

HUBUNGAN ANTARA KERAGAMAN DENGAN ISOENZIM DAN PERTUMBUHAN MERBAU

(The Relationship on Isozyme Genetic Diversity and Growth of Merbau)

Mahfudz

Balai Penelitian Kehutanan Manado
Jl. Raya Adipura Kel. Kima Atas Kec. Mapanget Manado
Email: bpk_mdo@yahoo.com

ABSTRACT

Merbau (Intsia bijuga O.Ktze) is one of the species that produce of high economic value. Continuous exploitation will decrease potential genetic diversity that needed for development of merbau. The research was conducted to determine the relationship between genetic diversity on isozyme level and growth. The research was conducted in the Laboratory of Plant Breeding, at the Faculty of Forestry, Gadjah Mada University and on the field at a site of progeny testing, namely the Kawasan Hutan Penelitian Dengan Tujuan Khusus (KHDTK), Sobang, Banten Province during 22 months starting from February 2008 to December 2009. The results showed that correlation between the genetic diversity with isozyme and the growth of plant in terms of its height, diameter and branching characteristics were 0.12, 0.10, and 0.20, respectively. The genetic correlation of height, diameter and branching characteristics and the correlation between the genetic diversity with isozyme and the growth of plant were dynamics and can still change with time and plant growth .

Keyword: merbau, isozyme, Banten

ABSTRAK

Merbau (*Intsia bijuga* O.Ktze) merupakan salah satu jenis tanaman yang mempunyai banyak kegunaan dan bernilai ekonomi tinggi. Penebangan yang dilakukan secara terus menerus akan menurunkan keragaman genetik yang diperlukan untuk mengembangkan merbau. Tujuan penelitian adalah untuk menjelaskan hubungan antara keragaman genetik pada level isoenzim dan pertumbuhan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada dan lokasi uji keturunan yaitu di Kawasan Hutan

Penelitian Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Sobang Propinsi Banten selama 22 bulan mulai Pebruari tahun 2008 sampai Desember tahun 2009. Hasil penelitian menunjukkan adanya korelasi antara keragaman genetik dengan isoenzim dan pertumbuhan tanaman adalah positif untuk karakter tinggi, diameter dan percabangan yaitu sebesar 0,12, 0,10 dan 0,20. Korelasi genetik antara sifat tinggi, diameter dan percabangan dan korelasi antara keragaman isoenzim dengan pertumbuhan bersifat dinamis dan dapat berubah seiring dengan perkembangan waktu dan pertumbuhan tanaman.

Kata Kunci: merbau, isoenzim, Banten

I. PENDAHULUAN

Merbau merupakan salah satu jenis yang potensial untuk dikembangkan dalam pembangunan hutan tanaman khususnya di Papua. Untuk mendukung pembangunan hutan tanaman, maka diperlukan ketersediaan benih unggul antara lain melalui uji keturunan. Saat ini uji keturunan merbau telah dibangun pada dua lokasi dan salah satu diantaranya adalah di Kawasan Hutan dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Sobang Propinsi Banten.

Uji keturunan di Sobang dibangun menggunakan materi genetik dari 8 populasi merbau dan 100 famili. Untuk mengukur variasi genetik terdapat dua pendekatan yang dapat dilakukan yaitu dengan metode penanda genetik dan secara kuantitatif dapat pula diukur melalui pengujian penanaman di lapangan (Finkeldey, 2005). Butcher *et al.* (1999) mengemukakan adanya hubungan tingkat keragaman genetik dengan volume pertumbuhan pada uji provenansi atau uji keturunan *Acacia mangium*. Prihatini (2004) juga menemukan adanya hubungan yang positif nyata antara heterozigositas dengan lingkaran batang.

Penanda yang digunakan dalam studi juga bervariasi antara lain dengan isoenzim (Bush *et al.*, 1987; Kertadikara dan Prat, 1995; Martines *et al.*, 2005). Sampai saat ini hubungan antara keragaman isoenzim dengan pertumbuhan merbau belum dilakukan. Informasi tentang hubungan antara keragaman isoenzim dengan pertumbuhan merbau diperlukan untuk mendukung program pemuliaan merbau. Tujuan penelitian ini adalah

dapat menjelaskan hubungan antara keragaman genetik pada level isoenzim dan pertumbuhan pada tanaman merbau.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Metode

Sampel daun merbau diambil dari pertanaman uji keturunan umur 1,5 tahun di Sobang. Sampel diambil dari famili yang mewakili ranking atas, ranking tengah, dan ranking bawah berdasarkan perhitungan nilai pemuliaan (White dan Hodge, 1989). Setiap kategori ranking diwakili oleh 10 famili, dan setiap famili diwakili oleh 5 individu. Ranking famili didasarkan pada nilai pemuliaan (*breeding value*) pertumbuhan (volume) yang merupakan kombinasi antara sifat tinggi dan diameter. pada plot uji keturunan tersebut. Analisis isoenzim dilakukan dengan beberapa tahapan. Daun muda dari setiap semai diambil dan dihancurkan dengan mortar dan diberi larutan ekstrak buffer sebanyak 1 ml. Sampel yang telah hancur selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung ependorf dan diputar dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 0° C selama kurang lebih 20 menit. Larutan bening pada bagian atas yang disebut *supernatant* selanjutnya digunakan dalam proses elektroforesis. Elektroforesis dilakukan menurut Wendel dan Weeden (1989). Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan 4 sistem enzim yang sesuai untuk merbau yang telah dilakukan sebelumnya oleh Halim (2008) yaitu *Peroxidase* (POD), *Esterase* (EST), *Glutamate Oxaloacetate Transmirase* (GOT) dan *Diaphorase* (DIA). Setelah pewarnaan gel selanjutnya difiksasi dan Gel yang telah difiksasi selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan kertas kaca. Observasi gel dilakukan dengan memberi kode alel pada pita-pita atau *band* yang terdapat pada lembar gel.

B. Analisis Data

1. Keragaman Isoenzim

Parameter yang diamati meliputi rata-rata jumlah alel per lokus, jumlah efektif alel per lokus, persentase lokus polimorfik, heterozygositas teramati, dan heterozygositas harapan. Perhitungan semua parameter dilakukan dengan program komputer POPGENE 1.32 (Yeh, 2000). Jarak

genetik dihitung berdasarkan jarak genetik standar Nei (Nei, 1972) dan koefisien diferensiasi genetik (G_{st}) dihitung berdasarkan pengukuran Nei (Nei, 1987). Selanjutnya hubungan kekerabatan antar populasi digambarkan dengan dendrogram dari hasil analisis *klaster Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) berdasarkan jarak genetik standar Nei.

2. Korelasi Keragaman Isoenzim dan Pertumbuhan

Hubungan keragaman isoenzim dan kinerja pertumbuhan famili (ranking atas, tengah dan bawah) maupun asal populasi pada plot uji keturunan di Sobang dilakukan dengan menghitung nilai korelasi (r) menurut Falconer (1981).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Daya adaptasi Tanaman

Evaluasi hubungan antara keragaman molekuler dan pertumbuhan dilakukan pada plot uji keturunan di Sobang. Berdasarkan pengamatan pada umur 18 bulan persentase hidup rata-rata tanaman mencapai 91,6%. Berdasarkan asal populasinya (Tabel 1), terdapat variasi persentase hidup diantara populasi. Populasi Wasior memberikan persentase hidup terendah (87,5%) dan populasi Muskona menunjukkan persentase hidup tertinggi (94,2%). Adaptabilitas yang tinggi pada merbau kemungkinan disebabkan oleh tingkat keragaman genetik yang masih cukup besar pada 8 populasi alam yang digunakan dalam membangun plot uji keturunan ini (rata-rata $H_e=0,408$). Besarnya keragaman genetik dapat mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk mendukung adaptasi ekologi suatu jenis dalam jangka pendek dan evolusi dalam jangka panjang (Lande and Shannon, 1996).

Tabel (Table) 1. Persentase hidup tanaman merbau di Sobang umur 18 bulan (*Survival percentage of merbau plants in Sobang at 18 months*)

Populasi (<i>Population</i>)	Persentase hidup (<i>Survival percentage</i>) (%)	Nilai He (<i>He value</i>)
Babo	93,1	0,413
Muskona	94,2	0,424
Carita	89,4	0,400
Waigo	93,7	0,391
Manimeri	93,4	0,431
Oransbari	88,5	0,396
Sarmi	90,8	0,442
Wasior	87,5	0,365
Rata-rata	91,6	0,408

Merbau yang mempunyai keragaman genetik yang cukup tinggi mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang berbeda dengan populasi alaminya di Papua. Adaptabilitas yang tinggi untuk pertumbuhan pada uji keturunan di Sobang akan sangat membantu pertumbuhan tanaman pada plot uji keturunan di masa yang akan datang.

2. Keragaman sifat Pertumbuhan

Hasil analisis data uji keturunan merbau umur 18 bulan menunjukkan bahwa rerata pertumbuhan tinggi dan diameter terbaik dicapai oleh populasi dari Manimeri dan terendah Waigo dan Carita. Untuk sifat percabangan populasi Manimeri menunjukkan percabangan terbaik. Berdasarkan hasil pengamatan sifat-sifat fenotipe tanaman maupun hasil studi variasi genetik menggunakan penanda isoenzim pada populasi-populasi yang diuji terlihat adanya kecenderungan bahwa faktor genetik memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tinggi, diameter maupun percabangan tanaman merbau umur 18 bulan.

Populasi-populasi yang mempunyai tingkat variasi genetik yang tinggi seperti Manimeri, Muskona dan Babo secara umum menunjukkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik (Tabel 2). Nilai korelasi antara keragaman genetik (H_e) dan pertumbuhan tanaman positif untuk sifat

tinggi, diameter, dan percabangan yaitu 0,12; 0,10 dan 0,20. Moran *et al.* (1986) juga menemukan adanya hubungan yang positif antara heterozigositas pada level populasi dengan tinggi pohon pada jenis *Araucaria cunninghamii*.

Tabel (Table) 2. Pertumbuhan merbau dan keragaman genetik (H_e) berdasarkan analisis isoenzim dari 8 populasi merbau (*The growth of merbau and genetic diversity (H_e) based on isozyme analysis from 9 population of merbau*)

Populasi (Population)	Tinggi (Height) (cm)	Diameter (Diameter) (mm)	Skor percabangan (Branched Score)	Nilai H_e (H_e value)
Manimeri	85,4	9,6	2,67	0,431
Wasior	84,3	9,5	2,67	0,365
Muskona	77,4	9,0	2,53	0,424
Babo	75,6	9,0	2,57	0,413
Oransbari	73,4	8,9	2,62	0,396
Waigo	71,8	8,8	2,51	0,391
Sarmi	70,0	8,4	2,56	0,442
Carita	69,6	8,3	2,24	0,400
Rata-rata	78,2	9,1	2,56	

Hasil analisis isoenzim pada tiga kelompok pertumbuhan berdasarkan nilai pemuliaan (Lampiran 1) yaitu ranking atas, tengah dan bawah (Tabel 3) terlihat bahwa famili-famili pada ranking atas mempunyai nilai heterozigositas yang teramati (H_o) yang tinggi yaitu 0,651, sedangkan nilai H_o untuk ranking tengah dan bawah masing-masing 0,643 dan 0,594. Korelasi antara H_o dengan pertumbuhan tinggi dan diameter adalah 0,46 untuk tinggi dan 0,54 untuk diameter. Nilai heterozigositas harapan (H_e) untuk ketiga kelompok yaitu famili-famili dengan ranking atas, tengah dan bawah mempunyai nilai H_e yang relatif sama yaitu 0,482 (atas), 0,481(tengah) dan 0,484 (bawah). Hal ini dapat disebabkan karena umur tanaman yang masih muda yang akan terus tumbuh seiring pertambahan umur dan perubahan lingkungan serta pengendalian genetik karakter tersebut (Zobel dan Talbert, 1984).

Tabel (Table) 3. Nilai rerata tinggi, diameter, heterozigositas harapan (He) dan heterozigositas observasi (Ho) pada tiga kelompok merbau (*The average of height, diameter, expectation heterozigosity and observation heterozigosity on three merbau group*)

Kelompok (Group)	Nilai rerata (Average)		Rata-rata heterozigositas (average of heterozigosity)	
	Tinggi (height) (cm)	Diameter (Diameter) (mm)	He	Ho
Atas	99,1	10,2	0,482	0,651
Tengah	78,4	8,4	0,481	0,643
Bawah	67,3	7,6	0,484	0,594

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Khasa dan Bousquet (2001) menunjukkan adanya kemiripan pola variasi genetik berdasarkan alozim dan sifat-sifat fenotipe pada *Acacia auriculiformis*, namun untuk *A. mangium* terdapat kekurangserasian antara keduanya. Martines *et al.* (2005) menemukan hubungan yang lemah antara variasi genetik berdasarkan alozim dan sifat-sifat fenotipe pada *Pinus pinaster* (Martines *et al.*, 2005). Hasil studi yang dilakukan oleh Prihatini (2004) dengan penanda molekuler mikrosatelit mengemukakan adanya hubungan yang negatif antara heterozigositas dengan kelurusan batang pada *Acacia mangium* dan tidak nyata pada sistem percabangan tanaman. Nilai korelasi antara heterozigositas dengan pertumbuhan tanaman (baik yang tinggi maupun rendah) tersebut tidak selalu tetap sepanjang waktu. Oleh karenanya pengukuran dan pengamatan secara periodik harus terus dilakukan seiring dengan pertumbuhan tanaman.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Hubungan antara keragaman genetik dengan analisis isoenzim dan secara kuantitatif dengan pengujian di lapangan menunjukkan korelasi yang positif yang berarti ada korelasi antara keragaman genetik pada level isoenzim dengan pertumbuhan tanaman di lapangan.

2. Terdapat indikasi awal bahwa tingginya keragaman genetik populasi dengan isoenzim memberikan pengaruh terhadap daya adaptabilitas, pertumbuhan tinggi, diameter maupun percabangan tanaman merbau umur 18 bulan.

B. Saran

Pengukuran dan pengamatan secara periodik harus terus dilakukan seiring dengan pertumbuhan tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Bush, R.M., P.E. Smouse, F.T. Ledig. 1987. The fitness consequences of multiple-locus heterozygosity; the relationship between heterozygosity and growth rate in Pitch Pine (*Pinus rigida* Mill). *Evolution*. 41 (4)
- Butcher, P.A., J.C. Glaubitz, dan G.F. Moran. 1999. Application for microsatellite markers in the domestication and Conservation of forest trees. *Forest Genetic Resources Information* 27: 34-42.
- Falconer, D.S. 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Scientific & Technical. John Wiley and Sons, Inc, New York.
- Finkeldey, R. 2005. *An Introduction to Tropical Forest Genetics*, Institute of Forest Genetics dan Forest Tree Breeding, Georgia-August-University Göttingen, Busgenweg 2, D-37077 Göttingen, Germany.
- Halim, R.M.AE.L. 2008. *Variasi Genetik dalam dan antar Populasi Merbau dengan Analisis Isozim*. Skripsi Jurusan Budidaya Hutan, Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta
- Kertadikara, A.W.S., and D. Prat. 1995. Genetic structure and mating system in teak (*Tectona grandis* L.f.) provenances. *Silva Genetica* 44:(2-3).
- Khasa, P.D. dan J. Bausquet. 2001. Multivariate analysis of allozymes and morphometric variability in *Recosperma auriculiforme* dan *R. mangium*. *Silvae Genetica*. 50(5-6):191-199.
- Lande, R.C. and S. Shannon. 1996. The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment. *Evolution* 50:434-437.
- Martines, S.C.G., L. Gil, dan R. Alia. 2005. Genetic diversity of *Pinus Pinaster* in the Iberian Peninsula: a comparison of allozymes and quantitative traits. *Invest Agrar: Sist Recur For* 14 (1):3-12.
- Moran, G.F., O. Mouna, dan J.C. Bell. 1989. *Acacia mangium*: A Tropical forest tree of the coastal lowlands with low genetic diversity. *Evolution*, 43(1):231-235

- Nei , M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York
- Prihatini, I. 2004. Analisis tetua *Acacia mangium* menggunakan penanda mikrosatelit. Tesis Mahasiswa Program Studi Bioteknologi Antar Bidang Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In 'Isozymes In Plant Biology'. (eds P. Soltis and D. Soltis) 4(1):5-45 (Dioscorides Press: Portland).
- White, T.L dan G.R. Hodge. 1989. *Predicting Breeding Values*. Forestry Science. Kluwer Academic Publishers. London
- Yeh,F.C. 2000. Population Genetics. In A Young, D. Boshier dan T.Boyle (Eds), *Forest Conservation Genetics, Principle and Practice*. CABI Publishing.
- Zobel, B.J. and J.T. Talbert. 1984. *Applied Forest Tree Improvement*. John Wiley and Sons. Canada.

Lampiran 1. Nilai pemuliaan untuk ranking atas, tengah dan bawah
(*glorification value for high level, middle and bottom*)

Ranking (<i>level</i>)	No (<i>Number</i>)	Famili (<i>family</i>)	Nilai pemuliaan untuk volume (<i>glorification value for volume</i>)
Atas	1	70	0,67
	2	77	0,54
	3	49	0,53
	4	65	0,41
	5	78	0,39
	6	47	0,34
	7	81	0,32
	8	58	0,30
	9	50	0,29
	10	5	0,29
Tengah	46	4	-0,02
	47	108	-0,03
	48	102	-0,03
	49	25	-0,04
	50	32	-0,04
	51	1	-0,04
	52	21	-0,05
	53	59	-0,05
	54	91	-0,06
	55	14	-0,07
Bawah	91	97	-0,21
	92	15	-0,22
	93	87	-0,22
	94	38	-0,23
	95	45	-0,23
	96	34	-0,23
	97	35	-0,26
	98	33	-0,27
	99	64	-0,28
	100	92	-0,31