

**KERAGAMAN GENETIK POPULASI *Araucaria cunninghamii* MENGGUNAKAN  
PENANDA RAPD (RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA)  
*Population Genetic Diversity of Araucaria cunninghamii Using RAPD (Random Amplified  
Polymorphic DNA) Marker***

**A.Y.P.B.C Widyatmoko<sup>1</sup>, Elisabeth Selda Patrisia Lejo<sup>2</sup>, Aniek Prasetyaningsih<sup>2</sup>,  
Anto Rimbawanto<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan  
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582  
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

<sup>2</sup>Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana  
Jl. Dr. Wahidin Sudirohusodo no.05-25 Yogyakarta 55224  
Telp. (0274) 563929, Fax. (0274) 513235

**ABSTRACT**

*Genetic diversity information was needed for supporting genetic conservation and tree improvement program. Araucaria cunninghamii is one of Indonesian conifer species which has various potential uses. Information about genetic diversity and its distribution, and genetic relationship can be revealed using RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) molecular marker. The objective of the study was to analyze genetic diversity within and among 8 populations of A. Cunninghamii, and genetic relationship between populations. Leaf samples of 64 trees were collected from 7 populations in Papua and 1 population in Queensland (Australia). Genetic diversity was analyzed using 23 RAPD primers with 68 polymorphic loci. Mean genetic diversity within population was 0.270, and mean genetic distance among populations was 0.092. Some of the samples from the same population were grouped in the same cluster. But generally, the clustering of the samples did not reveal clear relationship of geographic distribution of the samples. Genetic relationship among A. cunninghamii populations revealed that 8 populations were divided into two groups. First group was consisted of 7 populations in Papua (Indonesia) and then split into 5 subcluster. Second group was population in Queensland (Australia).*

**Key Words : *Araucaria cunninghamii*, genetic diversity, RAPD**

**ABSTRAK**

Informasi tentang keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung program pemuliaan tanaman dan konservasi genetik. *Araucaria cunninghamii* merupakan salah satu tanaman konifer Indonesia yang mempunyai potensi manfaat beragam. Informasi tentang keragaman genetik dan distribusinya, serta hubungan kekerabatan dapat diketahui menggunakan penanda molekuler RAPD. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat keragaman genetik di dalam dan antar populasi serta hubungan kekerabatan antar populasi. Sampel daun diambil dari 64 pohon *A. cunninghamii* yang

berasal dari 7 populasi di Papua dan 1 populasi di Queensland (Australia). Analisis keragaman genetik dilakukan dengan menggunakan 23 primer RAPD yang menghasilkan 68 pita polimorfik. Rata-rata nilai keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii* adalah 0,270. Rata-rata nilai jarak genetik antar populasi *A. cunninghamii* adalah 0,092. Hubungan kekerabatan antar individu *A. cunninghamii* tidak memperlihatkan hubungan yang jelas dengan distribusi geografis individu tersebut walaupun memperlihatkan kecenderungan pengelompokan individu-individu yang berasal dari populasi yang sama. Hubungan kekerabatan antar populasi *A. cunninghamii* membagi 8 populasi menjadi 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari populasi-populasi yang terletak di Papua (Indonesia) yang terbagi menjadi 5 subklaster, sedangkan kelompok kedua adalah populasi Queensland (Australia).

**Kata Kunci : *Araucaria cunninghamii*, keragaman genetik, RAPD**

## I. PENDAHULUAN

*Araucaria cunninghamii* merupakan salah satu jenis tanaman hutan di Indonesia yang mendapat perhatian cukup besar untuk dikembangkan melalui program pemuliaan tanaman dan konservasi sumberdaya genetik. Hal ini disebabkan potensi manfaat yang dimilikinya sangat beragam. *A. cunninghamii* merupakan salah sumber pokok kayu berkualitas tinggi untuk industri. Kayunya sangat baik untuk bahan baku industri kertas dan *pulp*, *plywood*, vinir, panel, lantai, kerangka dan kayu pertukangan serta mengandung getah yang dapat disadap. *A. cunninghamii* merupakan salah satu jenis konifer dalam famili Araucariceae yang tersebar alami di Queensland (Australia), Papua (Indonesia), dan Papua Nugini. Di Indonesia, jenis ini terdapat di Papua, menyebar antara lain di Serui, Wamena, Manokwari, Jayapura, dan Fak-Fak.

Program pemuliaan dan konservasi *A. cunninghamii* di Indonesia telah dimulai sejak tahun 2001 dengan dilakukannya eksplorasi di Pegunungan Kebar, Manokwari. Uji keturunan, kebun konservasi *ex-situ* dan beberapa plot uji

lainnya telah dibangun di KHDTK Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Bondowoso, Jawa Timur. Untuk mendukung program konservasi dan pemuliaan *A. cunninghamii*, dibutuhkan informasi keragaman genetik jenis ini secara lengkap. Informasi keragaman genetik *A. cunninghamii* telah dilaporkan oleh Widyatmoko *et al.* (2005), namun hanya menggunakan materi genetik dari populasi Manokwari dan Wamena saja.

Penanda DNA yang sering digunakan untuk analisis keragaman genetik adalah penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Welsh dan McClelland, 1990, Williams *et al.*, 1990). RAPD merupakan suatu penanda berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan primer pendek berukuran 10 basa. Kelebihan penanda ini antara lain relatif mudah untuk dilakukan dengan menggunakan peralatan yang cukup sederhana dan murah. Penelitian keragaman genetik menggunakan penanda RAPD telah dilaporkan pada beberapa jenis tanaman hutan, antara lain *Intsia bijuga* (Rimbawanto dan Widyatmoko, 2006), *Santalum album*

(Rimbawanto *et al.*, 2006a), *Eusideroxylon zwageri* (Sulistiyawati *et al.*, 2005; Rimbawanto *et al.*, 2006b), *Alstonia scholaris* (Hartati *et al.*, 2007) dan *Gyrinops verstegii* (Widyatmoko *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik dan distribusinya, serta hubungan kekerabatan dari 8 populasi *A. cunninghamii* (7 populasi di Papua dan 1 populasi di Queensland) menggunakan penanda RAPD untuk mendukung program konservasi dan pemuliaan jenis tersebut.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Bahan Penelitian

Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang berasal dari 64 pohon (famili) *A. cunninghamii*. Materi ini berasal dari 7 populasi di Papua, Indonesia dan 1 populasi di Queensland, Australia. Materi genetik dari Queensland berasal dari sumber benih dan kedelapan sampel yang digunakan berasal dari famili (*seedlot* yang berbeda) yang tersebar di beberapa populasi di Queensland. Materi daun ini dikoleksi dari persemaian yang berasal dari 64 pohon induk tersebut di atas. Detail nama popu-

lasi, jumlah famili per populasi dan lokasinya disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.



Gambar 1. Lokasi sampel *A. cunninghamii* yang digunakan dalam penelitian  
1 = Peg. Cyklop, 2 = Peg. Wian, 3 = Peg. Piramid, 4 = Peg. Napua, 5 = Serui, 6 = Kebar, 7 = Fak-fak, 8 = Queensland

### B. Metode Penelitian

#### 1. Ekstraksi DNA dan Prosedur RAPD

Ekstraksi DNA bertujuan untuk mendapatkan total DNA dari setiap sampel daun yang akan diuji. Sampel daun dari masing-masing individu diekstraksi dengan metode CTAB (Murray dan Thompson, 1980) yang telah dimodifikasi (Shiraishi dan Watanabe, 1995). Seratus (100) mg daun diekstraksi menggunakan *buffer* yang

Tabel 1. Data populasi dan jumlah sampel *A. cunninghamii* yang digunakan dalam penelitian.

No.	Populasi	Jumlah Sampel	Provenan	Posisi geografis		Ketinggian tempat (dpl)
				Bujur (Timur)	Lintang (Selatan)	
1.	Peg. Cyklop	6	Jayapura	140°(17-53)'	4°(12-42)'	1.600
2.	Pegu. Wian	6	Wamena	141°(4-57)'	5°(33-69)'	1.500
3.	Peg. Piramid	8	Wamena	139°(9-77)'	4°(7-69)'	1.600
4.	Peg. Napua	12	Wamena	138°(9-83)'	3°(3-69)'	1.700
5.	Serui	10	Serui	135°(17-60)'	2°(5-51)'	800
6.	Kebar	8	Manokwari	133°(6-64)'	2°(6-64)'	1.200
7.	Fak-fak	6	Fak-fak	132°(12-47)'	2°(12-47)'	900
8.	Queensland	8	Queensland	-	-	-
	Jumlah	64				

terdiri dari psd H<sub>2</sub>O, 1 M Tris pH 9,0, 5 M NaCl, 0,5 M EDTA, 10% CTAB dan β-mercaptoethanol. Hasil ekstraksi DNA dipurifikasi menggunakan GeneClean III Kit (Q-biogene) dan dilarutkan hingga konsentrasi 2,5 ng/μl untuk reaksi PCR.

Reaksi PCR dilakukan dengan volume total 10 μl yang mengandung 1 x *buffer* (10 mM Tris-HCl pH 8,3, 10 mM KCl), 3,0 MgCl<sub>2</sub>, 200 μM tiap dNTP, 0,25 μM primer, 0,5 unit/10 μl AmpliTaq DNA polimerase (*Stoffet Fragment, Applied Biosystems*), dan 10 ng larutan DNA. Primer yang digunakan sebanyak 23 primer dari *Operon Technology* (Tabel 2). Proses PCR diawali dengan pemanasan awal (94°C, 3 detik) dan inkubasi (95°C, 60 detik). Tahap selanjutnya adalah amplifikasi sebanyak 45 siklus yang terdiri dari denaturasi (94°C, 30 detik), penempelan (37°C, 30 detik) dan pemanjangan (72°C, 90 detik). Reaksi PCR diakhiri dengan pemanjangan akhir (72°C) selama 5 menit. Reaksi PCR tersebut dilakukan pada mesin *thermocycler GeneAmp PCR System 9700 Applied Biosystems*. Hasil amplifikasi PCR dielektroforesis pada 1,5% gel Agarose, 20X *TBE Buffer* dan 0,5 % Ethidium bromide selama 2 jam pada 120V. Hasil elektroforesis difoto menggunakan *BIO-RAD Gel Doc TMEQ*.

## 2. Analisis Data

Hasil visualisasi pita-pita DNA diskoring berdasarkan keberadaan pita DNA hasil amplifikasi dengan klasifikasi "1" bila terdapat pita hasil amplifikasi, dan "0" bila tidak terdapat pita hasil amplifikasi. Hasil skoring dianalisis dengan *software program POPGENE 1.32* (Yeh *et al.*, 1999) untuk menghitung nilai keragaman genetik

dan jarak genetik berdasarkan *Nei's Gene Diversity* (1978) dan *Nei's Original Measures of Genetic Distance* (1978). Analisis kluster mengelompokkan populasi dalam suatu konsep jarak genetik menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Averaging*). Hasil analisis kluster ditampilkan dalam bentuk dendogram.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Seleksi Primer dan Lokus Polimorfik

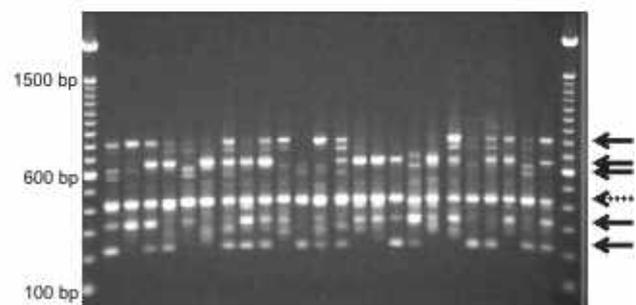
Studi keragaman genetik tanaman *A. cunninghamii* menggunakan penanda RAPD diawali dengan kegiatan memilih dan menyeleksi primer yang akan digunakan dalam kegiatan analisis RAPD. Kegiatan seleksi primer dilakukan dengan melihat hasil amplifikasi PCR dan elektroforesis dari masing-masing primer. Kriteria primer yang dapat digunakan untuk analisis RAPD antara lain: primer yang dapat menghasilkan pita-pita DNA yang polimorfik, pita-pita yang dihasilkan jelas, reproduksibilitas baik, hasil amplifikasi pita DNA relatif stabil dan mudah dibaca (Hartati *et al.*, 2007). Dari 80 macam primer yang dicoba, dipilih 23 primer yang memenuhi kriteria dan dapat digunakan untuk analisis RAPD (Tabel 2). Widyatmoko *et al.* (2005) telah menyeleksi 14 primer untuk analisis keragaman genetik *A. cunninghamii*. Seleksi untuk penelitian ini dilakukan kembali untuk menambah jumlah primer dan lokus yang dihasilkan. Salah satu primer yang dipilih adalah OPG-04 (Gambar 2). Primer ini menghasilkan beberapa lokus polimorfik dan 1 lokus monomorfik. Berdasarkan kriteria di atas, hanya 5 lokus polimorfik yang dipilih dan digunakan untuk analisis keragaman genetik.

Primer yang baik digunakan untuk PCR-RAPD adalah primer yang memiliki kandungan basa G+C antara 60%-70% (Hartati *et al.*, 2007). Basa G dan C tersebut akan membentuk ikatan hidrogen rangkap tiga dengan basa komplementernya, sehingga dapat mengikat kuat pada urutan DNA target sepanjang genom. Dua puluh tiga primer yang terseleksi menunjukkan kandungan basa G+C antara 60-70%, sehingga primer-primer ini baik digunakan untuk analisis PCR-RAPD.

Analisis RAPD terhadap *A. cunninghamii* yang berasal dari 8 populasi yaitu populasi Serui, Pegunungan Pyramid, Pegunungan Wian, Pegunungan Napua, Kebar, Pegunungan Cyklop, Fak-Fak dan Queensland dengan menggunakan 23 primer, menghasilkan 68 lokus polimorfik. Jumlah lokus polimorfik yang dihasilkan masing-masing primer berbeda-beda, berkisar antara 1-6 lokus. Lokus polimorfik yang dihasilkan oleh 23

primer tersebut memiliki ukuran antara 230-1050 bp (*base pairs*).

Hasil pengamatan visual terhadap pita DNA hasil amplifikasi pada 23 primer memperlihatkan adanya perbedaan jumlah dan ukuran lokus DNA polimorfik. Grosberg *et al.* (1996), menyatakan bahwa jumlah fragmen yang teramplifikasi oleh suatu primer tergantung jumlah letak perlekatan primer pada genom individu tersebut. Perbedaan ini terjadi karena masing-masing primer memi-



Gambar 2. Pita DNA hasil amplifikasi PCR dengan primer OPG-04.  
 ..... : lokus monomorfik  
 → : lokus polimorfik

Tabel 2. Primer yang digunakan untuk analisis RAPD

No.	Primer	Sekuens (5' - 3')	Kandungan G+C (%)
1.	OPA-07	GAAACGGGTG	60
2.	OPA-08	GTGACGTAGG	60
3.	OPA-09	GGGTAACGCC	70
4.	OPA-19	CAAACGTCGG	60
5.	OPD-03	GTCGCCATCA	60
6.	OPD-13	GGGTGACGA	70
7.	OPG-04	AGCGTGTCTG	60
8.	OPG-07	GAACCTGCGG	70
9.	OPG-08	TCACGTCCAC	60
10.	OPG-10	AGGGCCGTCT	70
11.	OPG-17	ACGACCGACA	60
12.	OPJ-06	TCGTTCCGCA	60
13.	OPJ-15	TGTAGCAGGG	60
14.	OPK-18	CCTAGTCGAG	60
15.	OPP-09	GTGGTCCGCA	70
16.	OPQ-07	CCCCGATGGT	70
17.	OPQ-14	GGACGCTTCA	60
18.	OPQ-15	GGGTAACGTG	60
19.	OPW-03	GTCCGGAGTG	70
20.	OPW-04	CAGAAGCGGA	60
21.	OPW-11	CTGATGCGTG	60
22.	OPW-17	GTCTGGGTT	60
23.	OPZ-13	GACTAAGCCC	60

OP: Operon Primer; A-Z: Seri primer dari Operon Primer;  
 Sekuens: susunan sekuen dari masing-masing primer

liki urutan nukleotida yang berbeda satu dengan yang lainnya. Oleh karenanya, daerah perlekatan masing-masing primer di sepanjang genom juga akan berbeda yang mengakibatkan daerah yang teramplifikasi juga akan berbeda. Oleh sebab itu, ukuran fragmen DNA yang teramplifikasi juga berbeda-beda.

### B. Keragaman Genetik *A. cunninghamii*

Analisis keragaman genetik berdasarkan Nei (1978) menunjukkan bahwa keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii* berkisar antara 0,2222-0,3066. Nilai keragaman genetik di dalam populasi yang tertinggi terdapat pada populasi Pegunungan Napua yaitu 0,3066, diikuti oleh populasi Serui (0,2951). Sedangkan nilai keragaman genetik di dalam populasi yang terendah terdapat pada populasi Fak-Fak yaitu 0,2222 (Tabel 3).

Rata-rata nilai keragaman genetik di dalam populasi dari delapan populasi *A. cunninghamii* adalah 0,270. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya pada jenis yang sama yaitu 0,275 (Widyatmoko *et al.*, 2005). Angka ini juga lebih tinggi daripada rata-rata keragaman

genetik untuk kelompok tanaman jenis tropis dan konifer yaitu 0,211 dan 0,207 (Hamrick, 1989). Apabila dibandingkan dengan jenis lain dari famili yang sama, yaitu *Agathis boorneensis* (0,140) dan *Araucaria angustifolia* (0,056) (Auler *et al.*, 2002), maupun dengan jenis-jenis konifer lain seperti *Pinus longaeva* (0,146), *P. attenuata* (0,150), *P. radiata* (0,170), dan *Pseudotsuga menziessi* (0,190) (Lee *et al.*, 2002), rata-rata keragaman genetik *A. cunninghamii* jauh lebih tinggi.

Nilai keragaman genetik yang tinggi di dalam populasi-populasi *A. cunninghamii* kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal, yaitu: 1) tingginya keragaman genetik awal dari jenis ini, 2) belum banyak mendapat gangguan baik oleh alam maupun tangan manusia sehingga kondisinya masih terjaga dengan baik, dan 3) terjadinya perkawinan secara random sehingga stabilitas keragaman genetik tetap terjaga. Habitat alami *A. cunninghamii* yang terletak di lereng gunung ataupun di puncak gunung menyebabkan kesulitan bagi manusia dalam usaha penebangan maupun transportasi.

Tabel 3. Nilai keragaman genetik di dalam populasi (diagonal) dan antar populasi (di bawah diagonal) dari 8 populasi *A. cunninghamii*.

Populasi	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>1</b>	<b>0,2951</b>							
<b>2</b>	0,1057	<b>0,2670</b>						
<b>3</b>	0,0899	0,0409	<b>0,2513</b>					
<b>4</b>	0,0527	0,0197	0,0248	<b>0,3066</b>				
<b>5</b>	0,0721	0,0432	0,0539	0,0418	<b>0,2605</b>			
<b>6</b>	0,0693	0,0562	0,0289	0,0279	0,0403	<b>0,2832</b>		
<b>7</b>	0,1511	0,2244	0,1938	0,1531	0,2080	0,1934	<b>0,2751</b>	
<b>8</b>	0,1184	0,0678	0,0840	0,0730	0,0555	0,0906	0,1925	<b>0,2222</b>
<b>Rata-rata</b>	0,092							<b>0,270</b>

Keterangan :

- |                  |                 |
|------------------|-----------------|
| 1 = Serui        | 5 = Kebar       |
| 2 = Peg. Piramid | 6 = Peg. Cyklop |
| 3 = Peg. Wian    | 7 = Queensland  |
| 4 = Peg. Napua   | 8 = Fak-Fak     |

Memperhatikan besarnya keragaman genetik dari 8 populasi tersebut, ternyata berhubungan dengan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini. Populasi Pegunungan Napua dengan jumlah sampel terbesar (12) memiliki nilai keragaman genetik di dalam populasi paling tinggi, disusul dengan Serui (10 sampel). Populasi Fak-Fak dengan jumlah sampel terkecil (6) memperlihatkan keragaman genetik yang terendah. Oleh karenanya, jumlah sampel juga menjadi faktor penentu untuk analisis keragaman genetik, khususnya untuk jenis-jenis seperti *A. cunninghamii* yang relatif aman dari gangguan. Widyatmoko (2006) menyampaikan bahwa jumlah minimal untuk mengkonservasi keragaman genetik 1 populasi ulin adalah 20 individu. Oleh karenanya, jumlah minimal tersebut yang mungkin juga diperlukan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik. Apabila sampel dari masing-masing populasi ditambah (khususnya populasi yang sampelnya masih sedikit), besarnya keragaman genetik dari masing-masing populasi dapat berubah. Selain itu, faktor seperti kondisi lokasi juga dapat mempengaruhi besar kecilnya keragaman genetik tersebut. Populasi pegunungan yang susah dijangkau akan tetap mempertahankan keragaman genetiknya dibandingkan dengan populasi yang lebih mudah dijangkau. Perbedaan keragaman genetik antara populasi yang belum terganggu (hutan alam) dengan yang sering dieksploitasi juga dilaporkan pada jenis *White Pine* (Marquardt dan Epperson, 2004) dan *Tuberous Orchid* (Jacquemyn *et al.*, 2009).

Apabila nilai keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii* dari masing-masing populasi dibandingkan dengan rata-rata nilai

keragaman genetik di dalam populasi, maka terlihat bahwa tidak ada perbedaan yang terlalu jauh antara rata-rata nilai keragaman genetik tersebut dengan nilai keragaman genetik dari masing-masing populasi. Hal ini menunjukkan bahwa keragaman genetik di dalam masing-masing populasi *A. cunninghamii* di habitat alaminya, relatif berada dalam kondisi yang sama yaitu berada dalam kondisi yang masih terjaga dengan baik dan belum mengkhawatirkan.

Timbulnya keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii*, disebabkan *A. cunninghamii*, seperti jenis tanaman hutan umumnya, melakukan penyerbukan silang (*out-crossing*), sehingga terjadi perkawinan acak yang menyebabkan variabilitas yang besar di dalam populasi-populasi tersebut. *A. cunninghamii* merupakan tumbuhan *dioecious* (berumah dua) yang menekankan terjadinya penyerbukan silang pada mekanisme determinasi seksnya (Stanfield, 1991). Penyerbukan pada *A. cunninghamii* yang dilakukan oleh angin memberikan kemungkinan lebih besar untuk terjadinya perkawinan secara acak.

Rata-rata nilai keragaman genetik antar populasi *A. cunninghamii* adalah 0,092, lebih tinggi daripada jenis konifer lain seperti *Pinus attenuata* (0,011), *P. radiata* (0,08), *P. sylvestris* (0,022) dan *P. menziesii* (0,050) (Lee *et al.*, 2002). Apabila nilai keragaman genetik antar populasi dibandingkan dengan nilai rata-ratanya, maka terlihat bahwa nilai keragaman genetik antar populasi-populasi di Papua, lebih rendah atau mendekati nilai rata-rata tersebut, sedangkan nilai keragaman genetik antar populasi terhadap populasi Queensland jauh lebih tinggi dari nilai rata-rata tersebut. Hal ini menggambarkan bahwa

populasi-populasi di Papua memiliki jarak genetik yang lebih dekat antara populasi satu dengan yang lainnya, daripada jarak genetik mereka terhadap populasi Queensland (Australia). Hal ini sesuai dengan jarak geografis dari populasi-populasi tersebut.

Keragaman genetik antar populasi disebabkan adanya proses evolusi dan adaptasi yang dilakukan oleh *A. cunninghamii* terhadap lingkungan habitatnya yang spesifik menyebabkan masing-masing populasi mengembangkan ciri spesifik secara morfologis dan genetis yang berbeda satu dengan yang lain. Letak geografis masing-masing populasi yang dipisahkan bentang alam seperti lautan, gunung, sungai atau danau juga membantu proses diferensiasi populasi.

Hasil analisis di atas menunjukkan bahwa keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii* jauh lebih besar daripada keragaman genetik antar populasi. Kecenderungan pola distribusi keragaman genetik seperti ini sesuai dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya pada populasi yang berkawin silang seperti populasi *Shorea leprosula* (Rimbawanto dan Suharyanto, 2005), dan *Alstonia scholaris* (Hartati *et al.*, 2007). Menurut Hamrick dan Godt (1989), pola distribusi keragaman dapat disebabkan oleh sistem perkawinan (*mating system*), sejarah populasi dan spesiasi, sebaran populasi, letak geografis dan *gene flow*; dan spesies yang berkawin silang, berdaur hidup panjang, sebarannya luas dan berkesinambungan dengan populasi yang besar cenderung memiliki keragaman genetik yang lebih besar di dalam populasi.

*A. cunninghamii* memiliki sistem penyerbukan dengan angin, sehingga proses perpindahan/migrasi gen (*gene flow*) melalui perpindahan polen dapat mencakup daerah penyebaran yang cukup luas. Populasi-populasi yang wilayahnya berdekatan memiliki intensitas *gene flow* yang cukup besar. Hal ini juga didukung dengan keberadaan *A. cunninghamii* dipuncak gunung dan jarak antara puncak gunung tersebut tidak terlalu jauh sehingga memberikan kesempatan yang cukup besar untuk terjadinya *gene flow* antar populasi. Adanya pertukaran gen antar populasi yang berdekatan ini menyebabkan kandungan genetik antara populasi satu dengan yang lainnya relatif sama, meskipun masing-masing populasi memiliki struktur dan ciri spesifik yang membedakan populasi satu dengan lainnya melalui proses adaptasi dan evolusi. Hal tersebut diduga menjadi salah satu yang menyebabkan keragaman genetik antar populasi *A. cunninghamii* jauh lebih kecil daripada keragaman di dalam populasi.

Peg. Piramid dengan populasi sumber benih Queensland memiliki nilai keragaman genetik antar populasi yang paling besar (0,2244). Hal ini memperlihatkan bahwa letak geografis dan aliran gen (*gene flow*) membentuk suatu pola distribusi keragaman genetik. Kedua populasi tersebut terpisah oleh jarak geografis yang cukup jauh, bahkan berbeda benua. Hal ini menyebabkan kemungkinan terjadinya *gene flow* antara kedua populasi sangat kecil. Sebaliknya populasi Peg. Piramid dan populasi Peg. Napua memiliki nilai keragaman genetik antar populasi yang terendah yaitu 0,0197 karena letak geografis kedua populasi berdekatan yaitu di Wamena. Hal ini

menyebabkan intensitas terjadinya *gene flow* cukup besar antara kedua populasi tersebut.

Berdasarkan hasil analisis keragaman genetik *A. cunninghamii* di atas, dapat terlihat bahwa kondisi populasi *A. cunninghamii* di alam masih bagus, terbukti dengan tingkat keragaman genetik dalam populasinya yang masih tinggi. Oleh sebab itu perlu segera dilakukan konservasi *in-situ* di beberapa wilayah sebaran alami *A. cunninghamii* agar kondisi populasi-populasi tersebut tetap terjaga dengan baik.

Konservasi *in-situ* dapat mencegah terjadinya eksploitasi yang tidak terkendali terhadap pohon-pohon *A. cunninghamii* yang mungkin terjadi di masa yang akan datang. Konservasi *in-situ* dapat mencegah terjadinya praktek penebangan yang hanya dilakukan pada pohon yang berfenotip bagus dan meninggalkan pohon dewasa yang terbatas jumlahnya dalam suatu populasi, sehingga menimbulkan erosi genetik akibat meningkatnya kawin kerabat (Boyle, 1996).

Keragaman genetik yang tinggi akan sangat membantu suatu populasi beradaptasi terhadap perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan sekitarnya, termasuk mampu beradaptasi terhadap penyakit-penyakit yang ada di alam. Spesies yang mempunyai keragaman genetik yang lebih tinggi kecenderungannya akan mempunyai kesempatan yang lebih besar untuk lolos dari seleksi alam dan bertahan dari kepunahan karena berkemungkinan lebih besar mempunyai tipe-tipe variatif yang adaptif untuk bertahan hidup (*survive*). Keragaman genetik yang tinggi juga membantu suatu spesies untuk menempati suatu daerah baru.

### C. Hubungan Kekerbatan *A. cunninghamii*

Nilai keragaman genetik antar populasi yang telah diperoleh kemudian digunakan untuk analisis kluster menggunakan metode UPGMA untuk mengetahui dendrogram hubungan kekerabatan antar individu (Gambar 3) dan antar populasi (Gambar 4) dari *A. cunninghamii*. Hasil analisis kluster individu menunjukkan bahwa pada beberapa individu yang berasal dari populasi yang sama memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dan memiliki kecenderungan untuk saling mengelompok seperti yang terlihat jelas pada individu-individu di populasi Queensland, tetapi secara umum pembagian kelompok individu tersebut tidak memperlihatkan hubungan yang jelas dengan distribusi geografis. Hasil pengelompokan individu seperti ini juga terlihat pada beberapa penelitian sebelumnya yaitu *A. cunninghamii* (Widyatmoko *et al.*, 2005) dan *Alstonia scholaris* (Hartati *et al.*, 2007).

Hasil analisis kluster populasi terhadap 8 populasi *A. cunninghamii* memperlihatkan pembagian kelompok yang jelas antar populasi-populasi yang berasal dari wilayah yang sama. Delapan populasi *A. cunninghamii* tersebut dibagi menjadi dua kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari populasi Serui, Peg. Pyramid, Peg. Napua, Peg. Wian, Peg. Cyklop, Kebar dan Fak-Fak yang terletak di Papua (Indonesia), sedangkan kelompok kedua adalah populasi Queensland (Australia). Kelompok pertama terbagi menjadi 5 subkluster. Subkluster pertama adalah populasi Serui; subkluster kedua terdiri dari populasi Peg. Pyramid dan Peg. Napua; subkluster ketiga terdiri dari populasi Peg. Wian dan Peg. Cyklop; subkluster keempat adalah populasi Kebar; dan subkluster kelima adalah

populasi Fak-Fak. Subklaster kedua dan subklaster ketiga kemudian membentuk menjadi satu kelompok. Seperti halnya dengan keragaman genetik, penambahan jumlah sampel pada masing-masing populasi (khususnya populasi yang sedikit jumlah sampelnya) dapat merubah pengelompokan di atas. Hasil analisis klaster populasi ini memperlihatkan adanya pengelompokan yang terjadi terkait dengan pembagian Papua menjadi 6 wilayah berdasarkan pertimbangan geogenetik (Widyatmoko *et al.*, 2005), dalam hal ini Wamena dan Jayapura berada pada wilayah yang sama.

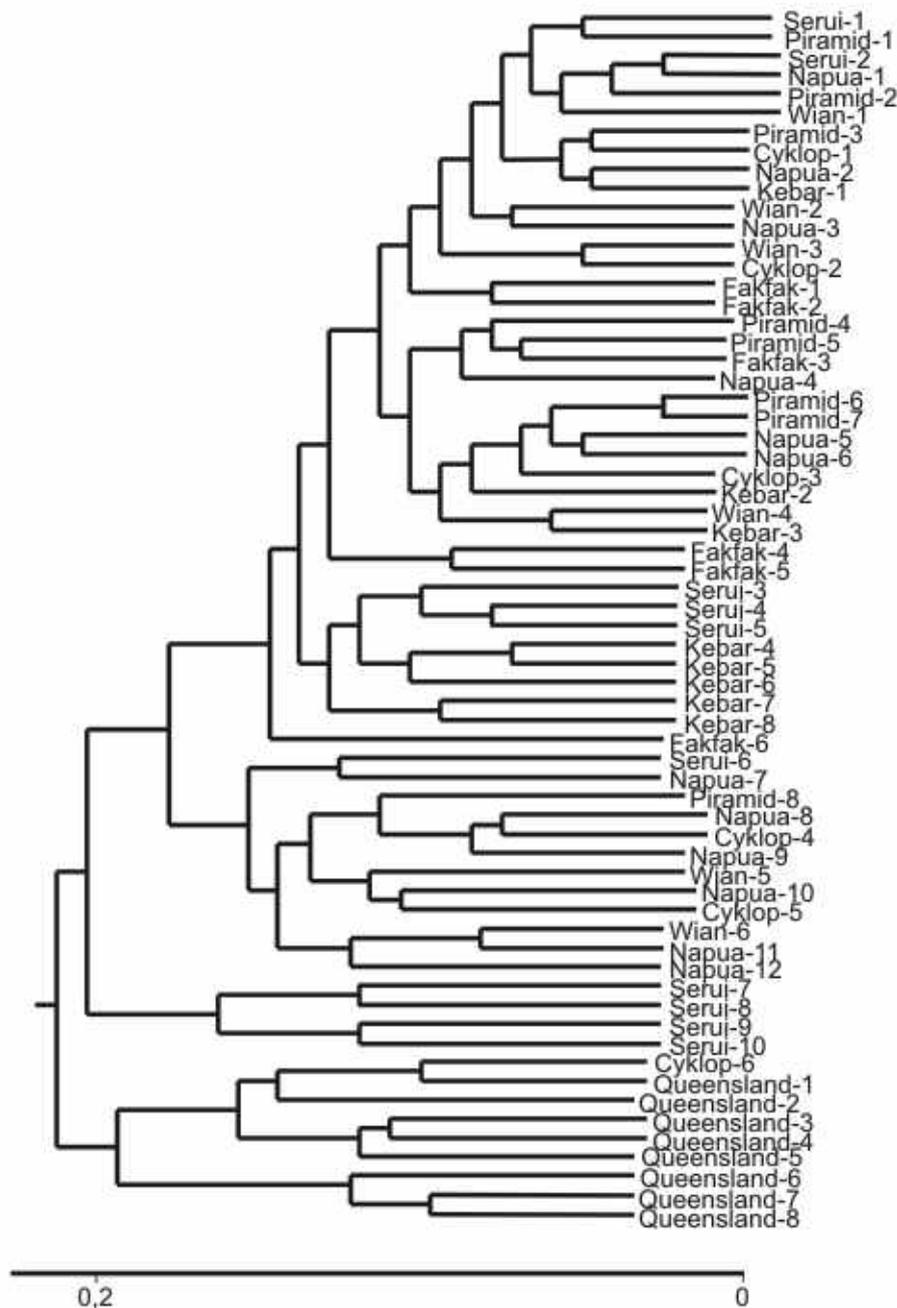
Seperti telah dijelaskan sebelumnya bahwa semakin dekat lokasi antar populasi akan memberikan kesempatan untuk menghasilkan intensitas *gene flow* yang lebih besar. Populasi-populasi yang terletak pada suatu wilayah yang cukup dekat akan membentuk suatu kelompok besar pada wilayah tersebut. Hal ini terbukti dengan terbentuknya satu kelompok populasi-populasi yang ada di Wamena dan Jayapura. Populasi Papua secara garis besar juga dapat terbagi menjadi 2 kelompok yaitu populasi di Pulau Papua dan Pulau Serui. Walaupun jarak antara Manokwari dan Fak-Fak lebih jauh daripada Serui terhadap Wamena dan Jayapura, ternyata secara genetik lebih dekat. Terpisahnya populasi Serui dari kelompok populasi lainnya disebabkan karena populasi ini terletak di pulau yang berbeda yaitu di Pulau Yapen. Terdapat dua kemungkinan terjadinya hal ini. Yang pertama yaitu intensitas *gene flow* dari darat melewati laut lebih kecil dibandingkan dari darat ke darat. Yang kedua adalah proses adaptasi dari populasi Serui yang tidak dipengaruhi oleh populasi lainnya sehingga membuat jarak genetik populasi

Serui dengan populasi lainnya semakin jauh. Populasi Queensland (Australia) yang terpisah jauh dari populasi-populasi lain yang ada di Papua (Indonesia) menyebabkan kemungkinan terjadinya *gene flow* antara kedua wilayah sangat kecil, sehingga mempengaruhi pengelompokan populasi ini. Terdapat beberapa varietas *A. cunninghamii* yang tersebar di Papua New Guinea (*var papuana*) dan Australia (*var cunninghamii*). Dengan demikian, pemisahan yang jauh antara populasi *A. cunninghamii* di Papua dan Queensland dapat juga disebabkan karena perbedaan varietas antara keduanya. Perbedaan filogenetik antara kedua lokasi akan memberikan perbedaan jalur genealogi sehingga wajar apabila kedua lokasi tersebut mempunyai jarak genetik yang jauh.

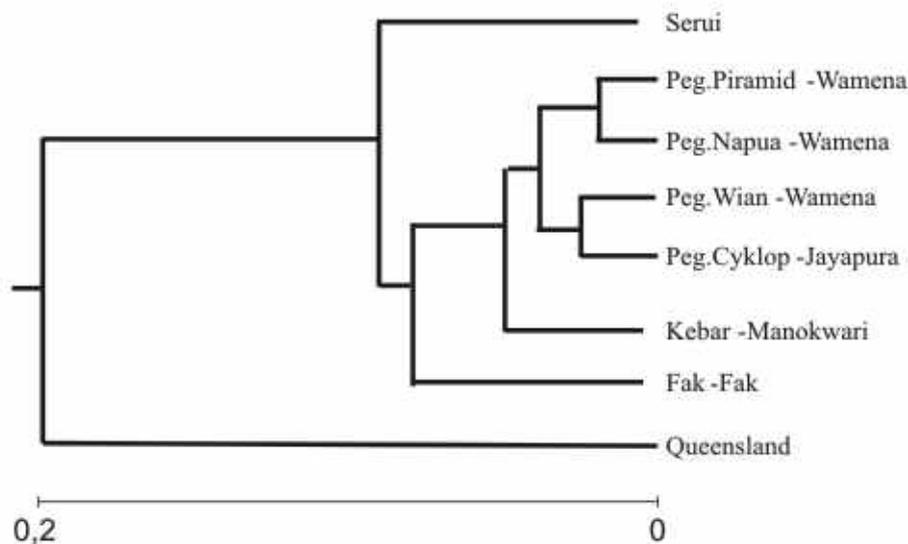
Kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman sangat memerlukan informasi tentang keragaman genetik dan hubungan kekerabatan. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa keragaman genetik *A. cunninghamii* masih tinggi untuk mendukung kegiatan pemuliaan dan konservasi. Untuk melakukan kegiatan eksplorasi baik untuk kegiatan pemuliaan maupun konservasi *ex-situ* sebaiknya mengoleksi jumlah individu yang banyak untuk suatu populasi di wilayah tertentu, sedangkan jumlah populasi yang mewakili wilayah itu cukup sedikit saja karena hubungan kekerabatan antar populasinya yang dekat. Jumlah dari koleksi individu dalam populasi tergantung pada potensi yang dimiliki oleh populasi tersebut. Apabila mencukupi, minimal jumlah individu adalah 20 yang mewakili sebaran individu dalam populasi tersebut (Yonezawa, 1985; *Center for Plant Conservation*, 1991). Sedangkan untuk jumlah populasi

dalam wilayah, minimalnya adalah 1 populasi, sehingga minimal jumlah populasi adalah 6 (Center for Plant Conservation, 1991). Tetapi apabila dana mencukupi, bisa lebih dari 1 populasi. Koleksi materi perlu dilakukan di masing-masing wilayah sebaran alami *A. cunninghamii* mengingat jenis ini memiliki pengelompokan

wilayah yang jelas. Untuk wilayah yang terdiri dari beberapa pulau, perlu dilakukan pengumpulan dari pulau-pulau tersebut. Untuk kegiatan konservasi *in-situ*, sebaiknya masing-masing wilayah minimal diwakili oleh 1 populasi yang mempunyai potensi tegakan terbaik.



Gambar 3. Dendrogram hubungan kekerabatan antar individu *A. cunninghamii*



Gambar 4. Dendrogram hubungan kekerabatan antar populasi *A. cunninghamii*

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, beberapa kesimpulan dapat disampaikan sebagai berikut:

1. Keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii* yang tertinggi dimiliki oleh populasi Napua (0,3066), sedangkan populasi Fak-Fak memiliki keragaman genetik yang terendah (0,2222). Rata-rata nilai keragaman genetik di dalam populasi *A. cunninghamii* adalah 0,270.
2. Populasi Peg. Piramid dan populasi Queensland memiliki jarak genetik antar populasi yang tertinggi (0,2244), sedangkan populasi Peg. Piramid dan populasi Peg. Napua memiliki jarak genetik antar populasi yang terendah (0,0197). Rata-rata nilai jarak genetik antar populasi *A. cunninghamii* adalah 0,092.
3. Hubungan kekerabatan antar individu *A. cunninghamii* tidak memperlihatkan hubungan yang nyata dengan distribusi geografis

individu tersebut tetapi memperlihatkan kecenderungan pengelompokan individu-individu yang berasal dari populasi yang sama.

4. Berdasarkan hasil analisis kluster, 8 populasi terbagi menjadi 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari populasi-populasi yang terletak di Papua (Indonesia), sedangkan kelompok kedua adalah populasi Queensland (Australia). Kelompok pertama terbagi menjadi 5 sub kluster, sesuai dengan pembagian wilayah geografisnya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Auler N. M. F., Reis, M. S., Guerra, M. P. dan Nodari, R. O. 2002. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. *Gen. & Mol. Biol.* **25**:329-338.

- Boyle, T. J. B. 1996. CIFOR's Research Programme on Conservation of tropical Forest Genetics Resources. Working Paper No. 9, Centre for International Forestry Research, Bogor.
- Center for Plant Conservation. 1991. Genetic Sampling Guidelines for Conservation Collections of Endangered Plants. In Falk, D. A., Holsinger, K. E. (eds). Genetics and Conservation of Rare Plants. New York: Oxford University Press. p. 225-238 (In Maile C. Neel and Michael P. Cummings. 2003. Effectiveness of Conservation Targets in Capturing Genetic Diversity. *Conservation Biology* 17:219-229).
- Grosberg, R.K., Leviton, D. R. dan Comeron, B. B. 1996. *Characterization of Genetic Structure and Genealogies RAPD-PCR Marker: A Random Primer for The Novice and Nervous*, J.D and Palumbi, S.R., *Molecular Zoology Advances. Strategies and Protocols*. John Willey and Sons Inc. Publication. New York.
- Hamrick, J. L 1989. Isozyme and The Analysis of Genetic Structure in Plant Population. In : Soltis, D.E and Soltis , P.S (Eds.) Isozyme in Plant Biology. Dioscorides Press, Oregon. pp 87-105
- Hamrick, J. L. dan Godt, M. J. 1989. Allozyme diversity in plant species. pp 43-63 In Brown, A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kahler and B. S. Weir (eds), Plant Population Genetics, Breeding and Germplasm Resources. Sinauer, Sunderland, Mass
- Hartati, D., Rimbawanto, A., Taryono, Sulistyaningsih, E. dan Widyatmoko, AYPBC. 2007. Pendugaan keragaman genetik di dalam dan antar provenan Pulau menggunakan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 1(2): 51-98.
- Jacquemyn, H., Brys, R., Adriaens, D., Honnay, O. dan Roldán-Ruiz, I. 2009. Effects of population size and forest management on genetic diversity and structure of the tuberous orchid *Orchis mascula*. *Conservation Genetics* 10: 161-168
- Lee, S-W., Ledig, F. T. dan Johnson, D. R. 2002. Genetic variation at allozyme and RAPD markers in *Pinus longaeva* (Pinaceae) of the White Mountains, California. *Am. J. Bot.* 89:566-577.
- Marquardt, P. E. dan Epperson, B. K. 2004. Spatial and population genetic tructure of microsatellites inwhite pine. *Molecular Ecology* 13: 3305-3315.
- Murray, M. G. dan Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nuc. Acid. Res.* 8:4321-4325.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Rimbawanto, A. dan Suharyanto. 2005. Keragaman Genetik Populasi *Shorea leprosula* Miq. dan Implifikasinya untuk Program Konservasi Genetik. Prosiding Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas Hutan Peningkatan Produktivitas Hutan-Peran Konservasi Sumber Daya Genetik, Pemuliaan dan Silvikultur dalam Mendukung Rehabilitasi Hutan, E.B

- hardiyanto (ed.). Fakultas Kehutanan UGM dan ITTO. Yogyakarta.
- Rimbawanto, A., Widyatmoko, AYPBC. dan Sulistyowati, P. 2006a. Distribusi Keragaman Genetik Populasi *Santalum album* berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3:175-181.
- Rimbawanto, A. dan Widyatmoko, AYPBC. 2006. Keragaman genetik empat populasi *Intsia bijuga* berdasarkan penanda RAPD dan implikasinya bagi program konservasi genetik. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3: 149-154.
- Rimbawanto, A., Widyatmoko, AYPBC. dan Harkingto. 2006b. Keragaman Populasi *Eusideroxylon zwageri* Kalimantan Timur berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3: 201-208.
- Shiraishi, S. dan Watanabe, A. 1995. Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. and *P. thunbergii* Parl. based on the polymorphism in *rbcL* gene. *J. Jpn. For. Soc.* 77: 429-436.
- Stanfield, W.D. 1991. *Theory and Problems Genetics*. 3rd Ed. Interational Ed. Shaum's Outline Series Singapore: Mc. Graw-Hill.
- Sulistyawati, P., Widyatmoko, AYPBC. dan Rimbawanto, A. 2005. Keragaman genetik empat populasi *Eusideroxylon zwageri* asal Kalimantan berdasarkan penanda RAPD. *Dalam*: Hardiyanto E.B. (ed). Prosiding Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas Hutan-Peran Konservasi Sumber Daya Genetik, Pemuliaan dan Silvikultur dalam Mendukung Rehabilitasi Hutan. Fakultas Kehutanan UGM dan International Tropical Timber Organization. Yogyakarta. pp. 383-395.
- Welsh dan McClelland, M. 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleid Acids Research* 18: 7213-7218.
- Widyatmoko, AYPBC. 2006. Strategi konservasi ulin berdasarkan informasi keragaman genetik. Prosiding Workshop Sehari Peran Litbang dalam Pelestarian Ulin. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman. pp141-148.
- Widyatmoko, AYPBC., Rimbawanto, A., dan Suharyanto. 2005. Keragaman Genetik *Araucaria cunninghamii* Menggunakan Penanda RAPD. Prosiding Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas Hutan-Peran Konservasi Sumber Daya Genetik, Pemuliaan dan Silvikultur dalam Mendukung Rehabilitasi Hutan, E.B Hardiyanto (ed.). Fakultas Kehutanan UGM dan ITTO. Yogyakarta. pp 397-408.
- Widyatmoko, AYPBC, Afrianti, R. D., Taryono dan Rimbawanto, A. 2009. Keragaman Genetik Lima Populasi *Gyrinops verstegii* di Lombok menggunakan Penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3:1-10.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. dan Tingey, S. V. 1990. DNA Polymorphism Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- Yeh, F.C., R.C. Yang, T.B.J. Boyle, Z.H. Ye, dan J.X. Mao. 1999. POPGENE 3.2, *The User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis*. Molecular Biology and

Biotechnology Center. University of Alberta.  
Edmonton.

Yonezawa, K. 1985. A definition of the optimal allocation of effort in conservation plant genetic resources with application to sample size determination for field collection. *Euphytica* **34**: 345-354.