

Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik *Pinus merkusii* di Hutan Pendidikan Unhas

Gusmiaty^{*)}, Muh. Restu, Asrianny, dan Siti Halimah Larekeng

Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin, Makassar 90245

Diterima 23-10-2015 Disetujui 29-02-2016

ABSTRACT

The aims of Genetic study of pinus identified stand in Unhas Experimental Forest is to analyses of genetic characteristics of stand, based on RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) marker. The study was conducted in Biotechnology and Tree Breeding Laboratory, Forestry Faculty, Hasanuddin University. The method are DNA isolation, Primers selection and RAPD analyses. DNA analyses of Pine with ten RAPD marker showed number of alel varied and polymorphic. Coefficient of similarity in population have number of 0.15-0.73. Highest genetic distance is 0.9630 and lowest genetic distance is 0.2698. Number of genetic diversity of Pine in Experimental Forest Hasanuddin University is 0,489 and categorized highly.

Keywords: Genetic diversity, Pinus, Primer Selection, RAPD

ABSTRAK

Studi genetik tegakan pinus teridentifikasi di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin bertujuan untuk mengetahui perbedaan genetik individu pinus dalam tegakan teridentifikasi di Hutan Pendidikan berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanudin. Metode yang digunakan adalah isolasi DNA, seleksi primer dan Analisis RAPD. Hasil analisis DNA pinus dengan menggunakan sepuluh penanda RAPD menunjukkan adanya pola pita dan jumlah pita polimorfik yang bervariasi. Individu dalam populasi memiliki koefisien kesamaan bervariasi pada taraf 0,15-0,73. Terdapat variasi jarak genetik dengan jarak genetik terjauh 0.9630 dan terdekat 0.2698. Keragaman genetik pinus di Hutan Pendidikan Unhas tergolong tinggi sebesar 0,489.

Kata Kunci: Keragaman Genetik, Pinus, RAPD, Seleksi Primer

PENDAHULUAN

Pinus (*Pinus merkusii*) merupakan tumbuhan *Gymnospermae* atau berbiji terbuka yang memiliki tajuk pohon berbentuk cembur atau kerucut dan daun berbentuk jarum. Pinus termasuk jenis yang cepat tumbuh dan dapat tumbuh baik pada tanah yang kurang subur serta tidak memerlukan tempat tumbuh dengan persyaratan khusus. Hampir semua bagian pohon dapat dimanfaatkan, antara lain bagian batangnya dapat disadap untuk diambil

getahnya. Getah tersebut diproses lebih lanjut menjadi *gondorukem* dan *terpentin*. *Gondorukem* dapat digunakan sebagai bahan untuk membuat sabun, resin dan cat. *Terpentin* digunakan untuk bahan industri parfum, obat-obatan dan desinfektan. Hasil kayunya bermanfaat untuk konstruksi, furniture, batang korek api, pulp dan kertas serat panjang. Bahan kulitnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar dan abunya digunakan untuk campuran pupuk karena mengandung kalium (Dahlia & Hartoyo 1997).

*Telp: +6281342000908

Email: umyhody@gmail.com

Eksplorasi secara terus menerus tanpa diimbangi dengan penanaman dan pengembangan tanaman akan menyebabkan potensi tegakan pinus di alam akan terus terdegradasi dan pada akhirnya akan punah. Bertolak dari permasalahan tersebut pengembangan tanaman pinus perlu dilakukan. Salah satu upaya yang terus dilakukan untuk meningkatkan potensi hasil adalah pemuliaan tanaman. Rimbawanto dan Widyatmoko (2006), menyebutkan bahwa keragaman genetik diperlukan untuk mengetahui besarnya variasi genetik yang ada. Besarnya keragaman genetik mencerminkan sumber genetik yang diperlukan untuk adaptasi ekologi dalam jangka pendek dan evolusi jangka panjang, sehingga dapat berguna dalam menyusun strategi pemuliaan pohon.

Studi variasi genetik diperlukan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik yang ada pada suatu populasi, sebagai landasan dalam kegiatan pemuliaan pohon dan upaya konservasi suatu jenis tanaman. Saat ini adanya keragaman genetik kebanyakan menggunakan pendekatan ekspresi morfologi berdasarkan sifat-sifat fenotipe tertentu dari suatu pohon yang akan dikonservasi dan dimulihkan. Di sisi lain disadari bahwa perbedaan fenotipe dari suatu sifat tertentu belum menjamin perbedaan apalagi keunggulan genetik dari pohon tersebut. Pengetahuan tentang jarak genetik dan hubungannya dalam pemuliaan tanaman sangat penting dan memiliki dampak signifikan pada perbaikan tanaman. Sampoerna Agro (SA) telah membentuk koleksi plasma nutfah kelapa sawit terdiri dari 22 populasi pisifera berasal dari berbagai daerah setelah melalui studi genetik (Putri *et al.* 2010).

Pendekatan marka genetik untuk mempelajari variasi genetik suatu spesies sangat diperlukan karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan bersifat stabil. Marka RAPD merupakan salah satu marka berbasis PCR dan data molekuler yang diperoleh mampu digunakan sebagai penanda DNA *fingerprinting*. Identifikasi dengan penggunaan marka molekuler dapat dilakukan pada fase awal pertumbuhan tanpa merusak spesies karena hanya membutuhkan sedikit sampel (Septiningsih *et al.* 2004). RAPD sangat umum digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada berbagai spesies pohon. Ruas *et al.* (2011) melakukan analisis keragaman genetik pada dua populasi spesies *Schinus terebinthifolius* diTibagi, Brazil.

Hasil studinya memperlihatkan keragaman genetik antar populasi dan dalam populasi yaitu masing-masing 13,7% dan 86,3%. RAPD juga digunakan untuk menganalisis keragaman genetik Moringa (*Moringa oleifera* Lam). Sebanyak 16 aksesori Moringa di uji menggunakan 17 lokus RAPD menghasilkan keragaman genetik yang rendah (Silva *et al.* 2012). Penggunaan marka RAPD pada pinus yang masih terbatas sehingga informasi primer RAPD yang polimorfik sangat dibutuhkan untuk melakukan penelitian lanjutan variasi genetik pinus.

Tegakan benih teridentifikasi dari berbagai jenis tanaman hutan yang terdapat di wilayah Sulawesi belum memiliki informasi yang berasal dari hasil studi keragaman genetiknya. Tegakan pinus teridentifikasi pada Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin telah dimanfaatkan sebagai sumber benih untuk menghasilkan bibit yang digunakan pada kegiatan rehabilitasi hutan. Pemanfaatan benih tersebut belum didasarkan pada hasil studi genetik maupun fenotipe sehingga dibutuhkan penelitian karakterisasi genetik pada tegakan pinus teridentifikasi yang ada di Hutan Pendidikan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragamangenetik tegakan pinus berdasarkan penanda molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel sebanyak 30 individu pohon dari tegakan pinus teridentifikasi di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Isolasi DNA dilaksanakan melalui tahap yaitu 1) sampel daun pinus sebanyak 200 mg digerus menjadi halus, ditambahkan 500 μ L buffer ekstraksi CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) (100 mM Tris HCL pH 8,0; 20 mM EDTA (*Etilen Diamin Tetra Asetat*), 2 % CTAB; 0,2 % (mercaptoetanol) dan di vortex selama 15 menit, 2) proses lisis dinding sel pada sampel dilakukan dengan menginkubasi tabung berisi sampel daun ke dalam *waterbath* suhu 65°C selama 90 menit, 3) hasil ekstraksi dipisahkan dengan proses inkubasi dengan chloroform; isoamil alkohol 100 μ L untuk menghasilkan supernatan dan selanjutnya disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit dengan isopropanol serta dikeringkan selama semalam, 4) endapan pellet DNA dipurifikasi dengan menambahkan 500 μ L buffer TE

1x (10 mM tris-HCL pH 7,5 mM EDTA) dan 100 µL fenol, 5) supernatan dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru dan ditambahkan 100 µL kloroform, selanjutnya disentrifugasi, 6) supernatan ditambahkan 100 µL natrium asetat 3 M dan 800 µL isopropanol, lalu disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 10.000 rpm, 7) endapan diambil dan dikeringkan selama semalam lalu ditambahkan 100 µL ddH₂O dan disimpan dalam lemari pendingin.

DNA hasil isolasi diamplifikasi menggunakan 10 jenis primer acak yang diseleksi dari 28 primer. Primer acak yang digunakan untuk seleksi adalah OPG-02, OPD-03, OPG-06, OPQ-07, OPP-08, OPK-10, OPU-11, OPZ-12, OPA-17, OPK-20, OPA-16, OPG-11, OPK-17, OPM-06, OPP-18, OPQ-15, OPS-11, OPW-11, OPY-06, OPZ-03, OPA-02, OPA-10, OPA-20, OPG-06, OPK-15, OPO-20, OPQ-06, dan OPS-12. Pemilihan primer berdasarkan kemampuan primer untuk menghasilkan amplifikasi DNA dengan PCR pada satu individu pohon yang digunakan.

Volume final reaksi adalah 16 µL dengan komposisi 8 µL MegaMix Blue, 4 µL primer dan 4 µL DNA template. Proses amplifikasi dengan menggunakan mesin PCR (*applied Biosystem 2720 Thermal Cycler*) dengan kondisi pre PCR 1 menit 94°C. Tahap PCR sebanyak 45 siklus terdiri dari fase denaturasi selama 30 detik pada suhu 94°C, fase annealing selama 30 detik pada suhu 37°C dan fase ekstension selama 90 detik pada suhu 72°C. Tahapan PCR diakhiri dengan final ekstention selama 7 menit pada suhu 72°C. Hasil proses amplifikasi kemudian dielektroforesis bersama DNA marker 100 bp (*DNA ladder*) pada sel agarose konsentrasi 1,5 % (0,45 gram agarose dalam 30 mL TBE 1X, 3 µl etidium bromide), voltase 100 volt selama 30 menit di dalam larutan penyangga TBE 1 X. Setelah itu direndam di dalam larutan etidium bromide selama 15 menit, gel lalu diamati di atas sinar UV. Pemotretan dilakukan menggunakan kamera digital.

Setiap pita DNA hasil amplifikasi pada laju elektroforesis tertentu dianggap sebagai satu lokus, sehingga pita DNA yang sama dari beberapa individu tanaman diinterpretasikan sebagai satu lokus yang homolog. Lokus tersebut diubah dalam bentuk data biner dengan memberi nilai satu jika pita ada dan nol jika tidak ada pita. Data biner dikonversi menjadi matriks kesamaan antar individu tegakan dengan menggunakan koefisien Dice yang merupakan persamaan dari rumus Nei dan Li.

Penentuan nilai heterozigositas menggunakan rumus Wallace (2003), sedangkan penentuan kategori tingkat keragaman genetik dengan keterangan Nei (2000) yaitu $He < 0,2$, keragaman genetik rendah; $He = 0,2 - 0,3$, keragaman genetik sedang dan $He > 0,3$, keragaman genetik tinggi.

Pengelompokan data matriks (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram dilakukan dengan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA) menggunakan program *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.11.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Penanda RAPD. Hasil seleksi terhadap 28 primer menunjukan bahwa 26 diantaranya menghasilkan pita sedangkan 2 primer lainnya yang tidak menghasilkan pita DNA yakni primer OPP-18 dan OPQ-15. Adapun primer yang terseleksi dan dipilih sebanyak 10 primer yang akan digunakan untuk mengamplifikasi 30 sampel DNA tanaman pinus.

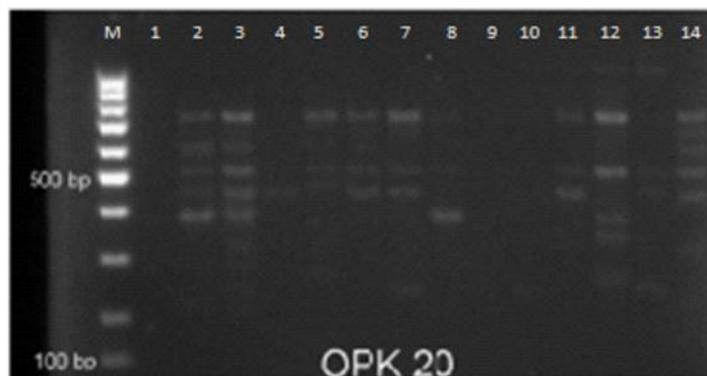
Primer tersebut merupakan primer yang dapat menghasilkan pita-pita polimorfik, jelas, reproduksibilitas baik, hasil amplifikasi pita DNA relatif stabil dan mudah dibaca. Pemilihan primer untuk analisis keragaman genetik sangat berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda baik dari ukuran pasang basa maupun jumlah pita DNA.

Ukuran pita hasil amplifikasi menghasilkan ukuran dan jumlah berbeda-beda. Primer OPK-20 merupakan primer paling banyak menghasilkan pita yakni 32 pita dengan ukuran antara 185–720 bp. Sedangkan primer menghasilkan jumlah pita berkisar terkecil dengan 10 pita dengan ukuran antara 190–600 bp adalah OPZ 12.

Hasil amplifikasi DNA pada Gambar 1 menunjukkan tingkat ketebalan pita yang bervariasi pada setiap sampel. Hal ini disebabkan oleh kualitas DNA hasil ekstraksi yang berbeda-beda pada setiap sampel sehingga sangat menentukan dalam tahapan PCR. Menurut Siregar dan Diputra (2013) bahwa setiap pita yang muncul memiliki penampakan ketebalan yang berbeda-beda. Ketebalan pita juga dipengaruhi oleh tingkat kesegaran sampel daun yang digunakan. Sampel yang masih segar akan menghasilkan

Tabel 1 Primer yang digunakan untuk analisis RAPD

No.	Primer	Lokus	Jumlah pita
1	OPS 11	100, 150, 180, 200, 220, 250, 280, 300,320, 400, 420, 500	91
2	OPP 08	80, 120, 180, 200, 220, 225, 280, 300, 310, 400, 580, 600, 620, 700	63
3	OPA 02	80, 100, 120, 135, 180, 200, 220, 230, 240, 260, 280, 285 300, 320, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 470, 480, 485, 500, 510, 515, 520, 550, 600, 660,	116
4	OPG 02	110, 180, 200, 250, 260, 280, 300, 310, 320, 340, 380, 390, 400, 420, 430, 440, 480, 500, 520, 530, 560, 580, 600, 620, 640, 650, 660, 680, 700, 750, 780	78
5	OPK 20	185,200, 240, 300, 350, 385, 390, 400, 410, 420, 475, 480, 90,500, 510, 515, 520, 525, 550, 560, 580, 585, 590, 600, 610, 620, 625, 670, 690, 700, 710, 720,	76
6	OPY 06	95, 100, 110, 120, 180, 185, 195, 200, 210, 220, 230, 280, 300, 330, 315, 330, 340, 400	44
7	OPZ 12	190, 195, 270, 275, 285, 295, 350, 400, 485, 600	12
8	OPK 10	185, 200, 240, 290, 300, 370, 380, 420, 430, 440, 500, 600, 620, 670, 700, 770	26
9	OPM 06	100,185, 195, 200, 210, 240, 250, 260, 270, 300, 340, 350, 380, 385, 390, 395, 400, 410, 485, 490, 495, 500, 520, 525, 530, 600, 700, 780, 800, 840, 900	141
10	OPD 03	100,140, 150, 180, 195, 200, 230, 240, 250, 260, 270, 300, 340, 395, 400,450, 500, 580, 590, 640, 685, 700, 740	60
Total			707



Gambar 1 Polimorfisme marka RAPD hasil PCR sampel DNA tanaman pinus dengan primer OPK 20

pita yang lebih tebal dibandingkan dengan sampel yang kurang segar. Ketebalan pita juga bisa berarti konsentrasi DNA lebih tinggi.

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. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi cetakan DNA. Cetakan DNA yang mengandung senyawa-senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik, serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas (Weeden *et al.* 1992).

Keragaman Genetik Tegakan Pinus Teridentifikasi.

Keragaman genetik pada penelitian ini merupakan perbedaan sifat diantara individu pada suatu populasi tanaman. Setiap pita yang dihasilkan dari amplifikasi DNA genom dengan menggunakan primer acak dianggap sebagai suatu sifat. Keragaman genetik terkait erat dengan jarak genetik. Semakin besar jarak genetik semakin besar keragaman genetik individu dalam populasi. Sebaliknya semakin kecil jarak genetik maka semakin rendah keragaman genetiknya.

Berdasarkan penanda RAPD polimorfik yang digunakan, rata-rata nilai heterozigositas pinus pada lokasi penelitian sebesar 0,489. Nilai heterozigositas pada penelitian ini tergolong tinggi dan lebih besar apabila dibandingkan dengan penelitian Siregar dan Diputra (2013)

yaitu secara umum ketiga populasi *P. Merkusii* yang diamati memiliki nilai keragaman genetik (H_e) yang tidak berbeda signifikan, yaitu hanya berkisar antara 0,4316–0,4693. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga populasi tersebut memiliki variasi genetik yang hampir sama, namun dari ketiga populasi tersebut populasi Lobugala memiliki nilai keragaman genetik paling tinggi, yaitu sebesar 0,4693. Sedangkan nilai H_e pada *P. pinaster* yang diteliti Nadya *et al.* (2010) memiliki nilai H_e sebesar 0,432.

Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu faktor yang tinggi untuk merakit varietas unggul baru. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan memanfaatkan plasma nutfah yang tersedia di alam dan dapat pula melalui persilangan. Usaha perbaikan genetik tanaman memerlukan plasma nutfah dengan keragaman genetik yang luas (Martono 2009; Hutami *et al.* 2005). Hasil penelitian Shapcott *et al.* (2009) mengemukakan pentingnya keragaman genetik dalam suatu populasi, meskipun jumlah tegakan di Yaman dan Somalia sedikit akan tetapi memiliki variasi alel yang tinggi, akan lebih baik digunakan untuk konservasi keragaman genetik spesies dibanding populasi Djibouti yang jumlah tegakannya banyak tetapi variasi alelnya rendah.

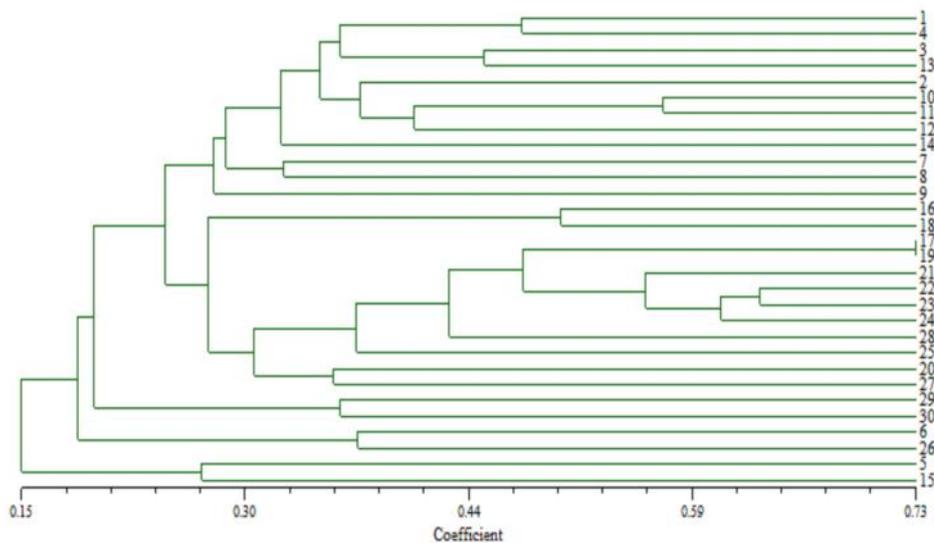
Keragaman genetik yang tinggi dalam suatu populasi dapat disebabkan oleh karena tingginya potensi keragaman genetik yang dimiliki. Faktor lainnya dapat berupa populasi alami yang belum mengalami gangguan dan terjadinya perkawinan random yang menghasilkan

stabilitas keragaman genetik tetap terjaga (Widyatmoko *et al.* 2010). Tegakan pinus di Hutan Pendidikan Unhas memungkinkan memiliki keragaman genetik yang tinggi disebabkan karena tegakan pinus tersebut merupakan tegakan yang ditanam yang berasal dari berbagai sumber benih. Status Hutan Pendidikan yang merupakan areal kawasan hutan dengan tujuan khusus menjadikan areal itu tetap terjaga dan berfungsi sesuai dengan fungsi hutannya sebagai hutan lindung.

Hasil analisis tanaman pinus dengan menggunakan penanda polimorfik RAPD dengan analisis NTSys versi 2.11 menunjukkan bahwa koefisien kemiripan genetik antar individu yang digunakan berkisar antara 0,15–0,93. Hubungan kekerabatan antar individu dalam populasi sangat jauh atau kemiripan genetiknya sangat kecil yaitu sekitar 15%, artinya bahwa keragaman genetik antar individu tergolong tinggi karena perbedaan genetik antar individu juga besar.

Berdasarkan dendogram (Gambar 1) menunjukkan bahwa pada taraf kesamaan 0,30 menghasilkan 8 kluster dengan jumlah individu pada kluster bervariasi antara 1 individu hingga 9 individu. Berdasarkan taraf kesamaan 0,15 hanya menghasilkan 2 kluster yang menunjukkan bahwa jarak genetik individu dalam kluster tergolong jauh.

Berdasarkan dendogram dapat juga dilihat bahwa antara sampel 17 dan sampel 19 memiliki koefisien kemiripan genetik 0,73 yang berarti kedua sampel tersebut memiliki kemiripan genetik yang paling tinggi sebesar 73%.



Gambar 1 Dendogram kekerabatan individu tegakan pinus teridentifikasi di hutan pendidikan berdasarkan penanda molekuler RAPD

Tabel 2 Hasil perhitungan jarak genetik tegakan pinus teridentifikasi

1	0.0000																			
2	0.5738	0.0000																		
3	0.6250	0.7438	0.0000																	
4	0.5254	0.7200	0.6737	0.0000																
5	0.8776	0.8500	0.7037	0.8947	0.0000															
6	0.8983	0.8000	0.9459	0.7500	0.9474	0.0000														
7	0.7358	0.6818	0.8065	0.7619	0.9375	0.7619	0.0000													
8	0.7910	0.7241	0.8222	0.6429	0.9565	0.7143	0.8800	0.0000												
9	0.6491	0.7917	0.7714	0.6957	0.8333	0.7391	0.7500	0.7037	0.0000											
10	0.5758	0.6140	0.7273	0.6000	0.8667	0.8545	0.6735	0.6825	0.5849	0.0000										
11	0.5938	0.6000	0.8095	0.6604	0.7674	0.8868	0.6170	0.6068	0.7255	0.4333	0.0000									
12	0.6538	0.6744	0.6667	0.7561	0.8065	0.9024	0.7714	0.7959	0.7436	0.6250	0.5852	0.0000								
13	0.6774	0.6604	0.6000	0.6078	0.7561	0.7255	0.7778	0.5932	0.8367	0.6207	0.5357	0.6364	0.0000							
14	0.6727	0.8261	0.7576	0.6818	0.7059	0.8182	0.7368	0.7692	0.7619	0.7255	0.5102	0.6757	0.6596	0.0000						
15	0.6863	0.8571	0.6532	0.8000	0.7333	0.7500	0.7059	0.8333	0.7368	0.8298	0.8667	0.8788	0.7674	0.7222	0.0000					
16	0.7333	0.7255	0.7368	0.7143	0.8462	0.7959	0.7674	0.8246	0.7872	0.7500	0.7407	0.8095	0.6923	0.7778	0.7561	0.0000				
17	0.6716	0.6552	0.8222	0.6071	0.8696	0.8929	0.7200	0.6875	0.7778	0.6190	0.7705	0.7959	0.8305	0.6923	0.8333	0.6842	0.0000			
18	0.8276	0.7959	0.8889	0.7447	0.8378	0.9149	0.8337	0.8909	0.8222	0.6667	0.5769	0.8000	0.8400	0.9070	0.9487	0.5417	0.5273	0.0000		
19	0.6970	0.7544	0.8182	0.6000	0.8667	0.8182	0.7143	0.6825	0.7358	0.6129	0.8000	0.7917	0.7241	0.6863	0.7872	0.6429	0.2698	0.6667	0.0000	
20	0.8431	0.7143	0.8621	0.7500	0.8667	0.8500	0.8824	0.8333	0.8421	0.7447	0.4667	0.8788	0.8140	0.7222	0.8750	0.4585	0.6667	0.7949	0.6596	0.0000
21	0.7879	0.6842	0.8182	0.6364	0.8222	0.8545	0.6735	0.7143	0.7736	0.6129	0.8667	0.7500	0.7931	0.6863	0.7872	0.6429	0.4286	0.7778	0.4859	0.7021
22	0.6452	0.7358	0.8000	0.6471	0.9024	0.8431	0.7333	0.7627	0.7551	0.6552	0.6429	0.7727	0.7037	0.6170	0.8605	0.6923	0.5932	0.8400	0.5172	0.6744
23	0.7419	0.6981	0.8500	0.7255	0.9024	0.8431	0.7778	0.7288	0.7959	0.7586	0.6786	0.8636	0.7778	0.7447	0.9070	0.6538	0.5593	0.8000	0.5517	0.6744
24	0.9016	0.8077	0.7949	0.6800	0.8500	0.8000	0.7727	0.6897	0.7917	0.7193	0.7455	0.7674	0.7736	0.6957	0.9048	0.7255	0.5862	0.8367	0.4737	0.7619
25	0.8462	0.8140	0.8667	0.8049	0.9355	0.8049	0.7143	0.6735	0.6923	0.8333	0.8696	0.8235	0.8636	0.7838	0.8788	0.7143	0.7143	0.8000	0.7500	0.8182
26	0.8776	0.8500	0.8519	0.6842	0.9286	0.8316	0.8125	0.7391	0.8333	0.9111	0.8605	0.8710	0.7561	0.8824	0.9333	0.6923	0.8261	0.8378	0.7778	0.9333
27	0.8868	0.8182	0.8710	0.7619	0.9375	0.9524	0.9444	0.8400	0.8000	0.7959	0.9149	0.9429	0.8667	0.8947	0.9412	0.8605	0.7200	0.8049	0.7551	0.6471
28	0.8033	0.7692	0.7949	0.8000	0.9500	0.7600	0.7727	0.7931	0.7500	0.7193	0.7455	0.7209	0.7358	0.7826	0.8571	0.7255	0.6897	0.7143	0.6491	0.8095
29	0.8361	0.7692	0.8462	0.8800	0.9500	0.8800	0.7727	0.7241	0.9167	0.8596	0.7818	0.8605	0.7736	0.7826	0.9048	0.8824	0.7586	0.8776	0.7193	0.8571
30	0.8154	0.8571	0.7674	0.8889	0.9091	0.9630	0.8750	0.8387	0.8846	0.8889	0.8646	0.7872	0.8246	0.8800	0.9130	0.8909	0.8387	0.8491	0.8689	0.9130

Hasil perhitungan jarak genetik (Tabel 2) bahwa jarak genetik terdekat adalah 0.2698 mengindikasikan bahwa antara individu 17 dan 19 memiliki hubungan kekerabatan lebih dekat bila dibandingkan dengan individu lain. Jarak genetik pinus yang terjauh adalah 0.9630 antara sampel 6 dengan sampel 30. Menurut Lucic *et al.* (2011) bahwa kekerabatan antar individu yang ditunjukkan oleh dendrogram berkorelasi dengan jarak genetik individu. Kekerabatan yang dekat menunjukkan jarak genetik yang rendah dan kekerabatan yang jauh menunjukkan jarak genetik yang tinggi.

Berdasarkan jarak genetik menunjukkan adanya variasi antar individu dalam populasi yang dapat disebabkan karena adanya percampuran genetik dari satu pohon induk dengan pohon induk di sekitarnya sebagai akibat dari perkawinan silang. Penurunan jumlah populasi juga dapat diakibatkan oleh terjadinya kawin kerabat (*inbreeding*). Zobel dan Talbert (1984) mengemukakan bahwa besar dan pola variasi genetik pada hutan dipengaruhi oleh sistem perkawinan. Sistem perkawinan yang cenderung sekerabat atau perkawinan tertutup, menyebabkan penurunan proporsi heterozigot dan meningkatkan jumlah keturunan yang lemah atau homosigositas tinggi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa 1) Hasil analisis DNA pinus dengan menggunakan sepuluh penanda RAPD menunjukkan adanya pola pita dan jumlah pita polimorfik yang bervariasi; 2) Individu dalam populasi memiliki koefisien kesamaan bervariasi pada taraf 0,15–0,73; 3) Terdapat variasi jarak genetik dengan jarak genetik terjauh 0.9630 dan terdekat 0,2698; 4) Keragaman genetik pinus di Hutan Pendidikan Unhas tergolong tinggi sebesar 0,489.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) yang telah mendukung dan membiayai penelitian ini melalui Hibah Unggulan Perguruan Tinggi berdasarkan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Nomor : 746/UN4-20/PL.09/2013.

DAFTAR PUSTAKA

Dahlia, E & Hartoyo. 1997. Komponen Kimia Terpenting dari Getah Tusam (*Pinus merkusii*) Asal Kalimantan Barat. Info Hasil Hutan. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.

- Hutami, S., Mariska, I & Supriati, Y.** 2005. Peningkatan keragaman genetik tanaman melalui keragaman somaklonal. *Jurnal AgroBiogen*. **2(2)**: 81–88.
- Lucic, Isajev, Rakonjan, Mataruga, Babic, Ristic & Drinic.** 2011. Application of Various Methods to Analyze Genetik Diversity of Austrian Pine (*Pinus nigra*) and Scots Pine (*Pinus cyluustris*). *Genetika* **43(3)**: 477–486.
- Martono, B.** 2009. Keragaman genetik, heretabilitas dan korelasi antar karakter kuantitatif nilam (*Pogostemon sp.*) Hasil Fusi Protoplas. *Jurnal Littri* **15(1)**: 9–14.
- Na'iem, M.** 2000. *Training Course On Basic Forest Genetics: Charecteristic of Forest Genetic Variation*. Yogyakarta: Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada.
- Putri, L.A., Rivallan, R., Zulhermana, Puspitaningrum, Y., Sudarsono, Perrier, X., Asmono, D & Norbert Billotte.** 2010. Allelic Diversity of 22 Sampoerna Agro's Oil Palm Pisifera Based on Microsatellite Markers. *Prosiding Seminar International Oil Palm Conference (IOPC)*. Yogyakarta, 1–3 Juni 2010.
- Ruas, E.A., Ruas, F.C., Medri, P.S., Medri, C., Medri, M.E., Bianchini, E., Pimenta, J.A., Rodrigues, L.A & Ruas, P.M.** 2011. Anatomy and genetic diversity of two population of *schinusterebinthifolius* (Anacardiaceae) from the Tibagi River basin in Paraná, Brazil. *Genetics and Molecular Research*. **10 (1)**: 526–536.
- Silva, A.V.C., Santos, A.R.F., Lédo, A.S., Feitosa, R.B., Almeida, C.S., Silva, G.M & Rangel, S.A.** 2012. Moringa Genetic Diversity From Germplasm Bank Using RAPD Markers. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* **15(1)**: 31–39.
- Septiningsih, E.M., Santoso, T.J., Utami, D.W & Hidayatun, N.** 2004. Analisis Sidik Jari DNA Varietas Tanaman Pangan. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian BB-Biogen 140–151.
- Shapcott, A., Dowe, J.L & Ford, H.** 2009. Low genetic diversity and recovery implications of the vulnerable Bankouale Palm *Livistona carinensis* (Arecaceae), from North-eastern Africa and the Southern Arabian Peninsula. *Conserv Genet* **10(2)**: 317–327.
- Siregar, U.J & Diputra, I.M.M.M.** 2013. Keragaman genetik *pinus merkusii* Jungh. et de Vriese Strain Tapanuli berdasarkan penanda mikrosatelit. *J. Silviculture Tropika* **4(02)**: 88–99.
- Wallace, L.** 2003. *Methods Available for the Analysis of Data from Dominant Molecular Markers*. Department of Biology, University of South Dakota.
- Weeden, N.F., Timmerman, G.M., Hemmat, M., Kneen, B.E & Lodhi, M.A.** 1992. *Inheritance and reliability of RAPD markers. In: Applications of RAPD Technology to Plant Breeding*. Joint Plant Breeding Symposia Series, November 1, 1992, Minneapolis, MN. Crop Science Society of America, Madison, WI.
- Widyatmoko, A.Y.P.B.C., Lejo, E.S., Prasetyaningsih, A & Rimbawanto, A.** 2010. Keragaman Genetik Populasi *Araucaria cunninghamii* Menggunakan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). *Jurnal Pemuliaan Tanaman* **4(2)**: 63–77.
- Zobel, B & Talbert, J.** 1984. *Applied Forest tree Improvement*. John Wiley & Sons. New York.