

## KARAKTERISTIK MORFOLOGI DAN GENETIK TANAMAN PENGHASIL GAHARU (*Aquilaria spp*) ENDEMIK SUMATERA BARAT

Benni Satria, Gustian, Etti Swasti, Musliar Kasim<sup>\*)</sup>, dan Darnetti<sup>\*\*)</sup>

### ABSTRACT

*Agarwood (Aquilaria spp) is plant of the important tropical forest trees, which produces a high economically valuable fragrant resinous wood. The objective of this study was to characterize the agarwood based on morphological and genetic distance using RAPD markers. Characterization of the agarwood based on morphological and genetic distance by using RAPD markers is an alternative method to see variance morphological, genetic and condition population plant agarwood (Aquilaria sp) endemic West Sumatra. This experiment was conducted at rain forest West Sumatra and Laboratory Agronomy Agriculture faculty Andalas University, and Laboratory Biotechnology Seameo Biotrop Bogor, during March 2006 to December 2007. The result showed two major clusters for agarwood i.e. Aquilaria malacensis and Aquilaria microcarpa endemic West Sumatra by using phenotypic variabilities and RAPD markers. Broad genetic variabilities were found for long and wide leaf width.*

**Keyword :** morfologi, genetik, Agarwood, and RAPD.

<sup>\*)</sup> BDP Fakultas Pertanian Unand, email: satria\_bd@yahoo.com

<sup>\*\*)</sup> HPT Fakultas Pertanian Unand

### PENDAHULUAN

Tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria spp*) merupakan salah satu tanaman hutan penting di Indonesia dan juga beberapa negara seperti India, Singapura, Malaysia, dan Jepang, Timur Tengah, Amerika Serikat. Dalam perdagangan dunia, gaharu dikenal dengan nama agarwood, aloewood, eaglewood, oleh karena aromanya yang harum, sehingga termasuk komoditi mewah untuk keperluan industri, parfum, komestik, dupa, kemenyan, bahan baku obat-obatan, dan teh. Gaharu merupakan suatu substansi aromatik berwarna coklat muda, coklat tua dan coklat kehitaman sampai hitam yang terbentuk pada batang kayu penghasil gaharu (*Aquilaria spp*), sebagai respon pertahanan diri terhadap serangan patogen.

Rata-rata kuota ekspor gaharu yang diberikan untuk Indonesia sebanyak 300 ton per tahun, tetapi hanya dapat terpenuhi 10 % atau sekitar 30 ton setiap tahunnya. Menurut Faisal, Ketua Asgari (Asosiasi ekspor gaharu Indonesia) harga 1 (satu) kg gaharu kualitas super dihargai 5 juta rupiah oleh eksportir (Sumarna, 2002), dan ditingkat internasional harga gaharu double super dapat mencapai \$ 10.000 per kg (Faisal, 2005).

Dewasa ini permintaan gaharu di pasaran dunia semakin meningkat, sedangkan produsen menemui kendala dalam memperoleh gaharu dari petani. Menurut CITES (Convention on International Trade of Endangered Species) pada konvensi yang ke IX di Florida bulan Mei 1995, bahwa tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria spp*) dimasukkan dalam appendix II yang berarti penebangan dan ekspornya harus dibatasi dalam kuota dan berlaku pada semua negara dimana suatu jenis tanaman ini ditemukan (Barden, Anak, Mulliken dan Song, 2000).

Hasil penelitian Satria (2006) terhadap tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria spp*) endemik Sumatera Barat (Kabupaten Sawah Lunto/Sijunjung pada ketinggian 300 – 700 m dpl; Pesisir Selatan pada ketinggian 0 – 500 m dpl; Solok Selatan pada ketinggian 500 – 1500 m dpl, dan Kota Padang pada ketinggian 0 – 300 m dpl), bahwa populasi tanaman gaharu endemik Sumbar terutama jenis *Aquilaria malacensis* 2 – 3 tahun lagi terancam punah bila tidak segera dilestarikan. Selanjutnya di Kabupaten Mentawai sebelum tahun 1999 merupakan daerah penghasil gaharu Super yang berasal di Sumatera Barat, tetapi sejak tahun 1999 tanaman penghasil gaharu sudah terancam

punah. Saat ini perlu dilakukan survey terhadap isolat jamur penyebab terbentuk gubal gaharu yang berasal dari Mentawai pada ketinggian 0 – 700 m dpl, mengingat gubal gaharu yang dihasilkan dari daerah tersebut menunjukkan mutu super.

Sumatera Barat merupakan salah satu daerah yang masih memiliki tanaman gaharu *Aquilaria* spp, yang memiliki nilai ekonomi sangat tinggi, karena kandungan gaharu/gubalnya paling super dibandingkan jenis tanaman gaharu yang lain. Menurut CITES 1995 dan 2003 tanaman gaharu *Aquilaria malacensis* terancam punah bila tidak segera dibudayakan, mengingat sampai saat ini tanaman tersebut diburu, ditebang oleh masyarakat, terutama yang berumur 5 – 8 tahun walaupun kadangkala tanaman tersebut belum berisi gaharu/gubal. Umumnya di alam tanaman gaharu berbunga dan berbuah umur 10 tahun, dan apabila tanaman telah berumur diatas 15 tahun, di alam jarang tanaman tersebut berisi gaharu/gubal, tetapi apabila diperlakukan ada kemungkinan pohon berisi gaharu/gubal.

Penelitian keragaman morfologi dan genetik tanaman penghasil gaharu Sumatera Barat sampai saat ini belum/kalaupun ada sedikit sekali dilakukan penelitian. Satria, 2006 melaporkan bahwa di Kabupaten Sawahlunto/Sijunjung secara morfologi terdapat dua jenis *Aquilaria* spp, yaitu *Aquilaria malacensis*, *Aquilaria microcarpa*. Studi keragaman genetik tanaman penghasil gaharu endemik Sumatera Barat endemik Sumatera Barat, perlu dilakukan lebih awal melalui penanda molekuler.

Menurut William, Kubelik, Livak, Rafalsky, dan Tingey (1990) Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) merupakan salah satu penanda molekuler yang menggunakan prinsip kerja mesin PCR yang mampu mengamplifikasi DNA genom dengan menggunakan primer tunggal dari sekuens nukleotida acak. RAPD sangat banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik dan organisasi plasma nutfah tanaman namun sampai saat ini informasi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar tanaman *Aquilaria* spp pada tingkat DNA sangat terbatas bahkan belum ada laporan.

Penelitian ini bertujuan: 1). melihat keragaman morfologi tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp)endemik Sumatera Barat hasil koleksi Satria dan survey di Mentawai ;2). melihat keragaman genotipe tanaman penghasil

gaharu (*Aquilaria* spp) endemik Sumatera Barat melalui penanda molekuler.

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini telah dilakukan selama 9 bulan, dan penelitian ini merupakan bahagian dari serangkaian kegiatan penelitian Program Doktor dan Hibah Bersaing yang saling terkait antara penelitian tahun pertama, kedua dan ketiga. Penelitian tahun pertama merupakan tahap identifikasi keragaman morfologi dan genetik tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp) berdasarkan penciri molekuler. Percobaan ini dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi, Genetikan dan Pemuliaan Tanaman Jurusan BDP dan laboratorium HPT Faperta Unand Padang. Survey lapangan dilakukan untuk pengumpulan gubal gaharu dari pohon *Aquilaria* spp yang berasal dari Kabupaten Mentawai yang selama ini umumnya pohon gaharu di daerah tersebut mengandung gubal/gaharu super (mutu super), tetapi populasi tanaman gaharu disana terancam punah bila tidak dibudidayakan kembali (Satria, 2005-2006) di Laboratorium HPT dan Agronomi Faperta Unand.

Penelitian ini dilakukan dengan dua metode, yaitu 1). karakterisasi morfologi tanaman penghasil gaharu dilakukan dengan menggunakan metode survey yaitu pengambilan sampel secara sengaja bertingkat (purposive stratified sampling) jumlah sampel didapatkan setelah dilakukan survey pendahuluan (Nazir,1988), dan 2). karakterisasi molekuler dengan penanda RAPD.

Untuk mengetahui luas atau sempitnya variabilitas karakter yang diamati dilakukan analisis varians fenotipik dan standar deviasi. Nilai varians fenotipik dihitung sebagai berikut:

$$\sigma_f^2 = \frac{\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2 / n}{(n-1)} \quad (\text{Steel dan Torrie, 1995})$$

1995)

Keterangan:  $\sigma_f^2$  = varians fenotip

$X_i$  = nilai rata-rata genotip ke i

n = jumlah genotype yang diamati

Sedangkan standar deviasi varians fenotip dihitung sebagai berikut :

$$Sd = \frac{\sqrt{\sigma_f^2}}{(n-1)} \quad (\text{Anderson dan Brancoft, 1952})$$

dalam Daradjat, 1987)

Kriteria penelitian luas atau sempitnya

variabilitas karakter yang diamati dihitung berdasarkan criteria Daradjat(1987) sebagai berikut :  $\sigma_f^2 > 2.Sd_{\sigma_f^2}$  berarti variabilitas fenotip luas;

$\sigma_f^2 < 2.Sd_{\sigma_f^2}$  berarti variabilitas fenotip sempit.

Selanjutnya untuk data hasil karakterisasi molekuler di analisis dengan menggunakan program NTSYS-pc versi 2.02.

Sampel daun tanaman *Aquilaria* spp endemik Sumatera Barat (Kabupaten: Mentawai, Pesisir Selatan, Pasaman Barat dan Sawah Lunto/Sijunjung (Satria, 2005-2006, tidak dipublikasikan). Koleksi sebanyak 16 sampel daun dari genotipe-genotipe tanaman *Aquilaria* spp endemik Sumatera Barat, diambil dari daerah sentra pohon *Aquilaria*, yaitu Kabupaten: Mentawai, Pesisir Selatan, Pasaman Barat dan Sawah Lunto/Sijunjung. Pelaksanaan penelitian meliputi: 1. Karakteristik morfologi tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp); 2. Karakterisasi molekuler dengan RAPD; 3. Isolasi dan karakterisasi DNA; 4. Optimasi kondisi PCR dengan primer RAPD.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Identifikasi *Aquilaria* spp dilokasi Penelitian

Identifikasi morfologi tanaman *Aquilaria* spp. Endemik Sumatera Barat telah dilakukan terhadap tanaman jenis *Aquilaria* spp. yang dapat menghasilkan gaharu, dilakukan di 4 Kabupaten, yaitu Kabupaten : Mentawai (0-700 m dpl); Sawahlunto/Sijunjung (300-700 m dpl); Pesisir Selatan (0-500 m dpl) dan Pasaman Barat (0-800 m dpl). Setiap kabupaten ditetapkan 4 sampel pohon untuk diamati, sehingga terdapat 16 sampel pohon gaharu yang diamati. Karakter morfologi 16 buah sampel yang diperoleh berasal dari jenis *Aquilaria* spp bervariasi.

### 3.2. Karakterisasi Morfologi Tanaman Penghasil Gaharu (*Aquilaria* spp)

Hasil pengamatan terhadap morfologi daun dan batang *Aquilaria* spp. menunjukkan adanya variasi dari 16 sampel yang diambil dari 4 sampel perlokasi (Kabupaten Mentawai, Sawah Lunto/Sijunjung, Pasaman Barat dan Pesisir Selatan) sebagai mana yang tercantum pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa adanya

variasi terhadap lebar daun, panjang helaian daun, panjang tangkai daun, bentuk daun, bentuk ujung daun. Dari Tabel 1 terlihat bahwa lebar helaian daun berkisar antara 2,87-5,80 cm, dan panjang daun berkisar antara 6,10-11,60 cm. Terjadinya variasi pada ukuran daun mungkin disebabkan oleh perbedaan keadaan lingkungan seperti penyinaran, persediaan air dan kesuburan tanah. Kelebihan dan kekurangan hara di dalam tanah akan mempengaruhi kehidupan tumbuhan yang ada di atasnya (Ismal, 1995).

Dari Tabel 2 dapat dilihat panjang tangkai daun berkisar antara 0,30-0,80 cm. Ukuran tangkai daun ini berbeda-beda menurut jenis tumbuhan, bahkan pada satu tumbuhan ukuran dan bentuknya dapat berbeda (Tjitrosoepomo, 2001).

Bangun daun yang ditemukan ada 2 macam, yaitu *oblongus* (memanjang) dan *ovalis* (jorong). Menurut Poniran (1997), bentuk bangun daun *oblongus* (memanjang) termasuk ke dalam spesies *Aquilaria malacencis*, dan Sedangkan *Aquilaria microcarpa* mempunyai bangun daun *ovalis* dengan ukuran lebih besar. Pengelompokan bangun daun dikatakan *ovalis* jika perbandingan panjang : lebar = 1 ½ - 2 : 1 dan *oblongus* 2 ½ - 3 : 1 (Tjitrosoepomo, 2001).

Menurut Sumarna (2002), permukaan daun *Aquilaria* licin dan mengkilat. Warna permukaan atas daun berwarna hijau tua dan permukaan bawah warna hijaunya lebih muda. Pada umumnya warna daun pada sisi atas dan bawah jelas berbeda, biasanya sisi atas tampak lebih hijau, licin/mengkilat jika dibandingkan dengan sisi bawah daun. Perbedaan warna disebabkan karena warna hijau lebih banyak terdapat pada lapisan atas dari pada di lapisan bawah (Tjitrosoepomo, 2001).

Ujung daun *Aquilaria* meruncing. Menurut Tjitrosoepomo (2001), ujung daun meruncing jika kedua tepi daun di kanan kiri ibu tulang sedikit demi sedikit menuju keatas, dan titik pertemuan kedua tepi daunnya jauh lebih tinggi dari dugaan, hingga ujung daun nampak sempit panjang runcing. Sedangkan pangkal daun *Aquilaria* ada yang runcing (*acutus*), biasanya terdapat pada daun bangun memanjang, dan tumpul (*obtusus*) pada daun bangun jorong atau bulat telur.

Dari 16 sampel yang diamati terdapat 2 jenis pohon penghasil gaharu dengan warna batang yang berbeda, yaitu pohon penghasil gaharu dengan warna kulit batang keputih-

putihan, dan pohon penghasil gaharu dengan warna kulit batang coklat keputih-putihan, dan kedua jenis pohon ini berasal dari marga *Aquilaria* spp.

Pengamatan terhadap karakter morfologi buah dan biji dilakukan hanya pada 3 buah sampel saja, karena pada sampel yang lain tidak terdapat bunga dan biji saat dilakukan penelitian. Hal ini disebabkan karena terbentuknya bunga, buah dan biji bersifat musiman. Buah berada dalam polong berbentuk bulat telur, dengan warna kulit buah hijau, diameter buah berkisar antara 1,08-1,18 cm. Didalamnya terdapat 1 biji / lebih. Biji berbentuk bulat telur, warna coklat kehitaman yang ditutupi bulu-bulu halus berwarna kemerahan. Biji menggantung

pada sehelai benang tipis.

Dari analisis keragaman yang dilakukan terhadap 4 karakter kuantitatif didapat tingkat keragaman yang bervariasi. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari Tabel 5 didapat 3 karakter fenotip yang luas. Keragaman ini disebabkan oleh dua kemungkinan, yaitu faktor lingkungan dan genetik. Makin luas varians fenotipe maka semakin besar peran genetik dalam menampilkan keragaman karakter tanaman, sebaliknya makin rendah nilai varians fenotipe maka semakin besar faktor lingkungan dalam mempengaruhi penampilan karakter suatu tanaman (Drajat, 1987).

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Batang Tanaman Penghasil Gaharu (*Aquilaria* spp.) yang Terdapat di Empat Lokasi di Sumatera Barat

Sampel	Daerah Asal	Lebar daun (cm)	Panjang helaian daun (cm)	Panjang tangkai daun (mm)	Bentuk daun	Bentuk ujung daun	Warna Kulit batang
1.	Mentawai	3,45	11,14	0,70	Lonjong memanjang	Runcing	Keputih-putihan
2.	Muaro Sijunjung	4,70	8,30	0,70	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
3.	Pasaman Barat	3,90	6,20	0,50	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
4.	Pesisir Selatan	3,84	6,15	0,50	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
5.	Mentawai	2,87	8,02	0,40	Lonjong memanjang	Runcing	Keputih-putihan
6.	Muaro Sijunjung	2,90	8,10	0,50	Lonjong memanjang	Runcing	Keputih-putihan
7.	Pasaman Barat	4,10	6,10	0,50	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
8.	Pesisir Selatan	4,50	6,54	0,40	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
9.	Mentawai	4,80	8,65	0,50	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
10.	Muaro Sijunjung	4,75	8,82	0,40	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
11.	Pasaman Barat	4,40	8,14	0,50	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
12.	Pesisir Selatan	5,20	10,60	0,60	Bulat telur memanjang	Meruncing	Coklat keputihan
13.	Mentawai	3,18	9,30	0,50	Lonjong memanjang	Runcing	Keputih-putihan
14.	Muaro Sijunjung	4,65	8,71	0,30	Bulat telur memanjang	Meruncing	Keputih-putihan
15.	Pasaman Barat	5,60	11,60	0,80	Lonjong memanjang	Runcing	Keputih-putihan
16.	Pesisir Selatan	4,28	10,27	0,70	Lonjong memanjang	Runcing	Keputih-putihan

Tabel 2. Morfologi Bunga *Aquilaria* spp yang Terdapat di Empat Kabupaten di Sumatera Barat

Kabupaten	Warna Kelopak Bunga	Warna Mahkota Bunga	Jumlah Bunga per Tangkai	Warna Benang Sari	Warna Putik
Sijunjung	Putih	Kuning muda	20	Putih kekuningan	Hijau
Pessel	Putih	Kuning	19	Putih kekuningan	Hijau muda
Pasbar	Putih	Kuning	20	Putih kekuningan	
Sosel	Putih	Hijau muda Kuning Hijau muda	19	Putih kekuningan	

Tabel 3. Morfologi Buah *Aquilaria* spp yang Terdapat di Empat Kabupaten di Sumatera Barat

Kabupaten	Warna kulit buah	Bentuk Buah	Diameter buah (cm)	Berat 100 Buah (gram)
Sijunjung	Hijau muda	Oval	1,18	
Pessel	Hijau muda	Oval	1,08	
Pasbar	Hijau muda	Oval	1,10	
Sosel	Hijau muda	Oval	1,11	

Tabel 4. Morfologi Buah *Aquilaria* spp yang Terdapat di Empat Kabupaten di Sumatera Barat

Kabupaten	Warna biji	Bentuk Buah	Rerata Jumlah (buah)	Berat per biji (gram)
Sijunjung	Coklat tua	Bulat	2	
Pessel	Coklat tua	Bulat	2	
Pasbar	Coklat tua	Bulat	2	
Sosel	Coklat tua	Bulat	2	

Tabel 5. Analisis Keragaman Fenotip Terhadap 16 Sampel yang Berasal dari 4 Lokasi di Sumatera Barat untuk 3 Karakter Kuantitatif pada Tanaman *Aquilaria* spp

No.	Pengamatan	Ragam	$\frac{\sum(Xi - \bar{Xi})^2}{(n - 1)}$	Standar deviasi $Sd = \sqrt{\sigma^2}$	Variabilitas
1	Lebar helaian daun		273,72	2,205	Luas
2	Panjang helaian daun		103,49	1,356	Luas
3	Panjang tangkai daun		4,23	0,274	Luas

Dalam tiap spesies terdapat anggota kelompok populasi dengan ciri-ciri yang berbeda satu sama lain. Bahkan antara dua individu meskipun merupakan anggota spesies yang sama, keduanya dapat berbeda karena variasi berbagai faktor. Antara lain genetik, umur, stadium daur hidup, habitat, dan lain-lain. Secara genetik tidak ada dua individu dalam satu spesies yang persis sama. Apalagi faktor-faktor lingkungan juga ikut berpengaruh dalam timbulnya ciri-ciri yang muncul sebagai fenotip. Perbedaan ciri yang tampak pada anggota tiap spesies ini menyebabkan adanya keanekaragaman dalam spesies (Salam, 1994).

Keanekaragaman dalam spesies menyebabkan pada tiap anggota spesies dapat dilihat adanya kedekatan kekerabatannya satu sama lain. Semakin banyak persamaan ciri-ciri yang dimiliki semakin dekat kekerabatannya. Sebaliknya, makin sedikit persamaan dalam ciri-ciri yang dimiliki makin jauh kekerabatannya.

Dengan demikian dalam suatu spesies dapat dijumpai kelompok-kelompok populasi yang satu sama lain dibedakan berdasarkan persamaan dan perbedaan ciri morfologi atau fenotipnya (Salam, 1994). Keragaman dapat saja terjadi dan meningkat karena penyerbukan alami dan modifikasi akibat tanaman berada pada lingkungan yang berbeda dengan lingkungan asalnya (Poespodarsono, 1988).

### 3.4. Karakterisasi Molekuler DNA Tanaman Penghasil Gaharu (*Aquilaria* spp)

Untuk mengisolasi DNA tanaman terdapat berbagai metode yang telah dipublikasi, di antaranya adalah prosedur isolasi berdasarkan ekstraksi menggunakan CTAB (*cetyltrimethylammonium bromide*), yang pertama kali dikembangkan oleh Murray dan Thompson (1980), dan kemudian banyak digunakan untuk mengisolasi DNA dari jaringan tanaman segar (Taylor and Powell, 1982; Doyle and Dickson,

1987). Kombinasi antara pengendapan menggunakan CTAB dengan ekstraksi menggunakan kloroform sangat efektif untuk memisahkan karbohidrat yang sering menjadi masalah utama dalam berbagai prosedur isolasi lainnya (Taylor *et al.*, 1982).

Prosedur isolasi DNA menggunakan CTAB dimulai dengan menggerus organ tanaman yang merupakan sumber DNA di dalam nitrogen cair, kemudian mensuspensikan hasil gerusan di dalam bufer yang antara lain mengandung CTAB dan  $\beta$ -mercaptoethanol, dan memanaskan campuran tersebut pada temperatur 65°C. Kondisi perlakuan di atas akan menyebabkan sebagian besar protein mengalami denaturasi serta kontaminan lain akan terpisahkan. Di samping itu  $\beta$ -mercaptoethanol yang diberikan dalam campuran berperan dalam menghambat oksidasi fenol yang menyebabkan terjadinya proses pencoklatan pada jaringan tanaman tertentu. Protein terdenaturasi dan sebagian besar karbohidrat dipisahkan melalui dua tahapan ekstraksi menggunakan kloroform/isoamil alkohol. Asam nukleat (DNA dan RNA) kemudian diendapkan dengan isopropanol dingin dan dicuci dengan etanol 70%. Untuk menghilangkan RNA dilakukan inkubasi dengan menggunakan *RNase* sehingga DNA bebas dari RNA. Kualitas DNA ditentukan melalui pemotongan dengan enzim restriksi sedangkan kuantitas DNA melalui perbandingan dengan DNA marker.

Kualitas DNA tanaman gaharu dapat ditentukan berdasarkan kemampuannya di potong dengan menggunakan enzim endonuklease, enzim yang digunakan adalah *EcoRI*. Elektroforesis yang dilakukan terhadap DNA 16 genom tanaman gaharu menunjukkan kualitas DNA yang relatif sama setelah dibandingkan dengan DNA standar ( $\lambda$  DNA 25 ng/l). DNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi dan isolasi dapat dipotong. Hasil elektroforesis

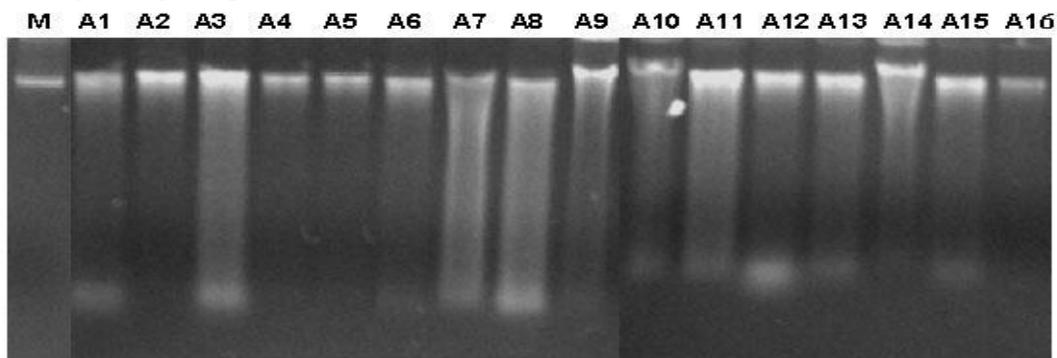
DNA dari 16 genom tanaman gaharu disajikan pada Gambar 1.

Optimasi kondisi PCR yang dilakukan dengan melakukan perubahan siklus PCR, setelah dilakukan amplifikasi DNA dengan menggunakan 20 primer, antara lain : OPA 01, OPB 02, OPC 03, OPD 04, dan OPE 01. Hasil elektroforesis pada berbagai kondisi PCR, setelah divisualisasikan pada gel dokumentasi memberikan kualitas pola pita yang berbeda.

RAPD merupakan teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* yang didasarkan pada reaksi berantai polimerase (*Polymerase Chain Reaction* = PCR). Amplifikasi dicapai melalui proses siklus berulang, dimana setiap siklus terdiri atas tahap denaturasi, annealing, dan extension. RAPD merupakan teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* yang didasarkan pada reaksi berantai polimerase (*Polymerase Chain Reaction* = PCR). Amplifikasi dicapai melalui proses siklus berulang, dimana setiap siklus terdiri atas tahap denaturasi, annealing, dan extension.

Tahapan denaturasi dilakukan pada temperatur tinggi untuk memisahkan utas ganda DNA menjadi utas tunggal, kemudian dilanjutkan dengan penurunan temperatur sehingga memungkinkan primer berikatan dengan sekuen komplemen pada DNA utas tunggal. Selanjutnya pada tahap extension, DNA polimerase yang stabil pada temperatur tinggi akan mensintesis DNA mulai dari tempat dimana primer berikatan dengan DNA templat.

Ketiga tahapan tersebut di atas biasanya diulang sebanyak 25 sampai 45 siklus. Dengan cara demikian maka produk utas ganda pada suatu siklus akan menjadi templat untuk siklus berikutnya, sehingga pada akhir siklus yakni setelah 3 sampai 4 jam kemudian, fragmen DNA yang diamplifikasi menggunakan mesin PCR akan terakumulasi secara eksponensial.



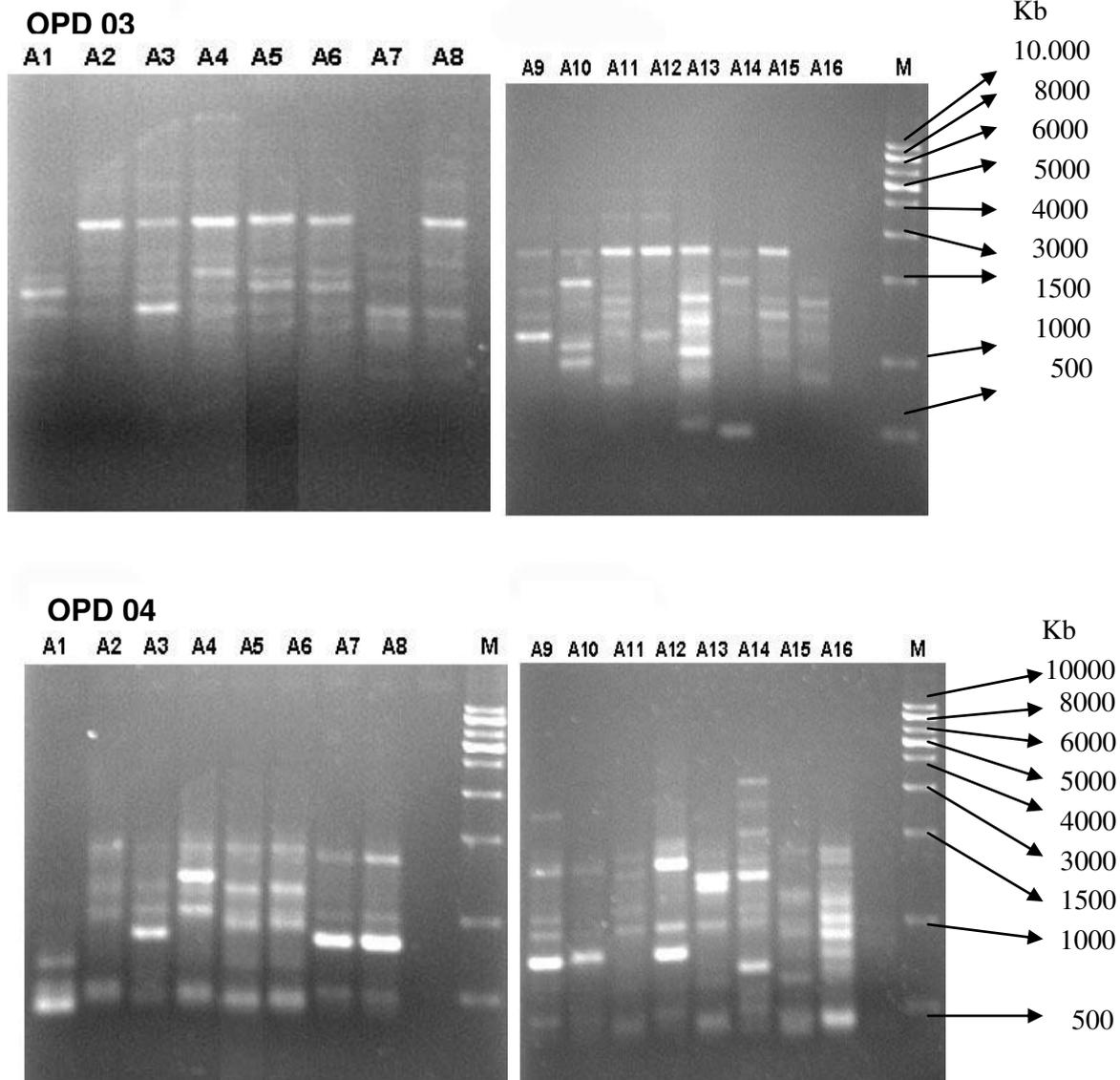
Gambar 1. Profil Pita DNA 16 Genom Gaharu Sumbar Setelah Purifikasi I

Produk amplifikasi dengan PCR dengan menggunakan 3 primer hasil seleksi (OPD3, OPD4, dan OPE 3) memberikan tingkat polimorfisme yang tinggi terhadap 16 genom tanaman gaharu. Setiap primer mampu menghasilkan pola pita DNA yang berbeda, dengan ukuran fragmen 500 – 10000 kb, untuk lebih jelasnya produk amplifikasi diajikan pada Gambar 2, 3, dan 4.

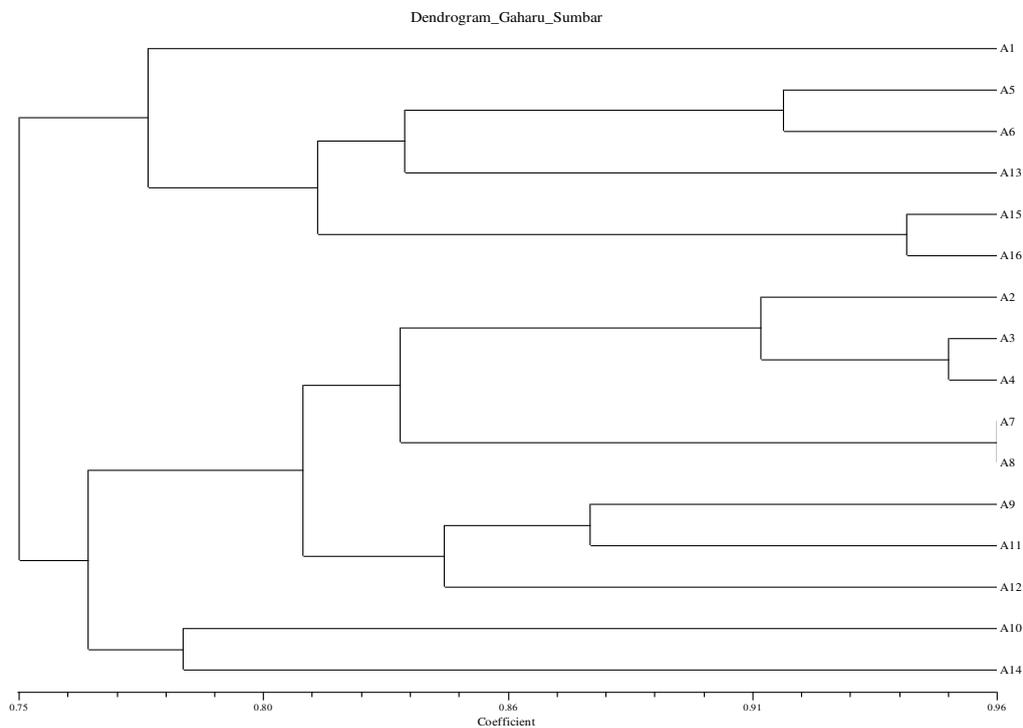
Berdasarkan matrik kesamaan genetik telah dilakukan analisis kluster (clusater analysis) Analisis ini bertujuan untuk melihat jarak genetik yang dimiliki oleh masing-masing

genetik tanaman gaharu. Untuk melihat tingkat perbedaannya dilakukan juga analisis bootstrap. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 6.

Pohon filogenetik (dendogram) produk amplifikasi PCR pada analisis RAPD berdasarkan analisis kluster yang dilakukan terhadap 16 genom tanaman gaharu, diperoleh matrik kesamaan untuk menentukan hubungan kesamaan genetik. Hasil analisis kluster nilai kesamaan matrik berkisar pada skala 0,75 samapai 1,0 dengan persentase kemiripan genetik berkisar antara 75 sampai 100%.



Gambar 4. Profil pita DNA 16 genom tanaman gaharu dengan primer OPD 04. M 10000 kb ladder, genom A1, A5,A9,A13 (Mentawai), genom A2,A6,A10,A14 (Sijunjung), A3,A7, A11, dan A15 (Pasaman Barat) dan A4,A8,A12,A16 (Pessel)



Gambar 6. Dendrogram dari Analisis Kluster UPGMA Menggunakan Koefisien Dice pada RAPD Gabungan Tiga Primer dengan 16 Genetik Tanaman Gaharu Sumbar. Angka pada Cabang Merupakan Ketelitian setelah Dilakukan Analisis Bootstrap.

Enam belas genom tanaman gaharu dari empat lokasi (Kabupaten: Mentawai, Muaro Sijunjung; Pasaman Barat dan Pesisir Selatan) setelah dianalisis terbagi dua kelompok utama. Kelompok pertama terdiri dari tanaman gaharu berasal dari Kabupaten: Muaro Sijunjung (A5), Mentawai (A6, A13 dan A1); Pasaman Barat (A15) dan Pesisir Selatan (A16); dan kelompok kedua terdiri dari tanaman gaharu berasal dari Kabupaten: Pasaman Barat (A3, A7, dan A11), Pesisir Selatan (A4, A8, dan A12), Mentawai (A9) dan Muaro Sijunjung (A10, A14 dan A2).

Tanaman Gaharu (*Aquilaria* spp) dari Mentawai dengan Muaro Sijunjung (A5 dan, A6; serta A1, A13) dan Pasaman Barat dengan Pesisir Selatan (A15 dan 16) pada kelompok pertama memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan persentase kemiripan 75%. Selanjutnya tanaman gaharu dari Pasaman Barat (A3, A7, dan A11), Pesisir Selatan (A4, A8, dan A12), Mentawai (A9) dan Muaro Sijunjung (A10, A14 dan A2) pada kelompok kedua memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan persentase kemiripan 75%. Satu genom dari Pasaman Barat dan Pesisir Selatan memiliki hubungan kekerabatan yang paling dekat, dengan persentase kemiripan 100%.

Persentase kemiripan yang lebih besar (84

%) menjadikan tanaman gaharu membentuk 8 kelompok. Ini menunjukkan bahwa perbedaan yang terjadi dilihat dari faktor genetik semakin kecil jarak genetiknya.

Karsinah (1999) pada tanaman jeruk mampu memberikan tingkat signifikansi yang lebih tinggi mencapai 96%. Hal ini disebabkan primer yang digunakan lebih sedikit, sehingga informasi gen yang dihasilkan sedikit memberikan pita DNA, dari 10 primer yang digunakan hanya 3 primer yang menghasilkan polimorfisme. Bustamam dan Moeljopawiro (1999), agar pengelompokan mempunyai nilai signifikansi yang tinggi (90 – 100%) dilakukan dengan penelusuran primer yang lain dengan tingkat signifikansi yang lebih tinggi. Lebih lanjut Roslim, Hartana dan Suharsono (2003) pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri. Akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda baik dalam ukuran, banyaknya pasang basa maupun jumlah pita DNA.

Banyaknya primer yang digunakan dalam suatu analisis RAPD akan berpengaruh terhadap informasi yang dihasilkan. Menurut Prana dan Hartati (2003) untuk menghasilkan kualitas

pita DNA produk amplifikasi PCR dalam analisis RAPD salah satu faktor yang harus diperhatikan adalah primer. Roslim et al., (2003) intensitas pita DNA produk amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh konsentrasi DNA cetakan, Grattapaglia et al., (1992); Weeden et al., (1992) sebaran situs penempelan primer pada DNA cetakan, dan adanya kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan yang menyebabkan satu fragmen di-amplifikasi dalam jumlah banyak dan fragmen yang lain lebih sedikit. Amplifikasi DNA terjadi jika primer menempel pada dua situs komplementer yang jaraknya berdekatan dan orientasinya saling terbalik. Jarak antara situs amplifikasi menghasilkan fragmen DNA dengan berbagai ukuran pasang basa. Besarnya perbedaan jarak genetik 16 genetik tanaman gaharu pada 4 lokasi, setelah dilakukan amplifikasi berdasarkan analisis RAPD dan perbedaan morfologi terutama karakter : bentuk daun, panjang helaian daun, lebar daun dan warna kulit batang tanaman gaharu (*Aquilaria* spp) menunjukkan bahwa keragaman tanaman gaharu (*Aquilaria* spp) di Sumatera Barat masih ada walaupun kemiripannya ada yang mencapai 100%.

#### SIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 1). Adanya keragaman secara morfologi tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp) endemik Sumatera Barat walaupun hubungan kekerabatannya dekat bila dilihat dari nilai keragaman fenotipnya; 2). dijumpai dua kelompok utama tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp) bila dilihat dari bentuk morfologi daun dan warna kulit batang dan bila dibandingkan dengan deskripsi dijumpai dua jenis tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp), yaitu *Aquilaria malaccensis*, *Aquilaria microcarpa*; 3). Adanya keragaman genetik tanaman penghasil gaharu (*Aquilaria* spp) endemik Sumatera Barat berdasarkan penciri molekuler (RAPD); dan 4). terdapat dua kelompok utama genetik tanaman penghasil gaharu bila dilihat dari dendogram (persentase kemiripan).

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang sejauhmana kompatibel jamur patogen, stressing agens dengan tanaman penghasil gaharu yang telah diketahui keragaman morfologi dan genetik tanaman penghasil gaharu dalam membentuk gubal gaharu.

#### DAFTAR RUJUKAN

- Barden, A., N.A., Anak, T. Mulliken, M. Song, (2000), **Heart of Matter : Agarwood Use and Trade and CITES Implementation for *Aquilaria Malaccensis***, Traffic International Cambridge, UK.
- CITES, (1995), **Review of Significant Trade *Aquilaria malaccensis*** <http://www.cites.org/eng/cttee/pe/14/E.PC> 14.09.02.02.Az.pdf
- \_\_\_\_\_, (2003), **Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Amandements to Appendices. I and II of CITES**, <http://www.cites.org/common/cop/13/rawprops/D-A>
- Drajat. A. A, (1987), **Variabilitas Adaptasi Genotipe Terigu Pada Berbagai Lingkungan Tumbuhan Indonesia**, Universitas Padjajaran, Bandung.
- Faisal, (2005), **Asgarin Jamin Populasi Gaharu**, Kompas, Jakarta. 36 hal.
- Karsinah, (1999), **Keragaman Genetik Plasma Nutfah Jeruk Berdasarkan Analisis Penanda RAPD**, Thesis Program Pascasarjana IPB, Bogor, 68 hal.
- Poespodarsono, (1988), **Pengantar Pemuliaan Tanaman**, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Poniran, (1997), **Budidaya Gaharu. Pusat Penyuluhan Kehutanan**, Departemen Kehutanan Bogor, Bogor.
- Salam, A. S, (1994), **Keanekaragaman Genetik**, Andi offset, Yogyakarta.
- Satria,B,(2003), **Identifikasi Spesies Tanaman Gaharu Secara Morfologi di Kabupaten Pesisir Selatan**, Laporan (tidak dipublikasikan), Yayasan Mapeni Indarun Padang, Padang.
- Satria,B, (2004), **Identifikasi Spesies Tanaman Gaharu Secara Morfologi di Kabupaten Sawahlunto/Sijunjung**, Laporan(tidak dipublikasikan), Yayasan Mapeni Indarung Padang, Padang.
- Satria, B, (2007), **Identifikasi Morfologi Tanaman Penghasil Gaharu (*Aquilaria* spp) di Kabupaten Solok**

**Selatan**

- Sumarna, Y.(2002), **Budidaya Gaharu**, Cet. Ke-1. Penebar Swadaya, Jakarta.80 hal.
- Taylor., Paul W.J. and S. Duke, (1983), *Development of An In Vitro Culture Technique for Conservation of Saccarum spp. Hybrid germplasm.* **Plant Cell Tissue, and Organ Culture**, 34 : 217 - 222
- Tjitrosoepomo, G, (2001), **Morfologi Tumbuhan**, Gajah Mada University press, Yokyakarta.
- Weeden, N.F., Timmerman, G.M., Hemmat, M., Kneen, B.E. dan Lodhi, M.A, (1992), *Ineritance and Reliability of RAPD Markers, Application of RAPD Tecnology to Plant Breeding*, **Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA**, Minneapolis, I November 1992.
- William, J.G.K, A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey, (1990), *DNA Polymorfisma Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Marker*, **Nucllc Acid Res**, 18 (22) 6531-6535.