

KERAGAMAN ALEL GADUNG LIAR (*Dioscorea bulbifera* L.) DI SUMATERA BARAT

Tesri Maideliza, dan Mansyurdin

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

E-mail: tatesri@yahoo.com

Abstrak

Keragaman 6 lokus enzim pada 3 populasi *Dioscorea bulbifera* telah diperiksa dengan memakai elektroforesis pati/poliakrilamid gel. Pada penelitian ini terdapat 3 lokus polimorfik dengan masing-masing 2 (dua) alel sehingga total 9 alel telah ditemukan pada seluruh populasi yang diperiksa. Keragaman alel lebih tinggi dalam populasi ($H_s=0,08$) dibanding antar populasi ($D_{st}=0,04$). Aliran gene sebesar 0,53 adalah memperlihatkan nilai yang tinggi akibat antar populasi hanya mengalami sedikit diferensiasi secara genetik. Hal ini didukung oleh perbedaan genetik antar populasi berkisar antara 0,028-0,129. Dari data isozim ini besar kecenderungan telah terjadi diferensiasi genetik antara populasi yang terdapat di sebelah Barat dan sebelah Timur Bukit Barisan.

Abstract

The variety of six enzymes locus on three populations of *Dioscorea bulbifera* was revealed using both starch and polyacrilamide gel electrophoresis. Present study showed three polymorphic loci has each 2 alleles with nine total numbers of alleles for all populations examined. The higher alleles variety detected within population ($H_s=0,08$) than among population ($D_{st}=0,04$). The high levels of gene flow (0.53) were due to low differentiation among population. This result supported low levels genetic variation among population examined. Aozime data revealed moderate differentiation genetically between Western and Eastern part population from Bukit Barisan edge.

Keywords: allele, electrophoresis, gene flow, genetic variation, locus

1. Pendahuluan

Potensi evolusi suatu species tergantung kepada variasi genetik yang terkandung dalam populasinya Oyama [1]. Populasi suatu species dapat memperlihatkan perbedaan derajat variasi genetik tertentu berkaitan dengan sistem reproduksi, asal-usul Hamrick dan Godt [2], penyebaran Babel dan Selander [3], dan sejarah geologisnya Lager-crantz dan Ryman [4]. Pada akhir-akhir ini penelitian terhadap sebaran dan variasi genetik berbagai jenis tumbuhan meningkat pesat karena sangat berkaitan erat dalam mempelajari proses evolusinya Pleasant dan Wendel [5].

Gadung (*Dioscorea*) adalah salah satu tumbuhan berumbi sudah dilaporkan oleh ahli Botani Belanda di Malay Peninsula, salah satu jenisnya adalah *Dioscorea bulbifera* (Dioscoreaceae). Jenis gadung ini banyak ditemukan di Sumatera. Jenis ini mempunyai keunikan dibanding jenis gadung lainnya yaitu mempunyai umbi udara sehingga dikenal juga dengan nama "kentang udara" (air potato) Martin [6]. Umbi udara dapat mencapai berat 600 g, dihasilkan setelah tumbuhan berumur tiga bulan, dan setelah berumur enam bulan tumbuhan mati Dahlan [7].

Tumbuhan *Dioscorea* terkenal dikalangan kaum taksonomis karena mempunyai banyak problem dalam bidang sistematik Morton [8]; Bartlett [9]; Wilkin [10]; Xifreda [11]. Hal ini disebabkan karena banyak spesies yang belum teridentifikasi/belum dikenal. Penelitian tentang sistematik jenis-jenis *Dioscorea* ini sekarang banyak dilakukan oleh berbagai institusi penelitian di dunia.

Dioscorea mempunyai wilayah distribusi yang luas, maka akan menjadi persoalan yang menarik untuk mengetahui variasi genetik tumbuhan ini. Variasi genetik dapat dimulai dari menganalisa kromosom seperti jumlah kromosom dasar dan variasi lainnya dengan melakukan studi kariotipe Maideliza [12]; Okada & Tamura [13]. Telah dilaporkan bahwa *Dioscorea* mempunyai jumlah kromosom dasar $x=9$ atau $x=10$, Degras [14]. Pada tingkat populasi dapat dikembangkan kepada analisa protein (isozim) seperti yang dilakukan sekarang ini. Tumbuhan yang berasal dari daerah berbeda dapat saja mempunyai genetik/ kariotipe berbeda karena perbedaan evolusi dan sejarahnya Maideliza [15].

Sejak era 1930-an Tiselius [16] pasangan teknik elektroforesis dan pola alozim (zimogram) Hunter dan Market [17] telah menjadi pilihan untuk mempelajari peristiwa pewarisan genetik oleh para ahli genetika, sistematika, dan biologi populasi Gottlieb [18]; Brown [19]. Diantara banyak teknik elektroforesis untuk protein, isozim sudah digunakan secara luas karena lebih efisien dan relatif lebih murah terlebih dalam mempelajari variasi yang intra spesifik.

Pada penelitian sekarang ini dilakukan pemeriksaan terhadap populasi *D. bulbifera* dari beberapa tempat di Sumatera Barat dan sebagai tambahan dibandingkan pula dari beberapa populasi di Bengkulu. Penelitian ini adalah studi pendahuluan yang bertujuan untuk: 1. mengetahui keragaman alel inter dan intra populasi, 2. membandingkan keragaman alel antara populasi disebelah barat dan timur Bukit Barisan..

2. Metoda Penelitian

a. Koleksi Bahan di Lapangan

Sampel *Dioscorea bulbifera* dikoleksi dari populasi alami di lapangan. Populasi terdiri dari dua populasi utama yaitu populasi Barat dan populasi Timur Bukit Barisan. Pada setiap populasi utama dibagi 5 (lima) sub populasi, sehingga total sub-populasi berjumlah sepuluh sub-populasi. Pada setiap sub-populasi dikoleksi minimal 10 individu. Bagian tanaman yang dikoleksi adalah umbi udara yang sudah matang apabila ditemukan atau umbi utama bila tidak ada umbi udara.

b. Penanaman Ulang

Umbi yang sudah dikoleksi dari beberapa populasi di lapangan ditanam kembali di Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB Bogor. Individu dikelompokkan per populasi. Tanaman dirawat untuk diambil daun mudanya yang biasanya telah berkembang dua (2) bulan setelah di tanam. Daun muda ini akan digunakan sebagai sumber enzim yang akan di analisa dengan elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid.

c. Penyediaan sampel enzim

Daun muda setiap individu seberat 0,2 g di digerus memakai lumpang porselen dengan menambahkan bufer Tris-HCl dengan komposisi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi larutan grinding bufer untuk allozim

Komponen	Jumlah	pH
Tris-HCl	80 mM	7,5
2-Merkaptoetanol	0,60%	-
EDTA (tetrasodium salt)	0,8 mM	
Polyvinilpirolidon	0,60%	
Sucrosa	0,16 M	
Polietilenglikol (BM 3.350)	1,60%	
Bovin serum albumin	0,10%	
Gliserol	20%	

d. Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan memakai dua *plate* vertikal masing-masing dengan 20 sumur. Gel poliakrilamid yang digunakan adalah 3% untuk bagian atas (*spacer gel*) dan 7,5% bagian bawah (*running gel*). Pada setiap sumur dimasukkan 20 mikro liter sampel. Elektroforesis berlangsung dalam kondisi suhu 5 °C, voltase 300 volt (40 amper)

selama 4-5 jam dengan memakai Bufer Tris-HCl, pH 8,9 (Tabel 1). Untuk mempermudah mengetahui waktu akhir elektroforesis dipakai penanda Bromofenol 1.5%.

e. Pewarnaan

Untuk menentukan posisi pita enzim dipakai pewarnaan metoda Soltis *et al.* [20] dengan memakai prosedur pewarnaan mengikuti metoda Wendel dan Weeden [21].

f. Analisa statistik

Untuk menganalisa variasi genetik untuk setiap populasi digunakan soft-ware POPGENE Yeh *et al.* [22] kecuali untuk menghitung aliran gene digunakan soft-ware FSTAT Goudet [23]. Analisa mencakup perhitungan koefisien perbedaan genetik (*genetic distance*). Setiap lokus dianggap polimorfik apabila frekuensi alel dominannya tidak melebihi 0,95%.

Distribusi total variasi genetik pada populasi dihitung menggunakan statistik Nei [24]. Fiksasi indeks dibandingkan dengan proporsi genotip berdasarkan perkiraan persamaan Hardy-Weinberg. Pada setiap lokus polimorfik keragaman alel dilambangkan sebagai berikut:

1. Diversitas gen total (H_T) (1)
2. Diversitas gen dalam populasi (H_S) (2)
3. Diversitas gen antar populasi (D_{ST}) (3)
4. Hubungan ke tiga rumus ($H_T=H_S+D_{ST}$) (4)
5. Differensiasi populasi ($G_{ST}=D_{ST}/H_T$) (5)
6. Aliran gen ($Nm=(1-G_{ST})/4G_{ST}$) (6)

Perbedaan genetik (*Genetic distance*) dihitung berdasarkan Nei [23] yang dihitung antar populasi kemudian nilai ini digunakan untuk menyusun dendrogram menggunakan UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic average*) dengan menggunakan soft-ware NTSYS-pc Rohlf [24].

Untuk menentukan posisi setiap sistem enzim dipakai metoda [20-21]. Lokus ditentukan dengan cara menginterpretasi pita (*band*) yang terbentuk paling jauh migrasinya ke kutub anoda sebagai lokus 1, lokus 2, dan seterusnya, cara yang sama dipakai juga untuk menentukan alel, yaitu pita yang bermigrasi paling jauh pada suatu lokus ditandai sebagai alel *a*, berikutnya alel *b* dan seterusnya.

3. Hasil dan Pembahasan

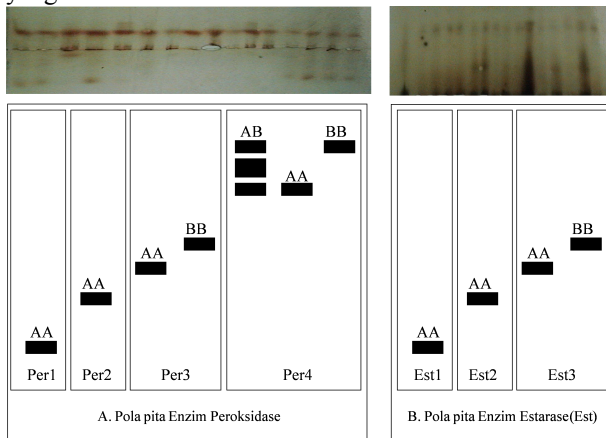
Pada penelitian ini beberapa sistem enzim sudah dicoba namun hanya Peroxidase (Per) Esterase (Est) yang dapat diinterpretasi (Gambar 1). Pada sistem Peroxidase dapat diinterpretasi 4 (empat) lokus sedangkan pada sistem Esterase dapat diinterpretasi 3 (tiga lokus) sehingga total lokus yang diinterpretasi berjumlah 6 (enam) lokus (Tabel 2).

Pada penelitian ini tiga dari 6 lokus yang diperiksa (Per3, Per4 dan Est2), adalah polimorfik (lokus polimorfik), sedangkan lokus lainnya dalam bentuk monomorfik (lokus monomorfik). Seluruh lokus polimorfik yang didapatkan hanya mempunyai dua alel sehingga total jumlah alel adalah 9 (sembilan). Lokus polimorfik ini hanya ditemukan pada sampel yang berasal dari Bengkulu. Lokus polimorfik Per3 dan Per4 adalah berstruktur dimerik, sedangkan Est2 berstruktur monomerik berdasarkan peneliti terdahulu [21].

Jumlah individu/sampel yang digunakan untuk menganalisa keragaman protein pada penelitian masih dirasa kurang (ada yang hanya 4 individu pada satu populasi). Hal ini terjadi karena di lapangan sangat sulit untuk mendapatkan sampel yang berbeda asalnya. Kebanyakan sampel yang ditemukan di lapangan adalah berasal dari satu individu yang sama karena biasanya penduduk yang menanam mendapatkannya dari tetangga atau sanak famili.

Pada tiga polimorfik lokus seperti pada Per3 (0.28), Per4 (0.10), dan Est2 (0.21) mempunyai prosentase alel terendah berkisar dari 10-23%. Hal ini memperlihatkan bahwa besar kemungkinan akan ditemukan alel-alel lain apabila sampel diperbanyak. Hal ini mengingat dengan jumlah sampel yang terbatas seperti sekarang persentase alel minoritas 10% pada lokus polimorfik tergolong cukup tinggi.

Keragaman genetik pada *D. bulbifera* berada dalam populasi seperti disajikan pada Tabel 3. Nilai *Hs* (0,08) jauh lebih besar dari pada nilai *Dst* (0,04) mengindikasikan perbedaan genetik akan terlihat didalam populasi. Perbedaan genetik yang rendah antar



Gambar 1. Pola pita protein pada *D. bulbifera*

Tabel 2. Jumlah lokus, jumlah dan frekwensi alel untuk setiap lokus pada dua sistim enzim pada *D. bulbifera*

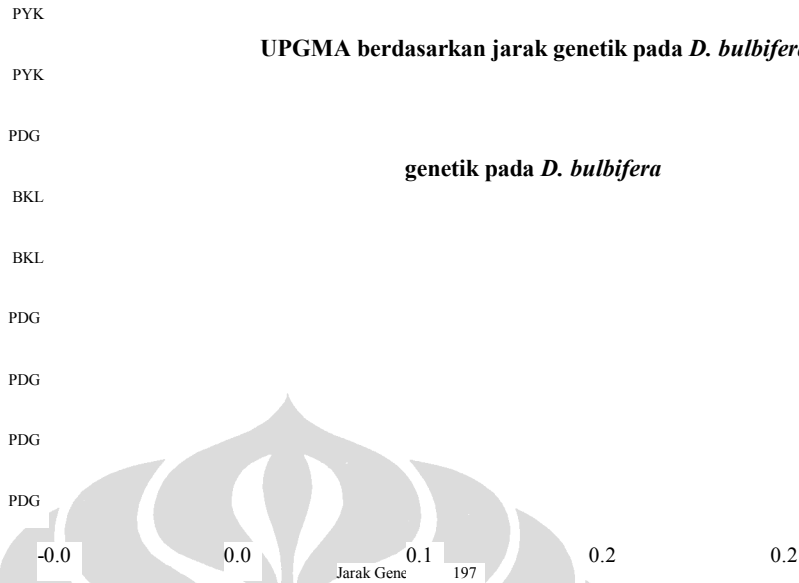
Lokus	Alel	Populasi		
		PYK	PDG	BKL
Per1	A	1	1	1
Per2	A	1	1	1
Per3	A	1	1	0.773
	B	0	0	0.227
Per4	A	1	1	0.896
	B	0	0	0.104
Est1	A	1	1	1
Est2	A	1	1	0.208
	B	0	0	0.792

populasi disebabkan oleh aliran gen yang cukup tinggi antar populasi yang tampak pada nilai *Gst* (0.312) dengan nilai aliran gen (0.53, Tabel 3). Hasil ini jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan spesies tanaman yang mempunyai sistem penyerbukan endiri seperti *R. silerifolius* (*Gst*=0,58; Aliran gen=0,17) seperti yang dilaporkan oleh Maideliza dan Okada [25]. Aliran gen pada *D. bulbifera* yang terdeteksi pada saat ini cukup tinggi, ini biasanya didapatkan pada tanaman yang kawin silang dan berkembang biak dengan biji. Namun hal ini sangat bertentangan dengan kenyataan di lapangan yakni tanaman *D. bulbifera* ini lebih banyak berkembang biak dengan umbi yang keluar dari batang. Ada dua kemungkinan dalam hal ini. Kemungkinan pertama *D. bulbifera* yang didapatkan saat ini sudah terdiferensiasi menjadi beberapa varitas, sedangkan kemungkinan yang kedua *D. bulbifera* yang didapatkan tersebar pada beberapa daerah ini berasal dari satu sumber genetik dengan tipe genetik berbeda kemudian tersebar keberbagai tempat dengan bantuan manusia.

Jarak Genetik

Gambar 2. Fenogram

UPGMA berdasarkan jarak genetik pada *D. bulbifera*



Tabel 3. Keragaman

genetik pada *D. bulbifera*

Lokus	<i>Ho</i>	<i>Hs</i>	<i>Ht</i>	<i>Dst</i>	<i>Gst</i>	Aliran Gen
Per3	0	0.13	0.15	0.01	0.08	
Per4	0.07	0.06	0.07	0.01	0.06	
Est2	0	0.29	0.50	0.21	0.41	
Total	0.01	0.08	0.11	0.04	0.31	0,53

Tabel 4. Jarak genetik antar populasi pada *D. bulbifera* berdasarkan Nei 1978

Populasi	PYK	PDG	BKL
PYK	-		
PDG	0.1291	-	
BKL	0.0435	0.0276	-

Ho=perkiraan heterozigot, *Hs*=keragaman genetik dalam populasi, *Dst*= keragaman genetik antar populasi *Ht*=total keragaman genetik, *Gst*=total perbedaan genetik

Jarak genetik antar populasi pada penelitian ini didapatkan berkisar dari 0,028 – 0,129 (Tabel 4). Jarak genetik terbesar 0,129 didapatkan antar populasi Padang (PDG) dengan Bengkulu (BKL), dan terkecil antara populasi BKL dengan populasi PDG. Berdasarkan jarak genetik ini didapatkan fenogram seperti pada Gambar 2. Dari fenogram yang didapat menempatkan populasi PDG dan BKL dalam satu kluster dan terpisah dari populasi PYK. Hal ini memperlihatkan bahwa secara genetik populasi PDG lebih mempunyai kemiripan dengan populasi BKL dibanding dengan populasi PYK. Hal ini juga dapat mengindikasikan populasi yang ada di bagian Barat Bukit Barisan sudah mulai berbeda secara genetik dari populasi di bagian Timur Bukit barisan. Namun Hal ini menjadi berbeda apabila beberapa populasi PDG, PYK, dan BKL di pisah menjadi populasi-populasi lebih kecil seperti pada Gambar 2. Hal ini dapat terjadi karena beberapa individu kemungkinan berasal dari tempat yang sama meskipun sudah menjadi populasi yang berbeda pada saat sekarang. Misalnya beberapa populasi dari Payakumbuh (PYK) meskipun sekarang dipisahkan oleh Bukit barisan akan tetapi lokasinya cukup dekat dengan Padang (PDG) sehingga sangat mudah disebarkan oleh manusia yang interaksinya berlangsung cepat karena jaraknya yang dekat. Populasi yang didapatkan seperti ini pada Gambar 2 didapatkan pada satu kluster yang sama.

Pada populasi yang diperiksa sekarang sangat jarang ditemukan hetero zigot (hanya 0,076). Hal ini sangat mudah dipahami karena perbanyakannya tanaman ini sekarang lebih dominan dengan bulbil yang dihasilkan pada batang. Meskipun tanaman ini masih menghasilkan bunga namun hampir tidak ada menghasilkan biji. Adapun heterozigot yang terdeteksi sekarang adalah kemungkinan peninggalan tipe-genetik masa lampau yang masih eksis sampai sekarang.

4. Kesimpulan

Keragaman alel *D. bulbifera* berada dalam (inter) populasi. Populasi sebelah Barat dan sebelah Timur Bukit Barisan memperlihatkan keragaman alel yang tinggi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan kepada Dirjen Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah mendanai penelitian ini melalui Proyek Penelitian Dasar Nomor: 005/SP3/PP/DP2M/II/2006

Daftar Acuan

- [1] K. Oyama, K. 1998. *Pl. Syst. Evo.* 213, (1998) 91-102.
- [2] J.L. Hamrick, M.J. Godt. 1990. *In* Brown, A.H.D., Clegg, M.T., Kahler, A. L., Weir, B. S., (Eds.): Plant population genetics, breeding, and genetic resources, Sunderland, MA: Sinauer, 1990 pp 43-63.
- [3] G. R. Babbel, R. K. Selander. *Evolution* 28 (1974) 619-630.
- [4] V. Lagercrantz, N. Ryman. *Evolution* 44 (1990) 38-53.
- [5] J.M. Pleasants, S. F. Wendel. *Amer. J. Bot.* 76 (1989): 1136-1151.
- [6] Martin, F.W. 1974. Tropical Yams and Their Potential. Part 2. *Dioscorea bulbifera*. USDA Agricultural Handbook 466. Washington, D.C (1974).
- [7] S. Dahlan. Penelitian Pendahuluan Penanaman *Dioscorea bulbifera*. FMIPA Unand (2004) (tidak dipublikasikan).
- [8] J.F. Morton. Plants Poisonous to People. 2nd Edition. Southeastern Printing Co., Inc. Stuart, Florida. (1982).
- [9] H.H. Bartlett. *Bur. Pl. Industr. Bull.* 189 (1910) 1-29.
- [10] P. Wilki. *Kew Bull.* 54 (1999) 19-39.
- [11] C.C. Xifreda. *Genetics.* 66 (2000) 133-145.
- [12] T. Maideliza. 2004. Thesis of Doctor Program. Osaka City University, 2004.
- [13] H. Okada and M. Tamura. *J. Jap. Bot.* 52 (1977) 360-369.
- [14] L. Degras, L. The Yam: A Tropical Root Crop. London, New York, 1993.
- [15] T. Maideliza. Master thesis. Osaka City University. Japan, 2001.
- [16] A. Tiselius, *Faraday Soc.* 33 (1937) 524-531.
- [17] R. Hunter and C. Markert. 1957. *Science.* 125 1957.
- [18] Gotlieb. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 64 (1977): 161-180.
- [19] A. Brown. *Genetics.* 66 (1979) 133-145.
- [20] D. Solties, D., C. Haufler, D. Darrow, and G. Gastony. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode. (1983).
- [21] J.F. Wendel and N. Weeden. Visualization and interpretation of plant isozymes. *In* Solties, D. E. and Solties, P. S. (eds.). *Isozymes in plant biology.* 5-45. Dioscorides Press, Portland, OR. (1989).
- [22] F. C. Yeah, R.C. Boyle, T.B.J., Ye, Z.H. & J.X. Mao. POPGENE. Canada, 1997.
- [23] M. Nei. *Genetics* 89 (1978) 583-590.
- [24] F.J. Rohlf. Department of Ecology and Evolution State University of New York. 2000.