

KAJIAN AWAL: IDENTIFIKASI PLASMA NUTFAH AREN SUMATERA UTARA DENGAN MARKA RAPD

Lollie Agustina P. Putri¹, Mahyuni Khairiyah², Yusuf Husni¹, dan Mohammad Basyuni³

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU, Jl. Prof. A. Sofyan no.3 Medan-20155

²Mahasiswa Program Magister Agroekoteknologi Fakultas Pertanian, USU

³Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian USU

ABSTRACT

The objective of this research was to study genetic diversity of *Arenga pinnata* germ plasm of Sumatera Utara. The analysis using RAPD primers was done at University of North Sumatera. The result of OPD-12 showed polymorphism on the population.

Key words: *Arenga pinnata*, RAPD analysis, polymorphism marker.

PENDAHULUAN

Tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr.) adalah tanaman tahunan yang potensial untuk dikembangkan di Indonesia. Tanaman aren merupakan tanaman multi manfaat, hampir seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan yaitu sebagai penghasil nira (bahan utama gula aren, minuman, cuka, dan alkohol), sumber energi terbarukan (bioethanol), sumber karbohidrat (tepung), bahan campuran minuman (kolang-kaling), bahan bangunan (batang) dan sebagai tanaman konservasi untuk lahan-lahan kritis (Fahmi, 2011).

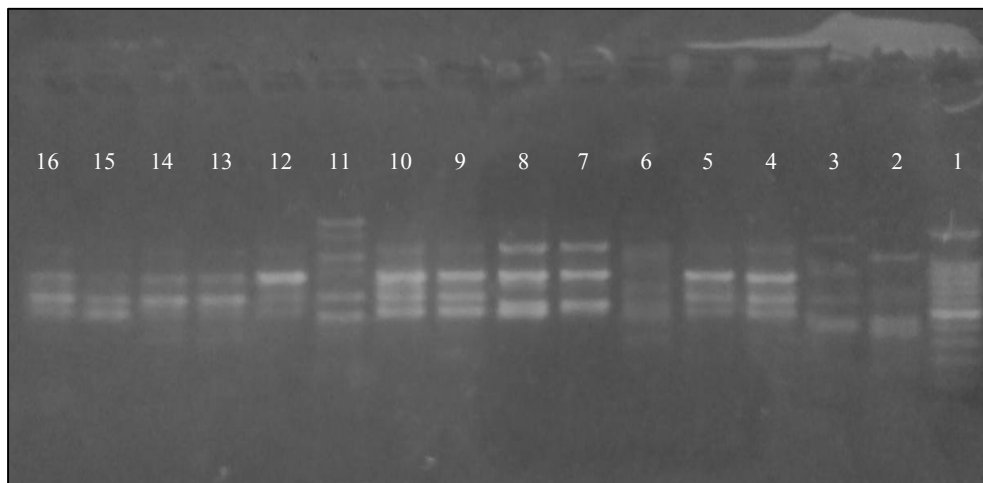
Permasalahan pokok tanaman aren saat ini, yaitu pada umumnya tanaman aren belum dibudidayakan sehingga produktivitas tanaman rendah dan dikuatirkan populasi tanaman makin menurun. Pembudidayaan aren untuk meningkatkan produktivitas tanaman perlu dilakukan mengingat tanaman aren memiliki fungsi ekonomi, sosial, budaya dan konservasi (Maliangkay, 2007).

Kebutuhan yang penting adalah penyediaan benih bermutu yang berasal dari pohon-pohon aren yang berproduksi tinggi. Hingga saat ini sumber benih aren bermutu belum tersedia sementara erosi genetik plasma nutfah aren *in situ* berjalan pesat. Saat ini sudah banyak areal aren yang beralih fungsi sehingga jika hal ini dibiarkan terus menerus tanpa tindakan penyelamatan, maka jenis aren bermutu akan punah.

Penentuan keragaman genetik dapat didasarkan pada sifat agronomi, morfologi dan marka molekuler. Penanda molekuler dapat menunjukkan perbedaan genetik pada tingkat yang lebih rinci, tanpa dipengaruhi faktor lingkungan, serta memberikan hasil yang cepat. Kajian integrasi molekuler dan pemuliaan konvensional akan menjadi pijakan yang kokoh untuk peningkatan mutu genetik dalam produksi bahan tanaman aren. Penelitian ini juga sebagai informasi mengenai keragaman genetik aren dari beberapa populasi aren alam di Sumatera Utara, inventarisasi dan konservasi plasma nutfah aren.

BAHAN DAN METODE

Semua kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur jaringan Fakultas Pertanian dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sampel daun aren diambil dari daerah Tapanuli Selatan dan populasi alamnya. Penelitian dimulai pada Agustus 2012.



1 = Marker, 2 = S3, 3 = S6, 4 = G1, 5 = G3, 6 = M2A, 7 = NR1, 8 = NR2, 9 = M3A2, 10 = M3A1, 11 = G0, 12 = MIA, 13 = B7, 14 = B10, 15 = B9, 16 = B10, PRIMER = OPD 12, S = Sipirok, B = Batangtoru, N = Napa, M = Rantau Prapat, G = Porsea.

Gambar 1. Profil hasil PCR dengan primer OPD-12 pada 15 individu tanaman aren dari berbagai wilayah.

Isolasi, Penetapan Kemurnian dan Konsentrasi DNA Genom Asal Daun

Ekstraksi DNA dari daun aren dilakukan sesuai dengan prosedur standard Sambrook *et al.* (2001) dan Orozco-Castillo *et al.* (1994) dilakukan menurut metode CTAB yang dimodifikasi khususnya penambahan antioksidan *polivinilpolipirolidon* (PVPP) (Toruan-Matius *et al.*, 1996) dan *merkaptotanol* selama melakukan penggerusan sampel ke dalam buffer ekstrak tanpa nitrogen cair. Sebanyak 0,3 g daun digerus sampai halus di dalam mortar dengan penambahan buffer CTAB 2%.

Pemurnian DNA genom dilakukan dengan menggunakan campuran kloroform : isoamil alkohol (24 : 1), disentrifusi dengan mesin Eppendorf 5415D pada kecepatan 11.000 rpm selama 5 menit. Pemurnian dilakukan dua kali sampai terbentuk emulsi. Cairan bagian atas ditambahkan dengan 1 ml isopropanol dingin dan dikocok perlahan-lahan sampai terbentuk benang-benang halus berwarna putih. Pelet DNA yang diperoleh dari hasil sentrifusi dikering-anginkan dengan membalikkan tabung selama 5 menit, pada suhu kamar. Pelet yang dihasilkan dicuci dengan 5 ml alkohol dingin 70%, disentrifusi dan peletnya dilarutkan dalam 5 ml Tris EDTA (TE). Pencucian dilakukan beberapa kali, selanjutnya DNA dilarutkan dalam 1 ml larutan TE di tabung Ependorf dan disimpan pada suhu -20°C.

Amplifikasi dengan Teknik PCR

DNA daun aren diamplifikasi dengan metode PCR menggunakan primer acak RAPD. Komposisi master mix yang digunakan adalah Go Green Taq (Promega) dan primer acak dan berbagai suhu penempelan (*annealing*). Hasil amplifikasi dengan metode PCR dapat diketahui dari elektroforesis DNA menggunakan gel agarose (Invitrogen) 1,4% di dalam buffer TAE 1X.

Untuk amplifikasi, 2 µl ekstrak DNA ditambahkan ke 12,5 µl *reaction mix*, 9,5 µl *nuclease free water* dan 1 µl primer acak. AB Biosystem thermocycler diprogram sebagai berikut: sesudah 2 menit pemanasan pada 94°C, amplifikasi DNA dilakukan pada 45 siklus dari 1 menit denaturasi pada 94°C, 1 menit pada 36-37°C, dan 2 menit *extensión* pada 72°C. Empat puluh lima siklus diakhiri sesudah 4 menit *extensión* pada 72°C dan didinginkan hingga 4°C. Fragmen DNA dari hasil

amplifikasi dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis 1,4% agarose yang diberi pewarnaan ethidium bromida, selama 80 menit dengan voltase 50 V. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV-transiluminator dan didokumentasi dengan kamera digital.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua hasil isolasi DNA dilihat pada elektroforesis untuk uji kualitas. Hasil cukup baik dan dipakai untuk DNA templat pada reaksi PCR berikutnya.

KESIMPULAN

Primer OPD-12 menunjukkan hasil pita polimorfik untuk populasi sampel yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Fahmi, Z.I. 2011. Studi Teknik Pematahan Dormansi dan Media Perkecambahan Terhadap Viabilitas Benih Aren (*Arenga pinnata* Merr.). Balai Besar Perbenihan Dan Proteksi Tanaman Perkebunan, Surabaya.
- Maliangkay, R.B. 2007. Teknik budidaya dan rehabilitasi tanaman aren. *Bul Palma* No. 33:67-77
- Orozco-Castillo, K., J. Chalmers, R. Waugh, W. Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87:934-940.
- Sambrook, J., E.F. Fritzh, T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Laboratory. C. S. H., New York.
- Toruan-Matius, N., T. Hutabarat, Titis-Sundari. 1996. Pengaruh pengemasan dan penyimpanan terhadap DNA tanaman perkebunan untuk analisis RAPD. *Men. Perkeb.* 64(1):3-12.