah alel yang diharapkan (*na*), jumlah alel yang diamati (*ne*), keragaman gen (*He*), dan persen lokus polimorfik (PLP). Hasil analisis keragaman genetik kedua jenis disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil pengukuran keragaman genetik dalam populasi (Nei's 1972)

Populasi	<i>n</i>	<i>na</i>	<i>ne</i>	<i>He</i>	PLP
Palahlar (Kelas A)	5	1,3636	1,1612	0,1024	36,36%
Palahlar (Kelas B)	5	1,7727	1,4021	0,2498	77,27%
Palahlar (Kelas C)	5	1,5455	1,3291	0,1896	54,55%
Palahlar gunung (Kelas A)	5	1,6818	1,3797	0,2240	68,18%
Palahlar gunung (Kelas B)	5	1,6364	1,2711	0,1771	63,64%
Palahlar gunung (Kelas C)	5	1,5909	1,2795	0,1784	59,09%
Rata-rata		1,5984	1,3038	0,1869	59,84%

Keterangan: *n* = jumlah contoh; *na* = jumlah alel yang diamati; *ne* = jumlah alel yang efektif; *He* = heterozigitas harapan (keragaman gen); PLP = Persen Lokus Polimorfik.

Tabel 4 Jarak genetik antar kelas diameter tanaman palahlar dan palahlar gunung

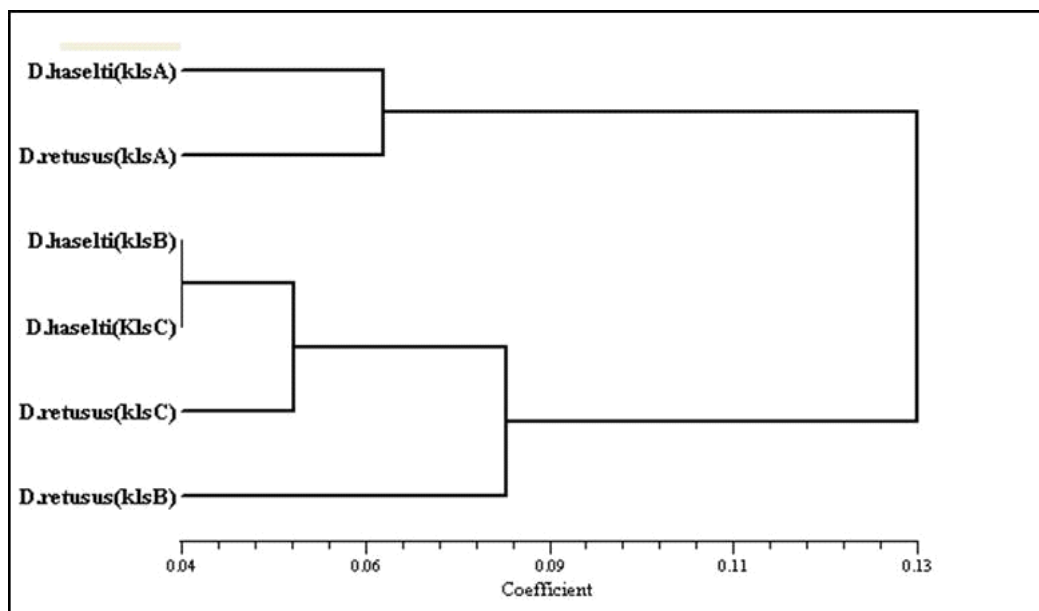
Populasi	Palahlar (Kelas A)	Palahlar (Kelas B)	Palahlar (Kelas C)	Palahlar gunung (Kelas A)	Palahlar gunung (Kelas B)	Palahlar gunung (Kelas C)
Palahlar (Kelas A)	*****					
Palahlar (Kelas B)	0,1280	*****				
Palahlar (Kelas C)	0,1301	0,0383	*****			
Palahlar gunung (Kelas A)	0,0644	0,1144	0,1138	*****		
Palahlar gunung (Kelas B)	0,1826	0,0846	0,0993	0,1293	*****	
Palahlar gunung (Kelas C)	0,1379	0,0509	0,0548	0,1306	0,0569	*****

Hasil pengukuran keragaman genetika pada Tabel 3 menunjukkan bahwa populasi tanaman palahlar dan palahlar gunung memiliki nilai rata-rata na , ne , dan He masing-masing sebesar 1,5984, 1,3038, dan 0,1869. Nilai rata-rata (He) dari kedua jenis tanaman sebesar 0,1869 (18,69%) yang menunjukkan keragaman genetika populasi yang tinggi. Finkeldey (2005) menjelaskan bahwa rata-rata He untuk pohon tropis cukup tinggi yaitu sebesar 19,1%. Besarnya nilai He yang tinggi dapat diartikan bahwa keragaman gen di alam untuk kedua jenis tanaman masih tersedia dalam jumlah yang banyak, sehingga diharapkan bahwa kedua jenis tanaman di alam dapat menghasilkan keturunan yang baik serta mampu bertahan dari kepunahan akibat penurunan kualitas gen.

Data hasil pengukuran keragaman genetika juga diketahui bahwa populasi palahlar, kelas pertumbuhan B memiliki nilai na sebesar 1,7727, ne sebesar 1,4021, dan He sebesar 0,2498 yang merupakan nilai tertinggi. Sedangkan untuk populasi palahlar gunung, kelas pertumbuhan A memiliki nilai na sebesar 1,6818, ne sebesar 1,3797, dan He sebesar 0,2240 yang merupakan nilai tertinggi.

Variasi antarpopulasi menunjukkan jarak genetika antar populasi atau hubungan kekerabatan antar 2 populasi. Berdasarkan perhitungan jarak genetika antarkelas pertumbuhan jenis palahlar dan palahlar gunung pada Tabel 4 diketahui bahwa jarak genetika terdekat terdapat pada kelas pertumbuhan C dan B pada tanaman palahlar (0,0383) begitu pula pada jenis palahlar gunung jarak terdekatnya ditemukan pada kelas pertumbuhan C dengan kelas B (0,0569).

Kelas pertumbuhan B dan C untuk kedua jenis tanaman memiliki hubungan kekerabatan yang dekat yang terlihat dari jarak genetika antar kelas pertumbuhannya sangat kecil yaitu sebesar 0,04 (palahlar) dan 0,06 (palahlar gunung). Pada pertumbuhan kelas B dan C memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat, begitu pula jarak genetika antar kelas A dengan kelas B atau kelas C selang perbedaannya atau jaraknya tidak begitu jauh. Hal ini dikarenakan letak geografis pada lahan penanaman yang berdekatan serta sumber benih yang sama untuk setiap individunya. Secara umum, pengelompokan pohon plus memperlihatkan hubungan yang nyata dengan distribusi geografis dari pohon-pohon tersebut. Hal tersebut dapat digambarkan pada dendrogram yang disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6 Dendrogram jarak genetik kelas pertumbuhan tinggi tanaman palahlar dan palahlar gunung berdasarkan metode Nei (1973).

Secara umum dapat digambarkan bahwa untuk kedua jenis tanaman terdapat pengelompokan kelas pertumbuhan secara genetika yaitu kelompok kelas pertumbuhan sedang–besar (kelas B dan C) dan kelompok kelas pertumbuhan kecil (kelas A). Dapat dilihat dalam Gambar 6, kelompok satu yaitu kelas pertumbuhan A untuk jenis palahlar dan palahlar gunung. Kelompok dua terdiri dari subkelompok, subkelompok pertama kelas pertumbuhan B dan C untuk palahlar serta kelas C untuk palahlar gunung, sedangkan sub kelompok kedua yaitu kelas pertumbuhan B untuk palahlar gunung.

Pengamatan secara morfologi (pertumbuhan diameter dan tinggi) untuk palahlar gunung tidak berbanding lurus dengan pengamatan genetiknya. Kelas pertumbuhan C (pengamatan morfologi) untuk palahlar gunung merupakan kelas yang memiliki karakteristik pohon yang bagus dibandingkan dengan yang lainnya, sedangkan secara genetika palahlar gunung dari kelas pertumbuhan A memiliki keragaman yang tinggi, sehingga memiliki jarak genetika yang jauh dengan tanaman palahlar gunung yang lainnya. Oleh karena itu, tanaman palahlar gunung dari kelas A dapat digunakan dalam strategi konservasi mengingat jarak genetika jauh dan memiliki morfologi yang cukup bagus maka tanaman tersebut diharapkan akan menghasilkan keturunan yang memiliki kualitas yang tinggi. Begitupula dengan jenis palahlar, pengamatan secara morfologi maupun genetika tidak sebanding atau tidak berbanding lurus. Secara morfologi kelas C merupakan kelompok tanaman yang memiliki kualitas yang paling bagus, akan tetapi dilihat secara genetiknya kelas pertumbuhan B merupakan kelompok tanaman yang memiliki keragaman yang tinggi.

Kesimpulan

- 1 Keragaman genetika berdasarkan hasil analisis POPGENE 32 menunjukkan bahwa untuk palahlar kelas pertumbuhan B merupakan kelas dengan nilai na (1,7727), ne (1,4021), dan He (0,2498) tertinggi. Sedangkan untuk palahlar gunung, kelas pertumbuhan A memiliki nilai na (1,6818), ne (1,3797), dan He (0,2240) tertinggi.
- 2 Hubungan kekerabatan terdekat untuk palahlar terbentuk antara kelas pertumbuhan C dengan B (0,0383) sedangkan

untuk palahlar gunung antara kelas pertumbuhan B dengan C (0,0509) dan hubungan kekerabatan terjauh yaitu antara kelas pertumbuhan A dan C (palahlar) sebesar 0,1301 serta sebesar 0,1826 pada kelas pertumbuhan A dan B untuk palahlar gunung.

- 3 Analisis gerombol menunjukkan bahwa untuk kedua jenis tanaman terdapat dua pengelompokan. Kelompok pertama terdiri dari kelas pertumbuhan sedang–besar (kelas B dan C) dan kelompok kelas pertumbuhan kecil (kelas A) dengan rata-rata keragaman gen dari kedua jenis sebesar 18,69% (cukup tinggi), sehingga keragaman gen di alam untuk kedua jenis tanaman masih tersedia dalam jumlah yang banyak.

Saran

Mengingat keragaman genetika masih tinggi (18,69%), maka tanaman palahlar dan palahlar gunung pada petak contoh penelitian dalam jangka panjang dapat dikembangkan sebagai kebun benih.

Daftar Pustaka

- Al-Rasyid H. 1999. Sejarah dan Perjalanan Pembuatan Tegakan Dipterocarpaceae di Jawa. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Status Silviculture Yogyakarta Agustus 1999*. Yogyakarta: Fakultas Kehutanan.
- Daniel TW, Helms JA, Baker, FS. 1987. Prinsip-prinsip Silviculture edisi ke-2. Marsono DJ, penerjemah. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Principles of Silviculture*.
- Finkeldey R. 2005. *Pengantar Genetika Hutan Tropis*. Jamhuri E, Siregar IZ, Siregar UJ, Kertadikara AW, penerjemah; Gottingen: Institute of Forest Genetics and Forest tree Breeding Georg-August-University-Gottingen.
- Wardani M. 1989. Pengaruh naungan terhadap pertumbuhan anakan *Dipterocarpus hasseltii* Bl. *Buletin Penelitian Hutan* 515:11–17.