

Variasi Genetik Spesies Mangrove *Ceriops tagal* berdasarkan Marka RAPD

Dhuta Sukmarani

Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Magelang

e-mail:dhutasukmarani@gmail.com

Diterima Mei 2013 disetujui untuk diterbitkan September 2013

Abstract

Ceriops tagal are found at Segara Anakan Cilacap, Baluran National Park and Karimunjawa National Park. Information on the genetic diversity can be used for conservation policy. Genetic variation of *C. tagal* were analysed by using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). This study aims to determine the genetic variation in each population and between populations *C. tagal* based on RAPD markers. The total DNA was extracted with CTAB extraction method. Amplification was performed using 10 primer (OPA-3, OPA-10, OPB-1, OPB-6, OPB-7, OPB-8, OPB-10, OPB-12, OPB-17 and OPB-18). Amplification includes pradenaturation at 94°C for 5 min, followed by 45 cycles of denaturation at 94°C for 1 min, primer annealing at 37°C for 1 min, and primer elongation on 72°C for 1 min 30 sec, final extension at 72°C for 5 min and ends with holding at 4°C for 1 min. The analysis was done by changing the pattern of fragments to binary data (for bands appear = "1" and for bands do not appear = "0"). It is done using a program GenAEx 2.1 and NTSYS-PC 6.1. A population that has the highest genetic variation (*h*) was Segara Anakan (0.308), followed by Baluran (0.295) and Karimunjawa (0.123). Baluran has the highest polymorphism (75.00%), Segara Anakan 69.23%, while Karimunjawa was 30.77%. The results of AMOVA, showed that the percentage of genetic variation within populations is greater (77%) than among populations (23%). The results of PCA analysis showed a similar pattern of genetic distance and UPGMA. Samples of Karimunjawa clustered with samples of the population, SA1 and SA3 likely close to the sample of Karimunjawa and SA2 are likely not one group with another sample of the Segara Anakan. Results of mantel test, the value of $r = 0.347$ and $p = 0.02$.

Key words: *Ceriops tagal*, genetic variation, RAPD

Abstrak

Ceriops tagal terdapat di Segara Anakan Cilacap, Taman Nasional Baluran Jawa Timur, dan di Taman Nasional Karimunjawa. Informasi mengenai keragaman genetik spesies dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam mengambil kebijakan konservasi. Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan untuk analisis variasi genetik adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik pada masing-masing populasi dan antar populasi *C. tagal* berdasarkan marka RAPD. Ekstraksi DNA menggunakan metode CTAB. Amplifikasi dilakukan menggunakan 10 primer (OPA-3, OPA-10, OPB-1, OPB-6, OPB-7, OPB-8, OPB-10, OPB-12, OPB-17 dan OPB-18), meliputi pradenaturasi pada 94°C 5 menit, 45 siklus denaturasi pada 94°C selama 1 menit, penempelan primer pada 37°C selama 1 menit, dan pemanjangan primer pada 72°C selama 1 menit 30 detik, *final extension* pada 72°C selama 5 menit dan *holding* pada 4°C selama 1 menit. Analisis dilakukan dengan mengubah pola fragmen menjadi data biner (pita muncul = "1" dan pita tidak muncul = "0"). Setelah itu dilakukan analisis menggunakan program GenAEx 6.1 dan NTSYS-PC versi 2.1. Populasi yang memiliki variasi genetik (*h*) tertinggi adalah Segara Anakan (0,308), Baluran (0,295) dan terendah adalah Karimunjawa (0,123). Populasi Baluran memiliki nilai polimorfisme sebesar 75,00%, Segara Anakan 69,23%, sedangkan Karimunjawa 30,77%. Hasil AMOVA menunjukkan persentase variasi genetik dalam populasi lebih besar (77 %) dibanding variasi genetik antar populasi (23 %). Hasil analisis PCA memperlihatkan pola yang hampir sama dengan jarak genetik dan UPGMA yaitu pengelompokan sampel dari Baluran yang cenderung terpisahkan dengan populasi lain. Sampel dari Karimunjawa mengumpul, SA1 dan SA3 cenderung dekat dengan sampel Karimunjawa dan SA2 yang cenderung tidak satu kelompok

dengan sampel dari Segara Anakan yang lain. Hasil *mantel test* yaitu nilai $r=0,347$ dan nilai $p=0,02$.

Kata kunci: *Ceriops tagal*, variasi genetik, RAPD

Pendahuluan

Genus *Ceriops* pada awalnya diketahui terdiri dari dua spesies, yaitu *Ceriops tagal* (Perr.) C. B. Rob. dan *C. decandra* (Griff.) Ding Hou (Hou, 1958). Kemudian *C. australis* (White) Ballment, Smith dan Stoddart (1988) yang tadinya merupakan *C. tagal var australis*, ditetapkan menjadi spesies dari genus *Ceriops*. Penetapannya menjadi spesies adalah berdasarkan karakter isozim dan morfologi hipokotil (Ballment *et al.*, 1988). Kemudian, spesies baru *Ceriops* yang ditemukan Sheue (2003) diberi nama *C. zippeliana* (Sheue *et al.*, 2009). Selanjutnya ditemukan *C. pseudodecandra* di Australia, New Guinea dan Seram (Sheue *et al.*, 2010), sehingga saat ini ada 5 spesies *Ceriops* yang tercatat. *C. tagal* di Pulau Jawa terdapat di Segara Anakan Cilacap dan Taman Nasional Baluran Jawa Timur (Setyawan *et al.*, 2005; Sudarmadji, 2004). Selain itu, juga terdapat di pulau Karimunjawa (Susetiono *et al.*, 2010).

Vegetasi mangrove mempunyai morfologi dan anatomi tertentu sebagai respon fisiogenetik terhadap habitatnya (Gunarto, 2004). Di samping itu, keterbatasan kemampuan penyebaran jarak jauh propagul *C. tagal* menyebabkan keragaman genetik yang rendah dan populasi yang tersubstruktur (Huang *et al.*, 2007). Dari uraian tersebut, dapat diduga adanya variasi morfologi serta variasi genetik antar populasi *C. tagal*. Oleh karena itu perlu dilakukan analisis untuk mengetahui variasi genetiknya. Informasi mengenai keragaman genetik spesies dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam mengambil kebijakan konservasi. Misalnya menentukan prioritas area konservasi maupun menyediakan informasi untuk strategi konservasi genetik (Ferrière *et al.*, 2004). Metode molekuler dapat

diaplikasikan untuk mengetahui sumber daya genetik untuk taksa yang akan dikonservasi. Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan untuk analisis variasi genetik adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Beberapa penerapan teknik RAPD untuk melihat variasi genetik pada tumbuhan mangrove yang pernah dilakukan yaitu pada empat spesies *Bruguiera* di India, yaitu *B. cylindrica*, *B. gymnorrhiza*, *B. parviflora* dan *B. sexangula* (Sahoo *et al.*, 2007), variasi antar populasi *Suaeda nudiflora* di India (Jena dan Das, 2006) dan variasi genetik *Rhizophora mangle* pada populasi Florida selatan (Bartleson *et al.*, 2003). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui variasi genetik dalam dan antar populasi *C. tagal* dari Baluran, Segara Anakan dan Karimunjawa berdasarkan marka RAPD. Informasi tersebut dapat digunakan untuk pertimbangan dalam menentukan kebijakan konservasi.

Materi dan Metode

Sampel daun *C. tagal* yang dibutuhkan adalah daun yang paling muda, hingga 2-3 percabangan yang lebih tua, agar diketahui pola percabangannya. Ekstraksi DNA total dari daun segar dilakukan dengan metode ekstraksi CTAB (Doyle & Doyle, 1990 yang dimodifikasi), Amplifikasi fragmen-fragmen DNA genom secara acak menggunakan teknik RAPD dengan 10 primer (tabel 1). PCR dilakukan dengan volume total 10 μL , yang terdiri atas 5 μL *go taq green PCR master mix 2X*; 2,25 μL DNA; 0,25 μL primer dan 2,5 μL *water nuclease free*. Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan *PCR Thermal Cycler* BOECO. Metode amplifikasi dilakukan mengikuti Malviya dan Yadav (2010) dengan sedikit dimodifikasi. Pradenaturasi untaian ganda DNA

template dilakukan pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 45 siklus reaksi yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, tahap penempelan primer (*primer annealing*) pada suhu 37°C selama 1 menit, dan pemanjangan primer (*extension*) pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik, *final extension* pada suhu 72°C selama 5 menit. Siklus diakhiri dengan *holding* pada suhu 4°C selama 1 menit. Produk PCR dilihat menggunakan teknik elektroforesis pada gel agarosa 1% dengan penambahan TBE 1X dan di-

running pada tangki elektroforesis selama 30 menit dengan tegangan 100 V. Setelah itu, agarosa direndam dalam larutan EtBr selama 20 menit. Visualisasi dilakukan menggunakan UV transiluminator. Analisis dilakukan dengan mengubah pola fragmen yang bersifat kualitatif menjadi data biner kuantitatif (untuk pita yang muncul = "1" dan untuk pita yang tidak muncul = "0"). Setelah itu dilakukan analisis menggunakan program GenAIEx 6.1 (Peakall dan Smouse, 2006) dan NTSYS-PC versi 2.1 (Rohlf, 1997).

Tabel 1. Sekuen primer yang digunakan dalam PCR
Table 1. Primers sequences used for the PCR

Primer	Sekuen
OPA-3	5'- AGTCAGCCAC -3'
OPA-10	5'- GTGATCGCAG -3'
OPB-1	5'- GTTTCGCTCC -3'
OPB-6	5'- TGCTCTGCCC -3'
OPB-7	5'- GGTGACGCAG -3'
OPB-8	5'- GTGACGTAGG -3'
OPB-10	5'- CTGCTGGGAC -3'
OPB-12	5'- CCTTGACGCA -3'
OPB-17	5'- AGGGAACGAG -3'
OPB-18	5'- CCACAGCAGT -3'

Hasil dan pembahasan

Isolasi DNA Genom

Hasil isolasi DNA dari segi kuantitas dapat dilihat pada Tabel 2. Pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan absorbansi A260/280 dan A260/230 dengan tujuan mengetahui kemurnian DNA dan konsentrasi DNA. Jika mengacu pada Sambrook dan Russel (1989), nilai A260/280 adalah rasio antara DNA dengan protein. Tingkat kemurnian DNA pada absorbansi tersebut adalah 1,8 – 2,0. Sedangkan nilai A260/230 adalah rasio antara DNA dengan RNA dan kemurnian DNA pada absorbansi tersebut adalah 2,0 – 2,2. Kemurnian DNA pada absorbansi A260/280 pada penelitian ini berkisar antara 1,200 - 1,800. Sampel yang mencapai kemurnian 1,800 adalah KJ4 dan SA3,

sedangkan sampel yang lain memiliki nilai di bawah 1,800. Sedangkan pada absorbansi A260/230 berkisar antara 0,600 - 1,686. Hasil isolasi DNA pada beberapa sampel masih berada di bawah angka kemurnian. Menurut Larasati (2011), jika nilai kemurnian DNA pada absorbansi A260/280 melebihi 2,0 maka larutan yang diuji masih mengandung kontaminan dari protein membran atau senyawa lainnya sehingga kadar DNA plasmid yang didapat belum murni. Jika kurang dari 1,8 maka ddH₂O yang diambil terlalu banyak sedangkan DNA yang diambil terlalu sedikit. Konsentrasi DNA hasil isolasi berkisar antara 450 – 1900 ng/μL. Konsentrasi DNA yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi lokus tunggal berkisar dari 0,05 hingga 1,00 μg atau setara dengan 50 – 100 ng (Innis *et al.*, 1990). Berdasarkan uraian di atas, maka hasil isolasi DNA genom

memiliki konsentrasi yang cukup dan dapat digunakan untuk analisis

selanjutnya.

Tabel 2. Hasil kuantifikasi isolasi DNA *C. tagal* seluruh populasi menggunakan spektrofotometer

Table 2. Quantification results of *C. tagal* DNA isolation from all populations using spectrophotometer

Kode sampel	A260/280	A260/230	Konsentrasi (ng/ μ L)
BL1	1,238	0,897	1300
BL2	1,357	0,905	1900
BL3	1,200	1,667	900
BS4	1,200	0,706	600
BS5	1,200	1,686	1200
SA1	1,389	0,833	1250
SA2	1,800	1,286	450
SA3	1,500	1,091	600
KJ1	1,357	0,905	950
KJ2	1,238	1,083	1300
KJ3	1,800	1,500	450
KJ4	1,500	0,913	1050

Keterangan:

BL1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Baluran

BL2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Baluran

BL3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Baluran

BS4=sampel *C. tagal* 4 Pop. Baluran

BS5=sampel *C. tagal* 5 Pop. Baluran

SA1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Segara

Anakan

SA2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Segara

Anakan

SA3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Segara
Anakan

KJ1=sampel *C. tagal* 1 Pop.

Karimunjawa

KJ2=sampel *C. tagal* 2 Pop.

Karimunjawa

KJ3=sampel *C. tagal* 3 Pop.

Karimunjawa

KJ4=sampel *C. tagal* 4 Pop.

Karimunjawa

A. Amplifikasi dan Polimorfisme DNA

Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa kesepuluh primer yang digunakan menghasilkan fragmen RAPD sebanyak 190 buah (Tabel 3). Amplifikasi merupakan hasil berpasangannya nukleotida primer dengan nukleotida penyusun DNA (Hartati, 2006). Polimorfisme dapat terjadi karena primer yang digunakan dalam RAPD memiliki karakter

penempelan fragmen yang berbeda (Roslim *et al.*, 2003). Hasil amplifikasi primer RAPD dalam penelitian ini, terlihat banyak pita yang tidak muncul, hal tersebut dapat disebabkan tidak menempelnya primer pada situs penempelan primer. Salah satu penyebab terjadinya hal ini adalah kualitas DNA yang kurang baik.

Tabel 3. Hasil analisis RAPD menggunakan 10 primers

Table 3. Results of RAPD analysis by using 10 primers

Primer	Pita ter-amplifikasi	Total fragmen	Ukuran pita (pb)
--------	----------------------	---------------	------------------

Primer	Pita ter-amplifikasi	Total fragmen	Ukuran pita (pb)
OPA 3	4	17	600, 550, 500, 300
OPA 10	10	28	1200, 900, 850, 800, 700, 600, 500, 400, 350, 200
OPB 1	4	15	650, 500, 400, 200
OPB 6	4	16	650, 500, 400, 300
OPB 7	9	48	1100, 700, 650, 550, 500, 400, 300, 250, 200
OPB 8	4	15	800, 600, 500, 400
OPB 10	1	4	200
OPB12	3	11	350, 300, 250
OPB 17	4	13	600, 450, 350, 100
OPB 18	9	23	1200, 1000, 900, 700, 550, 500, 400, 300, 250

DNA yang pemurniannya tidak sempurna kemungkinan masih mengandung polisakarida, senyawa fenolik atau kontaminan lain, sehingga dengan meningkatnya konsentrasi DNA maka kontaminan juga bertambah. Kontaminan dalam jumlah yang signifikan dapat mempengaruhi

B. Variasi Genetik

Jika dilihat dari nilai variasi genetik (h), populasi yang memiliki variasi tertinggi adalah Segara Anakan dengan nilai 0,308, disusul populasi Baluran dengan nilai 0,295, dan populasi yang memiliki nilai terendah adalah Karimunjawa dengan nilai h sebesar 0,123 (Tabel 4). Nilai polimorfisme juga bisa digunakan untuk melihat variasi genetik. Semakin tinggi nilai polimorfisme, maka semakin tinggi pula variasi genetik dalam populasi tersebut. Nilai polimorfisme dapat berkisar antara 0% - 100%. Jika dilihat dari persentase lokus polimorfik pada

penempelan primer pada DNA cetakan (Weeden *et al.*, 1992). Kandungan fenol, tannin dan metabolit sekunder pada tumbuhan dapat mempengaruhi ekstraksi DNA dan akhirnya dapat mempengaruhi karakterisasi melalui PCR (Nkongolo *et al.*, 1998).

tabel 4, populasi Baluran memiliki persentase yang paling tinggi yaitu sebesar 75,00%, sedangkan yang terendah adalah populasi Karimunjawa dengan nilai 30,77%. Populasi Segara Anakan memiliki nilai polimorfisme diantara kedua populasi lainnya, yaitu sebesar 69,23%. Terdapat beberapa hal yang mempengaruhi tingkatan variasi genetik suatu spesies dalam suatu populasi misalnya, ukuran populasi, mutasi, hanyutan genetik (*genetic drift*), migrasi, sistem perkawinan, seleksi, serta produksi bunga dan *pollen* (Hamid *et al.*, 2008).

Tabel 4. Nilai parameter variasi genetik pada masing-masing populasi *C. tagal*

Table 4. Parameter value of genetic variation in each population of *C. tagal*

Populasi	N	Na	Ne	h	PPL
Baluran	5,000	1,615	1,510	0,295	75,00%
Segara Anakan	3,000	1,404	1,554	0,308	69,23%
Karimunjawa	4,000	0,615	1,208	0,123	30,77%

Keterangan: N= Jumlah Sampel; Na = Jumlah alel yang berbeda; Ne = Jumlah alel yang efektif; h = variasi genetik; PPL= Persentase lokus polimorfik

	BL1	BL2	BL3	BS4	BS5	SA1	SA2	SA3	KJ1	KJ2	KJ3	KJ4
BS4	19	23	18	0								
BS5	21	19	20	12	0							
SA1	20	28	23	15	17	0						
SA2	24	16	21	23	21	32	0					
SA3	24	32	27	15	21	4	36	0				
KJ1	27	31	32	22	24	17	29	13	0			
KJ2	26	32	27	19	23	8	34	6	11	0		
KJ3	23	33	28	16	22	7	35	3	10	5	0	
KJ4	23	31	26	16	20	3	33	5	14	5	6	0

Keterangan:

BL1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Baluran

BL2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Baluran

BL3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Baluran

BS4=sampel *C. tagal* 4 Pop. Baluran

BS5=sampel *C. tagal* 5 Pop. Baluran

SA1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Segara Anakan

SA2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Segara Anakan

SA3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Segara Anakan

KJ1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Karimunjawa

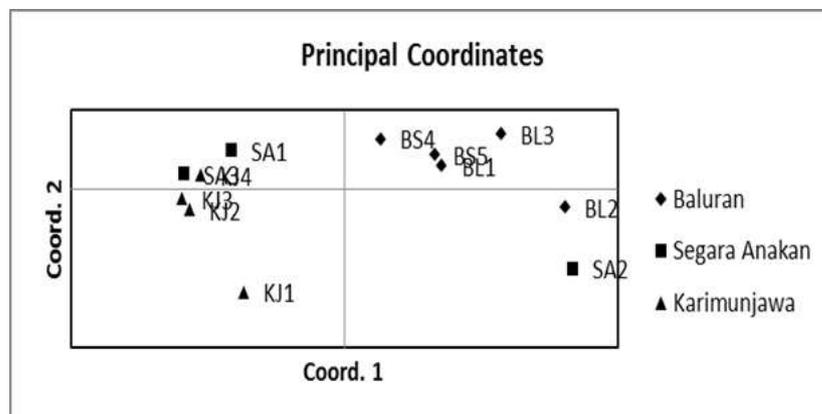
KJ2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Karimunjawa

KJ3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Karimunjawa

KJ4=sampel *C. tagal* 4 Pop. Karimunjawa

Jika dilihat dari Tabel 6, dapat disimpulkan masing-masing sampel dari populasi Karimunjawa memiliki jarak genetik yang dekat dengan sampel satu populasi. Sedangkan sampel *C. tagal* dari Segara Anakan, terlihat bahwa SA2 memiliki jarak genetik yang jauh dengan SA1 dan SA3. SA1 dan SA3 cenderung dekat dengan sampel dari Karimunjawa, sedangkan SA2 relatif jauh dengan

sampel dari populasi lain. Sampel dari populasi Baluran memiliki jarak yang relatif sedang dengan sesama sampel Baluran dan relatif jauh dengan sampel dari populasi lain.



Gambar 1. Hasil Analisis PCA seluruh sampel *C. tagal*

Figure 1. PCA results of all samples of *C. tagal*

Keterangan:

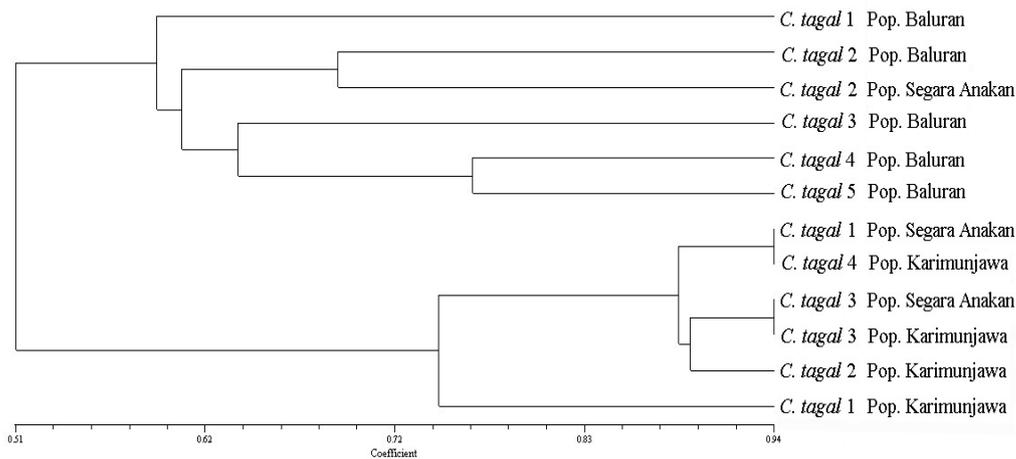
BL1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Baluran
BL2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Baluran
BL3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Baluran
BS4=sampel *C. tagal* 4 Pop. Baluran
BS5=sampel *C. tagal* 5 Pop. Baluran
SA1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Segara Anakan
SA2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Segara Anakan

SA3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Segara Anakan
KJ1=sampel *C. tagal* 1 Pop. Karimunjawa
KJ2=sampel *C. tagal* 2 Pop. Karimunjawa
KJ3=sampel *C. tagal* 3 Pop. Karimunjawa
KJ4=sampel *C. tagal* 4 Pop. Karimunjawa

Kekerabatan genetik dan pola pengelompokan berdasarkan jarak genetik dapat dilihat menggunakan dendrogram UPGMA (*Unweighted Paired Group Method of arithmetic Averages*) dan PCA (*Principal Coordinate Analysis*). Hasil analisis PCA memperlihatkan pola yang hampir sama dengan jarak genetik yaitu pengelompokan sampel dari Baluran yang cenderung terpisahkan dengan populasi lain. Sampel dari Karimunjawa juga mengumpul, sedang kan sampel dari Segara Anakan, yaitu SA1 dan SA3 cenderung dekat dengan sampel Karimunjawa dan SA2 yang cenderung tidak satu kelompok dengan sampel dari Segara Anakan yang lain (Gambar 1).

Pengelompokan berdasarkan UPGMA pada Gambar 2 seiring dengan PCA dan *genetic distances*. Yaitu *C. tagal* 1 populasi Segara Anakan (SA1) paling dekat dengan *C. tagal* 4 populasi Karimunjawa (KJ4), *C. tagal* 3 populasi Segara Anakan (SA3) paling dekat dengan *C. Tagal* 3 populasi Karimunjawa (KJ3) dan cenderung sekelompok dengan sampel dari Karimunjawa yang lain. Sedangkan *C. tagal* 2 populasi Segara Anakan (SA2) cenderung mengelompok dengan sampel dari Baluran, namun

jaraknya jauh. Secara garis besar pola pengelompokan yang dihasilkan, sampel dari Segara Anakan tidak mengelompok berdasarkan populasi. Hal tersebut dapat saja terjadi karena adanya propagul *C. tagal* yang terbawa arus laut dan menyebar hingga masuk ke populasi lain dan memberikan kontribusi pada gene flow populasi tersebut. Adanya arus lintas Indonesia (*Indonesian Throughflow*) yang menghubungkan samudera Pasifik dan samudera Hindia dapat menjadi perantara penyebaran propagul dari satu populasi ke populasi lain karena arus tersebut juga melalui perairan di sekitar pulau Jawa dan Bali (Wyrski, 1987). Sedangkan air dari samudera Hindia dan laguna Segara Anakan dapat keluar dan masuk laguna melalui pelawangan barat (Yuwono *et al.*, 2007). Kasus serupa pernah terjadi pada penelitian Liao *et al.*, (2007) mengenai gene flow *C. Tagal* antara teluk Benggala dan laut Cina Selatan. Bibit mangrove dapat mengalami penyebaran jarak jauh dengan bantuan arus laut pada saat pasang dan menyeberang dari teluk Benggala menuju laut Cina Selatan atau sebaliknya, melalui Kra Isthmus (bagian tersempit semenanjung Malaya).



Gambar 2. Dendrogram UPGMA unbtuk seluruh sampel *C. tagal* di ketiga populasi

Figure 2. UPGMA tree of all *C. tagal* samples

Untuk mengetahui korelasi antara jarak genetik dengan jarak geografis, dilakukan analisis *mantel test*. Hasil yang diperoleh yaitu nilai $r=0,347$ dan nilai $p=0,02$ (Tabel 7). Angka tersebut menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara jarak genetik dengan jarak geografis. Hal tersebut mengindikasikan bahwa perbedaan

geografis memberikan peranan penting dalam perbedaan genetik pada ketiga populasi. Hasil semacam ini juga diperoleh Varesa *et al.* (2012), yang memperlihatkan bahwa perbedaan struktur genetik karena adanya jarak juga terjadi pada tumbuhan *Amomum apiculatum* di Sumatera.

Tabel 7. Hasil mantel test antara jarak genetik dengan jarak geografis seluruh sampel *C. tagal*

Table 7. Results of matle test amongst genetic distance with geographic of all samples of *C. tagal*

SSx	SSy	SPxy	Rxy	P
3722597.003	5056.121	47637.274	0.347	0.020

Keterangan: SSx = the sum of products of X matrix elements; SSy = the sum of products of Y matrix elements; SPxy = the sum of cross products of corresponding elements of the X and Y Matrices; Rxy=mantel correlation coefficient; P=probability of statistical significance

Bedasarkan seluruh analisis variasi genetik yang telah dilakukan dapat dikatakan bahwa populasi Baluran dan Segara Anakan masih memiliki kekayaan genetik *C. tagal* yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk sumber bibit. Selain itu, perlu peningkatan pengelolaan dan konservasi untuk menjaga kekayaan genetik yang ada di ketiga kawasan tersebut dan mengurangi kerusakan

yang disebabkan oleh faktor antropogenik.

Simpulan

1. Persentase variasi genetik dalam populasi lebih besar (77 %), dibandingkan dengan variasi genetik antar populasi (23 %). Sebagian besar

keanekaragaman genetik tersimpan di dalam populasi.

2. Nilai variasi genetik (h) ketiga populasi tersebut berkisar antara 0,123-0,308. Populasi Baluran dan Segara Anakan masih memiliki kekayaan genetik *C. tagal* yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai sumber bibit untuk konservasi.

Daftar Pustaka

- Ballment, E.R., T.J. Smith III and J.A. Stoddart. 1988. Sibling species in the mangrove genus *C.* (Rhizophoraceae), detected using biochemical genetics. *Australian Systematic Botany*. 1: 391-397.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Ferrière, R.U., U. Dieckmann and D. Couvet (eds). 2004. *Evolutionary Conservation Biology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Gunarto. 2004. Konservasi Mangrove sebagai Pendukung Sumber Hayati Perikanan Pantai. *Jurnal Litbang Pertanian*. 23(1): 15-21.
- Hamid, A.H., N.A. Ab-Shukor and A.L. Senin. 2008. Morphometric and Genetic variation of six seed source of *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs. *Journal of Biological Sciences*. 8: 702-712.
- Hamrick, J.L. and M.J.W. Godt. 1989. Allozyme Diversity in Plants. In *Plants Population Genetics Breeding and Genetic Resources*. A.H.D. Brown, M. T. Clegg, A.L. Kahler, and B.S. Weir (eds.) Sinauer. Sunderland. Massachusetts. pp.43-63.
- Hartati, D. 2006. Keragaman genetik sengon (*Albazia falcataria* L. Fosberg) melalui DNA marker. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman (P3HT). Yogyakarta.
- Hou, D. 1958. Rhizophoraceae. In C.G.G.J. van Steenis (ed.). *Flora Malesiana*. 1(5): 429-473.
- Huang, Y., F. Tan, G. Su, S. Deng, H. He, and S. Shi. 2007. Population genetic structure of three tree species in the mangrove genus *Ceriops* (Rhizophoraceae) from the Indo West Pacific. *Genetica*. DOI:10.1007/s10709-007- 9182-1.
- Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White. 1990. *PCR Protocols A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, Inc; California.
- Liao, P.C., S. Havanond and S. Huang. 2007. Phylogeography of *C. tagal* (Rhizophoraceae) in Southeast Asia: the land barrier of the Malay Peninsula has caused population differentiation between the Indian Ocean and South China Sea. *Conservation Genetics*. 8:89-98.
- Nkongolo, K.K., K. Klimaszewska and W.S. Gratton. 1998. DNA yields and optimization of RAPD patterns using spruce embryogenic lines, seedlings, and needles. *Plant Molecular Biology Reporter*. 16: 1-9
- Noor, Y.R., M. Khazali dan N.N. Suryadiputra. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International Indonesia Programe. Bogor.
- Peakall, R. and P.E. Smouse. 2006. GenAIEx : *Genetic Analysis in Excel*. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. *Mol Ecol Notes* 6: 288-295. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAIEx/>
- Rohlf. F.J. 1997. *NTSYS-pc.Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Version 1.8. Exeter Software (NY, USA) .

- Roslim, D I., Alex H. dan Suharsono. 2003. Kemiripan Genetika Tiga Populasi Kelapa Tipe Dalam Berdasarkan Tiga Metode Analisis Data Penanda RAPD. *Hayati*. 10(1): 12-18.
- Sahoo, P., Satyanarayan J., Suprava M. and A.B. Das. 2007. Molecular phylogenetic relationships among four species of the mangrove tree genus *Bruguiera* (Rhizophoraceae), as revealed by chromosome and RAPD markers. *Journal of Tropical Biology*. 55 (2): 437-448.
- Sambrook, J. and D.W. Russel. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York: Cold-Spring Harbor Laboratory Press. 2nd Edition 165p.
- Setyawan, A.D., Indrowuryatno, K. Winarno, A. Susilowati dan Wiryanto. 2005. Tumbuhan Mangrove di Pesisir Jawa Tengah: 1. Keanekaragaman Jenis. *Biodiversitas*. 6 (2): 90-94.
- Sheue, C.R. 2003. Comparative Morphology and Anatomy of the Eastern Mangrove Rhizophoraceae. Ph. D. Dissertation. National Sun Yat-sen University, Kaohsiung, Taiwan. 228pp.
- Sheue, C.R., H.Y. Liu, C.C. Tsai, S.M.A. Rashid, J.W.H. Yong and Y.P. Yang. 2009. On the morphology and molecular basis of segregation of two species *C. zippeliana* Blume and *C. decandra* (Griff.) Ding Hou (Rhizophoraceae) from southeastern Asia. *Blumea* 54: (in press).
- Sheue, C.R., S.M.A. Rashid, J.W.H. Yong and Y.P. Yang. 2010. *C. zippeliana* Blume (Rhizophoraceae), a New Record of a Mangrove Species in Singapore. *Taiwania*. 55(1): 72-77.
- Susetiono, P. Swasti, Supono dan Dharmawan I.W.E. 2010. Penyusunan Panduan Evaluasi Efektivitas Pengelolaan untuk Kawasan Konservasi Laut di Indonesia. CRITC COREMAP II - LIPI. Jakarta. viii + 92 pp.
- Varesa, W, Syamsuardi, Mansyurdin, T. Maideliza, dan P. Pratiwi. 2012. Analisis Variasi Genetik Beberapa Populasi *Amomum apiculatum* K. Schum. di Sumatera Barat Dengan Metoda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Program Pascasarjana Biologi, Univ. Andalas.
- Weeden N.F., G.M. Timmerman, M. Hemmat, B.E. Kneen, and M.A. Lodhi. 1992. Inheritance and reliability of RAPD markers. Application of RAPD Technology to Plant Breeding. Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA. Minneapolis.
- Wyrcki, K. 1987. Indonesian Throughflow and The Associated Pressure Gradient. *Journal of Geophysical Research*. 92 (C12): 12941-12946.
- Yulianti, I.Z. Siregar, N. Wijayanto, I.T. Darma and D. Syamsuwida. 2011. Genetic Variation of *Melia azedarach* in Community Forests of West Java Assessed by RAPD. *Biodiversitas*. 12(2): 64-69.
- Yuwono, E., T.C. Jennerjahn, I. Nordhaus, E.R. Ardli, M.H. Sastranegara and R. Pribadi. 2007. Ecological Status of Segara Anakan, Indonesia: A Mangrove-fringed Lagoon Affected by Human Activities. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*. 4(1): 61-70.