

Genetic Diversity of Plant Species Mangrove *Sonneratia* Spp. in Central Sulawesi and Its Utilization as a Learning Media

*Ni Made Puspayanti, Samsurizal M. Suleman & I Made Budiarsa

Pendidikan Sains Program Magister/Pascasarjana – Universitas Tadulako, Palu – Indonesia 94119

Email corresponding author: puspayantimade@gmail.com

Article History

Received 15 July 2019

Revised 09 August 2019

Accepted 15 September 2019

Keywords:

Intra Species, *Sonneratia* spp., MVSP, instruction media

Abstract

The mangrove Sonneratia caseolaris that grows on land (Bora) has a different morphological form from Sonneratia alba which grows on the sea coast of Parigi and Donggala. This study aims to determine the genetic diversity of mangrove species Sonneratia spp. in Central Sulawesi and utilizing research results as a learning media in the form of a genetics practicum module. The results showed that the genetic diversity of the mangrove species Sonneratia spp. in Parigi, Donggala, and Bora showed a difference, namely that Sonneratia alba which grew in Parigi and Donggala had the same similarity index, namely 88.9%, while Sonneratia caseolaris which grew in Bora had a different similarity index, namely 71.3%. From these results, a learning media in the form of a genetics practicum guide module was made and was validated by content experts, design experts, media experts, and 10 students.

doi: [10.22487/j25490192.2019.v3.i2.pp.62-68](https://doi.org/10.22487/j25490192.2019.v3.i2.pp.62-68)

Pendahuluan

Hutan mangrove merupakan salah satu sumber daya alam yang mempunyai fungsi dan manfaat sebagai sumberdaya pembangunan, baik sebagai sumber daya ekonomi maupun sumber daya ekologi, oleh karena itu ekosistem hutan mangrove dimasukkan dalam salah satu ekosistem pendukung kehidupan yang penting dan perlu dipertahankan keberadaannya (Martuti, 2013).

Indonesia, ditemukan beberapa jenis tumbuhan mangrove yang berbeda antara satu pulau dengan pulau lainnya. Dari 202 spesies mangrove yang telah diketahui, 166 spesies terdapat di Jawa, 157 spesies di Sumatera, 150 spesies di Kalimantan, 142 spesies di Irian Jaya, 135 spesies di Sulawesi, 133 spesies di Maluku dan 120 spesies di Kepulauan Sunda Kecil (Noor, dkk., 2006). Meskipun daftar ini mungkin tidak terlalu komprehensif, akan tetapi dapat memberikan gambaran urutan

penyebaran jenis mangrove di pulau-pulau Indonesia.

Wilayah Propinsi Sulawesi Tengah, luas hutan mangrove (bakau) berdasarkan SK. Gubernur Nomor: 188.44/3933 tanggal 30 Agustus 1989 tentang penetapan sementara Hutan Tanaman dan Hutan Bakau di luar TGHK menjadi Hutan tetap terdapat seluas 46.000 Ha yang tersebar di delapan wilayah Kabupaten (Donggala, Poso, Banggai, Buol, Toli toli, Morowali, Bangkep, dan Parimo). Berdasarkan hasil identifikasi hutan mangrove oleh Dinas Kehutanan tahun 1999/2000 ternyata luas area yang masih bervegetasi mangrove tersisa seluas 22.377 Ha (48,58%) dan seluas 23.685 Ha (51,42%) yang telah mengalami kerusakan (Setapak, 2016). Kerusakan ekosistem mangrove seluas 23.685 Ha di daerah ini sebagian disebabkan oleh abrasi pantai dan penebangan pohon bakau untuk pemenuhan kayu bakar dan arang.

Sonneratia alba merupakan salah satu jenis tumbuhan mangrove sejati di ekosistem mangrove yang berasal dari keluarga Sonneratiaceae dan memiliki dua marga yaitu *Sonneratia* dan *Duabanga*. Marga *Sonneratia* adalah tumbuhan mangrove dengan ciri khas

memiliki akar nafas (pneumatofor) yang tumbuh keatas muncul dipermukaan substrat yang berfungsi sebagai organ pertukaran gas (respirasi) (Setiawati, 1996; Rahayu, 1997).

Keberadaan tumbuhan mangrove *Sonneratia* spp. di Sulawesi Tengah cukup tersebar luar mulai dari pesisir pantai dan muara sungai yang dipengaruhi oleh air laut hingga di daerah hilir sungai dan daratan yang dipengaruhi oleh air tawar. Perbedaan kondisi habitat tersebut menyebabkan munculnya keragaman morfologis diantara spesies *Sonneratia* spp. dari lokasi yang berbeda sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan habitatnya. Variasi respon seperti itu sangat berhubungan dengan faktor genetik dalam spesies tumbuhan *Sonneratia* spp. dan penelitian mengenai hal tersebut masih kurang dilaporkan, maka perlu dilakukan penelitian untuk melihat keragaman genetik spesies tumbuhan mangrove *Sonneratia* spp. di Sulawesi Tengah dilakukan dengan pendekatan molekuler. Disamping itu, hasil penelitian ini selanjutnya dapat dijadikan sebagai media pembelajaran biologi dalam bentuk modul praktikum pengamatan dengan pendekatan molekuler sebagai panduan bagi mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi dalam kegiatan praktikum genetika di Laboratorium.

Metode dan Material

Lokasi pengambilan sampel penelitian dilakukan di beberapa tempat di Sulawesi Tengah antara lain Desa Bora, Donggala dan Parigi. Sampel dianalisis di Laboratorium Genetika Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Primer ISSR yang digunakan dalam penelitian ini yang disajikan pada Tabel 1.

	Primer
1.	ISSR-4
2.	ISSR-5
2.	UBC-808
3.	UBC-811

Isolasi DNA *Sonneratia* spp.

Ekstraksi DNA menggunakan DNA extraction DNA kit *Phytopure* yang terdiri dari

reagen I, reagen II dan resin. Sampel daun *Sonneratia* spp. yang telah dibekukan ditimbang seberat 0,3 g kemudian sampel digerus di atas mortar dan ditambahkan 500 μ L reagen *Phytopure* I lalu digerus kembali. Campuran dituang ke dalam tube 1,5 mL dan ditambahkan 200 μ L reagen *Phytopure* II lalu diinversi hingga homogen. Setelah itu diinkubasi pada suhu 70°C selama 20 menit dan kemudian diletakkan dalam *freezer* selama 10 menit. Tahap selanjutnya ditambahkan 400 μ L *chloroform* dingin dan 20 μ L resin *Phytopure* dengan cara dituang tegak lurus dengan *tube* kemudian diinversi selama 30 menit. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 1300 rpm selama 10 menit. *Supernatan* yang dihasilkan diambil dan dipindahkan ke dalam *tube* baru. Apabila *supernatan* yang dihasilkan keruh, ditambahkan akubides sebanyak 200 μ L dan *chloroform* dingin 400 μ L. Kemudian disentrifugasi kembali 1300 rpm selama 10 menit. *Supernatan* diambil dan ditambahkan *isopropanol* dingin melalui dinding dengan volume sama dengan *supernatan* yang diambil. Selanjutnya digoyang perlahan dengan tangan dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. *Supernatan* yang dihasilkan dibuang dan diperoleh pelet DNA di dasar *tube*. Selanjutnya pelet dicuci dengan 100 μ L *ethanol* 70 % dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Pencucian ini dilakukan sebanyak 3 kali. *Ethanol* dibuang kemudian dikeringanginkan serta ditambahkan 50 μ L 1 x *buffer* TE. Selanjutnya hasil ekstraksi DNA disimpan dalam suhu -20 °C untuk dianalisis secara kualitatif maupun kuantitatif.

Uji Kualitatif DNA

Uji kualitatif DNA dilakukan dengan elektroforesis. Sampel DNA hasil ekstraksi, *loading dye*, dan *parafilm* disiapkan kemudian masing-masing sampel DNA dibuat campuran dengan *loading dye* di atas *parafilm* dengan perbandingan 1 μ L *loading dye* dan 5 μ L DNA sampel menggunakan *micropipette* 10 μ L. Menggunakan *micropipette*,

campuran tersebut dimasukkan ke dalam sumuran *gel agarosa* 2% yang direndam dalam *buffer* TBE 1 x di dalam tangki *elektroforator*. Kemudian tangki *elektroforator* ditutup dan diatur voltasenya 50 volt kemudian tombol ON ditekan. Setelah migrasi DNA mencapai 2/3 panjang gel, mesin dimatikan, *gel agarosa* diambil dari tangki *elektroforator* kemudian direndam dalam larutan *ethidium bromide* selama 15-30 menit. Selanjutnya gel hasil elektroforesis diamati dengan UV *transiluminator* akan terlihat DNA *genom* yang terletak di dekat sumuran.

Uji Kuantitatif DNA

DNA total yang dihasilkan dari proses ekstraksi selain diuji secara kualitatif juga diuji secara kuantitatif menggunakan *spektrofotometer*. Alat tersebut disiapkan kemudian diset untuk pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 260 nm dan dikalibrasi dengan aquades. Setelah itu ditekan tanda *autozero* sampai angka pada monitor menunjukkan angka nol. Setelah itu, aquades diganti dengan DNA hasil isolasi yang telah diencerkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 260 nm tersebut. Nilai absorbansi pada λ 260 nm menunjukkan konsentrasi DNA 50 $\mu\text{g/mL}$.

Amplifikasi DNA dengan PCR ISSR

Amplifikasi DNA dilakukan dengan mesin PCR *BOECO Thermal Cycler TC-PRO* di Laboratorium Genetika Fakultas Biologi UGM. Sebelum sampel dimasukkan ke dalam mesin PCR, dilakukan terlebih dahulu pembuatan *Premix* PCR sesuai dengan komposisi yang tertera pada *protocol master mix* PCR dengan sedikit modifikasi. Komposisinya dapat dilihat pada Tabel 2.

Analisis molekuler

Data berupa pita-pita DNA diubah menjadi matriks 0-1 dengan cara pita DNA yang tampak dikode menggunakan angka 1 sedangkan pita DNA yang tidak tampak dikode menggunakan angka 0. Matriks dibuat menggunakan program komputer *Microsoft*

Excel (.xls). Nama jenis diletakkan pada baris pertama dimulai dari kolom kedua. Kolom pertama secara vertikal ke bawah diisi dengan ukuran pita-pita DNA dari *primer* yang digunakan. Hasil skoring dapat dimasukkan pada kolom kedua dan seterusnya sesuai dengan jenis dan ukuran pita dari masing-masing *primer*.

Tabel 2. Komposisi formula PCR

No.	Reagen	Volume (μL)	Konsentrasi
1.	KAPA Taq Extra Hot Start Ready Mix (2x)	6,25	
2.	DNA <i>template</i>	1,25	50ng
3.	<i>Primer</i> ISSR	1,25	25pmol
4.	MgCl	0,5	1mM
5.	ddH ₂ O	3,75	
Totals		13	

Tabel 3. Prosedur dan waktu PCR

Reaksi	Suhu	Waktu
<i>Predenaturasi</i>	95 °C	3 menit
<i>Denaturasi</i>	95 °C	15 detik
<i>Annealing</i>	48 °C	15 detik
<i>Elongation</i>	72 °C	45 detik
<i>Post elongation</i>	72 °C	5 menit
<i>Endless</i>	4 °C	

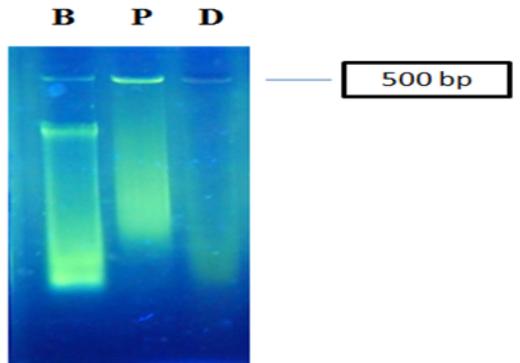
Data hasil skoring yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam program (*Multi Variate Statistical Package*) MVSP 3.1 A. Metode yang terdapat dalam program MVSP secara umum digolongkan ke dalam klasifikasi fenetik. Pada bidang genetika molekuler, program ini biasa digunakan untuk mengklasifikasikan dan membuat dendogram yang menunjukkan kekerabatan suatu organisme. Hasil analisis data menggunakan MVSP 3.1 A adalah dendogram menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*) yang menunjukkan hubungan kekerabatan 3 jenis *Sonneratia* spp.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji molekular Sonneratia spp

Keberhasilan isolasi DNA *Sonneratia* spp. dapat dilihat secara kualitatif menggunakan elektroforesis dan secara

kuantitatif menggunakan spektrofotometer. Sebelum dilakukan uji kuantitatif dilakukan terlebih dahulu diuji secara kualitatif untuk memastikan keberadaan *genom* DNA hasil isolasi diperoleh seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis isolasi DNA genom *Sonneratia* spp. di 3 tempat. Keterangan: B= Bora; P=Parigi; dan D= Donggala

Hasil pemurnian DNA Sonneratia spp.

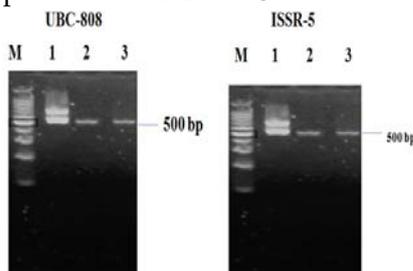
Berdasarkan uji kuantitatif didapatkan rasio konsentrasi DNA tanaman *Sonneratia* spp. seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Konsentrasi DNA *Sonneratia* spp

Jenis	No. Sampel	A260	A280	A260/ A280	Konsentrasi
Bora (<i>S. caseolaris</i>)	1	0.036	0.02	1.8	3596
	2	0.021	0.012	1.75	2098
	3	0.015	0.011	1.36	1498
Donggala (<i>S. alba</i>)	1	0.032	0.025	1.28	3197
	2	0.012	0.01	1.2	1199
	3	0.083	0.07	1.186	8292
Parigi (<i>S. alba</i>)	1	0.015	0.012	1.25	1498
	2	0.048	0.048	1	4795
	3	0.031	0.026	1.19	3097

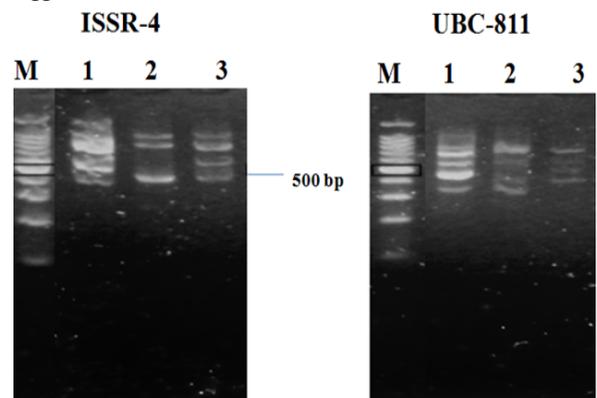
Hasil PCR DNA Sonneratia spp.

Pita-pita yang menunjukkan variasi genetik dapat dilihat dengan elektroforesis yang divisualisasi dengan sinar UV seperti pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Hasil elektroforesis primer ISSR-4 dan primer UBC-811

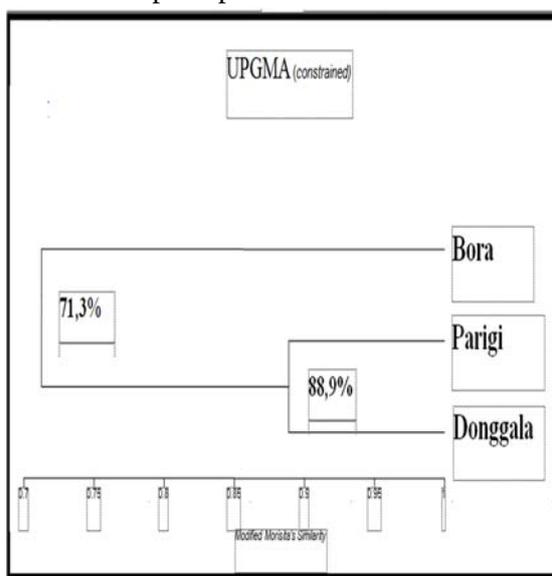
Ket: 1= Bora (*S. caseolaris*), 2= Parigi (*S. alba*), 3= Donggala (*S. Alba*)



Gambar 3. Hasil elektroforesis primer ISSR-4 dan primer UBC-811

Ket: 1= Bora (*S. caseolaris*), 2= Parigi (*S. alba*), 3= Donggala (*S. alba*).

Tingkat similaritas pada *Sonneratia* spp. dari Parigi, Donggala dengan Bora ditentukan sesuai hasil analisis kluster berdasarkan pita DNA yang muncul dari hasil amplifikasi DNA pada masing-masing primer. Tingkat similaritas yang diperoleh kemudian dilakukan konstruksi dendrogram menggunakan software MVSP 3.1 A untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar *Sonneratia* spp. yang terbentuk seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Dendrogram hubungan kekerabatan fenetik 3 jenis *Sonneratia* spp. berdasarkan karakter molekuler dengan metode UPGMA.

Tabel 4. Hasil validasi media pembelajaran (Modul praktikum) Oleh ahli isi, ahli desain, ahli media dan 10 orang mahasiswa

No	Ahli/Mahasiswa	Hasil validasi (%)
1.	Ahli Isi	84,40
2.	Ahli Desain	86,60
3.	Ahli Media	96,25
4.	10 Mahasiswa	77,25

Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode PCR ISSR bertujuan untuk mengetahui variasi genetik pada *Sonneratia* spp. di daerah Parigi, Bora dan Donggala. Variasi genetik dapat diketahui dengan

menganalisis pita DNA yang teramplifikasi. Pada penelitian ini digunakan empat primer ISSR yaitu UBC 808, UBC811, ISSR-4 dan ISSR-5 yang dipilih berdasarkan studi literatur tentang variasi genetik pada Cucurbitaceae. Reaksi PCR yang digunakan pada penelitian ini yaitu *pre-denaturasi* 95°C selama 3 menit, *denaturasi* 95°C selama 15 detik, *annealing* 45-48 °C selama 15 detik, *elongasi* 72 °C selama 45 detik, dan *postelongasi* 72 °C selama 5 menit. Secara keseluruhan hasil amplifikasi PCR ISSR menggunakan primer ini menghasilkan variasi genetik yang beragam, ditandai dengan terbentuknya pita DNA dari 3 jenis *Sonneratia* spp. Berdasarkan kluster dendrogram pada Gambar 4. dan nilai indeks similaritas hubungan kekerabatan, maka kluster pertama adalah *Sonneratia alba* dari Parigi dan *Sonneratia alba* dari Donggala dengan indeks similaritas 88,9% serta *Sonneratia caseolaris* dari Bora memiliki indeks similaritas jauh dibawah yakni 71,3%. Berdasarkan hal tersebut terlihat bahwa *Sonneratia alba* Parigi dan *Sonneratia alba* Donggala hubungan kekerabatan yang sangat dekat, sebaliknya *Sonneratia caseolaris* di Bora memiliki hubungan yang sangat jauh. Semakin tinggi indeks similaritas yang terbentuk, menandakan bahwa hubungan kekerabatan fenetik yang terjadi semakin dekat dan sebaliknya, semakin rendah indeks similaritas yang terbentuk semakin rendah hubungan kekerabatan fenetik antar kultivar yang ada. Berdasarkan indeks similaritas yang tinggi antar jenis dari Parigi dan Donggala, hal ini disebabkan kondisi substrat dan lingkungan di kedua tempat tersebut relatif sama, namun bila dilihat jenis dari Bora yang tingkat similaritasnya rendah, hal ini dikarenakan kondisi substrat yang berbeda yakni di Bora tumbuhan *Sonneratia caseolaris* tumbuh di kondisi substrat yang padat berbeda dengan varietas Parigi dan Donggala yang hidup di substrat berlumpur mengandung garam.

Keragaman spesies ini dapat disebabkan oleh persilangan antara dua individu makhluk hidup sejenis. Keturunan

dari hasil persilangan memiliki susunan perangkat gen yang berasal dari kedua induk/orang tuanya. Kombinasi susunan perangkat gen dari dua induk tersebut akan menyebabkan keragaman individu dalam satu spesies berupa varietas-varietas yang terjadi secara alami atau secara buatan. Keragaman yang terjadi secara alami adalah akibat adaptasi atau penyesuaian diri setiap individu dengan lingkungan. Faktor lingkungan juga turut mempengaruhi sifat yang tampak (fenotip) suatu individu di samping ditentukan oleh faktor genetiknya (genotip). Perubahan inilah yang menyebabkan terjadinya variasi tersebut. Adanya variasi dalam jenis dapat dilihat dari adanya perbedaan warna, bentuk, dan ukuran individu-individu dalam satu jenis (Hidayah, 2011).

Penilaian dari ahli isi, desain dan media serta uji coba dari 10 Orang mahasiswa Biologi terhadap media pembelajaran buku penuntun praktikum menunjukkan bahwa media tersebut layak untuk digunakan. Persentase penilaian media pembelajaran buku penuntun praktikum oleh ahli isi buku penuntun berisi berbagai cara, petunjuk dan gambar yang dapat merangsang bersifik peserta didik. Hal ini sesuai dengan pendapat Arsyad (2005) yang menyatakan bahwa, perbandingan perolehan hasil belajar melalui indera pandang dan indera dengar sangat menonjol perbedaannya. Kurang lebih 90% hasil belajar seseorang diperoleh melalui indera pandang sekitar 5% diperoleh melalui indera dengar dan 5% lagi dengan indera lainnya.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, adapun kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut: Keragaman genetik spesies tumbuhan mangrove *Sonneratia* spp. di Parigi, Donggala dan Bora menunjukkan perbedaan, sesuai dari hasil indeks similaritasnya yakni *Sonneratia alba* yang tumbuh di Parigi dan Donggala memiliki kesamaan dengan 88,9% dan berbeda dengan *Sonneratia caseolaris* yang

84,4%, oleh ahli desain 86,6% dan oleh ahli media 96,25% serta oleh 10 orang mahasiswa 77,25%. Dikatakan layak karena hasil penilaian oleh beberapa ahli serta mahasiswa menunjukkan nilai diatas 76% sesuai dengan kategori persentase kelayakan media oleh Arikunto (1996).

Peserta didik masih sering mendapatkan pengetahuan dari sumber belajar seperti buku-buku yang ada walaupun masih banyak cara yang dapat dilakukan untuk memudahkan peserta didik mendapatkan pengetahuan mereka dalam rangka meningkatkan kualitas pembelajaran seperti menghubungkan pembelajaran didalam kelas dengan dilingkungan sekitar sebagai sumber belajar yang bertujuan agar kualitas belajar lebih meningkat dibandingkan dengan pembelajaran yang hanya bersifat teori. Proses pembelajaran yang menghubungkan teori dengan lingkungan sekitar misalnya pada pembelajaran mata kuliah genetika dapat dibantu dengan buku penuntun praktikum. Materi yang dapat diberikan berupa analisis molekuler tumbuhan *Sonneratia* spp., dalam tumbuh di Bora dengan indeks similaritas 71,3 %.

Penuntun praktikum genetika layak digunakan sebagai media pembelajaran sesuai hasil validasi ahli isi (84,4%), ahli desain (86,6%), ahli media (96,25%) dan hasil uji coba kepada mahasiswa (7,25%).

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

Referensi

- Arikunto, S. (1996). *Prosedur penelitian suatu pendekatan pendek*. PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Arsyad, A. (2005). *Media pembelajaran*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

- Hidayah, A. (2011). *Keragaman tingkat gen*. Online. <http://diversitas.pisang.blogspot.co.id/2011/07/1-keanekaragaman-tingkat-gen.html>. Diakses tanggal 26 April 2017.
- Martuti. (2013). Keanekaragaman mangrove di wilayah Tapak, Tugurejo, Semarang. *Jurnal MIPA* 36 (2): 123-130s.
- Noor, Y., Khazali, M., & Suryadiputra. (2006). *Panduan pengenalan mangrove di Indonesia*. PHKA/WI-IP. Bogor.
- Rahayu, D.L. (1997). *Keanekaragaman hayati laut di teluk tomini*. Dalam: A. H. Pramono dan C. Hutabarat. (Eds). *Prosiding seminar dan lokakarya pengembangan terpadu kawasan kepulauan togean Sulawesi Tengah*. Konsorsium Pengembangan Terpadu Kepulauan Togeana. Palu.
- Setapak. (2016). *Sulawesi Tengah*. Online. <http://programsetapak.org/id/where-we-work/central-sulawesi/>. Diakses tanggal 15 Juni 2016.
- Setiawati, A. (1996). *Rhizopora apiculata* jenis terbesar dalam ekosistem mangrove di Sulawesi Utara. *Majalah Kehutanan Indonesia*. Hal. 6.