

SELEKSI PRIMER *Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD)* UNTUK AMPLIFIKASI DNA SENGON (*Falcataria moluccana*) PROVENAN MOROTAI

**Oleh :
RAHMAN RAHIM AL-QADIR
M 111 13 016**



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



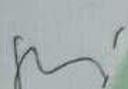
HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Seleksi Primer *Random Amplification Polimorphic DNA (RAPD)* Untuk Amplifikasi DNA Sengon (*Falcataria moluccana*) Provenan Morotai
Nama Mahasiswa : Rahman Rahim Al-Qadir
Stambuk : M 111 13 016

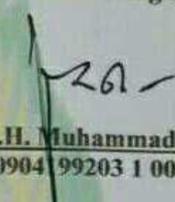
Skripsi Ini Dibuat sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Kehutanan
Pada
Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing I


Gusmiaty, S.P., M.P.
NIP. 19791120 200912 2 002

Pembimbing II


Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Restu, M.P.
NIP. 19650904 199203 1 003

Mengetahui,

Ketua Departemen Jurusan Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin


Dr Forest. Muhammad Alif K.S., S. Hut., M.Si
NIP. 19790831-200812 1 002

Tanggal Pengesahan : 24 Mei 2019



ABSTRAK

Rahman Rahim Al-Qadir (M111 13 016). Seleksi Primer *Random Amplification Polimorphic DNA (RAPD)* Untuk Amplifikasi DNA Sengon (*Falcataria moluccana*) Provenan Morotai dibawah Bimbingan Gusmiaty dan Muhammad Restu.

Sengon atau *Falcataria moluccana* termasuk jenis pionir yang dapat tumbuh mulai dari daerah pesisir hingga hutan pegunungan. Jenis ini juga mampu tumbuh pada lahan yang kurang subur dan dapat merehabilitasi lahan kritis dan menciptakan iklim mikro yang lebih baik untuk lingkungan. Upaya mempertahankan keberadaan sengon perlu dilakukan untuk pelestarian jenis tersebut di masa yang akan datang dan sebagai langkah awal perlu diketahui keragaman genetik dalam upaya perbaikan sifat tanaman dan pemuliaan tanaman tersebut. Tujuan dari penelitian ini untuk mencari jumlah primer yang teramplifikasi dan polimorfik pada tanaman Sengon Morotai berdasarkan penanda molekuler *Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD)*. Seleksi primer dilakukan untuk menentukan suhu *annealing* yang tepat yang bertujuan untuk mendapatkan primer-primer yang cocok untuk analisis keragaman genetik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada seleksi primer menggunakan 17 primer RAPD dan hanya 14 primer yang dapat mengamplifikasi sampel dan terdapat 5 primer yang mampu menghasilkan pita yang jelas dan polimorfik dari primer yang dapat mengamplifikasi sampel diharapkan untuk menjadi dasar dalam melanjutkan analisis keragaman genetik Sengon Morotai

Kata Kunci : RAPD, Sengon (*Falcataria moluccana*), Seleksi Primer



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah *Subhanahu wa ta'ala* yang senantiasa menuntun dan menyertai disepanjang kehidupan penulis hingga saat ini. Empat tahun bukanlah waktu yang singkat, ada begitu banyak hal yang penulis peroleh baik dalam hal akademik maupun non akademik selama berada di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Dalam penyelesaian skripsi ini, penulis telah melewati perjuangan yang panjang dan pengorbanan yang tidak sedikit, namun tanpa bantuan dari berbagai pihak baik moril maupun material, langsung maupun tidak langsung, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan *syukran jazaakumullahu khair* yang tulus dan penghargaan yang tak terhingga kepada kedua orangtua, Ayahanda **H.Mappiasse Pammu S.Pd** dan Ibunda **Hj.Yupe S.St** yang telah mengasuh, mengarahkan dan mendidik penulis dengan penuh kesabaran dan kasih sayang, serta kepada saudara-saudaraku terkasih **Suci Puji Lestari S.St** dan **Sri Indah Lestari** terimakasih atas doa dan dukungannya selama ini.

Penghargaan yang tulus dan ucapan terima kasih dengan penuh keikhlasan juga penulis ucapkan kepada :

1. Ibu **Gusmiaty, S.P., M.P** dan Bapak **Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Restu, M.P** selaku dosen pembimbing atas keikhlasannya meluangkan waktu untuk memberikan masukan dalam pembuatan skripsi ini.
2. Ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P** dan Ibu **Syahidah, S.Hut.,M.Si.,Ph.D** selaku penguji yang telah banyak memberikan saran dan kritik guna perbaikan skripsi ini.
3. Bapak **Dr. Suhasman, S.Hut., M.Si**, sebagai Pembimbing Akademik yang senantiasa membimbing dari awal hingga penyelesaian studi, saya ucapkan terima kasih atas dukungan bapak selama ini.

terimakasih kepada Bapak/Ibu Dosen dan seluruh Staf Administrasi Fakultas Kehutanan atas dukungannya selama penulis berada di kampus Universitas Hasanuddin.



5. Rekan kerja yang sangat membantu dalam penelitian, **Kak Nurlina. S. Si, Kak Yuni Fitri Cahyaningsih, SP., Santi, S. Hut, Fitriani, Asti Mayang Pratiwi, Gunawan, Nurhidayatullah**, terimakasih atas kerjasama dan bantuannya selama melakukan penelitian.
6. Teman-teman mahasiswa di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, atas segala kebersamaan kalian.
7. Terimakasih untuk doa dan dukungan dari keluarga Besar “**Gemuruh 2013**” untuk pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.

Dengan keterbatasan ilmu dan pengetahuan, penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Bertolak dari itulah, penulis mengharapkan adanya koreksi, kritik dan saran yang membangun, dari berbagai pihak sehingga menjadi masukan bagi penulis untuk peningkatan di masa yang akan datang. Akhir kata penulis mengharapkan penyusunan skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Makassar, Mei 2019

Rahman Rahim Al-Qadir



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Deskripsi Sengon (<i>Falcataria moluccana</i>)	4
2.1.1 Sistematika	4
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Penyebaran dan Habitat	8
2.1.4 Manfaat	9
2.2 Keragaman Genetik	10
2.2.1 Penanda Genetik	11
2.2.2 Penanda Molekuler RAPD	12
2.3 Primer	13
III METODOLOGI PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Pengambilan Sampel Daun	15
3.3.2 Isolasi DNA	15
3.3.3 Seleksi Primer	16
3.3.4 Amplifikasi DNA	16
3.3.5 Prosedur Seleksi Primer RAPD	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1. Seleksi Primer	18
PENUTUP	31
5.1. Kesimpulan	31
5.2. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	36



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 1.	Alat dan Bahan	14
Tabel 2.	Nama Primer dan Sekuen Primer RAPD yang Diseleksi	16
Tabel 3.	Primer RAPD dan Hasil Amplifikasi	18
Tabel 4.	Primer Polimorfik dan Suhu <i>Annealing</i>	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 1	Batang Pohon Sengon	5
Gambar 2	Daun Sengon	6
Gambar 3	Bunga Sengon	7
Gambar 4	Biji Sengon	7
Gambar 5	Akar Sengon	8
Gambar 6	Prosedur Penelitian Seleksi Primer	17
Gambar 7	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPQ 07 yang Polimorfik.	19
Gambar 8	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPZ 05 yang Polimorfik	20
Gambar 9	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPP 08 yang Polimorfik	20
Gambar 10	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPD 20 yang Polimorfik.	21
Gambar 11	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPY 09 yang Polimorfik.	21
Gambar 12	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPA 15 yang Terlihat Buram.....	22
Gambar 13	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPD 03 yang Terlihat Buram.....	23
Gambar 14	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPA 02 yang Terlihat Buram.....	23
Gambar 15	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPA 19 yang Terlihat Buram.....	24
Gambar 16	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPA 05 yang Terlihat Buram.....	24
Gambar 17	Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPG 19 yang Terlihat Buram.....	25



Gambar 18 Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPC 11 yang Terlihat Buram.....	25
Gambar 19 Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPAC 12 yang Terlihat Buram.....	26
Gambar 20 Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPA 11 yang Terlihat Buram.....	26
Gambar 21 Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPAE 11 yang Tidak Teramplifikasi	27
Gambar 22 Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPAA 20 yang Tidak Teramplifikasi	27
Gambar 23 Elektroforegram hasil amplifikasi DNA pada Primer OPG 09 yang Tidak Teramplifikasi	28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1.	Dokumentasi Lokasi Pengambilan Sampel Daun Sengon	37
Lampiran 2.	Dokumentasi Alat yang Digunakan	38
Lampiran 3.	Dokumentasi Penelitian Molekuler di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon.....	40



I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sengon atau dengan nama ilmiah *Falcataria moluccana* (Miq. Barneby & J.W. Grimes) termasuk kedalam famili *Leguminosae*. Tanaman ini tergolong jenis pohon cepat tumbuh yang dapat dipanen dalam waktu yang relatif singkat yaitu 5-8 tahun. Riap diameter pada kondisi optimum mencapai 5-7 cm per tahun (Satjapraja dan Tim Perhimpri, 1989). Menurut Atmosuseno (1994), berdasarkan catatan sejarah sengon merupakan spesies asli dari kepulauan timur Indonesia yakni Maluku dan Papua. Spesies ini baik dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan peti, papan penyekat, pengecoran semen dalam konstruksi, industri korek api, pensil, papan partikel serta bahan baku industri pulp dan kertas (Siregar dkk, 2008).

Sengon termasuk jenis pionir yang dapat tumbuh mulai dari daerah pesisir hingga hutan pegunungan. Jenis ini juga mampu tumbuh pada lahan yang kurang subur, dapat merehabilitasi lahan kritis dan menciptakan iklim mikro yang lebih baik untuk lingkungan (Widyastuti, 2007). Upaya mempertahankan keberadaan sengon perlu dilakukan untuk pelestarian jenis tersebut di masa yang akan datang dan sebagai langkah awal perlu diketahui keragaman genetik dalam upaya perbaikan sifat tanaman dan pemuliaan tanaman tersebut.

Keragaman genetik adalah suatu besaran yang mengukur variasi fenotipe yang disebabkan oleh faktor-faktor genetik (Finkeldey, 2005). Keragaman genetik yang tinggi pada suatu populasi menunjukkan potensi populasi tersebut untuk beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan. Suatu populasi dengan keragaman genetik tinggi, mempunyai kemampuan untuk mempertahankan diri dari serangan hama, penyakit, dan perubahan iklim ekstrim, sehingga mampu hidup pada kondisi lestari pada beberapa generasi. Tingkat keragaman genetik merupakan salah satu faktor penentu dalam keberhasilan strategi pemuliaan maupun konservasi (Tani dkk, 2009).

Keragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida DNA. Perubahan ini mungkin dapat mempengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dilihat secara langsung atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu. Secara umum keanekaragaman genetik dari suatu



populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lainnya (Zulfahmi, 2006). Keragaman genetik dapat diketahui dengan menggunakan beberapa jenis penanda genetik. Salah satu diantaranya adalah penanda molekuler RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*).

Teknik RAPD memiliki keunggulan diantaranya adalah murah dan relatif mudah dilakukan karena hanya memerlukan sejumlah kecil DNA. Penggunaan penanda RAPD memungkinkan untuk mendeteksi polimorfisme fragmen DNA yang diseleksi dengan menggunakan satu primer bersifat acak (Olivia, 2013).

Seleksi primer dilakukan untuk menentukan suhu *annealing* yang tepat dan memilih primer-primer yang jelas dan polimorfik. Seleksi primer dilakukan dengan cara membuat beberapa reaksi PCR terhadap beberapa primer yang berbeda menggunakan sampel DNA yang berbeda dan pada kondisi yang sama, sehingga dapat diketahui kondisi optimum serta tingkat variasi pita yang dihasilkan dari setiap primer yang diseleksi. Salah satu syarat utama terjadinya amplifikasi DNA dengan suatu primer adalah apabila primer tersebut mempunyai urutan basa nukleotida yang komplementer dengan kedua DNA genom sebagai cetakan pada posisi yang berlawanan (Pharmawati, 2009).

Seleksi primer bertujuan untuk mendapatkan primer-primer yang cocok untuk analisis keragaman genetik dan menentukan suhu *annealing* yang akan digunakan. Penelitian sebelumnya tentang seleksi primer telah dilakukan pada jenis Mahoni (Nurutami, 2018), Sengon Wamena (Suka, 2018), Kayu Merah (Gunawan, 2019). Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui primer yang dapat teramplifikasi polimorfik pada tanaman Sengon khususnya provenan Morotai. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi dasar dalam penggunaan primer-primer RAPD yang teramplifikasi polimorfik dan menjadi rekomendasi untuk analisis keragaman genetik Sengon Morotai.



1.2. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mencari jumlah primer yang teramplifikasi polimorfik pada tanaman Sengon Morotai berdasarkan penanda molekuler *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi penggunaan primer yang cocok digunakan untuk analisis keragaman genetik Sengon Morotai.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Deskripsi Sengon (*Falcataria moluccana* Miq.)

Sengon dapat dikelompokkan ke dalam famili Leguminoceae dengan sub-famili Mimosaidae dan memiliki beberapa nama lokal. Untuk di Indonesia, sengon dikenal dengan beberapa nama sesuai dengan tempat tumbuh tanaman yang bersangkutan. Di daerah Jawa dikenal dengan nama jeungjing (Sunda) dan sengon laut (Jawa), di daerah Maluku dikenal dengan nama sika, di daerah Sulawesi dikenal dengan nama tedehu pute dan di Papua dikenal dengan nama bae/wahagon. Sengon juga memiliki beberapa nama di negara lain yaitu batai (Perancis, Jerman, Italia, USA dan Kanada), kayu machis (Serawak-Malaysia), dan puah (Brunei Darussalam) (Siregar, 2008).

Sengon adalah tanaman yang termasuk famili Leguminoceae yang merupakan tanaman asli di Maluku, Papua, Pulau Solomon dan Taompala (Sulawesi Selatan). Tanaman ini dibawa oleh Tysmann untuk ditanam dikebun raya Bogor pada tahun 1871 (Achmad, 2004 dalam Ismail dan Hadiyah, 2008). Meskipun tanaman sengon tumbuh besar dan berkembang sangat cepat, namun ternyata tanaman ini berkerabat dekat dengan tanaman kedelai, kacang hijau, kacang tanah, bengkuang, dan sebagainya. Tanaman sengon masih satu family dengan tanaman-tanaman tersebut (Warisno, 2009).

2.1.1. Sistematika

Taksonomi tanaman Sengon yaitu sebagai berikut (Widyastuti dkk, 2013):

- Regnum : Plantae
- Sub regnum : Tracheobionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub kelas : Rosidae
- Ordo : Fabales
- Famili : Fabaceae
- Genus : Falcataria
- Spesies : *Falcataria moluccana*.



2.1.2. Morfologi

a. Batang Sengon

Sengon adalah salah satu pohon yang tercepat pertumbuhannya di dunia. Pada umur 1 tahun dapat mencapai tinggi 7 m dan pada umur 12 tahun dapat mencapai tinggi 39 m dengan diameter lebih dari 60 cm dan tinggi bebas cabang 10-30 m. Diameter pohon yang sudah tua dapat mencapai 1 m, bahkan kadang lebih. Batang umumnya tidak berbanir, tumbuh lurus, dan silindris. Pohon sengon memiliki kulit licin, berwarna abu-abu, atau kehijau-hijauan (Siregar, 2008).

Pohon sengon umumnya berukuran cukup besar dengan tinggi pohon total mencapai 40 m dan tinggi bebas cabang mencapai 20 m. Diameter pohon dewasa dapat mencapai 100 cm atau kadang-kadang lebih, dengan tajuk lebar mendatar. Apabila tumbuh ditempat terbuka sengon cenderung memiliki kanopi yang terbentuk seperti kubah atau payung. Pohon sengon pada umumnya tidak berbanir meskipun dilapangan kadang dijumpai pohon dengan banir kecil. Permukaan kulit batang berwarna putih, abu-abu atau kehijauan, halus, kadang-kadang sedikit beralur dengan garis-garis lentisel memanjang (Krisnawati, 2011). Menurut Santoso (1992), batang sengon tumbuh tegak lurus. Kulit luar batangnya licin dan berwarna kelabu keputih-putihan. Kayu sengon mempunyai serat membujur dan berwarna putih. Batang pohon sengon dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Batang Pohon Sengon

b. Daun Sengon

Daun sengon, merupakan pakan ternak yang sangat baik dan mengandung nutrisi yang tinggi. Jenis ternak seperti sapi, kerbau, dan kambing menyukai daun tersebut. Selain sebagai pakan ternak, daun sengon yang berguguran akan



menjadi pupuk hijau yang baik bagi tanah dan tanaman disekitarnya. Tajuk pohonnya yang berbentuk perisai serta pohonnya yang besra dan rindang sudah sejak lama dimanfaatkan sebagai pohon penayang di beberapa area perkebunan (Siregar, 2008).

Daun sengon tersusun majemuk menyirip ganda dengan panjang sekitar 23-30 cm. Anak daunnya kecil-kecil, banyak dan berpasangan, terdiri dari 15-20 pasang pada setiap sumbu (tangkai), berbentuk lonjong (panjang 6-12 mm, lebar 3-5 mm) dan pendek kearah ujung. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau pupus dan tidak berbulu sedangkan daun bagian bawah berwarna lebih pucat dengan rambut-rambut halus (Krisnawati, 2011). Tajuknya berbentuk perisai, jarang, dan selalu hijau. Pohon sengon memiliki daun majemuk dengan panjang bisa mencapai 40 cm. Dalam satu tangkai daun terdiri 15-25 daun dengan daun berbentuk lonjong (Siregar, 2008). Daun sengon dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Daun Sengon

c. Bunga Sengon

Bunga sengon tersusun dalam malai berukuran panjang 12 mm, berwarna putih kekuningan dan sedikit berbulu, berbentuk seperti saluran atau lonceng. Bunganya biseksual yang terdiri dari bunga jantan dan bunga betina (Krisnawati, 2011). Perbungaan tanaman sengon tersusun dalam bentuk malai. Bunganya kecil sekitar 0,5-1 cm dan sedikit berbulu. Setiap kuntum bunga yang mekar berisi bunga jantan dan betina. Adapun cara penyerbukannya dibantu dengan perantara angin (Santoso, 1992).

Tanaman sengon mulai belajar berbunga pada umur 3 tahun. Secara umum, sengon berbentuk seperti kupu-kupu. Bunga sengon berkelamin ganda, dalam satu bunga terdapat bunga jantan dan betina, namun penyerbukannya



seringkali merupakan penyerbukan silang, bukan penyerbukan sendiri (Warisno, 2009). Tanaman sengon biasanya berbunga pada bulan Maret-Juni dan Oktober-Desember, namun pola ini dapat berubah karena perubahan iklim. Kondisi iklim, terutama curah hujan, sinar matahari, dan suhu udara mempengaruhi pembungaan tanaman sengon (Warisno, 2009). Bunga sengon dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Bunga Sengon

d. Buah Sengon

Buah sengon berbentuk polong, pipih, tipis, tidak bersekat-sekat dan berukuran panjang 10-13 cm dan lebar 2 cm. Setiap polong buah berisi 15-20 biji. Biji sengon berbentuk pipih, lonjong, tidak bersayap, berukuran panjang 6 mm, berwarna hijau ketika masih muda dan berubah menjadi kuning sampai coklat kehitaman jika sudah tua, agak keras dan berlilin (Krisnawati, 2011). Biji sengon dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Biji Sengon



e. Akar Sengon

Sengon memiliki akar tunggang yang cukup kuat menembus kedalam tanah, akar rambutnya tidak terlalu besar, tidak rimbun dan tidak menonjol ke permukaan tanah. Akar rambutnya berfungsi untuk menyimpan zat nitrogen, oleh karena itu tanah disekitar pohon sengon menjadi subur. Akar dari pohon sengon berupa serabut atau sering disebut rambut akar. Akar-akar ini membantu menyerap air dan unsur hara. Akar sengon memiliki bintil akar, merupakan hasil simbiosis tanaman sengon dengan bakteri pengikat nitrogen. Adanya bintil akar, tanaman sengon dapat mengikat nitrogen bebas sendiri (Warisno, 2009). Akar sengon dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Akar Sengon

2.1.3. Penyebaran dan Habitat

Sengon merupakan tanaman asli Indonesia, Papua Nugini, Kepulauan Solomon dan Australia (Soerianegara dan Lemmens, 1993). Pohon Sengon banyak ditanam di daerah tropis (Siregar dkk., 2008). Sengon juga ditemukan di Tempala, Sulawesi Selatan, sedangkan penanaman di pulau Jawa dilakukan pada Tahun 1971. Tegakan Sengon Alami di Maluku dapat ditemukan di Pulau Taliabu, Mangolle, Sasan, Obi, Bacan, Halmahera, Seram dan Buru. Di Papua, sengon alam ditemukan di Sorong, Manokwari, Kebar, Biak, Serui, Nabire dan Wamena.

Habitat alami Sengon, curah hujan tahunan berkisar antara 2000 dan 2700 mm, kadang-kadang sampai 4.000 mm dengan periode musim kering lebih dari 4 bulan (Soerianegara dan Lemmens, 1993). Sengon mudah melakukan penguapan transpirasi, oleh karena itu memerlukan iklim yang basah; curah hujan untuk pertumbuhan optimalnya adalah 2000–3500 mm per tahun. Curah hujan lebih rendah dari 2000 mm akan menghambat pertumbuhan.



mm per tahun akan menghasilkan kondisi pertumbuhan yang kering, sedangkan lebih dari 3.500 mm per tahun akan menciptakan kelembapan udara sangat tinggi, yang apabila dibarengi dengan intensitas cahaya matahari yang sangat rendah mungkin akan merangsang.

Sengon dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, termasuk tanah kering, tanah lembap dan bahkan di tanah yang mengandung garam dan asam selama drainasinya cukup (Soerianegara dan Lemmens, 1993). Sengon banyak ditanam pada hutan rakyat di Jawa, karena tergolong pohon yang cepat tumbuh (Santoso, 1992). Sengon dapat tumbuh di Jawa dengan berbagai jenis tanah kecuali tanah grumusol (Charomaini dkk, 1997). Pada tanah latosol, andosol, luvial dan podzolik merah kuning, sengon tumbuh sangat cepat. Pertumbuhan sengon lebih cepat karena kemampuan untuk mengikat nitrogen. Sengon termasuk jenis pionir yang dapat tumbuh di hutan primer, hutan hujan dataran rendah sekunder dan hutan pegunungan, padang rumput dan di sepanjang pinggir jalan dekat laut. Habitat alaminya di Papua, berasosiasi dengan jenis-jenis seperti *Agathis labillardieri*, *Celtis* spp., *Diospyros* spp., *Pterocarpus indicus*, *Terminalia* spp. dan *Toona sureni* (Soerianegara dan Lemmens, 1993).

2.1.4. Manfaat

Sengon sebagai jenis pengikat nitrogen juga ditanam untuk tujuan reboisasi dan penghijauan guna meningkatkan kesuburan tanah. Daun dan cabang yang jatuh akan meningkatkan kandungan nitrogen, bahan organik dan mineral tanah (Orwa dkk., 2009). Sengon juga ditanam sebagai pohon penahan angin dan api dan pohon hias di tepi-tepi jalan.

Tanaman Sengon memiliki beragam manfaat dari semua bagian pohonnya. Karakteristik yang dimiliki oleh kayu Sengon sangat sesuai dengan kebutuhan industri. Masa terbang Sengon relatif cepat, budi daya mudah dan dapat tumbuh diberbagai jenis tanah. Kayu Sengon banyak diusahakan untuk berbagai keperluan

untuk kayu olahan berupa papan-papan dengan ukuran tertentu sebagai kayu pembuat peti, papan penyekat, pengecoran semen dalam konstruksi, orek api, pensil, papan partikel serta bahan baku industri pulp dan kertas (Orwa dkk, 2008).



Daun Sengon dapat digunakan untuk makanan ternak. Kulit kayunya yang memiliki tannin dapat digunakan sebagai penyamak. Sengon juga memiliki jasa ekologis, yaitu tegakannya dapat menahan erosi tanah dan air dan berfungsi sebagai naungan pada penanaman campuran dengan teh, kopi dan coklat. Sengon telah berhasil ditanam pada *tailing* bekas penambangan timah dan telah ditanam secara luas untuk reforestasi dan aforestasi di lahan-lahan kritis (ICRAF, 2006).

2.2 Keragaman Genetik

Keragaman genetik adalah suatu tingkatan biodiversitas yang mengacu pada jumlah total variasi genetik dalam keseluruhan spesies yang terdapat pada sebagian atau seluruh permukaan bumi yang dapat didiami. Informasi keragaman genetik diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi dan pemuliaan tanaman. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk kegiatan konservasi. Tingkat keragaman genetik dapat diukur melalui pendekatan penggunaan penanda genetik. Pendekatan secara genetik dapat mengidentifikasi tanaman dalam melakukan pemuliaan atau untuk mengetahui variasi genetik (Ardiyani dkk, 2014).

Pengetahuan keragaman genetik suatu jenis dalam populasi merupakan suatu langkah yang penting dalam rangka upaya konservasi sumber daya genetik. Upaya konservasi dan pemuliaan tanaman memerlukan informasi keragaman genetik digunakan untuk meningkatkan produksi tanaman serta mengkonservasi tanaman yang keberadaannya terancam punah (Ardiyani dkk, 2014). Tingkat keragaman genetik dapat diukur melalui pendekatan penggunaan penanda genetik. Pendekatan secara genetik dapat mengidentifikasi tanaman dalam melakukan pemuliaan atau untuk mengetahui variasi genetik.

Keragaman genetik merupakan kunci dalam program pemuliaan pohon, hal ini dikarenakan adanya maksimalisasi perolehan genetik akan sifat tertentu. Program pemuliaan pohon berguna untuk memelihara dan meningkatkan variabilitas genetik di dalam suatu populasi. Studi keragaman genetik memiliki

penting untuk pemuliaan pohon yakni dalam membantu seleksi buatan, atau menyiapkan uji provenan dan silvikultur. Seleksi merupakan proses pemilihan pohon dan dasar untuk perbaikan dalam mendapatkan kultivar unggul



yang baru, keragaman genetik yang tinggi merupakan suatu syarat efektifnya program seleksi (Olivia, 2013).

2.2.1 Penanda Genetik

Penanda genetik secara morfologi dilakukan melalui uji progeni, uji provenan, dan pengujian lainnya dengan mengamati penampilan fenotipik tanaman. Pengujian ini dilakukan pada lingkungan yang berbeda dengan fokus utama adalah ciri kualitatif dan kuantitatif yang bernilai ekonomi serta ciri yang secara biologi penting seperti kemampuan hidup (*survive*). Keterbatasan penanda morfologi ini mendorong perkembangan penanda lain yang dapat langsung mengakses ke bagian material yang mengendalikan karakter atau ciri suatu individu, yaitu yang dikenal dengan penanda molekuler DNA (Finkeldey, 2005).

Penanda molekuler DNA dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, pertama, penanda DNA tanpa PCR (*non-PCR based techniques*) seperti RFLP, kedua, penanda DNA berdasarkan PCR yang meliputi RAPD, AFLP, SSR (*Simple Sequence Repeat*)/mikrosatelit, CAPS, SCAR, SSCP dan DNA Barkoding. Keragaman genetik sangat penting bagi tanaman untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang terjadi disekitarnya. Informasi keragaman genetik tanaman pada tingkat individu atau spesies maupun populasi perlu diketahuisebagai dasar pertimbangan dalam menyusun strategi konservasi, pemuliaan, pengelolaan, dan pemanfaatan sumberdaya genetik tanaman secara berkelanjutan. Penilaian keragaman genetik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia, dan molekuler DNA (Fernandez dkk, 2002).

Penanda genetik secara biokimia banyak digunakan dalam kajian genetik hewan dan kedokteran pada masa lalu untuk menentukan golongan darah atau mendeteksi adanya penyakit dengan menggunakan uji serologi, sedangkan pada tumbuhan banyak menggunakan penanda biokimia dengan menggunakan enzim isoenzim yang bersifat kodominan yang dipakai pada populasi segresi dengan individu heterozigot. Penanda biokimia mulai ditinggalkan ketika ditemukan enzim *ease restriksi*. Penanda biokimia hingga sekarang masih digunakan oleh enih gandum untuk menyeleksi kandungan glutennya (Finkeldey, 2005).



2.2.2 Penanda Molekuler RAPD

Penanda molekuler RAPD adalah aplikasi PCR yang digunakan untuk mendeteksi adanya suatu polimorfisme DNA dalam suatu populasi atau antar populasi. Penanda RAPD pertama kali ditemukan untuk mendeteksi adanya polimorfisme dalam suatu segmen DNA. Teknik PCR RAPD dapat mendeteksi DNA polimorfik yang disebabkan oleh tidak adanya amplifikasi pada suatu lokus yang disebabkan oleh adanya perbedaan urutan basa nukleotida pada titik penempelan primer. Hal ini akan menyebabkan primer tidak dapat menempel pada bagian tersebut sehingga tidak terjadi amplifikasi. Polimorfisme yang dihasilkan dengan teknik PCR RAPD disebabkan adanya perubahan basa nukleotida, delesi, dan insersi (Semagn dkk, 2006).

Prinsip kerja dari metode PCR RAPD adalah mengaplikasikan PCR dengan cara mengamplifikasikan urutan nukleotida dengan menggunakan primer acak. Primer yang digunakan adalah oligonukleotida yang terdiri dari 5-10 nukleotida. Keunggulan dari teknik PCR RAPD adalah hanya dibutuhkan kuantitas sampel DNA yang sedikit, hemat biaya, mudah dipelajari, dan primer yang mudah didapatkan. Sedangkan kelemahannya adalah tingkat reproduksibilitasnya rendah, sensitif terhadap variasi konsentrasi DNA, dan memerlukan optimasi suhu dan primer pada saat pengujian (Azrai, 2005).

Beberapa faktor yang mempengaruhi reproduksibilitas reaksi PCR RAPD adalah kualitas dan kuantitas DNA, buffer PCR, konsentrasi $MgCl_2$, rasio primer terhadap template, suhu annealing, enzim Taq polimerase, dan mesin PCR yang digunakan. Namun untuk mengurangi hal tersebut dapat diatasi dengan memenuhi standar protokol ekstraksi DNA untuk meminimalisir kontaminan, melakukan optimasi, melakukan seleksi primer dengan reproduksibilitas pita yang tinggi, dan menggunakan bahan PCR yang terpercaya (Semagn dkk, 2006).

Metode RAPD mampu mendeteksi adanya polimorfisme pada DNA antar spesies maupun antar populasi berdasarkan pita hasil amplifikasi pada suatu lokus di untai DNA. Adanya pita polimorfik pada hasil amplifikasi menunjukkan

peristiwa delesi maupun insersi pada DNA. Faktor tersebutlah yang akan pita RAPD menunjukkan hasil polimorfik. Data pita DNA yang pada umumnya akan dianalisa dengan menggunakan data biner dengan skoring, yakni skor 1 untuk pita yang muncul dan skor 0 untuk pita yang



tidak muncul. Metode penggunaan RAPD disebut dengan sifat dominan karena hanya mendeteksi alel per lokus (Naural & Srivastava, 2005; Willian dkk, 1992). Hasil skoring tersebut dapat dianalisis sesuai dengan kebutuhan dengan menggunakan bantuan software komputer seperti program GenAlex (Peakall dan Smouse, 2007) dan program POPGENE (Yeh dkk, 1999).

2.3 Primer

Primer (oligonukleotida) adalah molekul nukleotida berukuran pendek sekitar 10-30 basa nukleotida yang diperlukan dalam mengawali proses sintesis DNA. Urutan basa nukleotida pada primer ditentukan agar dapat menempel. Kegiatan seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda polimorfik lokus yang diperoleh (Yuwono, 2008).

