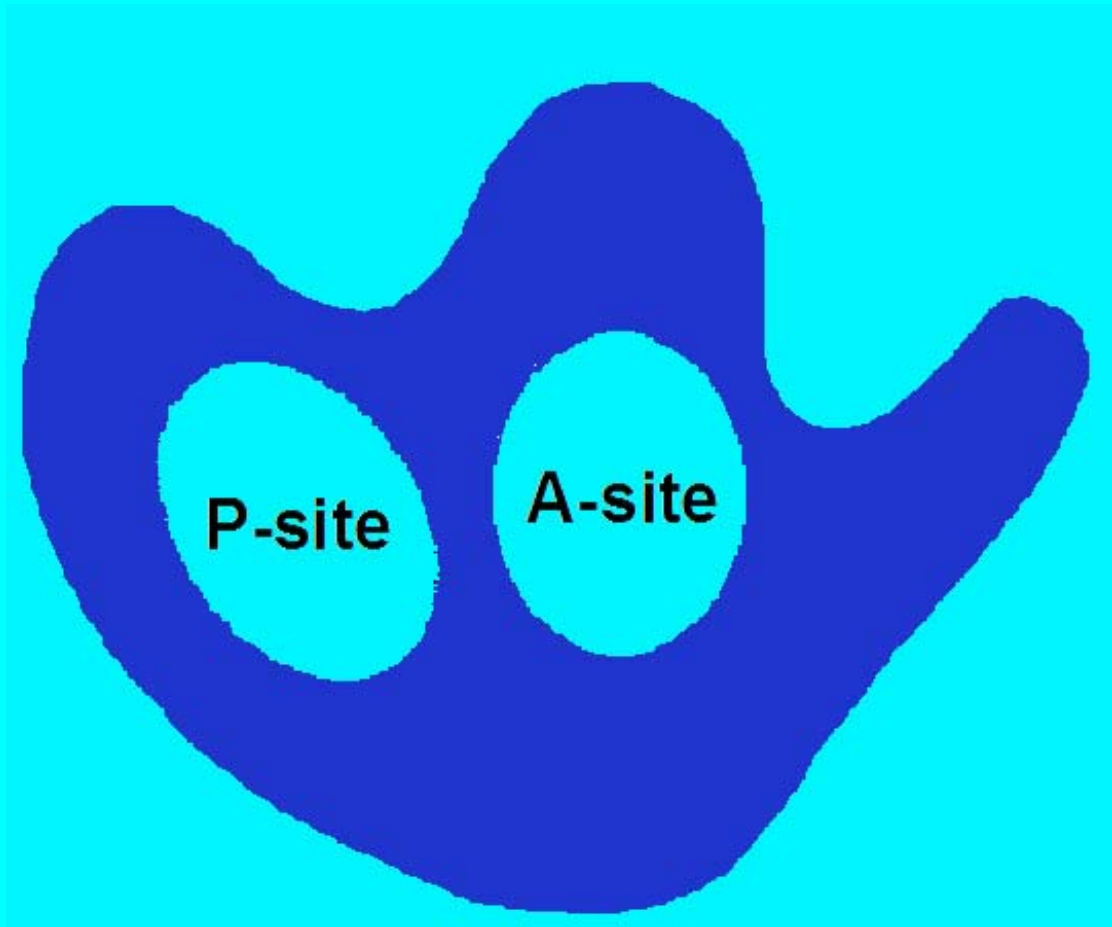


ISSN: 1412-033X

BIODIVERSITAS

Journal of Biological Diversity



JURUSAN BIOLOGI FMIPA
Universitas Sebelas Maret Surakarta

THIS PAGE INTENTIONALLY LEFT BLANK

BIODIVERSITAS

Journal of Biological Diversity
Volume 4 - Nomor 1 - Januari 2003

PENERBIT:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. +62-271-663375; +62-271-646994 Psw. 387, Faks. +62-271-646655.
E-mail: biology@mipa.uns.ac.id. Online: www.biology.uns.ac.id.

TERBIT PERTAMA TAHUN:

2000

ISSN:

1412-033X

**TERAKREDITASI BERDASARKAN KEPUTUSAN
DIRJEN DIKTI DEPDIKNAS RI No. 52/DIKTI/Kep/2002**

PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:

S u t a r n o

SEKRETARIS REDAKSI:

Ahmad Dwi Setyawan

PENYUNTING PELAKSANA:

Marsusi, Solichatun (Botani), Edwi Mahajoeno, Agung Budiharjo (Zoologi),
Wiryanto, Kusumo Winarno (Biologi Lingkungan)

PENYUNTING AHLI:

Prof. Ir. Djoko Marsono, Ph.D. (UGM Yogyakarta)
Prof. Dr. Hadi S. Alikodra, M.Sc. (IPB Bogor)
Prof. Drs. Indrowuryatno, M.Si. (UNS Surakarta)
Prof. J.M. Cummins, M.Sc., Ph.D. (Murdoch University Australia)
Prof. Dr. Jusup Subagja, M.Sc. (UGM Yogyakarta)
Prof. Dr. R.E. Soeriaatmadja, M.Sc. (ITB Bandung)
Dr. Setijati Sastrapradja (Yayasan KEHATI Jakarta)
Dr. Dedi Darnaedi (Kebun Raya Bogor)
Dr. Elizabeth A. Wijaya (Herbarium Bogoriense Bogor)
Dr. Yayuk R. Suhardjono (Museum Zoologi Bogor)

BIODIVERSITAS, Journal of Biological Diversity mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup keanekaragaman hayati (biodiversitas) pada tingkat gen, spesies, dan ekosistem. Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, perlindungan dan pemanfaatan lestari keanekaragaman hayati. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Januari dan Juli.

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta juga menerbitkan **BioSMART, Journal of Biological Science** untuk mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup biologi murni dan ilmu-ilmu serumpun. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan April dan Oktober.

PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3 ½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

Tulisan diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm²), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tatanama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan peningkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butilhidroksitoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Peningkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indek minus (m⁻², l⁻¹, h⁻¹) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 15 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

Judul ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat berseri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian dan metode-metode khusus yang digunakan. **Pendahuluan** (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan, meskipun tidak dimuat dalam naskah

sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

Pustaka dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa penulis, maka nama penulis diurutkan berdasarkan kebaruan pustaka. Naskah yang ditulis oleh dua penulis, maka nama keduanya disebutkan, sedang naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, maka hanya nama penulis pertama ditulis diikuti *et al.* atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto *et al.*, 1998; Baker and Manwell, 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy, 1991 *cit* Coward, 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward, 1999).

Daftar Pustaka diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

Jurnal:

Suranto, S., K.H. Gough, D.D. Shukla, and C.K. Pallaghy. 1998. Coat protein sequence of Krish-infecting strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. *Archives of Virology* 143: 1015-1020.

Buku:

Sprent, J.I., and P. Sprent. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects*. London: Chapman and Hall.

Bab dalam buku:

Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman, C.G. (ed.). *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

Abstrak:

Liu, Q., S. Salih, J. Ingersoll, R. Meng, L. Owens, and F. Hammerschlag. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. *Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science*. Lake Buena Vista, Florida, 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra, H.S. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. Dalam: Setyawan, A.D. dan Sutarno (ed.). *Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa*. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko, T. 2001. *Biotransformasi Isoflavon oleh Rhizopus oryzae UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai*. [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.

Informasi dari Internet:

Rosauer, D. 1998. *Forest Disturbance and Succession*. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silvinate/ daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

Beberapa catatan tambahan. Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "i" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol α , β , χ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

Kemajuan Naskah. Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

PENTING: Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok setuju memindahkan hak cipta (*copyright*) naskah yang diterbitkan **BIODIVERSITAS, Journal of Biological Diversity** kepada Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Penulis tidak lagi diperkenankan menerbitkan naskah secara utuh tanpa ijin penerbit. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

Identifikasi Polimorfisme pada Fragmen ND-5 DNA Mitokondria Sapi Benggala dan Madura dengan Teknik PCR-RFLP

Identification of polymorphism on ND-5 mitochondrial DNA fragment of Benggala and Madura cattle with PCR-RFLP technique

NEO ENDRA LELANA, SUTARNO, NITA ETIKAWATI
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126

Diterima: 19 Nopember 2002. Disetujui: 1 Januari 2003

ABSTRACT

The objectives of the research were to detect genetic variations on ND-5 region of mtDNA of Benggala and Madura cattles, and to compare the genetic diversity within or between Madura and Benggala cattle. Genetic variations and its effects on phenotype characters have been studied largely in dairy cattles, but not for beef cattles, especially for Indonesian local cattles. PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) was used to detect polymorphism on ND-5 region of mitochondrial DNA. Polymorphisms were found on ND-5 mitochondrial DNA fragment using *HindIII* restriction enzyme. This variation were likely due to lost of *HindIII* restriction site on ND-5 mitochondrial DNA fragment.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: ND-5 mitochondrial DNA, genetic variation, PCR-RFLP.

PENDAHULUAN

Sapi merupakan hewan ternak dengan keanekaragaman jenis tinggi dan ditemukan hampir di semua negara termasuk Indonesia. Sapi Benggala dan Madura merupakan contoh ras domestik Indonesia. Keduanya telah mengalami seleksi alam secara ketat sehingga mampu beradaptasi dengan baik pada kondisi lingkungan tropis. Banyak sifat ternak yang secara ekonomi bernilai penting menunjukkan variasi morfologi (fenotip). Variasi fenotip ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Pada tingkat genetik, sifat-sifat tersebut tidak hanya dipengaruhi oleh sebuah lokus gen tetapi oleh banyak lokus gen (Soller, 1994).

Diversitas genetik dapat terjadi karena adanya variasi genetik, baik inter maupun antar spesies pada suatu populasi (Sutarno, 1999). Adanya polimorfisme pada suatu spesies akan sangat bermanfaat dalam bidang genetika maupun untuk kepentingan seleksi. Variasi ini dapat digunakan untuk identifikasi dan mencari asal-usul suatu jenis hewan, mengetahui hubungan kekerabatan antar spesies sampai pada penyusunan peta gen. Informasi variasi genetik dapat dijadikan dasar perkawinan silang (Soller, 1994) dan seleksi untuk meningkatkan produksi ternak, serta tujuan konservasi (Hall dan Bradley, 1995).

Sejak ditemukan suatu metode pelipatgandaan DNA secara *in vitro* yang dikenal dengan *polymerase chain reaction* (PCR), maka banyak berkembang

teknik molekuler berdasarkan PCR, misalnya: *arbitrarily primed polymerase chain reaction* (AP-PCR), *polymerase chain reaction-single stranded conformation polymorphism* (PCR-SSCP), *random amplified polymorphic DNA* (RAPD), *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP). Penemuan teknik molekuler tersebut sangat membantu perkembangan dalam bidang biologi molekuler sehingga variasi makhluk hidup dapat langsung dideteksi pada tingkat gen, bukan hanya tingkat morfologi.

Selama dekade terakhir terjadi peningkatan aplikasi genetika molekuler untuk mengungkapkan variasi genetik. DNA mitokondria banyak digunakan untuk mengungkap variasi genetik (Loftus *et al.*, 1994), karena ukurannya yang relatif kecil, terlibat dalam sintesis energi dan mempunyai kecepatan mutasi 5-10 kali lebih tinggi daripada DNA inti (Lindberg, 1989). Mitokondria merupakan pusat sintesis energi dan ketersediaan energi yang ada akan berpengaruh terhadap reaksi metabolisme. Berbagai macam enzim terlibat dalam sintesis energi dan sebagian dari enzim tersebut dikodekan oleh DNA mitokondria. Salah satu gen pada DNA mitokondria yang mengkodekan enzim yang terlibat dalam sintesis energi adalah ND-5.

Polimorfisme pada DNA mitokondria mempengaruhi fenotip, seperti keterlibatannya dalam beberapa penyakit degeneratif (Wallace, 1992), proses penuaan (Miquel, 1991) dan sifat-sifat produksi

(Lindberg, 1989). Variasi genetik pada DNA mitokondria banyak dilaporkan terjadi pada sapi perah (Hauswirth dan Laipis., 1982; Bhat *et al.*, 1990; Suzuki *et al.*, 1993; Ishida *et al.*, 1994; Loftus *et al.* 1994; Bradley *et al.*, 1996). Penelitian tentang variasi genetik pada sapi perah telah banyak dilakukan, tetapi penelitian-penelitian tentang variasi genetik terhadap sapi pedaging terutama sapi lokal Indonesia masih sangat jarang.

Tujuan dari penelitian ini adalah: (i) mendeteksi adanya variasi genetik pada fragmen ND-5 DNA mitokondria pada sapi Benggala dan Madura, (ii) membandingkan diversitas genetik DNA mitokondria pada kedua jenis sapi tersebut.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2000 s.d. Februari 2002 di Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah sapi Benggala sebanyak 50 individu dan sapi Madura sebanyak 49 individu, *Wizard Genomic DNA Purification Kit* dari Promega (*cell lysis solution, nuclei lysis solution, protein precipitation solution, RNAase, DNA rehydration solution*), isopropanol, 70 % etanol, PCR Core System I dari Promega (*MgCl₂, 10 X buffer reaction Taq DNA polymerase, PCR nucleotida mix, Taq DNA polymerase*), enzim restriksi *Hind III* dari GibcoBRL, agarosa dari Promega, 1X *tris acetic acid* EDTA (TAE), *ethidium bromida*, aquades steril, primer ND-5 yang terdiri dari primer ND-L: 5'-ATCCGTTGGTCTTAGGAACC-3' dan primer ND-R: 5'-TTGCGTTACAAGGATGAGC-3', *blue loading dye*, kertas tisu, parafilm, kristal es, *ultra pure water* dari Biotech, 50-2000 bp *marker* dari Bio Rad.

Alat yang digunakan meliputi sentrifuge (Hettich), mikropipet (ukuran 20 µl, 200 µl, 1000 µl), *tips* 20µl, 200 µl dan 1000 µl, tabung mikro 1.5 ml (Axygen), tabung PCR 0,6 ml, satu set alat elektroforesis horisontal dan *power supply* (Consort), *microwave*, inkubator, *GeneAmp PCR System 2400 Thermo Cycler* (Perkin Elmer), Gel Doc 2000 (Bio Rad), *autoclave* (Ogawa Saiki Co), gelas ukur, erlenmeyer, tabung *venoject*, *vortex mixer* (Gemmy Industrial Corp), sarung tangan, penangas air (Haake), lemari pendingin suhu 4°C, *freezer* suhu -20°C, alat pembuat kristal es (Cornelius), timbangan elektrik (Denver Instrument).

Cara kerja

Pengambilan sampel darah. Sampel darah sebanyak 5 ml diambil dari individu-individu sapi Benggala dan Madura secara *venepuncture*, menggunakan 10 ml tabung *venoject* yang berisi LH

(*lithium heparin*). Darah yang diambil ini digunakan langsung dan sebagian disimpan pada suhu -20°C untuk referensi.

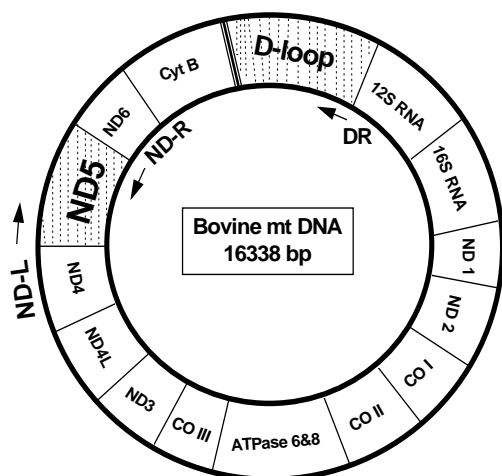
Ekstraksi DNA mitokondria. DNA diekstrak dari total darah menggunakan teknik *Wizard Genomic Purification System*. Total darah sebanyak 200 µl dimasukkan ke dalam 1.5 ml tabung mikrosentrifus yang telah diisi 450 µl larutan pelisis sel (*cell lysis solution*), dicampur dengan membolak-balikkan tabung sebanyak 5-6 kali kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 10 menit untuk melisis sel darah merah. Jika pelet masih berwarna merah, langkah tersebut diulang sampai didapatkan pelet berwarna putih bersih (2-3 kali). Setelah itu tabung disentrifus pada kecepatan 14000 rpm selama 20 detik pada suhu kamar untuk memperoleh pelet sel darah putih. Supernatan dibuang dan pelet sel darah putih dibuat agar tidak menggumpal dengan vortex selama ± 20 detik. Larutan pelisis inti (*nuclei lysis solution*) sebanyak 150 µl ditambahkan ke dalam tabung yang berisi pelet sel darah putih tersebut kemudian dicampur dengan cara membolak-balikkan tabung untuk melisiskannya. Setelah itu 1 µl RNAase ditambahkan ke dalam larutan inti dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 15-20 menit. Setelah itu sampel didinginkan pada suhu kamar selama ± 3 menit dan kemudian ditambah 60 µl *protein precipitation solution*, dicampur sampai homogen dengan vortex selama 10-20 detik dan kemudian disentrifus pada kecepatan 14000 rpm selama 3 menit untuk membentuk pelet protein.

Supernatan diambil dengan pipet dan dimasukkan ke dalam 1.5 ml tabung mikrosentrifus yang sebelumnya telah diisi dengan 150 µl isopropanol. Tabung tersebut kemudian dibolak-balik sampai terbentuk materi seperti benang berwarna putih dari DNA yang terlihat. DNA kemudian disentrifus pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit pada suhu kamar. Supernatan dibuang kemudian ke dalam pelet ditambahkan 300 µl 70% etanol pada suhu kamar dan tabung berisi DNA dan etanol dibolak-balikkan untuk mencuci pelet DNA. DNA didapatkan dengan sentrifus pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit pada suhu kamar. Etanol dibuang pelan-pelan, tabung mikrosentrifus kemudian dibalik di atas kertas saring dan dibiarkan terbuka pada suhu kamar selama 15-20 menit. Setelah kering, ditambahkan larutan rehidrasi DNA (*DNA rehydration solution*) sebanyak 100 µl dan DNA direhidrasi dengan cara diinkubasi semalam pada suhu kamar. DNA yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu 2-8°C sampai penggunaan berikutnya. Setelah itu DNA dicek dengan gel elektroforesis untuk mengetahui ada tidaknya DNA hasil ekstraksi. Konsentrasi DNA diukur dengan cara dibandingkan dengan DNA plasmid yang sudah diketahui konsentrasinya dalam gel elektroforesis.

Reaksi PCR. Hasil ekstraksi DNA kemudian digunakan untuk reaksi PCR yang dilakukan dalam mesin PCR (*thermocycler*). Reaksi ini untuk meng-

amplifikasi DNA mitokondria pada daerah ND-5. Reaksi dilakukan dalam suatu volume campuran sebanyak 25 μ l yang berisi 200 μ M dari masing-masing dNTPs, 2 mM MgCl₂, DNA *template*, primer ND-L dan ND-R masing-masing 0,15 μ M, 10 kali bufer reaksi *Taq* DNA *polymerase* dan 1,5 unit *Taq* DNA *Polymerase* dalam 0,6 ml tabung PCR.

Amplifikasi ND-5. Daerah ND-5 dari DNA mitokondria diamplifikasi dengan PCR. Amplifikasi ND-5 dengan PCR menggunakan primer berturut-turut ND-L / ND-R. Skema letak primer ND-L, ND-R ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram yang menunjukkan letak primer (ND-R, ND-L) yang digunakan untuk menghasilkan ND-5 dari DNA mitokondria sapi (Sutarno, 1999).

Primer yang digunakan dalam reaksi amplifikasi ND-5 dari DNA mitokondria adalah sebagai berikut:

ND-5 primer:

ND-L: 5'- ATCCGTTGGTCT TAGGAACC-3'

ND-R: 5'- TTGCGTTACAAGGATGAGC-3'

Kondisi reaksi amplifikasi PCR untuk ND-5 adalah: satu tahap reaksi denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 30 siklus amplifikasi yang masing-masing terdiri: *denaturasi* pada suhu 94°C selama 45 detik, *annealing* pada suhu 58°C selama 45 detik, dan *extension* pada suhu 72°C selama 1 menit, diikuti dengan satu tahap polimerisasi akhir pada suhu 72°C selama 6 menit

Analisis RFLP. Fragmen yang merupakan hasil amplifikasi PCR langsung digunakan dalam reaksi digesti dengan menggunakan enzim restriksi. Daerah ND-5 dari DNA mitokondria hasil amplifikasi dengan PCR di digesti dengan menggunakan enzim *HindIII*

Aliquot yang terdiri dari \pm 100 ng DNA (hasil amplifikasi ND-5 dari DNA mitokondria) dimasukkan ke dalam tabung *effendorf* yang steril. *Master mix* dibuat dari campuran enzim restriksi *HindIII*, 10 X REact 2 bufer dan *ultra pure water*. *Master mix* sebanyak 8 μ l (1 unit enzim *HindIII*, 3 μ l 10X React 2

bufer dan sisanya *ultra pure water*) ditambahkan ke dalam masing-masing tabung yang berisi DNA hasil amplifikasi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam.

Elektroforesis. Visualisasi DNA dilakukan dengan elektroforesis pada bak elektroforesis horisontal dengan menggunakan 1% gel agarosa. Gel agarosa dibuat dengan melarutkan agarosa dalam bufer 1X TAE dan dipanaskan dalam *microwave* selama \pm 30 detik sampai tercampur homogen. Setelah itu larutan agarosa ditunggu sampai suhunya \pm 60°C dan kemudian ke dalam larutan agarosa ditambahkan *ethidium bromida* dengan konsentrasi 0,12 μ g/ml agar DNA dapat divisualisasi dibawah sinar ultraviolet. Larutan agarosa kemudian dituang ke dalam bak elektroforesis yang sebelumnya telah dipasang sisir cetakan dan ditunggu sampai menjadi keras (15-20 menit).

Elektroforesis dilakukan selama 90 menit pada tegangan 55 volt (lama waktu *running* tergantung pada konsentrasi gel dan voltase). Setelah elektroforesis, DNA divisualisasi di bawah sinar ultraviolet dalam ruang gelap dan diambil gambarnya dengan menggunakan Gel Doc 2000 yang menggunakan filter merah.

Analisis Data

Diversitas genetik pada lokus-lokus DNA mitokondria dianalisis menggunakan penghitungan menurut (Nei 1973, 1975 dalam Baker dan Manwell, 1991) dengan rumus:

$$H = 1 - J, \text{ dan } J = (A^2 + B^2)$$

H = diversitas haplotipic

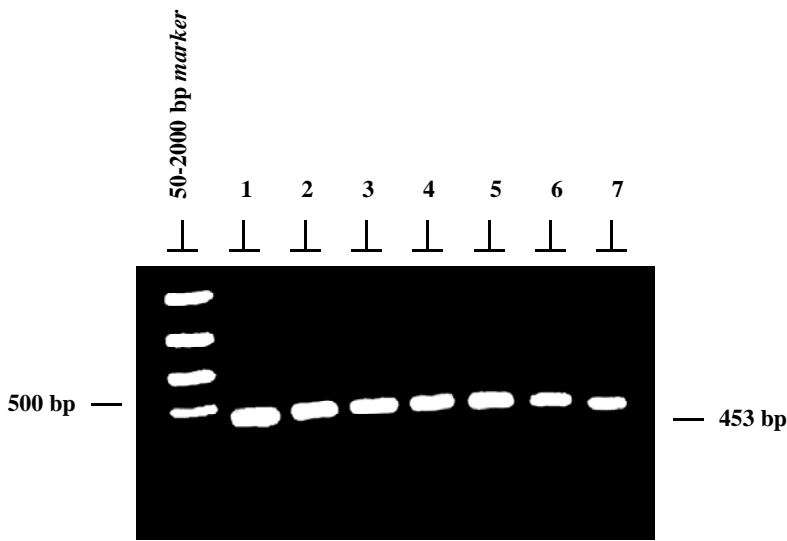
A = frekuensi haplotip A

B = frekuensi haplotip B

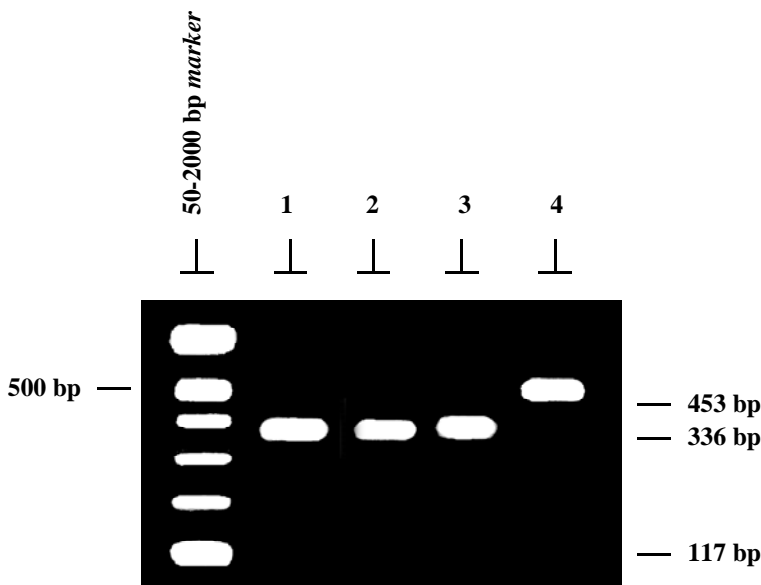
HASIL DAN PEMBAHASAN

Fragmen ND-5 DNA mitokondria yang terdiri dari 453 bp diamplifikasi dengan PCR menggunakan primer ND-L dan ND-R. Produk PCR yang dihasilkan menunjukkan spesifikasi yang tinggi dengan hanya terbentuknya satu *band* DNA sesuai yang diharapkan. Spesifikasi hasil PCR ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer ND-L dan ND-R serta ketepatan kondisi reaksi PCR. Hasil amplifikasi fragmen ND-5 DNA mitokondria dengan PCR diperlihatkan pada Gambar 2.

Hasil amplifikasi dengan PCR pada fragmen ND-5 DNA mitokondria digunakan untuk reaksi digesti dengan enzim restriksi *HindIII*. Analisis pola pemotongan oleh enzim restriksi dilakukan terhadap sapi Benggala dan Madura. Pada kedua jenis sapi tersebut ditemukan adanya variasi pada fragmen ND-5 DNA mitokondria. Gambar 3 memperlihatkan adanya polimorfisme DNA mitokondria pada fragmen ND-5 dengan menggunakan enzim restriksi *HindIII*.



Gambar 2. Fotograf gel agarosa menunjukkan hasil PCR fragmen ND-5 DNA mitokondria yang terdiri dari 453 bp. Baris 1-3: sapi Batak, 4-7: sapi Madura, 50-2000 bp marker dari BioRad.



Gambar 3. Fotograf gel agarosa menunjukkan adanya variasi pada fragmen ND-5 DNA mitokondria yang dideteksi dengan menggunakan teknik PCR-RFLP menggunakan enzim *HindIII*. Baris 1, 2, 3: fragmen ND-5 yang terpotong dengan enzim restriksi *HindIII*, Baris 4: fragmen ND-5 yang tidak terpotong oleh enzim restriksi *HindIII*, 50-2000 bp marker dari BioRad.

Reaksi digesti hasil amplifikasi fragmen ND-5 DNA mitokondria dengan menggunakan enzim restriksi *HindIII* dilakukan dengan cara diinkubasi pada suhu 37°C. Situs restriksi yang dihasilkan dari reaksi digesti dengan enzim restriksi *HindIII* diperlihatkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Situs restriksi yang dihasilkan dari reaksi digesti dengan menggunakan enzim restriksi *HindIII* terhadap 453 bp fragmen ND-5 DNA mitokondria

Enzim	Allel (Hapl-otip)	Jumlah situs Restriksi	Ukuran Fragmen (Kb)
<i>HindIII</i>	A	1	0,33, 0,13
	B	0	0,46

Pengukuran diversitas haplotipic standar pada ND-5 DNA mitokondria pada sapi Batak dan Madura diperlihatkan pada Tabel 2, sedangkan frekuensi haplotipic diperlihatkan pada Tabel 3.

Tabel 2. Diversitas genetik dari sapi Batak dan Madura

Jenis	Diversitas haplotipe (d)
Batak	0,2112
Madura	0,4118

Keterangan: d adalah diversitas haplotipic sapi Batak dan Madura.

Tabel 3. Frekuensi haplotip dari sapi Batak dan Madura

Jenis	Haplotype	
	A	B
Batak	0,88	0,12
Madura	0,71	0,29

Keterangan: A adalah haplotip umum.

B adalah haplotip yang jarang ditemukan. Hasil amplifikasi fragmen ND-5 DNA mitokondria (453 bp) dengan PCR yang diwarnai dengan *ethidium bromida* diperlihatkan pada Gambar 2. Fragmen ND-5 yang dihasilkan sebagai produk PCR menunjukkan spesifitas yang tinggi dengan hanya terbentuknya satu *band* saja. Hasil yang baik ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer ND-L dan ND-R yang digunakan serta ketepatan kondisi reaksi PCR. DNA yang digunakan untuk reaksi amplifikasi fragmen ND-5 DNA

mitokondria diekstrak dengan menggunakan *Wizard Genomic Purification System* yang sudah dalam bentuk kit sehingga DNA yang dihasilkan mempunyai kemurnian yang tinggi. Kontaminasi DNA hasil ekstraksi oleh protein maupun oleh zat-zat kimia lainnya bisa menyebabkan gagalnya reaksi PCR. Primer ND-L dan ND-R yang digunakan didesain

dengan menggunakan program *primer designer*. Primer tersebut telah memenuhi syarat-syarat dalam seleksi primer, seperti terdiri dari 20 basa, kandungan G/C nya 50%, kemungkinan terbentuknya struktur sekunder dalam primer adalah kecil dan 2 basa pada 3 basa terakhir terdiri dari G/C. Primer merupakan bagian penting dalam reaksi amplifikasi DNA karena merupakan inisiator pada sintesis DNA. Ketepatan kondisi PCR merupakan faktor yang sangat penting dalam menentukan keberhasilan suatu reaksi PCR. Ketepatan kondisi reaksi ditentukan oleh ketepatan campuran reaksi dan ketepatan kondisi suhu pada masing-masing siklus. Untuk itu diperlukan adanya optimalisasi kondisi reaksi PCR sehingga dihasilkan produk PCR yang spesifik sesuai dengan yang diharapkan.

Perkembangan-perkembangan yang terjadi pada teknik molekuler telah banyak membantu dalam menghasilkan data tentang variasi genetik pada tingkat DNA. PCR-RFLP yang merupakan teknik RFLP yang memanfaatkan amplifikasi DNA dengan PCR yang mampu mendeteksi adanya variasi genetik dalam waktu yang relatif singkat. Keuntungan menggunakan PCR dalam mengamplifikasi DNA adalah dapat menghasilkan DNA dalam jumlah yang banyak meskipun hanya dari beberapa atau bahkan satu molekul DNA saja dalam waktu yang relatif singkat (White, 1996). RFLP merupakan teknik yang banyak digunakan dalam mempelajari variasi inter maupun antar spesies dengan memanfaatkan enzim restriksi. Teknik ini dapat mendeteksi adanya variasi genetik dengan akurat. Posisi dan besarnya variasi dapat diperkirakan dengan tepat (Sutarno, 1999). Jadi, PCR-RFLP sangat efektif dan efisien dalam mendeteksi adanya variasi genetik.

Variasi genetik diketemukan pada fragmen ND-5 DNA mitokondria dengan menggunakan enzim restriksi *HindIII*. Penemuan ini mengacu pada penemuan sebelumnya (Sutarno dan Limbery, 1997; Sutarno, 1999; Suzuki *et al.*, 1993). Pada sekuen DNA mitokondria yang telah dipublikasikan sebelumnya (Anderson *et al.*, 1982) menunjukkan bahwa fragmen ND-5 terletak pada posisi antara basa 12058 dan 12510 serta mempunyai situs restriksi *HindIII* pada posisi basa 12174. Apabila dilakukan digesti dengan menggunakan enzim restriksi *HindIII* pada fragmen ND-5 maka akan dihasilkan 2 fragmen yang terdiri dari 117 dan 336 bp. Variasi yang terjadi pada fragmen ND-5 DNA mitokondria disebabkan karena hilangnya situs restriksi *HindIII* sehingga fragmen ND-5 tidak terpotong oleh enzim restriksi *HindIII*. Variasi yang ada pada fragmen ND-5 DNA mitokondria tersebut diketemukan baik pada sapi Benggala maupun Madura.

Pada studi tentang variasi genetik dari fragmen ND-5 DNA mitokondria diketemukan adanya dua jenis haplotip yaitu haplotip A yang merupakan haplotip umum dan haplotip B yang merupakan haplotip yang jarang diketemukan. Pada sapi Benggala frekuensi haplotip A adalah 0,88 dan haplotip B adalah 0,12

sedangkan pada sapi Madura frekuensi haplotip A adalah 0,71 dan haplotip B adalah 0,29. Pada penelitian ini diversitas haplotipic sapi Madura sebesar 0,4118 dan lebih tinggi dari sapi Benggala yaitu 0,2112. Sapi Madura mempunyai diversitas genetik paling tinggi di antara sapi-sapi lokal Indonesia (Baker dan Manwell, 1991). Pengukuran terhadap diversitas pada tingkat haplotipic cukup untuk digunakan dalam mempelajari polimorfisme pada tingkat DNA. Studi tentang variasi genetik pada tingkat DNA lebih akurat dibandingkan dengan studi variasi genetik pada protein. Mutasi yang menyebabkan perubahan basa-basa pada DNA belum tentu merubah produk protein yang dihasilkan sebagai ekspresi dari gen-gen DNA sehingga variasi yang ada pada DNA belum tentu ditunjukkan oleh adanya variasi protein.

Studi tentang variasi genetik pada suatu organisme terutama pada hewan ternak baik inter maupun antar jenis organisme adalah sangat penting karena berhubungan dengan variasi pada fenotip. Menurut Mittler dan Greeg (1969) variasi fenotip yang terjadi bisa disebabkan karena adanya variasi genetik atau variasi lingkungan atau karena variasi lingkungan dan genetik. Pengetahuan tentang variasi genetik mempunyai sejumlah aplikasi yang bermanfaat. Aplikasi dari variasi genetik ini misalnya untuk mengidentifikasi hewan dan mencari asal-usulnya, mengetahui hubungan kekerabatan dan pemetaan gen (Archibald, 1983). Menurut Soller (1994) informasi tentang variasi genetik dapat dijadikan dasar dalam seleksi hewan melalui teknik yang dikenal dengan *marker assisted selection* (MAS) atau seleksi berdasarkan penanda gen. Variasi genetik juga dapat dijadikan dasar untuk konservasi jenis. Suatu jenis tertentu mungkin dihasilkan dari suatu proses adaptasi terhadap keadaan lingkungan yang mengarahkan pada terbentuknya kombinasi alel yang unik. Keadaan semacam ini akan sangat jarang ditemukan (Hall dan Bradley, 1995). Pelestarian terhadap jenis-jenis hewan sangat penting dilakukan karena banyak jenis-jenis hewan yang sekarang ini terancam kepunahan dan gen-gen yang mereka bawa mungkin bermanfaat di waktu mendatang.

Sapi Benggala dan Madura merupakan contoh ras domestik di Indonesia. Populasi sapi Benggala dan Madura tersebar hampir disemua daerah di Indonesia. Populasi sapi Benggala banyak terdapat di Jawa Timur, Jawa Tengah, Nusa Tenggara, Sulawesi dan Sumatera sedangkan populasi sapi Madura banyak terdapat di Jawa Timur, Kalimantan dan Sulawesi. Besar populasi sapi Benggala adalah 10% dan sapi Madura adalah 11.5% dari total populasi sapi di Indonesia (Wiryosuhanto, 1996).

Diversitas genetik pada sapi maupun hewan ternak lainnya mengalami penurunan yang sangat cepat (Baker dan Manwell, 1991). Pemilihan jenis-jenis tertentu karena pertimbangan-pertimbangan ekonomis dan seleksi untuk peningkatan sifat-sifat produksi ternak secara genetik telah mengarah pada

terjadinya penurunan diversitas genetik (Sutarno, 1999). Untuk itu perlu adanya pencatatan data genetik terhadap jenis-jenis sapi maupun hewan ternak lainnya.

Akhir-akhir ini banyak dilakukan penelitian variasi genetik menggunakan DNA mitokondria, karena DNA mitokondria mempunyai kecepatan mutasi yang diperkirakan 5-10 kali lebih tinggi daripada DNA inti, mempunyai ukuran yang relatif kecil, mengkode sebagian enzim yang terlibat dalam fosforilasi oksidasi dan merupakan DNA non inti yang membawa pengaruh genetik. Variasi pada DNA mitokondria cukup untuk penanda genetik terhadap sifat-sifat produksi seperti daging dan susu. Variasi pada DNA mitokondria dapat bersifat merusak dan menyebabkan penyakit (Wallace, 1993) serta berhubungan dengan proses penuaan pada manusia dan hewan (Miquel, 1991). Studi DNA mitokondria juga dapat digunakan untuk mencari hubungan kekerabatan pada suatu spesies dan menggambarkan sejarah dan evolusi suatu spesies (Lindberg, 1989).

KESIMPULAN

Polimorfisme ditemukan pada fragmen ND-5 DNA mitokondria dengan menggunakan enzim restriksi *HindIII*. Analisis diversitas genetik menunjukkan adanya variasi baik inter maupun antar jenis dari sapi Benggala dan Madura. Diversitas haplotipic sapi Benggala sebesar 0,2112 dan sapi Madura sebesar 0,4118.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, S., M.H.L. Debruijn, A.R. Coulson, I.C. Eperon, F. Sanger, and I.G. Young. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA: conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology* 156: 863-717.
- Archibald, A.L. 1983. Genetic variation – the raw material of animal breeding. *ABRO report*. 28-32.
- Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Populations genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In Hickman C.G. (ed.) *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Bhat, P.P., B.P. Mishra, and P.N. Bhat. 1990. Polymorphism of mitochondrial DNA (mt DNA) in cattle and buffaloes. *Biochemical Genetic* 28: 311-318.
- Bradley D.G., D.E. Machaugh, P. Cunningham, and R.T. Loftus. 1996. Mitochondrial diversity and origine of Africa and European cattle. *Proceeding of National Academy Science USA* 43: 5131-5135.
- Hall, S.J.G. and D.G. Bradley. 1995. Conserving livestock breed biodiversity (review). *Trends in Ecology and Evolution* 10: 267-270.
- Hauswirth, W.W. and P.S. Laipis. 1982. Mitochondrial DNA polymorphism in maternal lineage of Holstein cows. *Proceeding of the National Academic of Science USA* 79: 4868-4690.
- Ishida, N., T. Hasegawa, K. Takeda, M. Sakagami, A. Onishi, S. Inameru, M. Komatsu, and H. Mukoyama. 1994. Polymorphic sequence in the D-loop region of equine mitochondrial DNA. *Animal Genetics* 25: 215-221.
- Lindberg, G.L. 1989. *Sequence heterogeneity of bovine mitochondria DNA*. Iowa: Iowa State University.
- Loftus, R.T., D.E. Machaugh, L.O. Ngere, D.S. Balain, A.M. Badi, D.G. Bradley, and E.P. Tunningham. 1994. Mitochondrial genetic variation in European, Africa and Indian cattle population. *Animal Genetics* 25: 265-271.
- Miquel, J. 1991. An integrated theory of aging as the result of mitochondrial DNA mutation in differentiated cells. *Archives of Gerontology and Geriarty* 12: 99-177.
- Mittler, L.E. and T.G. Gregg. 1969. *Population Genetics and Evolution*. Englewood Cliffe: Prentice Hall Inc.
- Soller, P. 1994. The future role of molecular genetic in the control of meat production and meat quality. *Meat Science* 36: 29-44.
- Sutarno, and A.J. Lybery. 1997. New RFLPs in the mitochondrial genome of cattle. *International Journal of Animal Genetics* 28: 240-241
- Sutarno, 1999. *Polimorfisme DNA Mitokondria dari Berbagai Jenis Sapi Pedaging di Western Australia dan Bali*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Suzuki, R., S.J. Kemp, and A.J. Teale. 1993. Polymerase chain reaction analysis of mitochondrial DNA polymorphism in N'Dama and Zebu cattle. *Animal Genetics* 24: 339-343.
- Wallace, D. G. 1992. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases. *Science* 256: 628-632.
- Wallace, D. G. 1993. Mitochondrial diseases: genotype versus phenotype. *Trends in Genetics* 9: 128-133.
- White, T.J. 1996. The future of PCR technology: diversification of technologies and applications. *TIBTECH* 14: 478-483.
- Wiryosuhanto, S. 1996. Bali cattle – their economic important in Indonesia. *ACIAR Proceedings* 75: 34-42.

Polimorfisme DNA pada Lokus-2 Gen Hormon Pertumbuhan Sapi Madura

DNA polymorphism at locus-2 of growth hormone gene of Madura cattle

AGUS PURWOKO, SUTARNO, NITA ETIKAWATI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126

Diterima: 1 Desember 2002. Disetujui: 15 Januari 2003

ABSTRACT

The objectives of the research were to detect DNA polymorphism at locus 2 of bovine growth hormone gene of Madura cattle and to know its genetic diversity. DNA polymorphisms and their effect on phenotypic traits have been studied widely in dairy cattle but not for beef cattle, especially for Indonesian local cattle. Polymorphism was detected using PCR-RFLP using primer GH-5 and GH-6 for amplifying locus 2 of growth hormone gene. Genetic diversity was analyzed based on the formula of Nei (1973, 1975). DNA polymorphism was found on locus 2 of growth hormone gene using *MspI* restriction enzyme. This polymorphism may be caused the lost of restriction *MspI* site. The genetic diversity was 0.4422.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: bovine growth hormon gene, PCR-RFLP, polymorphism, *MspI* restriction enzyme, Madura Cattle.

PENDAHULUAN

Seluruh spesies hewan yang didomestikasikan menjadi ternak menunjukkan adanya variasi sifat-sifat produktivitas yang berhubungan dengan morfologi maupun fisiologi. Variasi tersebut disebabkan oleh faktor lingkungan dan genetik. Sifat-sifat produksi yang memiliki nilai ekonomi penting dalam ternak dikodekan oleh banyak gen (poligenik) sehingga tidak mudah untuk memanipulasinya. (Soller dan Beckmann, 1982). Variasi pada genom dapat mempengaruhi fungsi gen dan merubah produk gen sehingga menimbulkan variasi fenotip (Choi *et al.*, 1996).

Penemuan fragmen-fragmen restriksi sebagai penanda genetik pada lokus-lokus yang berhubungan dengan sifat produksi, dapat digunakan sebagai dasar untuk memilih dan memperoleh bibit unggul melalui seleksi buatan (Kennedy *et al.*, 1990; Choi *et al.*, 1996). Hal ini dapat diaplikasikan dalam usaha peningkatan produksi ternak melalui variasi penanda genetik (Soller dan Beckman, 1982).

Kemajuan di bidang biologi molekuler memberikan kesempatan baru dalam usaha mendeteksi terjadinya variasi genetik (polimorfisme) sebagai dasar peningkatan mutu genetik dalam peternakan. Teknik molekuler yang potensial digunakan untuk mendeteksi variasi tersebut antara lain: *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), *Double Strand Conformation Polymorphism* (DSCP), dan *Marker-Assisted Selection* (MAS) (Kennedy *et al.*, 1990).

Dengan adanya teknologi yang efektif dan akurat melalui pemanfaatan diagnosa berdasarkan *deoxy-*

ribo nucleic acid (DNA), akan sangat membantu program persilangan ternak (Rafalski dan Tingey, 1993). Penyediaan peta genetik melalui metode DNA rekombinan, dapat membantu program persilangan ternak melalui data-data molekuler yang didapat, yang mengatur sifat-sifat produksi (Hetzel, 1989).

Pemetaan genetik sangat penting dalam proses seleksi dan persilangan ternak berdasarkan teknik molekuler. Dengan adanya pemetaan gen, dapat dilakukan pengujian maupun modifikasi gen-gen yang telah dipetakan dengan menggunakan teknologi rekayasa genetik (Hetzel, 1989). Pemetaan gen yang mengatur sifat produktivitas penting pada ternak memiliki keuntungan yang sangat besar dalam menemukan variasi genetik pada tingkatan molekuler (Fries, 1993). Dengan ditemukannya teknik amplifikasi melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR), maka penanda genetik dapat dideteksi secara lebih cepat dan akurat dengan menggabungkan teknik amplifikasi PCR dengan RFLP yang dikenal dengan PCR-RFLP.

Produk gen yang berupa hormon (bioregulator) akan mempengaruhi proses pengaturan metabolisme dan penampakan morfologi ternak. Variasi genetik (polimorfisme) pada lokus-lokus gen khususnya yang mengkodekan hormon merupakan hal yang sangat penting, karena variasi tersebut menentukan karakter genetik dari suatu populasi yang dapat membantu dalam peningkatan mutu genetik dari populasi tersebut (Mitra *et al.*, 1995).

Hormon pertumbuhan sebagai salah satu produk gen berpengaruh besar dalam pertumbuhan, laktasi dan perkembangan kelenjar susu pada sapi (Hoj *et al.*, 1993a,b). Polimorfisme pada gen yang

mengkodekan dan mengatur hormon pertumbuhan sangat potensial sebagai penanda genetik untuk sifat-sifat fenotip dengan produktivitas yang bernilai ekonomi tinggi. Penelitian mengenai variasi genetik ini telah banyak dilakukan pada sapi Eropa, namun penelitian pada sapi lokal Indonesia khususnya sapi Madura belum banyak dilakukan.

BAHAN DAN METODE

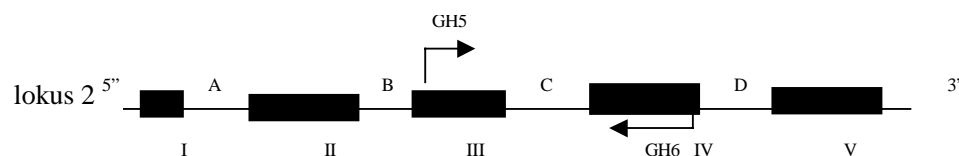
Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2000 s.d. Februari 2002 di Laboratorium Biokimia Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Bahan yang digunakan adalah sampel darah sapi Madura sebanyak 49 individu, *Wizard Genomic DNA Purification Kit* dari Promega (*cell lysis solution, nuclei lysis solution, protein precipitation solution, RNAase, DNA rehydration solution*), isopropanol, etanol 70%, *PCR Core System I* dari Promega ($MgCl_2$, *10 X buffer reaction Taq DNA polymerase, PCR nucleotida mix, Taq DNA polymerase*), enzim restriksi *MspI* dari Promega, agarose dari Promega, *1X tris acetic acid EDTA (TAE), ethidium bromida, aquades steril, blue loading dye*, kertas serap, parafilm, kristal es, primer GH-L2 yang terdiri dari primer GH-5: 5'-AGAATCAGGCCAGCAGAAATC-3' dan primer GH-6: 5'-GTCGCTACTGCGCATGTTTG-3', *ultra pure water* dari Biotech, dan *50-2000 basepair (bp) marker* dari Bio Rad.

Alat yang digunakan adalah sentrifus (Hettich), satu set mikropipet (ukuran 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L), *tips* 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L, tabung mikro 1,5 mL (Axygen), tabung PCR 0,6 mL, satu set alat elektroforesis horizontal dan *power supply* (Consort), *microwave*, inkubator, *GeneAmp PCR system 2400 Thermo Cycler* (Perkin Elmer), *Gel Doc 2000* (Bio Rad), *autoclave* (Ogawa Saiki Co), gelas ukur, erlenmeyer, tabung *venoject*, *vortex mixer* (Gemmy Industrial Corp), sarung tangan, penangas air (Haake), lemari pendingin suhu 4°C, *freezer* suhu -20°C, alat pembuat kristal es (Cornelius), timbangan elektrik (Denver Instrument).

Sampel darah diambil secara *venepuncture* menggunakan *venoject* dengan ukuran 10 milliliter (ml) yang berisi heparin. Darah disimpan pada suhu -20°C untuk referensi di kemudian hari dan digunakan langsung dalam penelitian ini.

DNA diekstrak dari total darah dengan menggunakan teknik *Wizard Genomic Purification System* (Promega, Madison USA). DNA diekstrak langsung dari total darah. Sejumlah 300 mikroliter (μ L) total darah dimasukkan ke dalam 1,5 μ L tabung mikrosentrifus yang steril dan berisi 450 μ L larutan pelisis sel, dicampur dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit untuk melisis sel darah merah yang mungkin masih tercampur. Sel darah putih kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 14.000 rotasi per menit (rpm) selama 20 detik pada suhu kamar untuk memperoleh endapan sel darah putih. Supernatan yang terbentuk diambil dan di buang, kemudian tabung mikrosentrifus yang berisi endapan sel darah putih diberi getaran \pm 3-5 menit menggunakan vortex agar sel-sel darah putih memisah secara sempurna. Sejumlah 150 μ L *nuclei lysis solution* ditambahkan ke dalam tabung berisi suspensi tersebut, kemudian dicampur dengan menggunakan pipet sebanyak 5-6 kali untuk melisis sel-sel darah putih. Kemudian ditambahkan 1 μ L RNAase ke dalam lisat nukleus, dicampur dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu sampel didinginkan pada suhu kamar selama 5 menit, dilanjutkan dengan penambahan 60 μ L *protein precipitation solution* untuk membentuk presipitat protein ke dalam lisat, lalu dihomogenkan dengan vortex selama 10-20 detik dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 3 menit untuk membentuk endapan protein. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus steril yang sebelumnya telah diisi 150 μ L isopropanol. Campuran yang diperoleh dicampur dengan membalik-balik tabung sampai terbentuknya materi seperti benang berwarna putih. DNA kemudian disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit pada suhu kamar. Supernatan dibuang kemudian ditambah 300 μ L etanol 70% pada suhu kamar. Tabung berisi larutan DNA dan etanol ini di balik-balik untuk mencuci endapan DNA. DNA kemudian diendapkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm pada suhu kamar, etanol diambil dengan sangat hati-hati, kemudian tabung mikrosentrifus dibalik di atas kertas penyerap, dan dibiarkan terbuka selama 20 menit untuk mengeringkan DNA. Setelah kering, 100 μ L larutan hidrasi DNA ditambahkan ke dalam tabung dan DNA direhidrasi dengan cara diinkubasi pada inkubator suhu 65°C selama 1 jam. DNA yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu 2-8°C sampai



Gambar 1. Diagram secara skematis menunjukkan posisi fragmen gen hormon pertumbuhan lokus 2 (GHL-2) fragmen terdiri dari 329 bp yang memanjang dari exon III dan exon IV di amplifikasi dengan PCR dengan primer GH5 dan GH6 (Sutarno, 2000).

penggunaan berikutnya (Promega, 1996).

DNA yang diperoleh langsung digunakan untuk reaksi PCR yang dilakukan dalam mesin PCR (*thermocycler*). Semua reaksi amplifikasi dilakukan dalam volume 25 μ L campuran reaksi yang terdiri dari: 200 nanogram (ng) *DNA template*, 0,15 mikromol (μ M) dari masing-masing *oligonukleotida* primer, 200 μ M dari masing-masing dNTPs, 2 μ M $MgCl_2$, 10x *buffer Taq DNA polymerase* dan 1,5 unit *Taq DNA polymerase* dalam 0,6 mL tabung *eppendorf*.

Primer GH5/GH6 digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen hormon pertumbuhan antara *intron III* dan *intron IV*. Primer-primer tersebut lokasinya secara garis besar ditunjukkan pada Gambar 1. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi fragmen ini adalah:

GH5: 5"- AGAATCAGGCCAGCAGAAATC -3"

GH6: 5"- GTCGTCAGTGCATGTTTG-3"

Kondisi reaksi amplifikasi PCR untuk gen hormon pertumbuhan adalah sebagai berikut: satu tahap reaksi denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 30 siklus amplifikasi yang masing-masing terdiri dari: (i) *denaturation* pada suhu 94°C selama 45 detik, (ii) *annealing* pada suhu 60°C selama 45 detik, dan (iii) *extension* pada suhu 72°C selama 1 menit; diikuti dengan satu tahap polimerasi final pada suhu 72°C selama 5 menit.

Hasil dari amplifikasi dengan menggunakan reaksi PCR langsung digunakan dalam reaksi digesti dengan menggunakan enzim restriksi. Fragmen dari gen hormon pertumbuhan lokus-2 gen hormon pertumbuhan hasil amplifikasi didigesti dengan menggunakan enzim *MspI* untuk mengidentifikasi situs polimorfisme *MspI*.

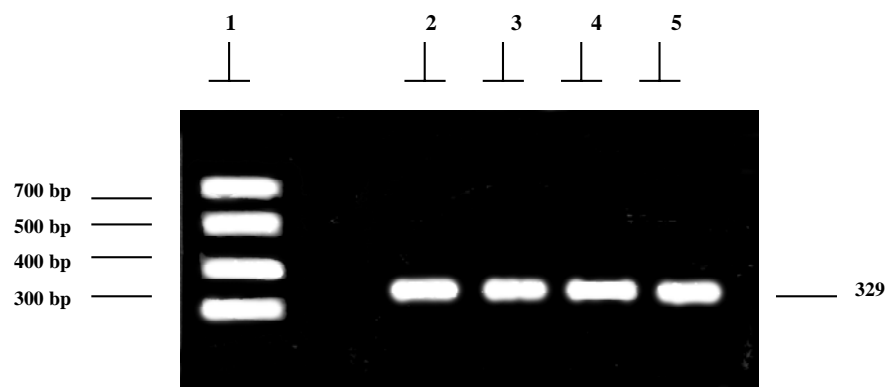
Larutan yang terdiri dari 8 μ L DNA (volume tergantung konsentrasi hasil amplifikasi masing-masing sampel) dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* yang steril. *Master mix* yang terdiri dari campuran antara 1 unit enzim *MspI*, 3 μ L 10X REact 2 *buffer MspI* dan sisanya *ultra pure water* ditambahkan ke dalam tabung yang berisi sampel DNA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam. Hasil digesti kemudian dielektroforesis pada bak elektroforesis horizontal dengan menggunakan gel yang terbuat dari 1% agarose dalam *buffer TAE* (*Tris/Acetic Acid/EDTA*). Gel agarose dibuat dengan melarutkan agarose dalam *buffer 1X TAE* dan dipanaskan dalam *microwave*

selama 20 detik sampai tercampur homogen. Setelah itu larutan agarose ditunggu sampai suhunya 60°C dan kemudian ke dalam larutan agarose ditambahkan *ethidium bromida* dengan konsentrasi 0,12 μ g/mL agar DNA dapat divisualisasi dibawah sinar ultraviolet. Elektroforesis ini dilakukan dengan menggunakan gel horizontal selama 50 menit pada 65 volt (voltase). Lama waktu ini sangat tergantung pada konsentrasi gel dan voltase. Setelah selesai elektroforesis, DNA divisualisasi di bawah sinar ultra violet dalam ruang gelap, dan diambil gambarnya dengan *Gel Doc 2000*.

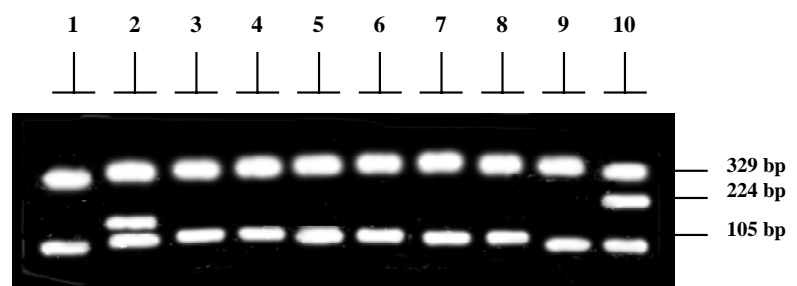
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi dengan PCR pada fragmen lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang terdiri dari 329 bp meliputi *exon III* dan *IV* yang diamplifikasi menggunakan primer GH-5/GH-6 diperlihatkan pada Gambar 2. Ketepatan kondisi reaksi PCR serta primer yang didesain (GH-5/GH-6) dengan program primer *designer* memberikan produk PCR yang sangat spesifik dengan terbentuknya satu pita DNA sesuai dengan yang diharapkan, seperti pada Gambar 2.

Analisis pola pemotongan oleh enzim restriksi *MspI* dari hasil amplifikasi dengan PCR terhadap lokus-2 gen hormon pertumbuhan, dilakukan terha-



Gambar 2. Fotograf dari gel agarose dengan menunjukkan posisi lokus-2 gen hormon pertumbuhan menggunakan *DNA ladder* 20 - 5000 bp. Baris 1 (*marker DNA*), baris 2 (M21), baris 3 (M22), baris 4 (M23), baris 5 (M24).



Gambar 3. Fotograf gel agarose memperlihatkan adanya polimorfisme pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang dideteksi dengan digesti menggunakan enzim *MspI*. Baris 1, 6, 7, 8, 9 (*MspI* -/-), baris 2, 3, 10 (*MspI* +/-), baris 4, 5 (*MspI* +/-).

dap 49 sampel individu sapi Madura. Pada beberapa individu sapi Madura ditemukan adanya polimorfisme DNA pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang ditandai dengan hilangnya situs restriksi *MspI* (Tabel 1). Polimorfisme dideteksi dengan melakukan digesti menggunakan enzim restriksi *MspI* terhadap fragmen 329 bp lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang diperlihatkan pada Gambar 3.

Tabel 1. Situs restriksi yang dihasilkan dari reaksi digesti dengan menggunakan enzim restriksi *MspI* terhadap fragmen 329 bp lokus-2 gen hormon pertumbuhan.

Enzim	Alel	Jumlah situs restriksi	Ukuran fragmen
<i>MspI</i>	<i>MspI</i> +	1	224 bp, 105 bp
	<i>MspI</i> -	0	329 bp

Besarnya frekuensi gen masing-masing alel *MspI* pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Frekuensi gen alel *MspI* lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura.

Alel	Sampel individu	Frekuensi gen
<i>MspI</i> (-/-)	27 individu	0,55
<i>MspI</i> (-/+)	11 individu	0,22
<i>MspI</i> (+/+)	11 individu	0,22

Identifikasi polimorfisme DNA lokus-2 gen hormon pertumbuhan pada sapi Madura dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu: (i) ekstraksi DNA dari total darah dengan menggunakan *Wizard Genomic DNA Purification Kit*, (ii) reaksi PCR untuk mendapatkan dan mengamplifikasi lokus-2 gen hormon pertumbuhan, dan (iii) analisis RFLP menggunakan enzim *MspI*.

Dalam tahapan ekstraksi DNA, beberapa kali diperoleh hasil yang kurang baik yaitu dengan kuantitas sangat sedikit atau DNA mengalami degradasi. Hal ini dapat disebabkan oleh sedikitnya kuantitas sel darah putih yang terekstraksi, tidak memisahkannya endapan sel darah putih yang terbentuk, atau endapan DNA yang terisolasi hilang. Permasalahan ini dapat diatasi dengan menyediakan sampel darah dengan kandungan sel darah putih yang banyak, pemisahan endapan sel darah putih yang terbentuk dengan alat getaran (*vortex*), ketelitian pada waktu pemisahan DNA dari larutan supernatan dan penyimpanan isolat DNA pada suhu 4°C. Dari penelitian ini, DNA yang diekstraksi menunjukkan sensitivitas yang tinggi terhadap sinar ultraviolet dengan berpendarnya *ethidium bromida* yang terikat pada DNA. Sebagai acuan, kuantitas DNA yang dihasilkan dengan *Wizard Genomic Purification Kit* berkisar antara 5-15 mikrogram (μg) DNA per 300 μL total darah segar dengan ukuran lebih dari 50 *kilobasepair* (kb) (Promega, 1996).

Tahapan kedua dalam mengidentifikasi polimorfisme dilakukan melalui reaksi PCR. Reaksi ini merupakan suatu metode *in vitro* yang berfungsi mengamplifikasi urutan DNA dari suatu kompleks DNA melalui suatu reaksi enzimatik sederhana. Urutan DNA yang diamplifikasi dengan teknik PCR adalah urutan DNA yang terletak di antara 2 bagian yang telah diketahui urutannya yang disebut sebagai *primer*. Adapun prinsip kerja dari PCR adalah melakukan denaturasi dari DNA *template* dengan memanaskan pada suhu tertentu sehingga terjadi DNA rantai tunggal, kemudian dilakukan pendinginan sampai mencapai suhu yang memungkinkan *primer* menempel pada tempat yang sesuai pada cetakan DNA. Selanjutnya dengan adanya enzim DNA polimerase, *primer* akan memanjangkan rantainya sehingga akan terbentuk DNA rantai ganda kembali. Siklus denaturasi, *annealing* dan *extension* rantai ini diulang beberapa kali sampai akhirnya tercapai sejumlah besar DNA yang diinginkan.

Dalam penelitian ini, reaksi PCR dilakukan untuk mendapatkan dan mengamplifikasi lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura dengan ukuran 329 bp yang terletak antara 1057 bp dan 1385 bp dari sekuen gen hormon pertumbuhan sapi. Jika produk PCR terlihat *smile* atau bahkan tidak memberikan hasil, kemungkinan hal ini disebabkan oleh komponen dalam campuran reaksi PCR baik berupa *template DNA*, *primers*, *Deoxynucleoside Triphosphates* (dNTP), *buffer PCR*, ion Magnesium dan *Taq DNA Polymerase* tidak berjalan sesuai dengan kondisi reaksi. Pada reaksi PCR yang dilakukan dalam penelitian ini, kondisi PCR yang sama dapat memberikan hasil yang berbeda dengan adanya hasil atau tidak adanya hasil. Pertimbangan faktor lainnya, bahwa efisiensi reaksi amplifikasi dengan teknik PCR tidak akan meningkat dengan meningkatnya jumlah siklus amplifikasi, karena tingginya siklus amplifikasi dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi dari enzim DNA polimerase, degradasi dari dNTP maupun akumulasi dari hasil PCR yang nonspesifik.

Selanjutnya, analisis RFLP dilakukan melalui digesti enzim restriksi *MspI* terhadap lokus-2 gen hormon pertumbuhan untuk mengetahui polimorfisme yang terjadi. Situs restriksi *MspI* terletak pada urutan 1161 bp yang akan memotong lokus-2 gen hormon pertumbuhan menjadi 2 fragmen restriksi dengan panjang masing-masing fragmen adalah 105 bp dan 224 bp. Pola fragmen restriksi *MspI* pada ukuran tersebut adalah normal dan tidak memunculkan polimorfisme. Polimorfisme muncul dikarenakan hilangnya situs restriksi *MspI* pada 1161 bp sehingga terjadi satu pola fragmen restriksi atau munculnya situs restriksi baru yang dapat memberikan beberapa pola fragmen restriksi. Dalam penelitian ini munculnya situs restriksi *MspI* yang baru tidak ada.

Dari penelitian yang dilakukan terhadap 49 ekor sapi Madura, alel *MspI* (-/-) sejumlah 27 ekor dengan frekuensi alel sebesar 0,55, alel *MspI* (+/-) sejumlah 11 ekor dengan frekuensi alel sebesar 0,22, alel *MspI*

(+/-) sejumlah 11 ekor dengan frekuensi alel sebesar 0,22, yang menggambarkan besarnya kehadiran alel-alel tersebut pada populasi sapi Madura yang diteliti. Diversitas genetik yang terukur dari polimorfisme DNA lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura adalah 0,4422 dengan menggunakan perhitungan dari Nei (1973, 1975 *cit* Baker dan Manwell, 1991).

RFLPs dari produk PCR dapat membedakan ukuran fragmen restriksi yang diperoleh dengan menggunakan *marker* DNA. Metoda standar yang digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi fragmen DNA adalah dengan menggunakan elektroforesis pada gel agarose. Ukuran molekul DNA bergantung pada panjang rantai molekul DNA yang ditentukan dari sejumlah pasangan-pasangan basa. Kecepatan pergerakan molekul-molekul dengan panjang yang khusus dalam gel bergantung pada konsentrasi dari agarose. Konsentrasi antara 0,5 sampai 2% biasa digunakan untuk ukuran DNA dari 200 sampai 50.000 pasang basa. Lokasi DNA di dalam gel dapat ditentukan secara langsung dengan memasukkan *ethidium bromida* dengan konsentrasi 0,12 µg/mL. Kuantitas sebesar 1 ng dari DNA dapat dideteksi dengan pengujian secara langsung dari gel dalam sinar ultraviolet.

Polimorfisme atau variasi genetik pada jenis yang sama sangat penting, karena mempunyai banyak aplikasi dalam persilangan dan genetika. Polimorfisme pada situs restriksi oleh enzim *MspI* pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi disebabkan oleh adanya transisi C menjadi T pada posisi +837 (Hoj *et al.*, 1993a,b). Penelitian untuk mengungkap variasi situs restriksi menggunakan enzim restriksi *MspI* pada sapi Sahiwal Zebu (Mitra *et al.*, 1995 dalam Sutarno, 2000) diketemukan frekuensi alel *MspI* (+) sangat rendah (0,14), dan sapi Bali sebesar (0,80) (Sutarno, 2000), sedangkan pada penelitian ini diperoleh frekuensi alel *MspI* (+) sebesar (0,44). Hasil penelitian ini, memperlihatkan adanya polimorfisme DNA pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan dari jenis sapi Madura. Penerapan dari diversitas genetik telah banyak dilakukan pada peternakan sapi perah dengan penggunaan rekombinan DNA yang didasarkan pada polimorfisme gen hormon pertumbuhan yang telah diterapkan di Amerika Serikat yang terbukti dapat meningkatkan produksi susu.

Kemajuan dalam bidang bioteknologi memberikan kontribusi yang sangat besar dalam usaha meningkatkan kuantitas dan kualitas ternak yang tersedia melalui seleksi dan kawin silang. Kondisi ini secara tidak langsung akan memberikan kontribusi yang besar dalam pembangunan di Indonesia. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat pula digunakan sebagai langkah awal dalam usaha pemuliaan hewan produksi khususnya sapi, maupun dalam menentukan donor dalam fertilisasi *in vitro*, atau bahkan dapat digunakan sebagai informasi dasar dalam usaha

pembuatan hewan transgenik setelah melalui beberapa tahap analisis lanjut.

KESIMPULAN

Dari data, analisis data dan pembahasan pada penelitian ini maka dapat diberikan kesimpulan yaitu: (i) polimorfisme DNA diketemukan pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan jenis sapi Madura melalui teknik PCR-RFLP menggunakan enzim *MspI*; (ii) diversitas genetik sapi Madura sebesar 0,4422 yang menggambarkan besarnya heterozigositas pada populasi tersebut.

Penelitian yang telah dilakukan terhadap lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura menggunakan teknik PCR-RFLP dengan digesti enzim *MspI*. Oleh karena itu, masih diperlukan penelitian secara lengkap tentang *sequencing* untuk mengetahui sebab dari polimorfisme yang telah ditemukan guna menyempurnakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker, C. M. A. and C. Manwell. 1991. Populations genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. *In* Hickman C.G. (ed.) *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Choi, Y.J., D.S. Yim, B.D. Cho, J.S. Cho, K.J. Na, and M.G. Baik. 1996. Analysis of RFLP in the bovine growth hormone gene related to growth performance and carcass quality of Korean native cattle. *Meat Science* 45(3): 405-410.
- Fries, R. 1993. Mapping the bovine genome: methodological aspect and strategy. *Animal Genetics* 24: 111-116.
- Hetzl, D.J.S. 1989. Construction of a bovine gene map. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 49: 53-56.
- Hoj, S., M. Fredholm, and V.H. Nielsen. 1993a. Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle. *Animal Genetics* 24: 91-96.
- Hoj, S., P. Lovendahl, and K. Sejrsen. 1993b. Possible association of growth hormone gene polymorphisms with growth hormone releasin calves from lines selected for high and low milk fat yield. *Acta Agriculture of Scandinavia, section Animal Science* 43: 12-135.
- Kennedy, B.W., A.M. Verrinder-Gibbins, J.P. Gibson, and C. Smith. 1990. Coalescence of molecular and quantitative genetics for livestock improvement. *Journal of Dairy Science* 73: 2619-2627.
- Mitra, A., P. Schlee, C.R. Balakrishnan, and F. Pirchner. 1995. Polymorphisme at growth hormone and prolactine loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding Genetics* 112: 71-74.
- Promega. 1996. *Certificate of Analysis; Wizard™ Genomic DNA Purification System*. USA: Promega Corporation.
- Rafalski, J.A., and S.V. Tingey. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends in Genetics* 9 (8): 275-280.
- Soller, M. and J.S. Beckman. 1982. Restriction Fragment Length Polymorphisms and genetic improvement. *Proceedings of the Second World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 6: 396-404.
- Sutarno. 2000. *Variasi Genetik pada Sapi Pedaging berdasarkan Polimorfisme pada Gen Hormon Pertumbuhan*. [Laporan penelitian]. Surakarta: FMIPA UNS.

Isolasi dan Karakterisasi Protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15

Isolation and characterization of protease from Bacillus subtilis 1012M15

ELFI SUSANTI VH

Program Studi Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126

Diterima: 24 September 2002. Disetujui: 25 Desember 2002

ABSTRACT

A local strain of *Bacillus* sp. BAC4, is known to produce penicillin G acylase (PGA) enzyme with relatively high activity. This strain secretes the PGA into the culture medium. However, it has been reported that PGA activity fall and rise during culture, and the activity plummets during storage at -20°C , which probably due to usage protease activity of *Bacillus* sp. BAC4. To study the possible use of *Bacillus subtilis* 1012M15 as a host cell for cloning the *pga* gene from *Bacillus* sp. BAC4, the protease activity of *Bacillus subtilis* 1012M15 were studied. Protease activity was determined by Horikoshi method. In this experiment, maximum protease activity in *Bacillus subtilis* 1012M15 culture was observed after 8 hours. At this optimum condition, protease activity of *Bacillus* sp. BAC4 is five time higher than that of *Bacillus subtilis* 1012M15. This situation promised the possible usage of *Bacillus subtilis* 1012M15 as a host cell for *pga* expression. For protease characterization, the bacterial culture had been separated from the cell debris by centrifugation. The filtrate was concentrated by freeze drying, fractionated by ammonium sulphate, dialyzed in selovan tube, and then fractionated by ion exchange chromatography employing DEAE-cellulose. The five peaks resulted indicated the presence of five protease. Based on inhibitor and activator influence analysis, it could be concluded that proteases from *Bacillus subtilis* 1012M15 contained of serin protease as well as metalloprotease and serin protease mixture.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: protease, penicillin G acylase, cloning, host cell.

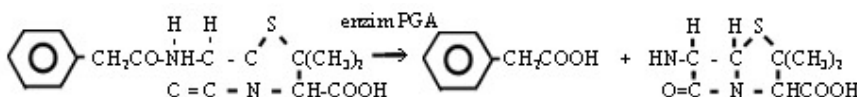
PENDAHULUAN

Infeksi bakteri merupakan masalah kesehatan utama di Indonesia. Banyak mikroorganisme patogen yang ditemukan menjadi resisten terhadap berbagai antibiotika. Oleh karena itu dibutuhkan antibiotika baru yang dapat menyerang mikroorganisme patogen tersebut. Salah satu antibiotika yang dikembangkan adalah penisilin. Penisilin pertama kali ditemukan oleh Alexander Fleming pada tahun 1929 dari *Penicillium notatum*. Berbagai turunan penisilin telah berhasil dibuat dan digunakan orang.

Strain *Penicillium* digunakan pertama kali dalam produksi penisilin F. Dalam perkembangan selanjutnya ternyata yang banyak digunakan dan merupakan penisilin paling aktif adalah penisilin G. Dalam industri penisilin G dihidrolisis secara enzimatik oleh *penicillin G acylase* (PGA) dan menghasilkan asam 6-amino penisilinat (6-APA)(Gambar 1.), senyawa antara dalam produksi penisilin semisintetik, diantaranya metilsilin, kloksasilin, ampisilin dan karbenisilin.

Secara komersial, enzim PGA umumnya diproduksi oleh *E. coli* secara intrasel, sehingga sel-sel *E. coli* harus dilisis untuk mengisolasi dan memurnikan enzim. Strain lokal *Bacillus* sp. BAC4 memiliki kemampuan untuk memproduksi PGA dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan *E. coli* B130. Di samping itu *Bacillus* sp. BAC4 mensekresikan enzim PGA ke dalam kultur medium, sehingga lebih menguntungkan untuk produksi PGA. Hasil eksperimen yang telah diperoleh oleh para peneliti terdahulu menjelaskan bahwa aktivitas PGA dalam kultur cepat hilang selama penyimpanan pada suhu -20°C . Hal ini diduga karena adanya protease *Bacillus* sp. BAC4 yang mampu menghidrolisis enzim PGA.

Bacillus subtilis 1012M15 diketahui memproduksi protease dalam jumlah yang lebih sedikit dengan aktivitas yang relatif rendah dibandingkan bakteri lain. Strain ini mulai banyak digunakan sebagai sel inang dalam kloning gen dari bakteri gram positif. Gen yang mengkode *penicillin V acylase* dari *Bacillus sphaericus* telah berhasil diekspresikan dalam *B. subtilis* (Kang et al., 1991). Ekspresi gen *penicillin G acylase* dari *Bacillus megaterium* ATCC14945 dalam dalam *B. subtilis* juga telah dilakukan (Olsson et al., 1985).



Gambar 1. Pemutusan enzimatik penisilin G menjadi asam 6-amino penisilinat.

Peningkatan aktivitas enzim PGA dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan, diantaranya adalah dengan mentransfer gen *pga* dalam suatu inang yang kemudian dapat mengekspresikan gen tersebut dengan baik. Untuk itu dibutuhkan suatu bakteri yang dapat dijadikan sebagai sel inang yang memiliki aktivitas protease relatif rendah. Bakteri tersebut sebaiknya juga merupakan bakteri gram positif, supaya ekspresi gen *pga* terjadi secara eksternal (Priest, 1984).

Species *Bacillus* sangat cocok untuk produksi enzim, kecuali *B. cereus* dan *B. anthracis*. Mikroba jenis *Bacillus* tidak menghasilkan toksin, mudah ditumbuhkan, dan tidak memerlukan substrat yang mahal. Kemampuan *Bacillus* untuk bertahan pada temperatur tinggi, tidak adanya hasil samping metabolik, dan kemampuannya untuk menghasilkan sejumlah besar protein ekstrasel membuat *Bacillus* merupakan organisme favorit untuk industri. Saat ini *B. subtilis* dipakai sebagai organisme inang untuk studi DNA-rekombinan (Doi *et al.*, 1992).

Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease dibutuhkan secara fisiologi untuk kehidupan organisme pada tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme (Rao *et al.*, 1998). Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease dibatasi oleh tersedianya tanah untuk penanaman dan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan. Disamping itu proses produksi protease dari tumbuhan sangat memakan waktu. Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromelain, dan keratinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pepsin dan rennin. Enzim-enzim ini dapat diperoleh dalam keadaan murni dengan jumlah besar (Boyer, 1971).

Penggunaan mikroorganisme sebagai sumber enzim protease dan kemungkinannya untuk melakukan manipulasi genetik, menjadikan protease mikroba lebih banyak dikembangkan. Banyak protease komersial, baik itu netral maupun alkalin, dihasilkan oleh *Bacillus*. Protease netral dari bakteri mampu aktif pada pH 5-8 dan memiliki toleransi suhu yang relatif rendah. Neutrase, suatu protease netral banyak digunakan pada proses hidrolisis protein makanan dalam industri makanan dengan derajat hidrolisis yang rendah. Beberapa protease netral termasuk jenis protease logam dan membutuhkan ion logam divalen untuk aktivitasnya. Sebagian lagi termasuk protease serin, tidak membutuhkan ion logam dalam aktivitasnya. Protease alkalin dari bakteri memiliki aktivitas tertinggi pada pH 10 dan temperatur optimal pada suhu 60°C. Sifat-sifat yang dimiliki protease ini membuatnya cocok untuk digunakan dalam industri detergen.

Jamur merupakan sumber penghasil enzim protease selain bakteri. Contohnya *Aspergillus oryzae* yang menghasilkan protease asam, netral maupun alkalin. Protease dari jamur mampu aktif pada rentang pH yang luas yaitu pH 4-11. Walaupun demikian, protease ini memiliki toleransi panas yang rendah dibandingkan protease bakteri. Protease

asam dari jamur memiliki pH optimal antara 4-5 dan stabil antara pH 2,5-6. Protease jenis ini banyak digunakan dalam industri pembuatan keju.

Protease netral jamur merupakan protease logam yang aktif pada pH 7 dan dihambat oleh zat pembentuk khelat. Protease ini menghidrolisis ikatan peptida pada asam amino hidrofobik, dan biasanya digunakan untuk mengurangi kepahitan makanan pada industri makanan. Protease virus memiliki beberapa keuntungan dibandingkan protease lain, yaitu dalam fungsinya sebagai obat penyakit seperti kanker dan AIDS. Protease virus yang ditemukan termasuk jenis protease serin, aspartat dan sistein. (Rao, *et al.*, 1998).

Dalam penelitian ini protease yang dihasilkan *B. subtilis* 1012M15 akan diisolasi, dimurnikan dan dikarakterisasi, meliputi penentuan aktivitas spesifik, berat molekul dan jenis protease. Protease diisolasi dari kultur medium, proses pemurnian dilakukan melalui tahap *freeze drying*, fraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis dan kromatografi penukar ion. Berat molekul protease ditentukan secara elektroforesis gel poliakrilamida, sedangkan jenis protease ditentukan dengan melihat pengaruh inhibitor dan aktivator terhadap aktivitas enzim.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari kemungkinan kloning dan ekspresi gen *pga* dari *Bacillus sp.* BAC4 ke dalam *B. subtilis* 1012M15, dan sekaligus menentukan jenis protease dari *B. subtilis* 1012M15. Bila aktivitas protease dari *B. subtilis* 1012M15 cukup rendah, maka diharapkan enzim PGA yang dihasilkan oleh klon rekombinan dalam *B. subtilis* 1012M15 adalah cukup stabil sehingga dapat diisolasi dengan relatif mudah dari media kultur.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Mikroorganisme yang digunakan yaitu *Bacillus sp.* BAC4, *B. subtilis* 1012M15, diperoleh dari Laboratorium Rekayasa Genetika PAU ITB Bandung. Medium yang digunakan yaitu medium LB (*Luria Bertani medium*) padat dan cair.

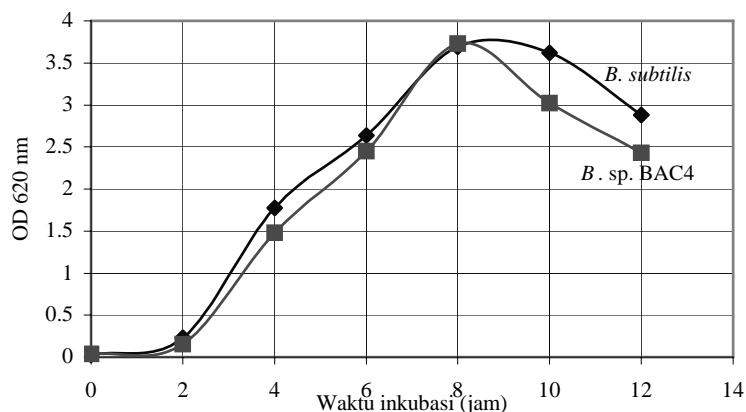
Uji kualitatif protease

Uji ini dilakukan untuk menentukan kemampuan *B. subtilis* 1012M15 dalam mensekresikan enzim protease yang dapat mendegradasi protein. Dalam uji ini pada medium disertakan susu skim yang mengandung kasein. Kasein merupakan protein utama susu, suatu makromolekul yang tersusun atas subunit asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Kasein berfungsi sebagai substrat bagi enzim protease.

Uji kuantitatif protease

Uji kuantitatif protease dilakukan untuk mengetahui kadar dan aktivitas protease dalam *B. subtilis* 1012M15, terdiri dari beberapa tahap, yaitu:

- (i) Pembuatan biakan bakteri yang steril dan inokulum aktif diperoleh dari biakan tersebut. Medium pertumbuhan yang digunakan yaitu medium Horikoshi yang telah dimodifikasi.
- (ii) Pembuatan kurva pertumbuhan dan kurva aktivitas protease.
- (iii) Kurva pertumbuhan dibuat dengan mengukur turbiditas atau kekeruhan suspensi medium sel yang kini merupakan inokulum aktif pada panjang gelombang 620 nm. Pengukuran dilakukan setiap selang waktu 2 jam selama 12 jam. Sedangkan aktivitas protease ditentukan dengan metode Horikoshi dan penentuan kadar protein dengan metode Lowry.



Gambar 2. Perbandingan pertumbuhan sel *Bacillus sp.* BAC4 dan *Bacillus subtilis* 1012M15.

Karakterisasi protease

Protease yang dihasilkan bakteri *B. subtilis* tersebut akan diisolasi, dimurnikan dan dikarakterisasi, meliputi penentuan aktivitas spesifik, berat molekul dan jenis protease. Protease diisolasi dari kultur medium, proses pemurnian dilakukan melalui tahap *freeze drying*, fraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis dan kromatografi penukar ion. Berat molekul protease ditentukan secara elektroforesis gel poliakrilamida, sedangkan jenis protease ditentukan dengan melihat pengaruh inhibitor dan aktivator terhadap aktivitas enzim. *Freeze drying* merupakan tahap pemekatan atau pengeringan larutan protein untuk mencegah denaturasi protein. Volume enzim yang digunakan adalah $\frac{1}{4}$ dari volume wadah tempat penguapan yang digunakan.

Proses pengendapan protein dari larutannya menggunakan amonium sulfat dilakukan setelah ekstrak kasar protease dipekatkan melalui *freeze drying*. Pengendapan ini terjadi karena garam yang tersolvasi cenderung mengurangi molekul air pada bagian permukaan hidrofob protein, selanjutnya berinteraksi satu sama lainnya membentuk agregat. Molekul protein dengan berat molekul besar memerlukan konsentrasi garam yang kecil untuk membentuk endapan dan akan mengendap lebih dulu.

Proses dialisis berlangsung berdasarkan sifat semipermeabel membran, dimana molekul besar protein akan bertahan sedangkan molekul kecil dapat lolos melalui pori membran dan larut dalam sistem pelarut dialisis yang digunakan. Proses dialisis dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi zat terlarut di kedua sisi membran. Dengan demikian selalu diikuti pergantian bufer selama dialisis dan pengadukan sampai terjadi keseimbangan. Untuk menjaga stabilitas protein, dialisis dilakukan pada suhu 4-8°C.

Penentuan berat molekul protease dilakukan dengan Elektroforesis gel poliakrilamida. Sebagai standar protein digunakan *cytochrome C* (BM 12.400), *carbonic anhidrase* (BM 29.000), *albumin* (BM 66.000), dan *alcohol dehydrogenase* (BM 150.000).

Penggolongan protease ditentukan berdasarkan posisi pemotongan rantai polipeptida, pH optimum aktivitas enzim, dan jenis residu asam amino yang terdapat pada pusat aktif. Untuk mengetahui jenis gugus yang terdapat pada sisi aktif enzim dapat digunakan reaksi spesifik dengan inhibitor atau aktivator tertentu, yaitu etilen diamin tetra asetat (EDTA) sebagai inhibitor protease logam, *phenil methyl sulfonil fluorida* (PMSF) sebagai inhibitor protease serin, kalsium klorida sebagai aktivator protease logam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

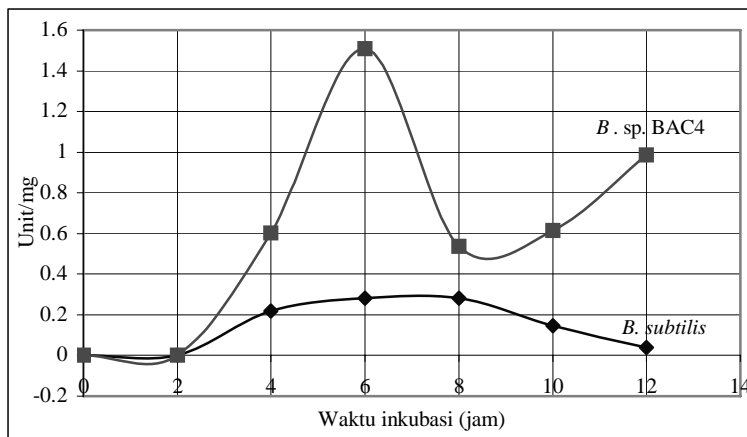
Uji kualitatif protease

Susu skim mengandung kasein yang disertakan ke dalam medium pertumbuhan bakteri berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperlihatkan aktivitas hidrolitik protease. Protease mengkatalisis degradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptida CO-NH dengan masuknya air ke dalam molekul. Reaksi tersebut melepaskan asam amino.

Susu skim tersuspensi dalam medium. Setelah inokulasi dan inkubasi kultur *plate agar*, bakteri mensekresikan protease. Hal ini diperlihatkan dengan adanya daerah bening di sekeliling pertumbuhan bakteri. Luasnya daerah bening di sekeliling pertumbuhan bakteri tidak mewakili jumlah protease yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme. Karena daerah bening yang dihasilkan akan bertambah dengan bertambahnya waktu inkubasi. Untuk itu, kandungan protease dalam kedua bakteri, *B. subtilis* 1012M15 dan *Bacillus sp.* BAC4, perlu ditentukan secara kuantitatif.

Pertumbuhan sel bakteri

Pengukuran kekeruhan medium pada selang waktu tertentu dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri memperbanyak sel dalam medium. Data-data yang diperoleh dibuat kurva pertumbuhan (Gambar 2). Kekeruhan terjadi karena sel bakteri tumbuh,



Gambar 3. Aktivitas protease *Bacillus sp. BAC4* dan *B. subtilis* 1012M15

berkembang, memperbanyak diri dan mensekresikan enzim ke medium kultur. Kekeruhan tersebut diukur dengan mengukur turbiditas medium pada panjang gelombang 620 nm. Turbiditas yang terukur ini tidak hanya mengukur jumlah sel yang hidup, tetapi sel yang mati juga ikut terukur.

Dari kurva pertumbuhan pada Gambar 3 terlihat bahwa kerapatan optik kultur medium sampai jam ke dua belum menunjukkan kenaikan. Fase ini merupakan fase adaptasi bagi bakteri terhadap lingkungan pertumbuhan untuk mensekresikan enzim-enzim ekstrasel yang akan menghidrolisis komponen medium yang diperlukan untuk metabolisme dan pertumbuhan sel. Setelah jam ke dua bakteri mulai tumbuh dengan cepat, ditunjukkan dengan meningkatnya nilai kerapatan optik medium sampai jam ke delapan. Hal itu terjadi pada kedua bakteri, *B. subtilis* 1012M15 dan *Bacillus sp. BAC4*. Kerapatan optik tertinggi dicapai setelah 8 jam untuk kedua basilus (*B. subtilis* 1012M15 dan *Bacillus sp. BAC4*). Pada saat itu dianggap sel mengalami pertumbuhan maksimal.

Kerapatan optik menurun setelah jam ke delapan. Pada fase ini bakteri mulai memasuki fase kematian. Kematian ini terjadi karena zat makanan yang diperlukan bakteri berkurang dan hasil ekskresi bakteri telah bertumpuk dalam medium, sehingga mengganggu pembiakan dan pertumbuhan bakteri selanjutnya. *Bacillus sp. BAC4* memasuki fase kematian lebih cepat dari pada *B. subtilis* 1012M15.

Penentuan aktivitas protease selama pertumbuhan

Aktivitas protease ditentukan dengan metode Horikoshi. Pada metode ini kasein digunakan sebagai substrat. Enzim protease yang disekresi oleh sel bakteri akan menghidrolisis kasein untuk menghasilkan asam amino. Besarnya aktivitas protease ditentukan berdasarkan jumlah tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis kasein, dan dilakukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 275 nm. Panjang gelombang 275 nm ini merupakan panjang gelombang maksimum untuk penyerapan sinar UV oleh protein yang mengandung residu asam

amino aromatik (misalnya tirosin dan triptopan). 1 unit aktivitas protease dinyatakan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan material yang larut dalam campuran TCA, yang ekuivalen dengan 1 μmol tirosin dari larutan kasein 1% (b/v) permenit pada pH 8,0 dan suhu 37°C.

Kadar protein total dalam larutan enzim ditentukan dengan metode Lowry. Pada metode ini digunakan reagen folin ciocalteau yang akan bereaksi dengan protein dan memberikan warna biru gelap yang kuat. Jumlah protein ditentukan berdasarkan serapan larutan tersebut pada panjang gelombang 750 nm.

Dari data diperlihatkan bahwa *B. subtilis* 1012M15 dan *Bacillus sp. BAC4* aktif menghasilkan protease selama pertumbuhannya. Walaupun demikian protease yang dihasilkan *Bacillus sp. BAC4* tidak stabil, hal ini ditunjukkan dengan terjadinya kenaikan dan penurunan aktivitas protease selama pertumbuhan.

Puncak aktivitas protease *B. subtilis* 1012M15 dan *Bacillus sp. BAC4* dicapai setelah fermentasi 6 jam, terjadi ketika sel mengalami masa pertumbuhan yang meningkat, dimana semakin banyak sel, semakin banyak protease ekstrasel yang dihasilkan (Gambar 3). Kenyataan ini sedikit berbeda dengan hasil yang diperoleh Kole dkk bahwa produksi protease ekstrasel tertinggi terjadi selama fase pertumbuhan pasca eksponensial dan stasioner *B. subtilis strain* NCIB8054.

Aktivitas protease *Bacillus sp. BAC4* lebih besar dari yang dihasilkan oleh *B. subtilis* 1012M15. Pada jam ke 6 aktivitas protease *Bacillus sp. BAC4* mencapai 5 kali aktivitas protease *B. subtilis* 1012M15. Kondisi ini memberikan gambaran kemungkinan dapat digunakannya *B. subtilis* 1012M15 sebagai *host* untuk ekspresi gen *pga* guna produksi enzim penisilin G asilase.

Isolasi dan pemurnian protease

Protease ekstrasel *B. subtilis* 1012M15 diisolasi dari medium yang mempunyai komposisi sama dengan medium pertumbuhan setelah fermentasi selama 6 jam. Enzim ekstrasel dalam medium dipisahkan dari selnya dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm menggunakan rotor jenis JA 21. Enzim ini akan berada di supernatannya dan merupakan ekstrak kasar protease. Pengukuran aktivitas protease dilakukan terhadap supernatan tersebut dengan metode Horikoshi, sedangkan kadar protein ditentukan dengan metode Lowry.

Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa *B. subtilis* 1012M15 mempunyai aktivitas protease 0,95 unit/mL. Kadar protein total 4,75 mg/mL dan aktivitas spesifik 0,2 unit/mg. Terhadap ekstrak kasar protease dilakukan pemekatan yaitu dengan cara *freeze drying*.

Freeze drying

Freeze drying merupakan proses pemekatan larutan protein dalam keadaan dingin untuk mencegah terjadinya denaturasi. Larutan yang mengandung protease dari *B. subtilis* 1012M15 sebanyak 174 mL dibekukan dalam *freeze r* dan ditempatkan pada *freeze dryer*. Setelah *freeze drying* dilakukan selama 24 jam diperoleh larutan yang pekat sebanyak 25 mL. Terhadap hasil pemekatan ini ditentukan aktivitas protease dan kadar protein total dengan cara yang sama seperti di atas, dengan nilai masing-masing 2,356 unit/mL dan 22,825 mg/mL, dengan aktivitas spesifik 0,103 unit/mg.

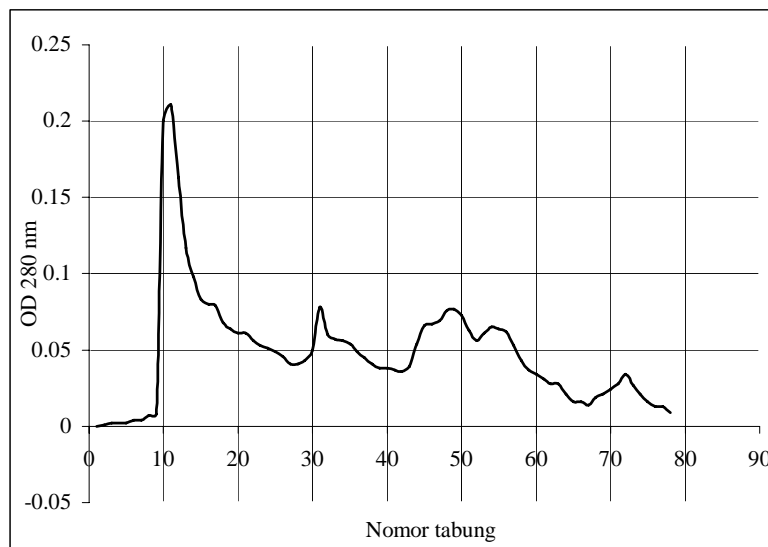
Dari hasil pengukuran tersebut terlihat bahwa kadar protein dari *B. subtilis* 1012M15 setelah pemekatan 10 kali mengalami kenaikan 4,8 kali dari keadaan semula. Walaupun demikian aktivitasnya mengalami penurunan, diduga selama proses *freeze drying* terjadi perubahan konformasi protein yang mengakibatkan sisi aktif enzim berubah, dan menurunkan aktivitas enzim. Pemurnian lebih lanjut dilakukan fraksinasi dengan amonium sulfat yang akan mengendapkan partikel protein.

Fraksinasi dengan amonium sulfat

Pemisahan menggunakan amonium sulfat didasarkan pada efek *salting out*, yaitu amonium sulfat akan menurunkan kelarutan protein sehingga ia akan mengendap. Konsentrasi amonium sulfat dari 0 hingga 80% (b/v) ditambahkan sedikit demi sedikit ke larutan protein pada suhu 4°C. Sebanyak 15 mL larutan hasil pemekatan yang mengandung protease dari *B. subtilis* 1012M15 digunakan untuk proses ini. Pengendapan terjadi secara perlahan dan disetimbangkan selama 12 jam. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan cara sentrifugasi, dan diperoleh endapan protein sebanyak 0,56 gram. Endapan tersebut mempunyai aktivitas protease 8,67 unit/mL, dengan kadar protein 17,525 mg/mL dan aktivitas spesifik 0,495 unit/mg. Kadar protein mengalami penurunan, karena protein pengotor telah terpisah, dan diharapkan protease yang diperoleh lebih baik. Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya aktivitas protease. Untuk menghilangkan sisa-sisa garam amonium sulfat dan molekul-molekul kecil lainnya, maka endapan yang diperoleh didialisis menggunakan tabung selovan.

Dialisis

Dialisis dilakukan menggunakan tabung selovan yang bersifat semipermeabel. Molekul besar protein tertahan dalam membran, sedangkan molekul kecil dapat lolos keluar melalui pori membran dan larut dalam pelarut yang digunakan. Dialisis dilakukan selama 24 jam dengan dua kali pergantian bufer



Gambar 4. Kromatogram penukar ion terhadap larutan protease dari *B. subtilis* 1012M15.

dialisis, pada suhu 4°C untuk menjaga stabilitas enzim. Pelarut yang digunakan adalah buffer tris-Cl 0,05 M pH 8,0. Setelah dialisis, larutan enzim dari *B. subtilis* 1012M15 mempunyai aktivitas protease 1,04 unit/mL dengan kadar protein 8,45 mg/mL dan aktivitas spesifik 0,123 unit/mg. Terlihat bahwa terjadi penurunan kadar protein dan aktivitas protease. Penurunan kadar protein terjadi karena molekul protein kecil telah keluar melalui membran selama dialisis. Diduga telah terjadi denaturasi pada struktur enzim selama proses dialisis, yang menyebabkan aktivitas enzim menjadi turun. Disamping itu diketahui bahwa enzim protease ini memang tidak stabil. Terhadap hasil dialisis dilakukan pemurnian lebih lanjut, yaitu dengan kromatografi penukar ion menggunakan matriks DEAE-selulosa.

Kromatografi penukar ion

Pemisahan dalam kromatografi penukar ion tergantung pada keseimbangan adsorpsi dari molekul bermuatan dengan gugus penukar ion yang bermuatan berlawanan. Prinsip kerja metode ini adalah memisahkan protein berdasarkan pertukaran *counter ion* oleh berbagai protein yang bermuatan sejenis. Proses elusi dilakukan secara gradien dengan variasi konsentrasi NaCl dengan kecepatan elusi 0,37 mL/menit. Eluat yang diperoleh setelah proses elusi di kumpulkan dengan *fraction collector* setiap 3 mL, dan diukur kadar proteinnya dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 280 nm (Gambar 4). Fraksi-fraksi yang mempunyai nilai serapan yang membentuk satu puncak diperkirakan masuk dalam satu jenis protease, dikumpulkan dalam satu fraksi dan diukur aktivitas proteasenya (Tabel 1.).

Dari tabel terlihat bahwa aktivitas protease tertinggi dicapai pada Puncak III dengan aktivitas spesifik 50,867 unit/mg. Puncak yang pertama keluar merupakan enzim yang terikat paling lemah, dan mempunyai aktivitas spesifik terendah. Puncak paling

akhir merupakan enzim yang terikat kuat pada matriks yang bermuatan positif. Jika ditinjau dari penggunaan eluen yang memiliki pH 8, maka enzim tersebut memiliki muatan total negatif. Dari hasil kromatografi ini kita belum bisa menentukan jenis protease yang terdapat pada kedua bakteri. Untuk itu maka dilihat pengaruh inhibitor dan aktivator terhadap aktivitas enzim.

Tabel 1. Pengumpulan fraksi-fraksi eluat hasil kromatografi kolom *B. subtilis* 1012M15, dan aktivitas protease dalam fraksi-fraksi eluat kromatografi kolom tersebut.

Puncak	Fraksi No.	Protein total mg/mL	Aktivitas Unit/mL	Aktivitas Spesifik Unit/mg
I	09-18	0,644	0,987	1,532
II	34-38	0,037	0,550	14,865
III	42-50	0,015	0,763	50,867
IV	55-59	0,0137	0,675	49,270
V	67-69	0,0587	0,487	8,296

Penentuan golongan protease

Penentuan golongan protease dilakukan dengan melihat pengaruh inhibitor dan aktivator terhadap aktivitas enzim. Inhibitor dan aktivator yang dipakai adalah PMSF, EDTA dan CaCl_2 . PMSF (*phenil methyl sulfonil florida*) akan terikat ke residu serin pada pusat aktif suatu enzim dengan mengubah serin tersebut menjadi derivat *phenil methyl sulfonil*, yang menyebabkan penurunan aktivitas katalitik enzim. Ion Ca^{+2} merupakan modulator positif yang menyebabkan perubahan konformasi sisi katalitik enzim, yang akan mempermudah interaksi dengan substrat sehingga meningkatkan aktivitas katalitik enzim. EDTA merupakan senyawa pengkhelat ion logam pada protease logam, yang menyebabkan penurunan aktivitas katalitik enzim. Dari kelima puncak yang dihasilkan dalam kromatografi penukar ion DEAE selulosa, dianalisa tiga puncak yang memiliki aktivitas terbesar (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh inhibitor dan aktivator terhadap aktivitas protease setiap puncak.

Senyawa 1 mM	<i>B. subtilis</i> 1012M15 (%)		
	II	III	IV
PMSF	-22,7	-37,7	-27,7
EDTA	+22	-19	+40
CaCl_2	-34	-93	-68,7

Keterangan: - = inhibisi, + = aktivasi

Pada *B. subtilis* 1012M15, protease II dan IV hanya dihambat oleh PMSF dan tidak oleh EDTA. Hal ini menunjukkan bahwa protease tersebut termasuk pada golongan protease serin. Sedangkan protease III merupakan campuran protease serin dan logam dengan perbandingan 1,98: 1. CaCl_2 memberi pengaruh terhadap aktivitas enzim, hal ini terlihat bahwa terjadi penurunan aktivitas enzim pada ke tiga protease tersebut, masing-masing sebesar 34%, 93%, dan 68,7%.

Elektroforesis gel poliakrilamida

Elektroforesis gel poliakrilamida dilakukan tidak hanya untuk memisahkan sejumlah besar spesies makromolekul, tetapi juga untuk mengkarakterisasi massa molekul relatif makromolekul tersebut. Gel elektroforesis memberikan lebih dari satu pita, hal ini menunjukkan bahwa enzim tersebut merupakan campuran protein yang ukurannya berbeda.

KESIMPULAN

Aktivitas protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15 relatif rendah, dan ini memberikan kemungkinan penggunaan *B. subtilis* 1012M15 sebagai sel inang untuk ekspresi gen *pga* (*penicillin G acylase*). Protease dari *B. subtilis* 1012M15 terdiri dari protease serin dan campuran protease serin dan logam dengan perbandingan 1,98:1. Untuk mendapatkan protease yang lebih murni maka disarankan untuk memisahkan protease dengan metode lain, sehingga protease dapat dikarakterisasi dengan lebih tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Boyer, P. D. 1971. *The Enzymes*. 3rd ed. New York: Academic Press. Inc.
- Doi, R.H. and M. Martina. 1992. *Biology of Bacilli*. Stoneham: Butterworth-Heinemann.
- Hammond, S., M. Peter, and A. Lambert. 1978. *Antibiotics and Antimicrobial Action*. New York: Edward Arnold.
- Heftmann, E. 1992. *Chromatography, Fundamentals and Applications of Chromatography and Related Differential Migration Methods*. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Kang, J. H, Y. Hwang, and O.J. Yoo. 1991. Expression of the Penicillin G Acylase Gene from *Bacillus megaterium* ATCC 14945 in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Biotechnology* 17, 99-108.
- Mathews, K.C, K.E. Van Hodle. 1996. *Biochemistry*. 2nd ed. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Medgyeti, G. A, and Verczkey L. 1980. *Electroforesis in the Separation of Biological Macromolecules*. Budapest: Akademiai Kiado.
- Meevotism, V. and J.R. Saunders. 1987. Cloning and expression of the penicillin acylase genes from overproducing strains of *Escherichia coli* and *Bacillus megaterium*, *Applied Microbiology and Biotechnology* 25: 372-378.
- Olsson A., T. Hagstrom, B. Nilsson, M. Uhlen, and S. Gatenbeck. 1985. Molecular cloning of *Bacillus sphaericus* penicillin V amidase gene and its expression in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Applied Environmental Microbiology* 1084-1089.
- Priest, F.G., 1984. *Extracellular Enzymes*. London: Van Nostrand Reinhold Co. Ltd.
- Rao, M.B, M.T Aparna, S.G. Mohini and V.D. Vasanti. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 597-635.
- Scopes, R.K., 1982. *Protein Purification-Principles and Practice*. New York: Springer-Verlag.
- Stryer, L. 1992. *Biochemistry*. 4th ed. New York: W. H. Freeman and Co.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Lab Press.

Kajian Keragaman Jenis dan Pertumbuhan Kapang dalam Acar Mentimun

Studies on the diversity and growth of moulds in the cucumber pickle

HAPSARI SETIA PUTRI, SURANTO, RATNA SETYANINGSIH

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126

Diterima: 19 Agustus 2002. Disetujui: 25 Desember 2002

ABSTRACT

The aims of this research were to study about the growth and diversity of moulds in the cucumber pickle and the influences of acetic acid concentration and long storage as well as additional of onion on the growth of moulds. Cucumber pickle was treated in different acetic acid concentrations (0,8%, 1,4%, 2,0%), long storage and with or without additional of onion. The used method to isolate of mould was dilution planting. For enumerating moulds, 0,1 ml samples were blended and diluted after that inoculated on to potato sucrose agar (PSA) medium and then incubated at 27°C for 7 days. To identify the moulds, the colony was transferred on to CDA and PSA media, and then incubated at 27°C for 7 days. The moulds were identified according to their macroscopic and microscopic characters. To know the degrees of taste, the cucumber pickle was tested to 25 people with hedonic scale method. The results showed that, there was 12 different kinds of moulds can be found in cucumber pickle without additional of onion. There were *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. tamarii* Kita, *Cochliobolus sp*, *Botrytis*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *P. citrinum*, *Rhizopus oligosporus*, *Trichoderma sp*, and *Monilia*. On the other hand, experiment with onion, *P. expansum* and *A. niger* could not be observed. The highest varieties of moulds can be found in cucumber pickle with acetic acid concentration 1,4%. In experiment without onion, on nil (0) day, with acetic acid concentration of 1,4%, the amount of moulds is lower than in the pickle with acetic acid concentration 0,8%. The diversity of moulds in the cucumber pickle with additional of onion is lower than that of without onion. The additional of onion showed decreasing the diversity and growth of moulds in cucumber pickle with acetic acid concentration of 0,8% on nil (0) day. In experiment with acetic acid concentration 2,0% in 10⁻¹ dilution on nil (0) day until 6th day, the moulds could not be observed.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Keywords: diversity, growth of moulds, cucumber pickle

PENDAHULUAN

Kapang adalah mikroba yang tidak dapat memenuhi kebutuhan nutriennya secara autotrof, sehingga hidup secara saprofit atau parasit pada organisme lain. Kapang dapat tumbuh di berbagai substrat, terutama yang mengandung karbohidrat dan dapat hidup pada kondisi asam (Traquair, 2000). Bahan pangan alami yang telah terkontaminasi kapang dapat mengalami penurunan kualitas, baik rasa, gizi, tekstur, dan menghasilkan racun yang menyebabkan bahan pangan tersebut berbahaya untuk dikonsumsi. Untuk mengurangi kontaminasi kapang, dapat dilakukan pengawetan bahan pangan dengan pembuatan acar, khususnya pada sayuran dan buah. Bahan pangan yang diolah menjadi acar umumnya adalah mentimun, dalam hal ini seringkali ditambahkan bawang merah untuk memberikan cita rasa. Namun ternyata, menurut Rukmana (1996), bawang merah mengandung senyawa alisin yang bersifat anti mikroba, sehingga dapat pula mencegah pertumbuhan mikroba yang mengkontaminasi acar.

Kapang yang tumbuh dalam acar akan menyebabkan bahan acar, misalnya mentimun menjadi lembek, berlendir dan warnanya cenderung menjadi gelap (Frazier *et al.*, 1956). Selain itu, kapang dapat menghasilkan mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan manusia (Makfoeld, 1993). Oleh karena acar adalah makanan yang biasa dikonsumsi masyarakat, dan proses pembuatan serta penyimpanannya seringkali masih kurang higienis, maka perlu untuk dilakukan kajian tentang keragaman jenis dan pertumbuhan kapang dalam acar mentimun. Dari penelitian ini, akan diketahui jenis serta jumlah kapang yang tumbuh dalam acar mentimun berdasarkan perlakuan dengan atau tanpa penambahan bawang merah, perbedaan kadar asam cuka, dan lama penyimpanan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keragaman jenis dan pertumbuhan kapang selama penyimpanan acar mentimun (*Cucumis sativus*), pengaruh kadar asam cuka dan pengaruh penambahan bawang merah (*Allium ascalonicum*) terhadap keragaman jenis dan pertumbuhan kapang dalam acar mentimun tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi: acar mentimun varietas Hercules (diproduksi oleh PT Benih Inti Subur Intani, Kediri) dan bawang merah varietas Filipina (Rukmana, 1996), gula pasir, air, garam, dan asam cuka. Medium yang digunakan meliputi *potato sucrose agar* (PSA) dan *czapeks dox agar* (CDA).

Cara kerja

Pembuatan Acar. Pada pembuatan acar mula-mula mentimun 300 g dicuci, dikupas, lalu diiris persegi ukuran 0,5x1x2 cm. Untuk acar yang diberi perlakuan dengan penambahan bawang merah, maka bawang merah 35 g dikupas, dicuci, lalu diiris menjadi empat bagian. Asam cuka 25% sebanyak 3,5 ml, 6 ml atau 8,7 ml (d disesuaikan dengan perlakuan) dilarutkan dalam 100 ml air, sehingga diperoleh konsentrasi asam cuka 0,8%, 1,4%, dan 2,0%. Kemudian larutan asam cuka dicampur dengan mentimun, ditambahkan garam sebanyak 2 g dan gula pasir 4 g, lalu diaduk hingga rata (Rukmana, 1994). Acar mentimun dimasukkan dalam stoples steril dan ditutup rapat kemudian diberi perbedaan perlakuan lama penyimpanan yaitu 0, 2, 4, dan 6 hari.

Isolasi Kapang. Isolasi kapang dilakukan dengan metode *dilution planting*. Langkah yang dilakukan: 450 gram acar diblender, lalu 0,1 ml sampel diambil dan diinokulasikan pada medium PSA. Dilakukan pula pengenceran pada tingkat 10⁻¹ dan seterusnya, yaitu 1 ml sampel dilarutkan dalam 9 ml air, kemudian diambil 0,1 ml dan diinokulasikan pada medium umum *potato sucrose agar* (PSA). Biakan diinkubasi pada suhu 27^oC, selama 7 hari. Untuk mendapatkan isolat murni. Setiap jenis kapang yang tumbuh diisolasi dalam agar miring PSA dan diinkubasi selama 7 hari untuk diamati (Malloch, 1981; Pitt dalam Buckle *et al.*, 1979). Medium yang akan digunakan untuk isolasi diberi kloramfenikol dengan perbandingan 500

mg untuk 1 liter medium (Sutriswati, 1992).

Penghitungan jumlah kapang. Setelah kapang tumbuh, dilakukan penghitungan koloni kapang. Hasil penghitungan dimasukkan dalam rumus yang ditulis Malloch (1981):

$$\text{Jumlah kapang/gram sampel} = \frac{\text{jumlah kapang}}{\text{konsentrasi pengenceran} \times 0,1}$$

Identifikasi Kapang. Untuk identifikasi kapang, pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis meliputi: warna, bentuk, tekstur, dan diameter koloni, pigmen dan warna sebalik koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi: ada atau tidaknya sekat pada hifa, miselia jernih atau gelap, tipe spora seksual dan tipe spora aseksual (Sutriswati, 1992).

Identifikasi kapang secara makroskopis dilakukan langsung secara visual. Untuk identifikasi mikroskopis dilakukan teknik *slide culture* (Atlas *et al.*, 1984). Identifikasi kapang untuk mengetahui spesiesnya, dilakukan dengan menumbuhkan kapang pada medium CDA dan PSA (Gandjar *et al.*, 2000), kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis sesuai buku identifikasi Malloch (1981), Samson *et al* (1995), Gandjar *et al* (2000) dan Collier *et al* (1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman jenis kapang

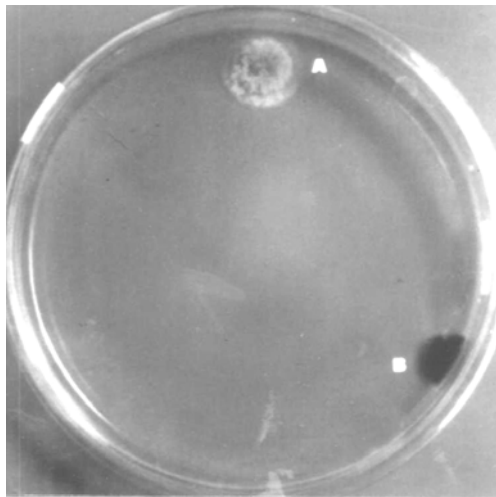
Acar mentimun tanpa penambahan bawang merah. Dua belas jenis kapang dapat diisolasi dari acar mentimun tanpa penambahan bawang merah dalam berbagai kadar asam cuka dan lama penyimpanan (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa kapang-kapang tersebut bersifat asidofilik, yakni dapat tumbuh pada kondisi asam.

Gambar 1 menunjukkan dua dari 11 jenis kapang yang terisolasi dari acar mentimun, yaitu *Aspergillus tamarii* Kita dan *Cochliobolus sp.* Kedua jenis kapang ini memiliki karakter yang berbeda dalam setiap medium, sehingga *A. tamarii* (Gambar 2) diidentifikasi dengan medium *czapeks dox agar* (CDA), sedang *Cochliobolus* (Gambar 3) diidentifikasi dengan medium *potato sucrose agar* (PSA). Koloni *A. tamarii* mempunyai ciri-ciri berwarna kuning kecoklatan dan bersporulasi penuh selama 7 hari. Sedang koloni *Cochliobolus sp* berwarna abu-abu kehitaman berbentuk *flat* dengan tekstur halus seperti wol.

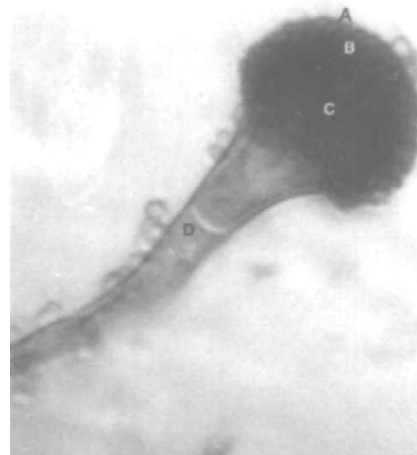
Tabel 1. Keragaman jenis kapang yang tumbuh dalam acar mentimun tanpa penambahan bawang merah dengan perbedaan kadar asam cuka dan lama penyimpanan.

Jenis	Kadar Asam Cuka (%)											
	0,80				1,40				2,0*			
	0	2	4	6	0	2	4	6	0	2	4	6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>A. niger</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>A. ochraceus</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. tamarii</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cochliobolus sp</i>	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Botrytis sp</i>	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Monilia sp</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Penicillium expansum</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. chrysogenum</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>P. citrinum</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Rhizopus oligosporus</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Trichoderma sp.</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

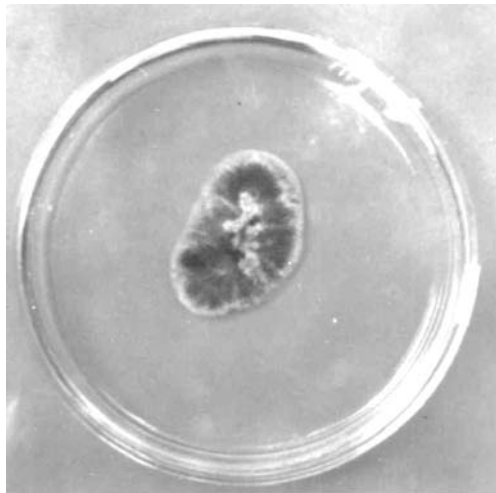
Keterangan: + = ada; - = tidak ada; (0,2,4,6) = lama penyimpanan (dalam hari); * pada pengenceran 10⁻¹.



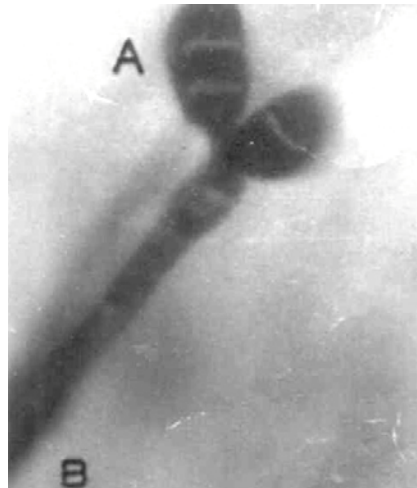
Gambar 1. Beberapa kapang hasil isolasi dari acar mentimun dalam medium PSA. A. *A. tamarii*, B. *Cochliobolus sp.*



Gambar 4. Morfologi *A. tamarii*. A. Konidia bulat, B. Fialid terbentuk langsung pada vesikel, C. Vesikel, D. Konidiofor hialin, bersekat (Perbesaran 400x).



Gambar 2. Koloni *A. tamarii* dalam medium CDA. Berwarna kuning kecoklatan dan bersporulasi penuh dalam waktu 7 hari.



Gambar 5. Morfologi *Cochliobolus sp.* A. Konidia bentuk paruh tumpul dan bersekat, B. Konidiofor kecoklatan dan bersekat (Perbesaran 400x).



Gambar 3. Koloni *Cochliobolus sp.* dalam medium PSA. Berbentuk flat dengan tekstur seperti wol halus.

Salah satu ciri penting untuk identifikasi secara mikroskopis adalah alat reproduksi aseksual. Alat reproduksi aseksual *Cochliobolus sp.* dan *A. tamarii* berupa konidia dan tangkai tempat konidia atau konidiofor (Gambar 4 dan 5). Namun morfologi kedua jenis tersebut berbeda, konidiofor dan konidia pada *Cochliobolus sp.* berwarna kecoklatan dan memiliki sekat. Bentuk konidianya seperti paruh yang tumpul. Sedangkan pada *A. tamarii* konidiofor berwarna hialin, bersekat dan konidianya berbentuk bulat. Ciri lain yang membedakan keduanya adalah ditemukannya vesikel dan fialid pada *A. tamarii*.

Mengacu pada Rahayu (1988) dari seluruh jenis kapang yang ditemukan terdapat enam jenis yang bersifat patogen bagi manusia karena menghasilkan mikotoksin. Jenis kapang tersebut adalah *Trichoderma sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Penicillium citrinum*, dan *P. expansum*. Kapang jenis *A. fumigatus*, *A. niger*, *P. citrinum*, dan *P. expansum* menghasilkan aflatoksin dan sterigma-

Tabel 2. Keragaman jenis kapang yang tumbuh dalam acar mentimun dengan penambahan bawang merah dan perbedaan kadar asam cuka serta lama penyimpanan (hari).

Jenis	Kadar Asam Cuka (%)											
	0,8				1,4				2,0*			
	0	2	4	6	0	2	4	6	0	2	4	6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. ochraceus</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>A. tamarii</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cochliobolus sp</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Botrytis sp</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Monilia sp</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>P. citrinum</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizopus oligosporus</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Trichoderma sp</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan: + = ada, - = tidak ada, (0,2,4,6) = lama penyimpanan (dalam hari); * pada pengenceran 10^{-1} .

tosistin. Aflatoksin dan sterigmatosistin merupakan mikotoksin penyebab hepatokarsinogenik. Aktivitas karsinogenik sterigmatosistin lebih rendah daripada aflatoksin. Sedangkan *A. ochraceus* dapat menghasilkan okratoksin A yang bersifat karsinogenik.

Acar mentimun dengan penambahan bawang merah. Sepuluh jenis kapang dapat diisolasi dari acar mentimun yang diberi tambahan bawang merah (Tabel 2). Terdapat dua jenis kapang yang tidak tumbuh dalam acar mentimun dengan penambahan bawang merah, namun tumbuh pada acar mentimun tanpa penambahan bawang merah, yaitu *A. niger* dan *P. expansum*, sehingga keragaman jenis kapang dalam acar dengan penambahan bawang merah lebih rendah daripada tanpa bawang merah. Menurut Mirelman *et al* (2000), hal ini dimungkinkan karena adanya alisin yang mampu menghambat pertumbuhan kedua jenis kapang tersebut.

Pengaruh perbedaan kadar asam cuka. Jenis kapang yang tumbuh dalam acar mentimun dengan berbagai perlakuan tidak sama. Hal ini menunjukkan setiap jenis kapang mempunyai perbedaan kemampuan untuk tumbuh dalam kondisi yang berbeda. Dalam acar dengan bawang merah atau tanpa bawang merah ditemukan bahwa pada kadar asam cuka 0,8% dan 1,4% kapang masih dapat tumbuh, tetapi pada kadar asam cuka 2,0% dengan pengenceran 10^{-1} tidak ditemukan adanya kapang.

Keragaman jenis kapang pada acar dengan dan tanpa bawang merah, kadar asam cuka 1,4% lebih besar dari pada acar dengan kadar asam cuka 0,8%. Menurut Ray (1996) selama belum efektif untuk menghambat, asam cuka tersebut dapat menjadi sumber makanan bagi kapang. Oleh sebab itu, dengan penambahan kadar asam cuka 1,4%, keragaman jenis kapang meningkat karena tersedianya sumber makanan. Schlegel (1994) mencatat bahwa proses penggunaan asam tersebut dimungkinkan karena ada siklus asam glioksilat (Krebs-Kornberg).

Dalam acar dengan kadar asam cuka 2,0% pada pengenceran 10^{-1} tidak ditemukan adanya kapang. Hal ini disebabkan pada kadar tersebut, asam cuka cukup efektif dalam mencegah pertumbuhan kapang. Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan kapang merupakan kombinasi aksi dari molekul asam yang terdisosiasi dan tidak terdisosiasi.

Menurut Ray (1996), kapang sebagai mikroba asidofilik selalu menjaga pH sitoplasmik internal pada kisaran 6,5-7. Masuknya molekul asam cuka yang terdisosiasi dan tidak terdisosiasi akan menyebabkan turunnya pH internal, sehingga mengganggu aktivitas biologis dalam sel.

Wilbraham dan Matta (1984)

mencatat kondisi pH rendah dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein, yakni terbukanya rantai polipeptida. Akibatnya terjadi penurunan aktivitas biologis, karena protein merupakan komponen penting dalam sel. Selain itu dengan masuknya ion H^+ , maka kadar H^+ dalam sel bertambah, untuk menjaga keseimbangan gradien konsentrasi proton, sel akan memompa ion H^+ ke luar. Pemompaan ion H^+ ke luar sel membutuhkan energi. Oleh sebab itu, semakin banyak ion H^+ yang masuk ke dalam sel, maka semakin banyak energi yang diperlukan. Apabila persediaan energi menipis atau habis, maka tidak mungkin untuk melakukan regenerasi. Tranggono (1990) mencatat ion H^+ akan bereaksi dengan dinding sel, sehingga permeabilitasnya berubah. Hal ini akan mengganggu proses pengangkutan nutrisi ke dalam sel dan pengeluaran zat metabolit ke luar sel. Oleh sebab itu, semakin tinggi kadar asam cuka yang ditambahkan pada acar mentimun, maka pertumbuhan kapang akan semakin terhambat.

Pengaruh lama penyimpanan. Dari Tabel 1 dan 2 ditemukan adanya perbedaan keragaman jenis selama masa simpan, misalnya pada hari ke-0, dalam acar dengan kadar asam cuka 0,8%, tanpa bawang merah, serta kadar 1,4% hari ke-2 dan ke-4 ditemukan adanya *P. citrinum*. Pada Tabel 2 ditunjukkan bahwa *Trichoderma sp* hanya ditemukan pada acar mentimun dengan kadar asam cuka 1,4%, pada penyimpanan hari ke-2. Hal ini disebabkan karena kondisi tersebut merupakan kondisi yang sesuai bagi pertumbuhan masing-masing jenis. Jenis yang ditemukan dalam kondisi tertentu menunjukkan jenis tersebut dapat beradaptasi terhadap kondisi lingkungan pada saat itu. Tidak ditemukannya kapang pada hari penyimpanan selanjutnya disebabkan kapang tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan yang telah berubah. Menurut Schlegel (1994), kapang akan mengekskresi zat hasil metabolisme ke lingkungan, sehingga menyebabkan adanya perbedaan

kondisi lingkungan. Selain itu, tidak ditemukannya kapang juga disebabkan sel-sel kapang telah mengalami kerusakan pada dinding sel dan gangguan pada metabolisme sehingga tidak mampu beregenerasi. Hal ini adalah akibat dari pengaruh molekul asam cuka yang terdisosiasi dan tidak terdisosiasi.

Perubahan ini akan berpengaruh terhadap keragaman jenis kapang yang tumbuh. Mengacu pada Schlegel (1994) dengan adanya khamir maka dapat terjadi proses fermentasi karbohidrat menjadi etanol dan karbondioksida, sedangkan etanol bersifat menghambat mikroba dengan cara menyebabkan denaturasi protein dan merusak dinding sel. Oleh karena perubahan lingkungan tersebut, maka tidak semua jenis kapang tumbuh serentak.

Pertumbuhan kapang dalam acar mentimun

Pertumbuhan kapang dalam acar mentimun ditunjukkan pada Tabel 3. Penambahan bawang merah, perbedaan kadar asam cuka, dan lama penyimpanan memiliki pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan kapang dalam acar. Selain kapang ditemukan juga khamir, namun dalam penelitian ini khamir tidak dimasukkan dalam perhitungan. Tumbuhnya kapang dalam acar membuktikan bahwa, kapang mampu hidup pada kondisi asam. Menurut Madigan *et al* (1997) pertumbuhan mikroba dalam suatu medium ditandai dengan adanya penambahan jumlah mikroba dalam medium selama jangka waktu tertentu.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa, kapang tumbuh dalam acar mentimun dengan kadar asam cuka 0,8% dan 1,4% baik dalam acar dengan bawang merah atau pun tanpa bawang merah, tetapi pada pengenceran 10^{-1} tidak ditemukan adanya kapang dalam acar mentimun dengan kadar asam cuka 2,0%. Selama penyimpanan, pertumbuhan kapang memiliki perbedaan satu sama lain, karena adanya perbedaan kondisi lingkungan. Perbedaan ini disebabkan penambahan bawang merah, perbedaan lama simpan, dan kadar asam cuka yang diberikan.

Tabel 3. Pertumbuhan kapang dalam acar mentimun berdasarkan analisis DMRT dengan taraf 5%.

Lama Simpan (hari)	Tanpa Penambahan Bawang Merah			Penambahan Bawang Merah		
	Kadar Asam Cuka (%)			Kadar Asam Cuka (%)		
	0,8	1,4	2,0*	0,8	1,4	2,0*
0	550 ^a C	200 ^a B	0 ^a A	200 ^a B	200 ^a B	0 ^a A
2	550 ^a B	500 ^b B	0 ^a A	450 ^{bc} B	650 ^b C	0 ^a A
4	650 ^a B	800 ^c B	0 ^a A	700 ^c B	700 ^b B	0 ^a A
6	1900 ^b B	2000 ^d B	0 ^a A	1800 ^d C	1500 ^c B	0 ^a A

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata; huruf kecil ke bawah untuk pengujian terhadap lama simpan; huruf besar ke samping untuk pengujian terhadap kadar asam cuka; * pada pengenceran 10^{-1} .

Penambahan bawang merah. Selama penyimpanan, penambahan bawang merah berpengaruh terhadap jumlah kapang yang tumbuh dalam acar mentimun dengan asam cuka 0,8%, pada hari ke-0. Jumlah kapang yang tumbuh pada kondisi tersebut lebih rendah dibandingkan jumlah kapang dalam acar tanpa bawang merah dengan kadar asam cuka 0,8%, pada hari ke-0. Hal ini dimungkinkan karena kemampuan alisin untuk menghambat pertumbuhan kapang.

Jumlah kapang meningkat pada penyimpanan hari ke-2 dan seterusnya baik di dalam acar dengan bawang merah dan tanpa bawang merah dengan kadar asam cuka 0,8% dan 1,4%. Hal ini disebabkan karena kemampuan alisin sudah kurang efektif. Menurut Yu dan Wu (1989), alisin adalah senyawa yang labil sehingga mudah berubah bentuk menjadi komponen lain dalam waktu 1 hari.

Kadar asam cuka. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada acar tanpa bawang merah dengan asam cuka 0,8%, jumlah kapang lebih besar dan berbeda nyata dengan kadar asam cuka 1,4%, serta acar dengan penambahan bawang merah, dimana kadar asam cuka 0,8% dan 1,4% pada hari ke-0. Jumlah tersebut juga berbeda nyata dengan jumlah kapang pada penyimpanan hari ke-2 dan seterusnya, baik tanpa atau dengan penambahan bawang merah, dimana kadar asam cuka 0,8% dan 1,4%. Pertumbuhan kapang dalam acar dengan kadar asam cuka 0,8% dan 1,4% selama penyimpanan selalu meningkat. Hal ini disebabkan pada kadar tersebut asam cuka belum efektif menghambat pertumbuhan kapang. Namun dalam acar dengan kadar asam cuka 2,0% pada pengenceran 10^{-1} sejak hari ke-0 hingga ke-6, tidak ditemukan pertumbuhan kapang. Kondisi itu menunjukkan bahwa kadar asam cuka tersebut mampu menghambat pertumbuhan kapang, karena asam cuka dapat mengganggu metabolisme sel kapang.

Lama penyimpanan. Pada Tabel 3 berdasarkan analisis DMRT 5% untuk pengujian terhadap lama penyimpanan, dalam acar mentimun dengan kadar asam cuka 0,8% dan 1,4%, baik tanpa atau dengan penambahan bawang merah, jumlah kapang yang tumbuh selama penyimpanan menunjukkan beda nyata dan semakin lama penyimpanan jumlah kapang yang tumbuh semakin meningkat. Kondisi ini disebabkan, kapang telah dapat beradaptasi dengan lingkungan dan bereproduksi dengan cepat. Keadaan ini didukung ketersediaan nutrisi di lingkungannya. Untuk memenuhi kebutuhan nutriennya, kapang melakukan biodegradasi bahan organik. Proses ini dilakukan untuk mendapatkan bahan organik yang lebih sederhana, sehingga dapat diserap oleh sel-sel kapang. Misalnya pemecahan selulosa menjadi selobiosa, serta sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Raper dan Fennel, 1977; Fardiaz, 1992). Namun pada kadar asam cuka 2% pada pengenceran 10^{-1} tidak ditemukan pertumbuhan kapang. Hal ini menunjukkan bahwa, kadar asam cuka 2% telah efektif dalam mencegah pertumbuhan kapang selama penyimpanan.

KESIMPULAN

Jenis-jenis kapang yang tumbuh dalam acar mentimun tanpa bawang merah dengan kadar asam cuka 0,8% dan 1,4% selama 0, 2, 4, 6 hari penyimpanan adalah: *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. tamarii*, *A. niger*, *Cochliobolus sp*, *Botrytis sp*, *Monilia sp*, *Trichoderma sp*, *P. expansum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, dan *Rhizopus oligosporus*. Dalam acar mentimun dengan penambahan bawang merah tidak ditemukan *A. niger* dan *P. expansum*, sedangkan kesepuluh jenis lainnya sama dengan jenis kapang dalam acar tanpa penambahan bawang merah. Pada kadar asam cuka 1,4% keragaman jenis kapang lebih tinggi dibandingkan 0,8%, sedangkan pada kadar asam cuka 2,0% dengan pengenceran 10^{-1} tidak ditemukan adanya kapang.

Jumlah kapang dalam acar mentimun dengan kadar asam cuka 1,4% tanpa penambahan bawang merah pada hari ke-0 lebih rendah daripada jumlah kapang dalam acar dengan kadar asam cuka 0,8%. Sedangkan pada acar tanpa dan dengan penambahan bawang merah pada kadar asam cuka 2,0% dengan pengenceran 10^{-1} tidak ditemukan adanya kapang yang tumbuh selama penyimpanan.

Keragaman jenis kapang dalam acar dengan penambahan bawang merah lebih rendah daripada dalam acar tanpa penambahan bawang merah. Bawang merah menghambat pertumbuhan kapang pada acar dengan kadar asam cuka 0,8% hari ke-0.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M., A.E. Brown, K.W. Dobra and L. Miller. 1984. *Experimentals Microbiology: Fundamentals and Applications*. London: Collier Macmillan Publishers.
- Buckle, K.A., G.R. Davey, M.J. Eyles, G.H. Fleet, and W.G. Murrell (ed.). 1979. *Foodborne Microorganisms of Public Health Significance*. Sidney: Jolyon Industries Pty Ltd.
- Collier, L., A. Balows and M. Sussman. 1998. *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 9th editions. Vol. 4. <http://www.doctorfungus.org.htm>
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Frazier, W.C., W.B. Sarles, J.B. Wilson and S.G. Knight. 1956. *Microbiology General and Applied*. New York: Harper and Brothers.
- Gandjar, I., A. Oetari, R. A. Samson, I. Santoso dan K. van den Tweel-Vermeulen. 2000. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor.
- Madigan, M.T., J.M. Martinho and J. Parker. 1997. *Biology of Microorganism*. New Jersey: Prentice Hall.
- Makfoeld, D. 1993. *Mikotoksin Pangan*. Yogyakarta: Kanisius
- Malloch, D. 1981. *Moulds: Their Isolation, Cultivation, Identification*. Canada: University of Toronto Press.
- Mirelman, D., T. Miron, A. Rabinkov, M. Wilchek and L. Weiner. 2000. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes many contribute to its biological activity. *Biochemistry and Biophysics Acta*. 1463 (1): 20-30.
- Rahayu, K. 1988. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: PAU Universitas Gadjah Mada.
- Raper, K.B. and D.I. Fennel. 1997. *The Genus Aspergillus*. New York: Robert E. Krieger Publishing Company.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. New York: CRC Press, Inc.
- Rukmana, R. 1994. *Budidaya Mentimun*. Yogyakarta: Kanisius.
- Rukmana, R. 1996. *Budidaya Bawang Merah*. Yogyakarta: Kanisius.
- Samson, A. R., E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad and O .Filtenborg. 1995. *Introduction of Food Borne Fungi*. Wageningen: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Schlegel. H.G. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sutriswati, E. 1992. Isolasi dan identifikasi jamur. *Hand Out Kursus Singkat Uji Mikrobiologis Pangan Mutakhir*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.
- Tranggono. 1990. *Bahan Tambahan Pangan (Food Additives)*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas, Universitas Gadjah Mada.
- Traquair, J. 2000. *Fungi and Mycorrhizae*. London. <http://res2.agr.ca/london/pmrc/english/frag/menu.html>
- Wilbraham, A.C. dan M.S. Matta. 1992. *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*. Penerjemah: S. Achmadi. Bandung: Penerbit ITB.
- Yu, T.H. and C.M. Wu. 1989. Stability of allicin. *Journal of Food Science* 54 (4): 997-981.

missing file

Analisis Vegetasi Spermatophyta di Taman Hutan Raya (Tahura) Seulawah Aceh Besar

Vegetation analysis of spermatophyte in Taman Hutan Raya (Tahura) Seulawah, Aceh Besar

D J U F R I

Jurusan PMIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh
Program Doktor Pascasarjana IPB Bogor

Diterima: 18 Mei 2002. Disetujui: 31 Juli 2002

ABSTRACT

The objectives of this study were to inventory of plant species, determine rank taxonomy of species, and to give information quantitative value of taxa for vegetation analysis. About 5 hectare of the Tahura region is belong to Inhutani IV Company, was chosen as research population of this study. Two and half of hectare (2,5 ha) of this region used as a observed area. The data was collected by transec and quadratic method. The observed area it was took 10 transec with 250 m of long for observed stations. Each observed station was put six quadratic sampels systematically. Each quadratic sampels has a 2,5 m² of width. The parameter search is the total species. The result of this study indicated that there were 66 species of the plant including 29 family. Diversity index was between 2.3896-3.4696, an evenness index was between 1.7331 unto 211.5479. Based on this data, it can be conducted that every family of the plant has a few species. The important value is relatively low on all stations observed. So that there is no evident showing, any dominant species of the plant in observed area. Diversity index was categorized medium (> 2 - 4). Diversity index can be used as indicator were the vegetation succession. Evenness index of each station was relatively low, because sum of species were varied. Similarity index was below 50%. The differences might be the results of several factors including variety of physical environment, chemical content of soil, and interaction inter species in observed area.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: vegetation, diversity index, Tahura Seulawah.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hutan yang sangat luas, kurang lebih 143 juta hektar berupa kawasan hutan (Soebagya, 1986). Kerusakan hutan akibat penebangan yang dilakukan secara besar-besaran mengakibatkan menurunnya hutan produksi dan merosotnya kondisi kelestarian sumber daya hutan. Oleh karenanya pada Pelita IV, pemerintah telah memusatkan perhatian pada usaha membangun Hutan Taman Industri (HTI) dalam skala besar. Jenis-jenis tanaman yang dapat dikembangkan dalam pembangunan Hutan Taman Industri antara lain: *Shorea stenoptera*, *Swietenia macrophylla*, *Albizia falcataria*, *Pinus merkusii*, *Eucalyptus deglupta*, *Shorea leprosula*, *Agathis borneoensis*, *Dipterocarpus spp.*, *Shorea pinanga*, dan *Peronema canescens*. Jenis-jenis tersebut di atas kemungkinan ditemukan di kawasan Taman Hutan Raya Seulawah. Oleh karenanya perlu dilakukan penelitian guna menginventarisasi seluruh vegetasi yang ada.

Sejalan dengan program pemerintah untuk menggalakkan kegiatan reboisasi di semua tempat di

tanah air, maka sudah selayaknya diikuti kegiatan inventarisasi jenis tumbuhan pada wilayah yang sempit maupun mencakup wilayah yang luas. Kegiatan inventarisasi keragaman flora di Indonesia sudah dimulai sejak tahun 1970-dan namun sampai kini belum selesai dilaksanakan. Untuk merealisasikan dan memperlancar inventarisasi flora maka perlu penelitian bersifat lokal. Sehingga selain diketahui keragaman flora, diharapkan juga diketahui tingkat keterancaman, kekayaan jenis, dan kegunaan jenis tumbuhan pada suatu daerah.

Salah satu wilayah yang dapat digunakan untuk kegiatan inventarisasi adalah Taman Hutan Raya (Tahura) Seulawah yang luasnya sekitar 7.500 ha. Kawasan ini dapat dimanfaatkan sebagai laboratorium alam bagi mahasiswa yang mempelajari biologi di lapangan dan digunakan sebagai pusat penelitian biologi. Namun sampai saat ini belum pernah ditata lanskapnya, karena belum difungsikan sebagaimana mestinya. Sasaran lain dari penelitian ini adalah melakukan analisis vegetasi kawasan tersebut yang mencakup perhitungan indeks keragaman jenis dan analisis kelompok (*cluster analysis*).

BAHAN DAN METODE

Teknik pengambilan sampel

Sebelum dilakukan pengambilan sampel, terlebih dahulu dilakukan observasi dan pemantauan segmentasi. Karena penelitian ini tidak mencakup seluruh kawasan cagar alam yang luasnya 7.500 ha, maka dipilih area yang memiliki karakter vegetasi heterogen, yaitu di tegakan hutan pinus (*Pinus merkusii*), tepatnya pada lokasi PT Inhutani IV yang luasnya sekitar 5 ha. Selanjutnya ditetapkan 50% kawasan itu sebagai obyek pengamatan.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode transek yang dikombinasi dengan metode kuadrat. Dari 2,5 ha luas area pengamatan ditarik 10 transek sepanjang 250 meter. Garis transek ini selanjutnya ditetapkan sebagai stasiun pengamatan. Setiap stasiun pengamatan diletakkan kuadrat sampel sebanyak 6 buah seluas 2,5 m x 2,5 m.

Pengolahan data

Nilai Penting. Untuk mengetahui jenis tumbuhan yang memiliki nilai penting rendah sampai tinggi, maka seluruh stasiun digabung menjadi satu tabel, sehingga dapat diperlihatkan jenis-jenis yang mendominasi kawasan yang diteliti. Adapun rumusnya sebagai berikut (Cox, 1976):

$$\text{Nilai Penting} = DR + FR + DMR$$

DR = dominansi relatif; FR = frekuensi relatif; DMR = densitas relatif.

Indeks Keragaman Jenis. Diketahui dengan menggunakan indeks keragaman Shannon-Weaver sebagai berikut (Barbour *et al.*, 1987):

$$\hat{H} = \sum p_i \ln p_i ; p_i = n_i/N$$

\hat{H} = indeks keragaman jenis; n_i = nilai penting setiap jenis; N = total nilai penting seluruh jenis.

Indeks pemerataan (e). Diketahui dengan cara sebagai berikut (Barbour *et al.*, 1987):

$$e = \frac{\hat{H}}{\log S}$$

\hat{H} = indeks Shannon-Weaver; S = jumlah jenis

Indeks Similaritas (IS) dan Indeks Disimilaritas (ID). Diketahui dengan menggunakan Indeks Similaritas-Jaccards sebagai berikut:

$$IS = \frac{a}{a + b + c} \times 100\%$$

a = jumlah jenis yang hanya terdapat pada stasiun I;
b = jumlah jenis yang hanya terdapat pada stasiun II;
c = jumlah jenis yang hanya terdapat pada stasiun I dan II.

Analisis kelompok/cluster

Dimulai dengan menghitung harga IS dan ID, kemudian disusun dalam bentuk matriks IS dan ID. Selanjutnya dibuat pengelompokan, setiap kelompok dipandang sebagai satu kelompok, dan dilakukan penggabungan dua kelompok yang mirip (nilai IS tertinggi dan nilai ID terendah). Penggabungan ini dilakukan sampai seluruh pasangan stasiun terbentuk kelompok-kelompok tertentu, kemudian digambar dalam bentuk dendrogram pohon (filogram), sehingga diperoleh kemiripan antar-stasiun yang diperbandingkan. Kelompok yang terbentuk akan menggambarkan urutan kemiripan dari ID terendah ke ID tertinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi suku dan jenis tumbuhan

Jumlah jenis tumbuhan di wilayah penelitian yang diamati pada area yang disampel sebanyak 66 jenis, mencakup 29 suku (Tabel 1.).

Tabel 1 menunjukkan bahwa semua suku tidak ada yang memiliki persentase kekayaan jenis menyolok, karena setiap suku hanya diwakili jumlah jenis yang sedikit. Suku yang diwakili 4-6 jenis adalah Fabaceae, Poaceae, Moraceae, Zingiberaceae, dan Asteraceae. Kelompok ini relatif memiliki daya toleransi lebih baik daripada yang lain untuk hidup

Tabel 1. Komposisi suku dan jenis tumbuhan di Tahura Seulawah, Aceh Besar.

No.	Suku	Jumlah Jenis	Persentase
1.	Asteraceae	6	9,09
2.	Zingiberaceae	5	7,58
3.	Fabaceae	4	6,06
4.	Moraceae	4	6,06
5.	Poaceae	4	6,06
6.	Euphorbiaceae	3	4,55
7.	Lauraceae	3	4,55
8.	Malvaceae	3	4,55
9.	Mimosaceae	3	4,55
10.	Apocynaceae	2	3,02
11.	Araceae	2	3,02
12.	Commelinaceae	2	3,02
13.	Lamiaceae	2	3,02
14.	Melastomataceae	2	3,02
15.	Oxalidaceae	2	3,02
16.	Piperaceae	2	3,02
17.	Rubiaceae	2	3,02
18.	Solanaceae	2	3,02
19.	Vitaceae	2	3,02
20.	Apiaceae	1	1,52
21.	Convolvulaceae	1	1,52
22.	Cyperaceae	1	1,52
23.	Ericaceae	1	1,52
24.	Lythraceae	1	1,52
25.	Maranthaceae	1	1,52
26.	Pandanaceae	1	1,52
27.	Rosaceae	1	1,52
28.	Vacciniaceae	1	1,52
29.	Verbenaceae	1	1,52
	Jumlah	66	100,00

berasosiasi dengan tegakan hutan pinus dengan seperangkat kondisi lingkungan mikro di sekitarnya. Keberadaan suku tumbuhan yang hidup pada suatu wilayah berkorelasi positif dengan kondisi lingkungannya. Djufri (1993) mengemukakan bahwa tumbuhan dapat digunakan sebagai indikator suatu lingkungan dan alat ilmiah untuk menganalisis lingkungan.

Pengamatan komposisi penyusun suatu komunitas baik tentang kehadiran, kesuburan, maupun kelimpahan, dikaitkan dengan proses masa lalu, sekarang, dan masa yang akan datang, dapat digunakan sebagai alat prediksi tentang sistem suatu komunitas. Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dijelaskan bahwa sebagian besar jenis untuk setiap suku yang diamati memiliki daya toleransi dan adaptasi rendah terhadap sistem ekologi pada habitat tegakan hutan pinus.

Gejala menarik dari komposisi suku yang teramati adalah kelompok Fabaceae dan Poaceae. Kedua suku ini meski tergolong tumbuhan yang biasa hidup di daerah terdedah, namun ternyata dapat hidup dan bertahan dengan baik pada daerah dengan intensitas sinar matahari relatif sedikit akibat pengaruh naungan kanopi pinus. Sedangkan kelompok suku yang lain merupakan jenis penyusun yang umumnya dijumpai sebagai vegetasi bawah pada hampir semua karakter hutan, baik monokultur maupun campuran (mosaik).

Nilai penting dan suku tumbuhan

Jumlah jenis tumbuhan yang teramati sebanyak 66, tergolong dalam 29 suku. Nilai penting setiap jenis pada seluruh stasiun relatif kecil (Tabel 2.). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa keadaan vegetasi di wilayah penelitian relatif homogen, namun terdapat lima jenis, yaitu *Oplismenus burmanii* (61,26%), *Stachytarpheta indica* (28,94%), *Macaranga tanarius* (26,90%), *Zingiber americans* (25,46%), dan *Zingiber aromaticum* (25,09%) yang memiliki nilai penting relatif lebih tinggi dari pada yang lain.

Kelima jenis tersebut secara ekologi tumbuhan dikenal sebagai jenis eksklusif (istimewa) dalam hal nilai kuantitatif baik frekuensi, densitas, maupun dominansinya. Di samping itu dapat digunakan sebagai jenis indikator pada komunitas tegakan hutan pinus pada basis yang setara, baik topografi maupun kondisi habitat dan lingkungan mikronya. Sedangkan jenis yang lain memiliki nilai penting rendah (lebih kecil dari 20%). Gejala demikian umumnya dijumpai pada tipe vegetasi yang mengarah kepada kondisi klimak dan stabil (Djufri, 1995). Hal tersebut relevan dengan kesimpulan Mueller-Dombois dan Ellenberg (1974) bahwa komposisi vegetasi hutan alami yang terbentuk dalam jangka waktu lama akan memperlihatkan fisiognomi, fenologi, daya regenerasi yang relatif lambat dan mantap, sehingga dinamika floristik komunitas hutan tidak terlalu nyata dan mencolok. Pergantian dan regenerasi jenis seolah-olah tidak tampak. Konsekuensinya jarang dijumpai jenis-jenis tertentu yang mendominasi komunitas. Berdasarkan Tabel 2 dapat dikemukakan bahwa tipe vegetasi yang diteliti menuju suksesi akhir apabila ditinjau dari

Tabel 2. Nilai Penting jenis dan suku tumbuhan di Tahura Seulawah, Aceh Besar.

No	Nama Jenis	Nilai Penting	Suku
1.	<i>Oplismenus burmanii</i>	61.26	Poaceae
2.	<i>Stachytarpheta indica</i>	28.94	Lamiaceae
3.	<i>Macaranga tanarius</i>	26.90	Euphorbiaceae
4.	<i>Zingiber americans</i>	25.46	Zingiberaceae
5.	<i>Zingiber aromaticum</i>	25.09	Zingiberaceae
6.	<i>Setaria palmifolia</i>	19.24	Poaceae
7.	<i>Piper aduncum</i>	17.97	Piperaceae
8.	<i>Rubus moluccanus</i>	16.88	Rosaceae
9.	<i>Lantana camara</i>	16.40	Verbenaceae
10.	<i>Eupatorium odoratum</i>	14.31	Asteraceae
11.	<i>Imperata cylindrica</i>	13.50	Poaceae
12.	<i>Piper betle</i>	12.16	Piperaceae
13.	<i>Solanum torvum</i>	10.79	Solanaceae
14.	<i>Vitex pubescens</i>	10.79	Vitaceae
15.	<i>Axonophus compressus</i>	10.29	Poaceae
16.	<i>Alpinia galanga</i>	10.10	Zingiberaceae
17.	<i>Urena lobata</i>	9.23	Malvaceae
18.	<i>Hyptis capitata</i>	8.71	Lamiaceae
19.	<i>Oxalis corniculata</i>	8.62	Oxalidaceae
20.	<i>Centella asiatica</i>	8.60	Apiaceae
21.	<i>Moghania macrophylla</i>	8.36	Fabaceae
22.	<i>Richardia brasiliensis</i>	8.25	Asteraceae
23.	<i>Oxalis citrifolia</i>	7.92	Oxalidaceae
24.	<i>Ipomoea reptans</i>	7.71	Convolvulaceae
25.	<i>Vaccinium laurifolium</i>	7.41	Vacciniaceae
26.	<i>Ficus aurantiaca</i>	7.13	Moraceae
27.	<i>Commelina benghalensis</i>	6.78	Commelinaceae
28.	<i>Synedrella nodiflora</i>	6.58	Asteraceae
29.	<i>Mimosa pudica</i>	6.48	Mimosaceae
30.	<i>Colocasia esculenta</i>	6.27	Araceae
31.	<i>Ficus globosa</i>	6.03	Moraceae
32.	<i>Ficus ampelas</i>	5.92	Moraceae
33.	<i>Crassoscephalum crepidioides</i>	5,85	Asteraceae
34.	<i>Melastoma malabthricum</i>	5,77	Melastomataceae
35.	<i>Mimosa invisa</i>	5,74	Mimosaceae
36.	<i>Commelina nudiflora</i>	5,51	Commelinaceae
37.	<i>Actinodaphne procera</i>	5,46	Moraceae
38.	<i>Costus speciosus</i>	5,05	Zingiberaceae
39.	<i>Sida acuta</i>	5,04	Malvaceae
40.	<i>Pandanus tectorius</i>	4,90	Pandanaceae
41.	<i>Erygeron sumatrensis</i>	4,84	Asteraceae
42.	<i>Galinsoga parviflora</i>	4,83	Asteraceae
43.	<i>Dieffenbachia picta</i>	4,28	Araceae
44.	<i>Hedychium coronarium</i>	4,42	Zingiberaceae
45.	<i>Maranta arundinacea</i>	4,17	Marantaceae
46.	<i>Alstonia scholaris</i>	4,07	Apocynaceae
47.	<i>Lagerstroemia ovalifolia</i>	4,00	Lythraceae
48.	<i>Vitex trifolia</i>	3,86	Vitaceae
49.	<i>Phyllanthus niruri</i>	3,65	Euphorbiaceae
50.	<i>Borreria laevis</i>	3,53	Rubiaceae
51.	<i>Cyperus kyllinga</i>	3,20	Cyperaceae
52.	<i>Clitoria ternatea</i>	3,05	Fabaceae
53.	<i>Phyllanthus urinaria</i>	2,99	Euphorbiaceae
54.	<i>Ageratum conyzoides</i>	2,82	Asteraceae
55.	<i>Capsicum annum</i>	2,81	Solanaceae
56.	<i>Castanopsis argentea</i>	2,74	Fagaceae
57.	<i>Laurus nobilis</i>	2,67	Lauraceae
58.	<i>Amorphophallus variabilis</i>	2,66	Araceae
59.	<i>Sterculia foetida</i>	2,53	Sterculiaceae
60.	<i>Cinnamomum camphora</i>	2,53	Lauraceae
61.	<i>Gaultheria punctata</i>	2,51	Ericaceae
62.	<i>Sida rhombifolia</i>	2,24	Malvaceae
63.	<i>Tephrosia candida</i>	2,18	Fabaceae
64.	<i>Pithecelobium dulce</i>	2,49	Mimosaceae
65.	<i>Clidemia hirta</i>	1,96	Melastomataceae
66.	<i>Erythrina variegata</i>	1,86	Fabaceae

historis pemunculan dan dinamika floristiknya.

Hal menarik lainnya dari vegetasi yang diamati bahwa hutan pinus yang diteliti tergolong hutan yang tidak terlalu lebat kanopinya, karena pohon pinus memiliki karakter kanopi jarang dan berdaun jarum, sehingga memungkinkan cahaya menembus ke lantai hutan. Akibatnya beberapa jenis herba seperti *Oxalis corniculata*, *Galinsoga parviflora*, *Crassocephalum crepidioides*, *Hyptis capitata*, *Commelina benghalensis*, dan *Axonopus compressus* tumbuh dengan baik.

Indeks keragaman dan indeks pemerataan jenis

Indeks keragaman jenis pada seluruh stasiun pengamatan relatif sama, berkisar 2,3896-3,3352 (Tabel 3.). Mengacu pada Barbour *et al.* (1987), nilai indeks keragaman berkisar dari 0-7. Dengan kriteria: 0-2 (rendah), > 2-4 (sedang), dan > 4-7 (tinggi). Dengan demikian indeks keragaman jenis yang dihasilkan di wilayah penelitian tergolong sedang.

Tabel 3. Indeks keragaman jenis dan indeks pemerataan jenis tumbuhan pada setiap stasiun pengamatan di Tahura Seulawah, Aceh Besar.

Stasiun	Indeks Keragaman Jenis	Indeks Pemerataan Jenis
1.	2,3964	1,8419
2.	2,4228	1,7331
3.	2,8216	1,9713
4.	3,1921	2,2058
5.	3,3352	2,2363
6.	2,3896	1,8073
7.	2,8834	2,1175
8.	3,4696	2,5479
9.	2,8012	1,9570
10.	2,7056	1,9354

Berdasarkan harga indeks di atas dapat diketahui bahwa jumlah jenis yang banyak tidak selamanya menghasilkan indeks keragaman yang tinggi. Sebagai contoh pada stasiun 8 dengan jumlah jenis 23 menghasilkan indeks keragaman jenis 3,4696, sedangkan pada stasiun 2 dengan jumlah jenis 25 menghasilkan indeks keragaman jenis 2,4228. Menurut Djufri (1995), indeks keragaman jenis lebih ditentukan oleh variasi nilai penting yang ditunjukkan oleh setiap jenis pada setiap satuan pencuplikan. Selanjutnya Barbour *et al.* (1987) menyatakan bahwa indeks keragaman jenis (H') dapat dianggap sebagai informasi tentang komunitas. Semakin bervariasi komposisi variabel, semakin sulit untuk memperkirakan satuan setiap sampel. Harga H' berkisar 0-7.

Berikutnya untuk mempertahankan keragaman yang tinggi, komunitas memerlukan gangguan secara teratur dan acak. Komunitas yang sangat stabil, meluas secara regional, dan homogen, memperlihatkan keragaman jenis lebih rendah daripada yang terdiri dari hutan bentuk mosaik atau secara regional diganggu pada waktu tertentu baik oleh api, angin, banjir, penyakit, dan intervensi manusia. Biasanya setelah gangguan berlalu, maka akan terjadi peningkatan keragaman jenis sampai pada suatu titik

dominasi sedikit jenis yang hidup lama dan berukuran besar, sehingga membalikkan kecenderungan menjadi keragaman menurun.

Data pada Tabel 3 sangat relevan dengan hasil perhitungan indeks keragaman jenis, karena tidak ditemukan jenis-jenis yang memiliki nilai penting yang dapat dikategorikan tinggi (mendominasi). Selain itu, hutan pinus yang diteliti di bawah pengawasan PT Inhutani IV telah dikelola secara baik dan dilakukan pembersihan vegetasi bawah secara berkala dengan teratur. Hal itu akan terus menghadirkan jenis lain yang sebelumnya tidak ada. Dengan demikian, jika dilakukan pengamatan secara berkala, kemungkinan akan menghasilkan nilai indeks keragaman jenis yang terus bervariasi sejalan dengan intensitas kerusakan yang dilakukan. Biasanya, komunitas yang demikian akan sulit mencapai fase perkembangan ke arah komunitas klimak dan stabil.

Hasil perhitungan indeks pemerataan jenis menunjukkan bahwa nilainya relatif homogen, berkisar dari 1,7331-2,2363 (Tabel 3.). Perbedaan pada setiap stasiun pengamatan selalu kecil. Berdasarkan data Tabel 3 dapat dikatakan bahwa antara indeks keragaman dan indeks pemerataan merupakan dua hal yang sangat berbeda. Demikian juga halnya antara kekayaan jenis dan keragaman jenis. Menurut Barbour *et al.* (1987) adakalanya kekayaan berkorelasi positif dengan keragaman, tetapi kondisi lingkungan di sepanjang areal kajian sangat heterogen, sehingga dapat menurunkan kekayaan jenis disertai dengan peningkatan keragaman. Hal itu disebabkan setiap stasiun pengamatan mempunyai jumlah individu sangat bervariasi. Pemerataan akan menjadi maksimum dan homogen, jika semua jenis mempunyai jumlah individu yang sama pada setiap satuan sampel. Menurut Djufri (1995) gejala demikian sangat jarang terjadi secara alami, karena setiap jenis mempunyai daya adaptasi dan toleransi serta pola sejarah hidup yang berbeda terhadap kondisi habitatnya. Demikian juga dengan stadium perkembangan mulai dari berkecambah sampai mati. Selain itu kondisi lingkungan di alam sangat kompleks dan bervariasi. Pada lingkungan tingkat makro, mungkin bersifat homogen, tetapi pada lingkungan tingkat mikro dapat terdiri dari mikrositus-mikrositus yang sangat heterogen. Mikrositus yang relatif sama akan ditempati oleh individu yang sama. Keadaan ini berpengaruh terhadap pola penyebaran jenis tumbuhan di alam secara alami.

Indeks similaritas (IS) dan indeks disimilaritas (ID)

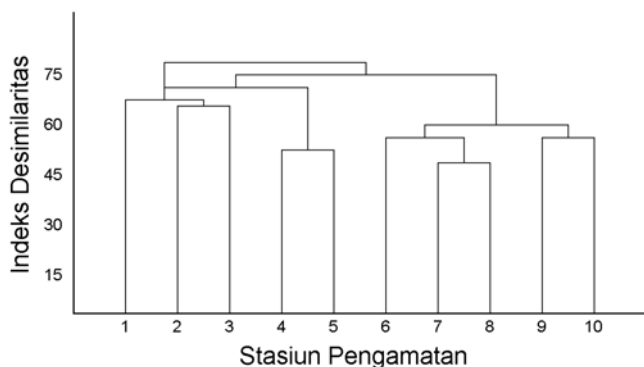
Analisis kelompok adalah pemisahan sekelompok obyek menjadi beberapa kelompok, sehingga obyek berada pada suatu kelompok yang mempunyai perbedaan kecil dan mempunyai perbedaan besar dengan obyek dari kelompok lain. Dalam ekologi tumbuhan, teknik ini dapat dipakai untuk mengelompokkan berbagai vegetasi berdasarkan analisis nilai kuantitatifnya. Hasil perhitungan IS dan ID disajikan pada Tabel 4 dan hasil analisis kelompok disajikan pada Gambar 1.

Tabel 4. Hasil perhitungan indeks similaritas dan indeks disimilaritas (%).

Sta- siun	Indeks Similaritas (IS)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.		35,29	76,11	31,58	22,50	30,00	24,24	27,27	30,56	2453
2.	64,71		39,53	44,44	28,57	32,35	27,03	30,56	28,21	24,21
3.	63,89	60,47		27,78	39,02	39,39	39,28	31,58	32,50	36,84
4.	68,42	55,56	72,22		48,72	40,00	34,21	27,50	40,54	38,46
5.	77,50	71,43	60,98	51,28		29,55	35,00	36,84	33,33	34,38
6.	70,00	67,65	61,61	60,00	70,45		38,71	48,28	41,18	42,42
7.	75,76	72,97	60,72	65,79	65,00	61,29		53,33	42,88	36,11
8.	72,73	69,44	68,42	72,50	63,16	51,72	46,67		34,29	46,88
9.	69,44	71,79	67,50	59,46	66,67	58,82	57,12	65,71		42,11
10.	75,47	65,79	63,16	61,54	65,12	57,58	63,89	53,12	57,89	

Indeks Disimilaritas (ID)

Meskipun tingkat kemiripan antar-stasiun yang diperbandingkan rendah, namun dapat ditunjukkan tingkat kemiripannya masing-masing (Gambar 1). Hal ini sangat relevan dengan hasil perhitungan indeks keragaman jenis (\hat{H}) yang tergolong kategori sedang ($> 2-4$). Indeks keragaman yang tinggi akan menghasilkan indeks kemiripan yang rendah (Djufri, 1996).

**Gambar 1.** Dendrogram urutan indeks disimilaritas vegetasi antar-stasiun pengamatan di Tahura Seulawah, Aceh Besar.

Analisis kelompok (*cluster analysis*) pada 10 stasiun pengamatan menunjukkan tingkat kemiripan vegetasi khususnya jumlah jenis antar-stasiun relatif rendah. Karena harga indeks similaritasnya di bawah 50%. Semakin kecil harga indeks similaritas untuk setiap kombinasi stasiun pengamatan yang diperbandingkan, maka semakin rendah tingkat kemiripannya. Hal ini disebabkan adanya variasi kondisi lingkungan fisik, kimia, maupun interaksi antar-jenis di sepanjang areal kajian, yang memungkinkan frekuensi dan densitas setiap jenis juga bervariasi. Konsekuensinya, tingkat kemiripan vegetasi yang diamati menjadi rendah. Hal itu akan menjadi lain apabila kondisi lingkungan (habitat) relatif homogen. Barbour *et al.* (1987) mengemukakan bahwa kondisi mikrositus yang relatif homogen akan semakin padat ditempati oleh individu dari jenis yang sama, karena jenis tersebut secara alami telah mengembangkan mekanisme adaptasi dan toleransi terhadap habitat tempat jenis tersebut hidup.

Lebih lanjut Loveless (1983) menyatakan bahwa faktor lain yang menentukan kehadiran suatu tumbuhan atau komunitas tumbuhan tidak hanya mencakup kondisi fisik dan kimia, tetapi juga hewan dan manusia yang mempunyai pengaruh luas terhadap tumbuhan. Oleh karena itu, keduanya harus dipandang sebagai suatu faktor dalam lingkungan tumbuhan.

KESIMPULAN

Dari hasil analisis data penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut: (i) Persentase kekayaan jenis untuk setiap suku tumbuhan tidak ada yang memiliki nilai mencolok, karena setiap suku diwakili oleh jumlah jenis yang sedikit. (ii) Nilai penting setiap jenis pada seluruh stasiun pengamatan relatif kecil. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa keadaan vegetasi di wilayah penelitian relatif homogen. (iii) Indeks keragaman jenis pada seluruh stasiun pengamatan relatif sama, berkisar antara 3,5352-3,3896. Dengan demikian indeks keragaman jenis yang dihasilkan di wilayah penelitian tergolong sedang. (iv) Tingkat kemiripan antar-stasiun yang diperbandingkan adalah rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ketua Lembaga Penelitian UNSYIAH Banda Aceh yang telah membiayai penelitian ini melalui dana rutin tahun 1997.

DAFTAR PUSTAKA

- Cox, G.W. 1985. *Laboratory Manual of General Ecology*. Dubuque: William C. Brown.
- Barbour, M.G., J.H. Burk, and W.D. Pitts. *Terrestrial Plant ecology*. Menlo Park: the Benjamin Cummings Publishing Co. Inc.
- Djufri 1993. *Penentuan Pola Distribusi, Asosiasi, dan Interaksi Jenis Tumbuhan Khususnya Padang Rumput di Taman Nasional Baluran Banyuwangi-Jawa Timur*. [Tesis]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Djufri 1995. *Inventarisasi Flora Sepanjang Proyek Krueng Aceh untuk Menunjang Perkuliahan Ekologi dan Taksonomi Tumbuhan*. Banda Aceh: Puslit Unsyiah Darussalam.
- Djufri 1996. *Inventarisasi dan Analisis Vegetasi di Pulo Aceh, Kabupaten Aceh Besar*. Banda Aceh: Pusat Penelitian Unsyiah Darussalam.
- Loveless, A.R. 1983. *Prinsip-prinsip Biologi Tumbuhan untuk Daerah Tropik 2*. Jakarta: Gramedia.
- Mueller-Dumbis, D. and H.H. Ellenberg 1974. *Aims and Methods of Vegetation Ecology*. New York: John Wiley & Sons Co.
- Soebagya, H. 1986. *Pokok-pokok Pemikiran tentang Alokasi Lahan Hutan Menuju Efisiensi dan Optimalisasi Pemanfaatan Lahan Nasional*. Yogyakarta: Fakultas Kehutanan UGM.

Vegetasi di Sekitar Danau Tiga Warna Taman Nasional Kelimutu Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur

Vegetation around Tiga Warna Lake, Kelimutu National Park, Ende, Flores, East Nusa Tenggara

DEDEN MUDIANA¹, SUHARMONO², I MADE RAHARDJA PENDIT¹, I WAYAN MUDARSA¹

¹Kebun Raya Eka Karya Bedugul, Bali 82191

²Taman Nasional Kelimutu, Ende, Flores

Diterima: 1 September 2002. Disetujui: 1 Januari 2003

ABSTRACT

Vegetation around Danau Tiga Warna, Kelimutu National Park was dominated by *Vaccinium varingiaefolium* (Blume) Miq. Species of fern, *Selluguea triloba* (Houtt.) M.G. Price and *Gleichenia linearis* (Burm.) Clarke were abundant in this location. *Tripogon exiguus* Buesee as belongs poaceae family, also find abundant. Condition of vegetation around Kawah Kelimutu will discribe in this paper.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key word: vegetation, Danau Tuga Warna, Taman Nasional Kelimutu.

PENDAHULUAN

Kondisi fisik lokasi penelitian

Taman Nasional (TN) Kelimutu memiliki luas 5.000 ha, terletak di Pulau Flores, Kabupaten Ende, Propinsi Nusa Tenggara Timur. Letaknya pada perbatasan tiga kecamatan, yaitu Detusoko, Wolowaru dan Ndonga. Bagian taman nasional yang menjadi tempat penelitian terletak di kawasan hutan blok Pemo, pada zona rimba, sekitar 3 km dari pos jaga taman nasional ke arah puncak Gunung Kelimutu, dengan topografi bergelombang, berbukit dan berlereng.

Iklim di kawasan TN Kelimutu termasuk tipe B (Schmidt-Ferguson, 1951 dalam Anonim, 1995). Curah hujan rata-rata berkisar antara 1.615-3.363 mm per tahun. Suhu udara siang hari berkisar antara 25,5-31°C. Musim kering terjadi pada bulan Juli-Agustus, sedang musim hujan terjadi pada bulan Desember-April. Secara umum tidak dijumpai sungai besar di TN Kelimutu, akan tetapi kawasan ini berperan sangat penting sebagai daerah resapan air hujan dan penyimpan air tanah bagi daerah aliran sungai (DAS) di bawahnya, yaitu: Wororea dan Wolowona.

Daya tarik utama TN Kelimutu adalah keberadaan Danau Tiga Warna yang terletak di puncak kawasan. Ketiga danau tersebut adalah: *Tiwu Ata Mbupu*, *Tiwu Ata Polo*, dan *Tiwu Nua Muri*. Keunikan ketiga danau tersebut adalah warna airnya yang dapat berubah-ubah. Menurut kepercayaan masyarakat setempat, ketiga danau tersebut merupakan tempat bersemayam arwah orang-orang yang telah meninggal.

Keyakinan dan kepercayaan semacam ini masih dipegang teguh oleh masyarakat di sekitar danau.

Pulau Flores merupakan pulau terluas di propinsi Nusa Tenggara Timur, memiliki luas 13,54 km² (Monk *et al.*, 2000). Secara geologis, pulau-pulau di daerah ini relatif muda. Umurnya diperkirakan antara 1-1,5 juta tahun (Hall dan Nichollas, 1990 dalam Mongk *et al.*, 2000). Pulau-pulau tersebut tidak pernah menjadi bagian dari massa daratan lainnya yang lebih besar dan terisolasi secara geografis. Sifat ini berpengaruh terhadap perkembangan evolusi flora dan faunanya, antara lain ditunjukkan oleh sifat endemisitasnya yang tinggi. Kondisi iklim juga mempengaruhi vegetasi yang hidup di daerah ini, baik dalam jumlah jenis, kelimpahan, kemampuan adaptasi maupun pola pertumbuhan dan penyebarannya.

Vegetasi

Di Gunung Kelimutu, Flores dan Gunung Rinjani, Lombok *Casuarina junghuhniana* merupakan pohon yang banyak dijumpai, umumnya terdapat pada areal tepat di bawah reruntuhan gunung (sekitar kawah). Di atas barisan pohon ini terdapat vegetasi perdu yang keberadaannya lebih dipengaruhi oleh faktor tanah (edafit) dibandingkan faktor iklim. *Rhododendron zollingeri* (Ericaceae), *Dodonaea viscosa* (Sapindaceae), *Carex sp* (Cyperaceae) dan beberapa *Vaccinium varingiaefolium* adalah semak yang umum dijumpai di kedua lokasi ini (de Voodg, 1941 dalam Monk *et al.*, 2000). Rumpun edelweis, *Anaphalis viscida* (Compo-

siteae), tumbuh melimpah dalam di pinggir kawah (Monk *et al.*, 2000).

Kawasan di sekitar kawah Gunung Kelimutu ditumbuhi beberapa vegetasi yang cukup menarik. Salah satu diantaranya adalah hamparan *V. varingiaefolium* dan *R. zollingeri*. Kedua jenis ini cukup banyak diminati orang karena warna bunganya yang menarik. Selain itu, *V. varingiaefolium* dicari oleh para penggemar atau petani bonsai untuk dijadikan bahan dasar pembuatan bonsai. Hal ini jika tidak dicermati tentunya akan merusak vegetasi di kawasan tersebut. Kehadiran para pengunjung di kawasan sekitar kawah, yang merupakan maskot kawasan ini, dapat memberi dampak buruk terhadap keberadaan vegetasi dan lingkungan di sekitar kawasan.

Data tentang vegetasi di sekitar kawasan ini masih sangat sedikit. Dari literatur yang telah ada hanya disebutkan jenis-jenisnya saja tanpa mengungkapkan kondisi populasi jenis, dominansi, ataupun komposisi dan struktur vegetasinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur dan komposisi vegetasi di sekitar kawah Gunung Kelimutu (Danau Tiga Warna).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2001, di sekitar kawah Gunung Kelimutu/Danau Tiga Warna, TN Kelimutu, Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur.

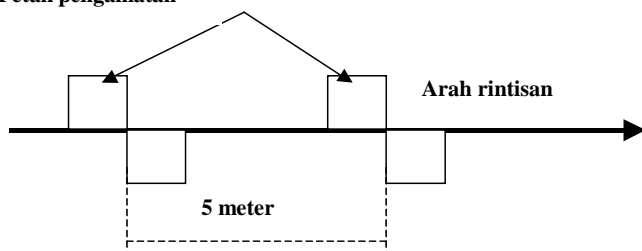
Alat dan bahan

Peralatan penelitian yang digunakan adalah: meteran, kompas, tambang plastik, gunting tanaman, alat tulis, peta lokasi dan *tally sheet*.

Cara kerja

Pengambilan data dilakukan dengan metode transek berpetak, sebanyak 4 buah transek. Setiap jarak 5 m dibuat dua petak pengamatan, di sebelah kanan dan kiri transek dengan ukuran 1 x 1 m². Jumlah total petak yang dibuat sebanyak 70 petak. Ukuran ini dipilih karena di lokasi penelitian tidak dijumpai vegetasi tingkat pancang, tiang ataupun pohon. Vegetasi yang ada dikelompokkan ke dalam tingkat semai dan tumbuhan bawah (Gambar 1).

Petak pengamatan



Gambar 1. Sketsa transek pengamatan.

Data yang diambil mencakup nama jenis, marga, dan suku, jumlah individu, dan luas penutupan tajuk (*coverage area*). Selanjutnya data dianalisis untuk mengetahui Indeks Nilai Penting (INP). Untuk jenis yang belum diketahui namanya, diambil spesimen herbarium dan spesimen hidupnya untuk identifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tercatat sebanyak 10 jenis tumbuhan yang tumbuh di sekitar kawah Gunung Kelimutu (Danau Tiga Warna) (Tabel 1). Dari hasil analisis data diperoleh nilai kerapatan, frekuensi, dominansi, serta Indeks Nilai Penting (Gambar 2.).

Hasil analisis vegetasi di sekitar lokasi danau tiga warna menunjukkan bahwa *V. varingiaefolium* cukup dominan tumbuh di lokasi tersebut (INP = 100,9%). *C. junghuhniana* memiliki INP = 0,62%, karena memang hanya dijumpai sebanyak 1 individu dalam plot pengamatan. Jenis ini sebenarnya cukup banyak tumbuh, namun agak jauh dari lokasi tepi danau. Vegetasi yang dijumpai tumbuh di lokasi penelitian berhabitus semak dan tidak dijumpai vegetasi yang berhabitus pohon besar. Bila dibandingkan dengan keterangan Monk *et al.* (2000) tentang vegetasi yang tumbuh di sekitar pinggir kawah Kelimutu, terdapat satu jenis vegetasi yang tidak kami temukan pada pengamatan ini. Jenis tersebut adalah edelweis, *A. viscida*. Jenis ini justru ditemukan tumbuh melimpah pada lokasi yang lebih rendah dari lokasi penelitian, yaitu pada lereng-lereng tebing, dan sekitar jalan menuju kawah pada tempat-tempat yang terbuka.

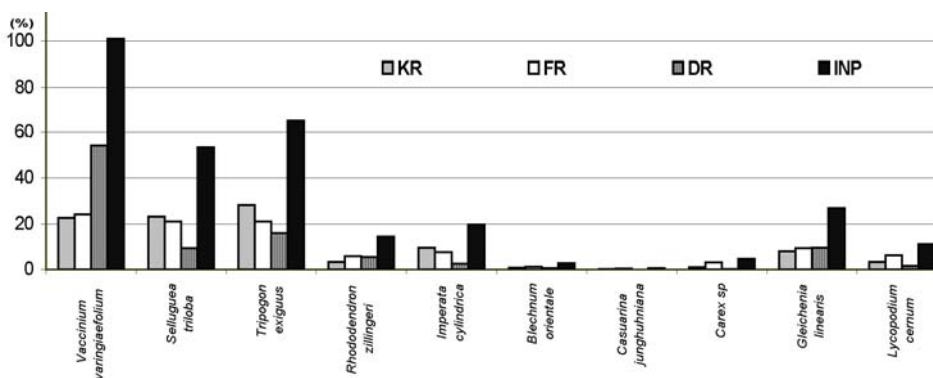
Jenis paku yang cukup banyak dijumpai adalah *Selliguea triloba*, *Gleichenia linearis*, dan *Lycopodium cernuum*. *G. linearis* cukup melimpah dan tumbuh membentuk semak. Jenis ini umum dijumpai pada tempat-tempat terbuka di tepi hutan pegunungan hingga ketinggian 1.400 mdpl (Holltum, 1968 dan Monk *et al.*, 2000). Dominansi relatif penutupan permukaan tanahnya sebesar 9,55% atau 268 cm² per 1 m². *Selliguea triloba* memiliki nilai yang hampir sama dengan *G. linearis* dalam hal dominansi (DR = 9,50% dengan penutupan permukaan tanah sekitar 267 cm² per 1 m²). Selama pengamatan hampir selalu kedua jenis ini dijumpai secara bersamaan. *Blechnum orientale* dijumpai juga di lokasi pengamatan, namun jumlahnya tidak terlalu melimpah. *Lycopodium cernuum* memiliki bentuk yang menarik, menjalar seperti kawat, sehingga sering disebut paku kawat.

Tiga jenis rumput tercatat dalam pengamatan ini, yaitu: *Tripogon exiguus*, *Imperata cylindrica*, dan *Carex sp.* *T. exiguus* (rumput lahar, rumput gunung) banyak dijumpai di sekitar kawah dibandingkan dua jenis lainnya. Menurut Sastrapradja dan Afriastini (1981), jenis rumput ini umumnya dijumpai pada tanah kering, berbatu atau berpasir di ketinggian 1.100-3.100 mdpl. Jenis ini menyukai tempat-tempat terbuka, keberadaannya cukup dominan dibandingkan jenis-jenis rumput lain (INP = 65,11%).

Tabel 1. Keanekaragaman jenis tumbuhan di sekitar kawah Gunung Kelimutu (Danau Tiga Warna), beserta Indeks Nilai Penting (INP) vegetasi di sekitar Danau Tiga Warna.

No	Jenis	Suku	Jumlah individu	Penutupan area (cm ²)	KR	FR	DR	INP
1	<i>Vaccinium varingaefolium</i> (Blume) Miq.	Vacciniaceae	127	1.517	22.71	24.11	54.10	100.92
2	<i>Selliguea triloba</i> (Houtt.) M.G.Price	Polypodiaceae	129	267	23.09	20.98	9.50	53.57
3	<i>Tripogon exiguus</i> Buesee	Poaceae	157	450	28.10	20.98	16.03	65.11
4	<i>Rhododendron zollingeri</i> J.J. Smith	Ericaceae	18	155	3.26	5.80	5.51	14.57
5	<i>Imperata cylindrica</i> (L.) Raenschel	Poaceae	54	72	9.66	7.59	2.57	19.82
6	<i>Blechnum orientale</i> Linn	Blechnaceae	4	20	0.75	1.34	0.71	2.80
7	<i>Casuarina junghuhnii</i> Miq.	Casuarinaceae	1	1	0.13	0.45	0.04	0.62
8	<i>Carex</i> sp	Poaceae	6	8	1.13	3.12	0.28	4.53
9	<i>Gleichenia linearis</i> (Burm.) Clarke	Gleicheniaceae	44	268	7.90	9.38	9.55	26.83
10	<i>Lycopodium cernuum</i> Linn	Lycopodiaceae	18	48	3.26	6.25	1.71	11.22

Keterangan: KR: kerapatan relatif, FR: frekuensi relatif, DR: dominansi relatif, INP: indeks nilai penting.

**Gambar 1.** Perbandingan Indeks Nilai Penting (INP) jenis-jenis tumbuhan di sekitar Danau Tiga Warna. Keterangan: KR: kerapatan relatif, FR: frekuensi relatif, DR: dominansi relatif, INP: indeks nilai penting.

Jenis *I. cylindrica*, tidak terlalu banyak dijumpai di lokasi pengamatan, meskipun cukup banyak dijumpai pada lokasi lainnya yang lebih rendah ketinggiannya dan jauh dari kawah. Hanya tercatat sebanyak 54 rumpun dalam petak contoh yang dibuat. *Carex* sp, hanya berhasil tercatat sebanyak 6 rumpun.

V. varingaefolium adalah tumbuhan semak yang cukup melimpah jumlahnya dan tersebar luas. Hal ini dapat dilihat dari nilai frekuensi relatif tertinggi dibandingkan jenis lainnya, yaitu sebesar 24,11%. Jenis ini juga dominan menutupi permukaan tanah di lokasi pengamatan. Nilai dominansi relatifnya sebesar 54,10%, atau sekitar 1.517 cm² pada tiap petak 1 m².

Terdapat dua macam *V. varingaefolium* yang dijumpai, yaitu berbunga merah muda dan berbunga putih. Diduga keduanya hanya berbeda varietas. Hal yang penting dari jenis ini adalah perannya di alam, yaitu sebagai pakan beberapa jenis burung. Selama pengamatan beberapa jenis burung memakan buah *V. varingaefolium*. Dengan demikian keberadaan jenis ini sangat penting bagi ekosistem sekitar Kawah Kelimutu. Dari hal tersebut dapat pula diduga bahwa penyebaran jenis ini dilakukan oleh burung. Sifat ini berbeda dengan jenis vegetasi lain yang tercatat dalam pengamatan ini, dimana kesemuanya memiliki diri (biji/spora) yang halus, dan ringan, sehingga penyebarannya diduga dilakukan oleh angin.

Mengingat peranan penting jenis *V. varingaefolium* di kawasan sekitar kawah Gunung Kelimutu, maka sangatlah perlu untuk menjaga keberadaan jenis ini dari kerusakan dan kepunahan, oleh karenanya perlu mendapat perhatian lebih, terlebih berdasarkan keterangan petugas TN Kelimutu, jenis *V. varingaefolium* (dan *R. zollingeri*) sering diambil para pengunjung.

KESIMPULAN

Tercatat sebanyak 10 jenis vegetasi yang tumbuh di sekitar Kawah Kelimutu. Jenis *V. varingaefolium* memiliki nilai INP yang terbesar sehingga cukup penting keberadaan dan perannya di lokasi tersebut. Jenis paku *G. linearis* dan *S. triloba* cukup melimpah dan tumbuh membentuk semak. Tiga jenis rumput tercatat dalam pengamatan ini, yaitu: *T. exiguus*, *I. cylindrica*, dan *Carex* sp, dan jenis *T. exiguus* cukup banyak dijumpai di sekitar kawah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1995. *Rencana Pengelolaan Taman Nasional Kelimutu, Buku 1*. Kupang: Proyek Pengembangan Taman Nasional Kelimutu. Departemen Kehutanan, Kanwil Propinsi NTT, BKSDA VII Kupang, Sub BKSDA NTT.
- Holltum. 1968. *A Revised Flora of Malaya, Volume II Ferns of Malaya*. Singapore: Government Printing Office.
- Monk, K.A., Y. de Fretes dan G. Reksodihardjo-Lilley. 2000. *Ekologi Nusa Tenggara dan Maluku. Seri Ekologi Indonesia. Buku V*. Jakarta: Prenhallindo.
- Sastrapradja, S. dan J.J. Afriastini. 1981. *Rumput Pegunungan*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional, LIPI.

Phenetic Study on Clustered *Pinanga* of Java and Bali

JOKO R. WITONO

Center for Plant Conservation, Bogor Botanical Gardens - LIPI, Bogor 16003

Received: 2 December 2002. Accepted: 1 January 2003

ABSTRACT

The objective of the study was to know relationships of clustered *Pinanga* of Java and Bali based on morphological characters. Observation was done to 115 clustered *Pinanga* specimens (*P. coronata*), 18 of which were assigned as *Operational Taxonomic Units (OTUs)*. The morphological characters noted, analyzed using versions of the *numerical taxonomy system / NTSYS version 1.80, 1993*. The phenogram presents that clustered *Pinanga* of Java and Bali divided into two groups (clusters): specimens from lowland forest (0-750 m asl) and specimens from montane forest (750 m asl or more). The cluster division is not dependent on the geographical distribution of the OTUs, but rather altitudes.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: Java, Bali, NTSYS, OTUs, clustered *Pinanga*, phenetic study.

INTRODUCTION

Indonesia has the richest *Pinanga* in the world. This genus consists of about 120 species, 40 species of which are represented in Indonesia (Uhl and Dransfield, 1987; Mogeia, 1991). In Java and Bali, there are 3 species of *Pinanga* namely *P. javana*, *P. arinasae*, and *P. coronata*. *P. javana* and *P. arinasae* are single stemmed. A third species, *P. coronata* is clustered. *P. coronata* is found throughout Java and Bali, occurring on very steep hillsides in montane forest and flat areas in lowland forest, from sea level 10 1800 m asl (Witono *et al.*, 2002).

Clustered palms is what Holttum (1955) referred to as a sympodial habit, which he considered characteristic of monocotyledones. Each new shoot

develops from an axillary bud, which in palms is usually located near the base of the stem. As each short then subsequently produces a new axillary shoot, a clustered habit results (Uhl and Dransfield, 1987). Clustered *Pinanga* usually has many small and short stems.

Classification has been defined as the ordering of organisms into groups on the basis of their relationships. The relationships may be genetic, evolutionary (phylogenetic), or may simply refer to similarities of phenotype (phenetic) (Dunn and Everitt, 1982). Phenetic classification is a construction relationships based on overall similarity of taxa (Sneath and Sokal, 1973) or presence and absence of characters. The phenetic arrangement of the taxa is developed with numerical procedures applied to the

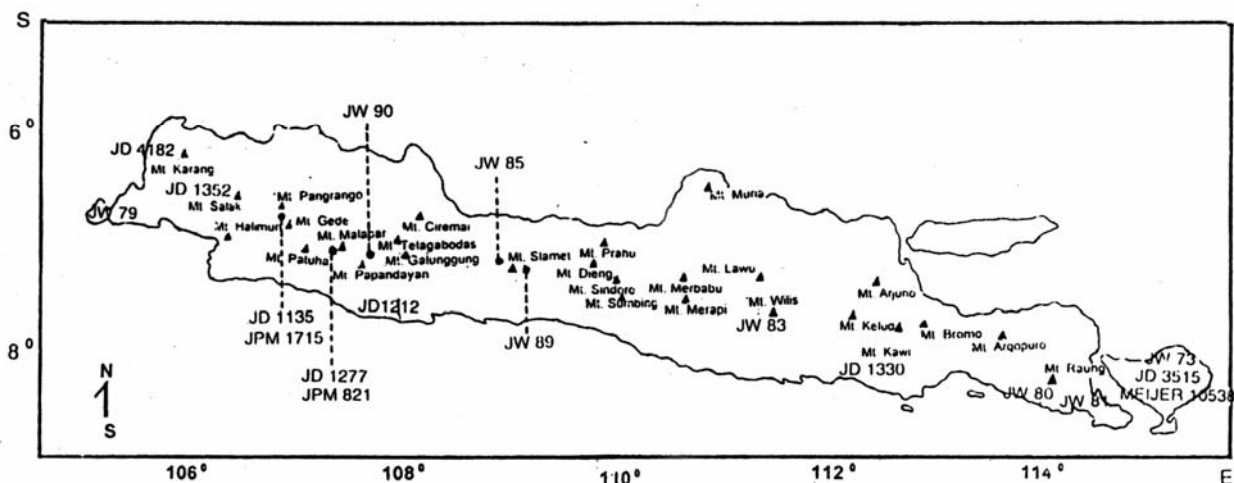


Figure 1. Geographical localities of clustered *Pinanga* of Java and Bali used in this study.

Table 1. Specimens, localities, and altitudes of the clustered *Pinanga* used in this study.

No.	Collector	Locality	Altitude (m)
1.	JW 79	Cibunar, Ujung Kulon National Park, Pandeglang, West Java	40
2.	JD 1212	Cibalanak, Cipatujah, Tasikmalaya, West Java	30
3.	JW 80	Bande Alit, Meru Betiri National Park, Jember, East Java	340
4.	JW 81	Pantai Penyu, Meru Betiri National Park, Sukamade, Banyuwangi, East Java	60
5.	JD 1330	Ngliyep, south of Malang, East Java	2
6.	JD 4182	Mt. Pulasari, Mandalawangi, Pandeglang, West Java	500
7.	JW 90	Bukit Himalaya Nature Reserve, Sukamulya, Garut, West Java	1,300
8.	JD 1135	Rawah Denok, Gede Pangrango National Park, Cibodas, West Java	1,800
9.	JPM 1715	Kandang Badak, Gede Pangrango National Park, Cibodas, West Java	1,700
10.	JD 1352	Mt. Salak, above Ciomas, Bogor, West Java	1,500
11.	JD 3515	Bukit Tapak, Batukahu Nature Reserve, Bedugul, Bali	1,000
12.	Meijer 10538	Bratan Lake, Bedugul, Bali	1,000
13.	JW 73	Bukit Tapak, Batukahu Nature Reserve, Bedugul, Bali	1,100
14.	JD 1277	Situ Patengang, Ciwideuy, Bandung, West Java	1,400
15.	JPM 821	Cadas Panjang, Cimanggu, Bandung, West Java	1,750
16.	JW 83	Alas Tiwang, Mt. Wilis, Kediri, East Java	1,200
17.	JW 85	Pancuran Tujuh, Mt. Slamet, Purwokerto, Central Java	750
18.	JW 89	Goa Lawa, Mt. Slamet, Purbalingga, Central Java	800

Table 2. Morphological characters used in phenetic study.

No.	Characters
	<i>Vegetative Structures</i>
1.	Colour of crownshaft: green brownish (2), green yellowish (1), green (0)
2.	Petiole and rachis surface silvery indumentum: present (1), absent (0)
3.	Number of leaflets on each side of rachis: 21 leaflets or more (2), 11 – 20 leaflets (1), 0 – 10 leaflets (0)
4.	Ratio length to width of basal leaflets: 41 or more (2), 26 – 40 (1), 0 – 25 (0)
5.	Ribs number of basal leaflets: 3 or more (2), 2 (1), 1 (0)
6.	Ratio length to width of middle leaflets: 21 or more (2), 13 – 20 (1), 0 – 12 (0)
7.	ribs number of middle leaflets: 4 or more (2), 3 (1), 1 – 2 (0)
8.	Ratio length to width of topmost leaflets: 12.6 or more (2), 7.6 – 12.5 (1), 0 – 7.5 (0)
9.	ribs number of topmost leaflets: 7 or more (2), 5 – 6 (1), 1 – 4 (0)
	<i>Inflorescence Structures</i>
10.	Growth form of inflorescence: pendulous (1), erect then pendulous (0)
11.	Order branches at basal rachillae: 2 orders (1), 1 order (0)
12.	Sepal form of female flower: orbicularis (1), broad orbicularis (0)
13.	Petal form of female flower: orbicularis (1), broad orbicularis (0)
14.	Fruit form: ellipsoid (2), ovoid (1), obovoid (0)

character states of organisms under study. Sneath and Sokal (1986) mentioned this method as numerical taxonomy or taxometrics (Stace, 1989).

A major approach to analyzing similarities and dissimilarities in this study is cluster analysis. There are three widely applied agglomerative clustering methods, but only one of them is employed in this study. The three methods are: single-linkage clustering, complete-linkage clustering, and group-average clustering (Dunn and Everitt, 1982). Group-average clustering analysis will be the applied agglomerative clustering method employed in this study.

This phenetic study is to provide a natural classification for the clustered *Pinanga* of Java and Bali based on morphological characters. The result of this study is phenogram or relationship of the clustered *Pinanga* of Java and Bali from many localities, altitudes, and habitats.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

In this study, all herbarium specimens of clustered *Pinanga* at Herbarium Bogoriense were observed. The number of collection of clustered *Pinanga* of Java and Bali are 115 specimens, 18 of which were assigned as Operational Taxonomic Units (OTUs) which are shown in Table 1 and the geographical localities of these specimens used in phenetic study are shown on Figure 1.

Procedures

The Morphological characters used in this study include vegetative structures (stem and leaves) and inflorescence structures. Fourteen morphometric characters (Table 2.) were chosen. These included seven qualitative and seven quantitative characters.

Nine characters were recognized from vegetative structures and five from the inflorescence structures. While qualitative characters were ordered and assigned numerical codes, quantitative characters were entered directly as raw data.

Data processing was carried out using versions of *the numerical taxonomy system* / NTSYS. NTSYS is a system of programs that is used to find and display structure in multivariate data. This system can be used to compute various measures of similarity or dissimilarity between all pairs of objects and then summarize the information either in terms of noted sets of similar objects (Rohlf, 1993).

The results are expressed in an OTU by OTU dissimilarity or similarity matrix. In the following stage, SAHN (Sequential, Agglomerative, Hierarchical, and Nested) clustering program was used to construct the phenogram. In this study used to UPGMA (unweighted pair-group method using averages).

RESULTS AND DISCUSSIONS

The raw data were converted to a matrix (Table 3.). The numerical taxonomy system produces value of correlation coefficients (Table 3.) and a phenogram (Figure 2.) which shows a relationship among the specimens of clustering *Pinanga* in Java and Bali with the specimens observed arrangement as shown in Table 1.

The phenogram presents that there are 16 levels of correlation coefficients, from the lowest (0.289) to the highest (1.000)(Matrix 2.). The lowest correlation coefficient indicates the less similar, and the highest is the closest similarity.

Whitmore (1985) divided the forest formations of the tropical Far East into three types: lowland forest (1-750 m asl), lower montane forest (750-1500 m asl),

and upper montane forest (1500 m asl or more). The phenogram presents that clustered *Pinanga* from Java and Bali consists of two groups (clusters): specimens from lowland forest (JW 79, JD 1212, JW 80, JW 81, JD 1330, and JD 4182) and specimens from montane forest (JW 90, JD 1135, JPM 1715, JD 1352, JD 3515, MEIJER 10538, JW 73, JD 1277, JPM 821, JW 83, JW 85, and JW 89).

The second cluster are divided into two subclusters based on a value correlation coefficient 0,375, there are specimens from the altitude 1000 m asl or more (JW 90, JD 1135, JPM 1715, JD 1352, JD 3515, MEIJER 10538, JW 73, JD 1277, JPM 821, and JW 83) and specimens from the altitude 1000 m or less (JW 85 and JW 89). Specimens JW 85 and JW 89 have different subcluster with the other specimens from montane forest, because part of their characters have similar to first cluster. There are number of leaflets on each side of rachis 11-20, rib number of basal leaflets 3 or more (JW 85) and 2 (JW 89), rib number of the middle leaflets 4 or more (JW 85) and 3 (JW 89), and rib number of apical leaflets 7 or more. The correlation coefficients between OTUs, subclusters, and clusters of clustered *Pinanga* are shown in Table 4.

These clusters are morphologically closely related. The cluster division is not dependent on the geographical distribution of the OTUs, but rather altitudes. So, the adaptation of clustered *Pinanga* in Java and Bali is vertically.

The species concept that continues to be used in describing palms is not only based on morphological similarities, but other factors such as ecology and geography are so important. In clustered *Pinanga* in Java and Bali, the main factors that caused display a wide variability in morphological characters is ecology, primarily temperature and light intensity.

Table 3. Morphological characters specimens of clustered *Pinanga* used in this study.

No.	Specimens	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.	JW 79	2	1	0	0	2	0	2	0	2	1	0	0	0	0
2.	JD 1212	2	1	1	0	2	0	2	0	2	1	1	0	1	0
3.	JW 80	2	1	2	2	0	0	1	0	2	1	0	1	1	0
4.	JW 81	2	1	2	0	1	0	1	0	2	1	0	1	1	0
5.	JD 1330	2	1	1	0	1	0	2	0	2	1	0	1	1	2
6.	JD 4182	2	1	0	1	0	1	2	0	2	1	1	0	1	2
7.	JW 90	1	0	2	0	0	2	0	1	1	0	0	0	1	2
8.	JD 1135	1	0	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	1	1
9.	JPM 1715	1	0	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1	2
10.	JD 1352	0	0	2	1	0	2	0	0	0	0	0	1	1	2
11.	JD 3515	0	0	2	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	1
12.	MEIJER 10538	0	0	2	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	1
13.	JW 73	0	0	2	1	0	1	0	2	0	0	0	1	1	1
14.	JD 1277	2	0	2	2	0	2	0	1	0	0	0	0	0	2
15.	JPM 821	2	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
16.	JW 83	1	0	2	2	1	2	0	2	0	1	0	1	1	2
17.	JW 85	1	0	1	0	2	0	2	0	2	0	1	1	1	2
18.	JW 89	1	0	1	1	1	1	1	1	2	0	0	1	0	2

Table 4. The correlation coefficients between OTUs, subclusters, and clusters of clustered *Pinanga*.

Cc.	Value	Notes
16	1,000	Similar character between JD 3515 and Meijer 10538
15	0,929	Colour of crownshaft green yellowish, sepal form of female flower broad orbicularis (JPM 1715) vs colour of crownshaft green, sepal form of female flower orbicularis (JD 1352)
14	0,927	Ratio length to width of middle leaflets 13-20, ratio length to width of topmost leaflets 12.6 or more (JW 73) vs ratio length to width of middle leaflets 21 or more, ratio length to width of topmost leaflets 7.6-12.5 (JD 3515, MEIJER 10538)
13	0,857	Number leaflets on each side of rachis 21 or more, ribs number of middle leaflets 3, fruit obovoid (JW 81) vs number leaflets on each side of rachis 10-20, ribs number of middle leaflets 4 or more, fruit ellipsoid (JD 1330)
12	0,823	Ratio length to width of basal leaflets 41 or more, fruit ovoid (JD 1135) vs ratio length to width of basal leaflets 26-40, fruit ellipsoid (JPM 1715, JD 1352)
11a	0,786	Ratio length to width of basal leaflets 41 or more, ribs number of basal leaflets 1 (JW 80) vs ratio length to width of basal leaflets 0-25, ribs number of basal leaflets 2 (JW 81, JD 1330)
11b	0,786	Number leaflets on each side of rachis 0-10, basal rachillae 1 order, petal form of pistillate flower broad orbicularis (JW 79) vs number leaflets each side of rachis 11-20, basal rachillae 2 orders, petal form of pistillate flower orbicularis (JD 1212)
10	0,738	Ratio length to width of topmost leaflets 7.6-12.5, ribs number of topmost leaflets 5-6 (JW 90) vs ratio length to width of topmost leaflets 0-7.5, ribs number of topmost leaflets 1-4 (JD 1135, JPM 1715, JD 1352)
9	0,714	Ratio length to width of basal leaflets 41 or more, ratio length to width of middle leaflets 21 or more, ratio length to width of topmost leaflets 7.6-12.5 (JD 1277) vs Ratio length to width of basal leaflets 26-40, ratio length to width of middle leaflets 13-20, ratio length to width of topmost leaflets 0-7.5 (JPM 821)
8	0,708	Colour of crownshaft green yellowish, sepal form of pistillate flower broad orbicularis (JW 90, JD 1135, JPM 1715), fruit ellipsoid (JW 90, JPM 1715, JD 1352) vs colour of crownshaft green, sepal form of pistillate flower orbicularis, fruit ovoid (JD 3515, JW 73, MEIJER 10538)
7	0,622	Petal form of female flower orbicularis (JW 90, JD 1135, JPM 1715, JD 1352, JD 3515, MEIJER 10538, JW 73) vs petal form of female flower broad orbicularis (JD 1277, JPM 821)
6	0.619	Ribs number of middle leaflets 4 or more, sepal form of pistillate flower broad orbicularis (JW 79, JD 1212) vs ribs number of middle leaflets 3 (JW 80, JW 81), sepal form of pistillate flower orbicularis (JW 80, JW 81, JD 1330)
5	0.571	Ribs number of basal leaflets 1, growth form of inflorescence erect then pendulous (JW 90, JD 1135, JPM 1715, JD 1352, JD 3515, MEIJER 10538, JW 73, JD 1277, JPM 821) vs ribs number of basal leaflets 2, growth of inflorescence pendulous (JW 83)
4	0.543	Ratio length to width of middle leaflets 0-12 (JW 79, JD 1212, JW 80, JW 81, JD 1330) vs ratio length to width of middle leaflets 13-20 (JD 4182)
3	0.500	Ratio length to width of basal leaflets 0-25, ribs number of basal leaflets 3 or more, ratio length to width of middle leaflets 0-12, ribs number of middle leaflets 4 or more, ratio length to width of topmost leaflets 0-7.5, basal rachillae branches 1 order, petal form of female flower orbicularis (JW 85) vs Ratio length to width of basal leaflets 26-40, ribs number of basal leaflets 2, ratio length to width of middle leaflets 13-20, ribs number of middle leaflets 3, ratio length to width of topmost leaflets 7.6-12.5, basal rachillae branches 2 orders, petal form of female flower broad orbicularis (JW 89)
2	0.375	Number leaflets on each side of rachis 21 or more (JW 90, JD 1135, JPM 1715, JD 1352, JD 3515, MEIJER 10538, JW 73, JD 1277, JPM 821, JW 83), ribs number of topmost leaflets 1-4 (except JW 90) vs number leaflets on each side of rachis 11-20, ribs number of topmost leaflets 7 or more (JW 85, JW 89)
1	0.289	Petiole and rachis surface silvery indumentum, growth of inflorescence pendulous (JW 79, JD 1212, JW 80, JW 81, JD 1330, JD 4182) vs petiole and rachis surface silvery indumentum: absent (JW 90, JD 1135, JPM 1715, JD 1352, JD 3515, MEIJER 10538, JW 73, JD 1277, JPM 821, JW 83, JW 85, JW 89), growth of inflorescence erect then pendulous (except JW 83)

CONCLUSIONS

Based on phenetic analysis using UPGMA, it can be concluded that the clustered *Pinanga* of Java and Bali which observed divided into two groups (clusters): specimens from lowland forest (0-750 m asl) and specimens from montane forest (750 m asl or more). The second cluster are divided into two subclusters based on a value correlation coefficient 0,375, there are specimens from the altitude 1000 m asl or more and specimens from the altitude 1000 m or less. The cluster division is not dependent on the geographical distribution of the OTUs, but rather altitudes.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Montgomery Botanical Center, Miami, Florida, USA, through the Indonesian Botanical Gardens, to which I am grateful. Thanks also given to the Director of Herbarium Bogoriense-LIPI, Himmah Rustiami, Dr. Johanis P. Moge, Prof. Dr. S. Somadikarta, Dr. John Dransfield, Dr. Terrence W Walters, Dr. Larry R Noblick who gave their time to discuss various aspects of this study.

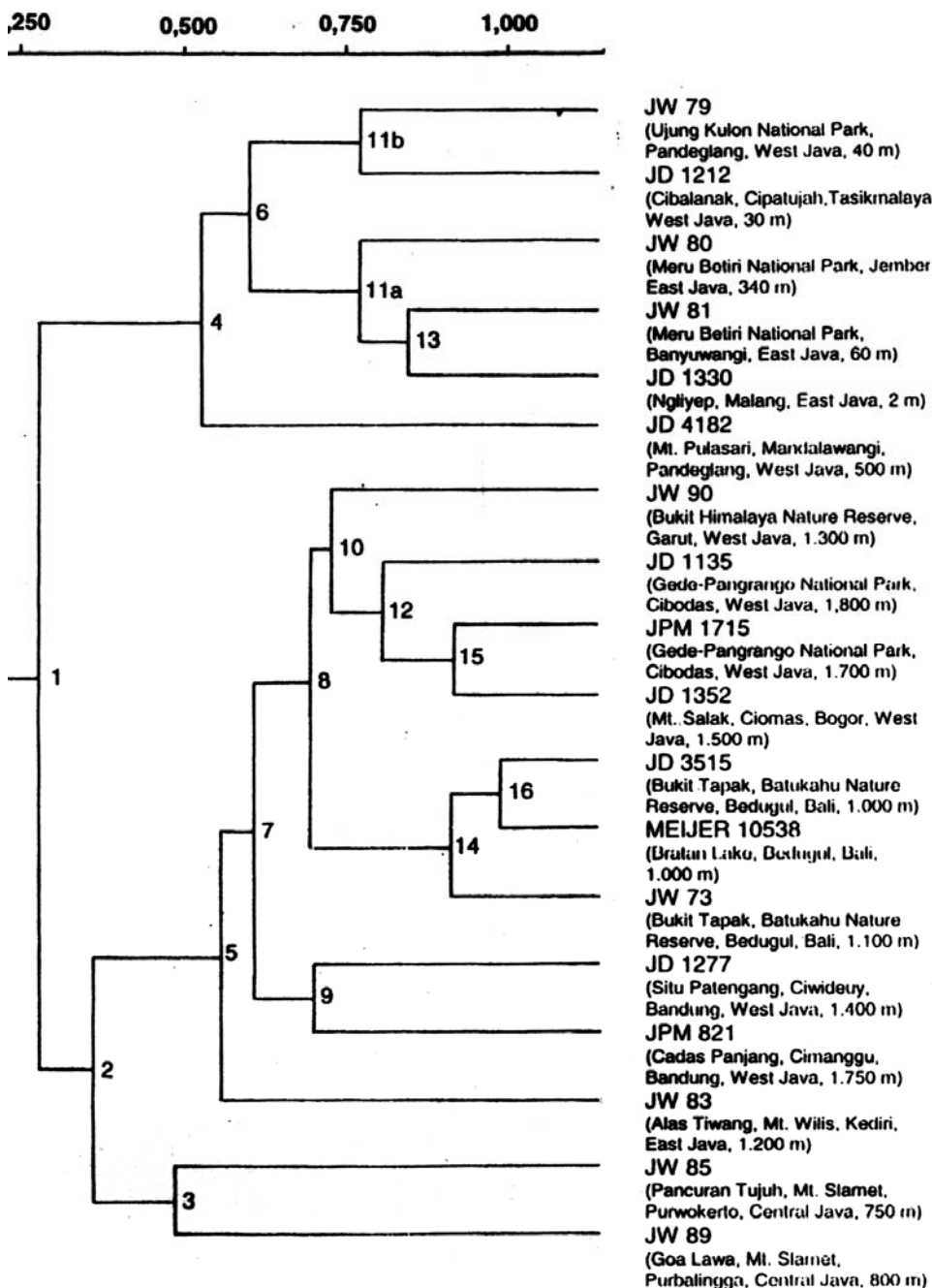


Figure 2. Phenogram of clustered *Pinanga* from Java and Bali.

REFERENCES

- Dunn, G and Everitt, B.S. 1982. *An introduction to mathematical taxonomy*. Cambridge University Press, Cambridge: x + 152 p.
- Holtum, R.E. 1955. Growth-habits of monocotyledones-variation on a theme. *Phytomorphology* 5: 399-413.
- Moge, J.P.M. 1991. Indonesia: Palm utilization and conservation. In: Johnson, D. (ed.). *Palm for human needs in Asia*. The World Wide Fund for Nature (WWF) and The World Conservation Union (IUCN), Rotterdam: 37-73.
- Rohlf, F.J. 1993. *NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Exeter Software, New York: x + 133 p.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. *Numerical taxonomy, the principles and practice of numerical classification*. W.H. Freeman and Co., San Francisco: 573 p.
- Stace, C.A. 1989. *Plant taxonomy and biosystematics*. Second editions. Cambridge University Press., Cambridge: vii + 264 p.
- Uhl, N.W. and Dransfield, J. 1987. *Genera palmarum, a classification of palms based on the work of Harold E. Moore, Jr.* The Bailey Hortorium and The International Palm Society. Allen Press., Kansas: xxi + 610 p.
- Whitmore, T.C. 1985. *Tropical rain forests of the Far East*. Oxford University Press., Oxford: xvi + 352p.
- Witono, J.R., J.P. Moge, and S. Somadikarta. 2002. *Pinanga* in Java and Bali. *Palms* 46(4): 193-200 (in press).

missing file

Hubungan Keterikatan Masyarakat Kubu dengan Sumberdaya Tumbuh-tumbuhan di Cagar Biosfer Bukit Duabelas, Jambi

Interrelationship between Kubu tribe people and plant resources at the Bukit Duabelas biosphere reserve, Jambi

FRANCISCA MURTI SETYOWATI

Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor 16002

Diterima: 20 Nopember 2002. Disetujui: 1 Januari 2003

ABSTRACT

Indonesia consists of hundreds of tribe, one of them which is dwelled in the Bukit Duabelas Biosphere Reserve in Jambi, the Kubu tribe (Anak Dalam tribe). Their daily living is very dependent upon the native surrounding. The results of interviews during the research with the figure or tribe-head (*Temenggung*) and Kubu tribe member, indicated that at least 193 plant species recorded. These plants were used as food (69 species), construction materials (42 species), medicines (39 species), house hold utensils (11 species), dye (1 species), latex producing plants (5 species), for ritual materials (9 species), and others (15 species). How the customs and habits of Kubu tribe people manage and use of plant resources were discussed in this paper.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Keywords: Ethnobotany, Kubu tribe, Bukit Duabelas Biosphere Reserve, Jambi.

PENDAHULUAN

Kawasan Bukit Duabelas ditetapkan sebagai Cagar Biosfer Bukit Duabelas (CBBB) dengan S.K. Menteri Kehutanan R.I. tanggal 12 Februari 1987 No. 46/Kpts-II/1987 dengan luas 26.800 ha. Secara administratif CBBB termasuk dalam 3 kabupaten yaitu: Sarolangun Bangko, Batanghari dan Bungo Tebo. Kawasan ini merupakan hutan dataran rendah dengan topografi berbukit pada ketinggian 50-200 m dpl. Kawasan ini sangat penting di dalam menjaga tataguna air karena berperan sebagai daerah tangkapan dan resapan air. Di dalam kawasan ini terdapat banyak hulu anak sungai antara lain sungai Senapuh, sungai Paku Aji, sungai Keruh, sungai Terap, sungai Sentang, dan sungai Nila yang terletak di bagian selatan. Di samping itu juga terdapat hulu anak sungai Batanghari yaitu sungai Sikal, Kejasung Kecil, Kejasung Besar, Sirih, Gading dan sungai Mengkekal (Wiradinata, 1997).

CBBB kaya akan jenis-jenis hewan dan tumbuhan. Jenis-jenis hewan di antaranya adalah burung (rangkong, gagak, elang, raja udang, pelatuk), ikan (toman, ruwan, baung, palan, selukang), babi, uwa-uwa, beruk, harimau, beruang madu, rusa, dan lain-lain. Sedangkan jenis tumbuh-tumbuhan seperti gaharu (*Aquilaria malaccensis*), singoris (*Koompasia malaccensis*), bulian (*Eusideroxylon zwagerii*) yang semuanya merupakan jenis tumbuhan langka. Lebih

menarik lagi CBBB merupakan tempat tinggalnya suku Anak Dalam yang masih digolongkan sebagai masyarakat terasing.

BAHAN DAN METODE

Pengamatan dilakukan di dalam kawasan Cagar Biosfer Bukit Duabelas, Jambi. Pengumpulan data lapangan dengan cara observasi lapangan serta wawancara dengan tokoh/kepala suku (*Temenggung*) dan masyarakat Suku Anak Dalam yang menggunakan tumbuh-tumbuhan untuk memenuhi kebutuhan hidup sehari-hari, seperti bahan pangan, bahan obat, bahan pewarna, acara ritual, dan lain-lain. Pengambilan contoh tumbuhan untuk dibuat spesimen herbarium dilakukan seperti pembuatan herbarium pada umumnya. Kemudian spesimen tersebut dikirim ke Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI untuk keperluan identifikasi nama jenisnya.

Cagar Biosfer Bukit Duabelas terbagi dalam 3 daerah, yaitu: Rimbo Air Hitam termasuk Kecamatan Pauh, Kabupaten Sarolangun Bangko; Rimbo Kejasung termasuk Kecamatan Mersam, Kabupaten Batanghari dan Rimbo Mengkekal termasuk Kecamatan Teboilir, Kabupaten Bungo Tebo. Dua dari ketiga lokasi tersebut dipilih untuk penelitian ini yaitu Rimbo Air Hitam dan Rimbo Kejasung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Adat istiadat dan kebiasaan masyarakat Anak Dalam

Masyarakat primitif Propinsi Jambi terbagi dalam tiga kelompok yaitu masyarakat Bajau (Pantai Timur Jambi), masyarakat Talang Mamak (Bukit Tigapuluh, Siberida Riau), dan masyarakat suku Anak Dalam (Bukit Duabelas) (Muntholib, 1997). Suku Anak Dalam di Cagar Biosfer Bukit Duabelas (Jambi) sering disebut juga dengan suku Kubu atau Orang Rimbo atau Sanak, dan mereka lebih suka disebut dengan panggilan "Sanak" (Wiriadinata, 1998).

Sistem kepercayaan

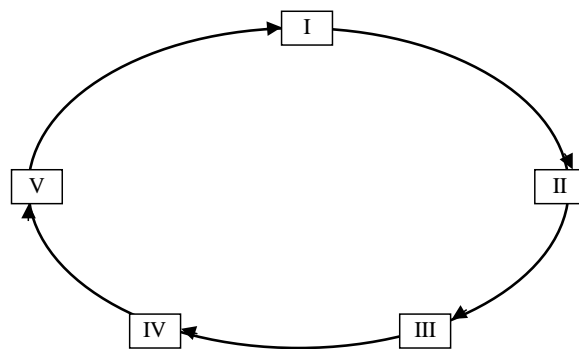
Masyarakat Anak Dalam menganut kepercayaan animisme yaitu percaya bahwa bukan hanya manusia saja yang memiliki jiwa, tetapi juga hewan, tumbuh-tumbuhan, batu, air terjun, bahkan pelangi (Coronese, 1986) dan dinamisme. Mereka mengakui adanya dewa, hantu atau setan, dan roh-roh, yang dipercaya dapat menolong atau mendatangkan kesulitan. Dewa dan hantu menghuni tempat-tempat tertentu misalnya kayu besar, bukit, hulu sungai atau tebing (Melalatoa, 1995).

Sikap hidup

Masyarakat Anak Dalam sebagian besar masih tinggal di dalam hutan yang berfungsi sebagai tempat tinggal, berteduh, mencari makan, meramu, dan berburu. Mereka masih berpindah-pindah sesuai dengan keadaan alamnya selama di situ masih tersedia makanan untuk keluarganya, maka mereka akan tetap tinggal lokasi tersebut dan paling lama adalah 7 hari. Sebagian kecil dari mereka telah mulai bercocok tanam seperti padi, jagung, cabe, ubi kayu, ubi jalar, karet dengan sistem perladangan berpindah yaitu pada tahun pertama membuka ladang/kebun selama 2-3 tahun. Setelah itu mereka akan pindah lagi membuka ladang baru yang letaknya kadang-kadang menyambung dari yang pertamakali dibuka atau pindah ke tempat lain yang jaraknya tidak seberapa jauh dari tempat yang pertama. Dan siklus tersebut akan berulang terus menerus sampai akhirnya mereka kembali lagi ke tempat yang pertama jika tanaman karet yang mereka tanam telah siap untuk disadap (Gambar 1).

Ada kebiasaan dari mereka bahwa apabila ada salah satu anggota keluarga yang meninggal, maka anggota keluarga yang masih hidup akan pergi meninggalkan tempat tersebut untuk waktu tertentu selama dia masih merasa bersedih ($\pm 3 - 4$ tahun) yang disebut dengan "melangun".

Dalam hal kesehatan, mereka jarang sekali mandi maupun mencuci pakaiannya, dan walaupun mereka itu mandi lebih merupakan usaha untuk menyejukkan badan daripada menjaga kesehatan. Pada umumnya mereka tidak menggunakan sabun mandi. Mereka juga tidak mengenal kebiasaan gosok gigi, sehingga dapat dikatakan untuk tingkatan hidup sehat masih jauh.



Gambar 1. Sistem perladangan berpindah masyarakat Kubu.

Sistem perkawinan

Caranya adalah dengan mengadu jari jempol kedua mempelai sebanyak 7 X dan mengadu kening juga 7 X. Setelah itu Hakim memberi makan kepada kedua mempelai. Mas kawinnya berupa 30 lembar kain untuk yang menikah dengan anak I; 60 lembar kain untuk yang menikah dengan anak bungsu ataupun berdasarkan kesepakatan bersama. Syaratnya untuk laki-laki asalkan dia sudah dapat berburu babi dan untuk wanita dia harus sudah mendapat menstruasi/haid. Hakim/Bilal/Kuaket adalah orang yang mengesahkan pernikahan. Ada istilah "Tehiruk" adalah orang yang sedang pacaran dan diketahui oleh orang lain kemudian dipaksa untuk menikah. Bagi masyarakat Anak Dalam setelah keduanya dinikahkan, maka laki-laki akan masuk ke dalam keluarga wanita, sehingga bagi mereka wanita lebih berharga daripada laki-laki.

Di dalam masyarakat Kubu ada juga yang menginginkan perceraian, caranya adalah kedua orang yang akan bercerai disuruh memegang sepotong rotan peledas dan Hakim akan mematahkannya dengan parang. Jika rotannya putus, maka mereka boleh bercerai, namun jika rotannya tidak putus, maka mereka tidak boleh bercerai. Selain perceraian ada juga perkosaan, jika bujang dengan gadis dan keduanya saling suka maka mereka akan dinikahkan setelah bujangnya dipukuli dulu sampai pingsan. Jika bujang dengan gadis tetapi gadis tersebut tidak suka, maka didenda 20 lembar kain. Bujang dengan istri orang didenda 500 lembar kain atau dibunuh.

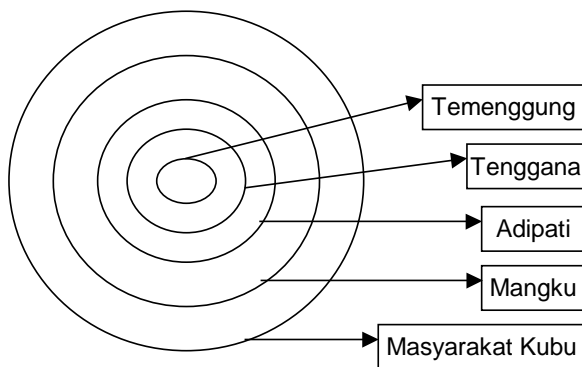
Pemukiman

Masyarakat Anak Dalam menetap di dalam kawasan Cagar Biosfer Bukit Duabelas dan selalu berpindah-pindah lokasi. Mereka akan menetap di suatu lokasi selama di situ masih tersedia bahan makanan pokok yaitu jenis-jenis banar (*Dioscorea spp.*) dan waktunya paling lama adalah satu minggu. Namun demikian ada juga beberapa kepala keluarga yang sudah mulai menetap di satu lokasi dengan membuka ladang atau kebun karet, sehingga mereka akan tetap tinggal di lokasi tersebut selama $\pm 3-5$ tahun.

Tempat tinggal yang dibuat oleh masyarakat suku Anak Dalam masih sangat sederhana terdiri dari: atap yang terbuat dari daun serdang (*Livistona saribus*) atau daun benal (*Calophyllum sp.*), dinding terbuat dari kulit kelukup (*Shorea sp.*), alas terbuat dari kulit kayu meranti (*Shorea spp.*), tiang terbuat dari petaling (*Ochanostachys amentacea*) atau kulim (*Scorodocarpus borneensis*), tali-talinya terbuat dari rotan temati/rotan peledas/rotan telikung. Untuk busana laki-laki memakai kancut/cawat sedangkan wanita memakai kain panjang/sarung.

Struktur sosial

Di dalam CBBB masyarakat Kubu terbagi menjadi tiga wilayah namun hanya dua yang diamati dalam penelitian ini, yaitu Rimbo Air Hitam yang dipimpin oleh Temenggung Tarip dan Rimbo Kejasung yang dipimpin oleh Temenggung Jelitai. Syarat menjadi pemimpin adalah cakap dan berpengetahuan, mendalami adat, adil dan jujur, cukup umur dan berpengalaman (Melalatoa, 1995).



Gambar 2. Struktur sosial masyarakat Anak Dalam (Kubu).

Mereka juga membedakan antara tugas wanita dan tugas laki-laki. Tugas wanita adalah memasak, mencari kayu api, membuat tikar, ambung, dan mencuci pakaian. Sedangkan tugas laki-laki adalah berburu binatang, belanja makanan, pakaian, dan membuat kebun/ladang.

Tata cara pemakaman adalah dengan membuat pondok model rumah panggung, lalu jenazah yang sebelumnya sudah dibungkus dengan kain putih atau kain panjang diletakkan di dalamnya dan tidak dikubur di dalam tanah. Jika yang meninggal sudah cukup tua ditambahkan kelambu di dalamnya.

Cara pemimpin mereka (Temenggung) memanggil masyarakatnya adalah dengan mengirim simpul tali. Jika ada janji dengan seseorang, orang Kubu dapat mengingatkannya dengan cara membuat simpul tali setiap hari supaya dapat menepati janjinya tersebut.

Pendidikan

Sarana pendidikan hanya ada pada daerah permukiman yang dibangun oleh pemerintah. Mereka merasa cukup membekali anak-anaknya dengan

keterampilan berburu, meramu hasil hutan, dan berladang. Ada satu bangunan S.D. Suku Anak Dalam yang didirikan pada tahun 1994 di Desa Bukit Suban, Kecamatan Pauh, Kabupaten Sarolangun Bangko dengan jumlah murid 39 orang terdiri dari kelas I, II, dan III. Untuk keperluan seperti alat tulis diberikan bantuan pada saat pertama kali masuk dan selanjutnya mereka harus membeli sendiri. Diberikan juga dana bantuan setiap 2 catur wulan berupa susu bubuk dan daging.

Hubungan masyarakat dengan sumberdaya tumbuhan di lingkungannya

Tercatat sebanyak 195 jenis tumbuhan untuk berbagai kebutuhan hidup sehari-hari yaitu sebagai bahan pangan (69 jenis), bahan obat (39 jenis), peralatan rumah tangga (11 jenis), bahan bangunan (42 jenis), acara ritual (9 jenis), penghasil karet (5 jenis), lain-lain (tuba ikan, umpan landak, pakaian dalam laki-laki, pembungkus tembakau, tali-temali sebanyak 20 jenis (Tabel 1.).

Masyarakat Anak Dalam memanfaatkan bermacam-macam rotan untuk membuat peralatan rumah tangga, di antaranya adalah rotan badak, rotan kesur, rotan manau, rotan peledas, rotan semambu, rotan sioh, rotan temati, dan rotan temiang.

Ada satu jenis tumbuhan yang dimanfaatkan Anak Dalam sebagai bahan pewarna yaitu jernang (*Daemonorops draco*), getah merahnya dijual dengan harga Rp. 40.000 – 60.000 per kg. Buah jernang dapat dipanen lagi setelah \pm 3 bulan dan cara pengambilan buahnya dengan memakai galah bambu, sehingga tidak merusak tanamannya.

Bahan makanan pokok Anak Dalam adalah jenis-jenis banar (*Dioscorea spp.*), di antaranya banar dompas, banar seluang, banar berbulu, dan banar licin. Sedangkan jenis buah-buahan yang mereka makan adalah buah benton (*Santiria laevigata*), buah buntor (*O. amentacea*), buah kodom (*Hodgsonia macrocarpa*), durian daun (*Durio zibethinus*), mengkukuh (*Elateriospermum tapos*), rambutan (*Nephelium lappaceum*), pauh (*Mangifera*), mengkudu rimbo (*Morinda citrifolia*), dan potoi (*Parkia roxburghii*). Potoi selain buahnya yang muda dapat dimakan, biji tuanya dimanfaatkan sebagai obat penyakit kolik dan tapal pada berak darah dan lendir karena masuk angin. Kulit buahnya yang direbus dan dicampur dengan adas-pulasari digunakan sebagai obat kudis. Polongnya setelah ditumbuk dan ditambah air digunakan untuk mencuci rambut (Heyne, 1950). Tumbuhan ini mempunyai status kelangkaan dan ancaman “jarang” (Wiriadinata, 1992). Di samping itu terdapat juga bermacam-macam puar di antaranya adalah puar batu, puar bemban, puar betino (*Etlintera sp.*), puar jenton (*Etlintera sp.*), puar lancang (*Alpinia sp.*), puar penyengol, puar pungguk (*Nicolaiia speciosa*), puar sisim (*Etlintera elatior*), puar tapoi, dan puar tekelu. Jenis-jenis pisang yang ditanam adalah pisang belebas, pisang bulu, pisang embun, pisang empang, pisang serawak, dan pisang susu.

Tabel 1. Jenis-jenis tumbuhan yang dimanfaatkan oleh Suku Kubu.

No.	Nama lokal	Nama jenis	Famili	Bagian bermanfaat	Kegunaan
1.	Akar badak	<i>Rinorea sp.</i>	Violaceae	Akar	TO
2.	Akar kunyit	<i>Arcangelisia flava</i>	Menispermaceae	Akar	TO
3.	Akar penyegar	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Akar	TO
4.	Akar selusuh	<i>Luvunga eleutherandra</i>	Rutaceae	Batang	TO
5.	Ako habu	<i>Stephania japonica</i>	Menispermaceae	Akar	TO
6.	Ako kembanghari	-	-	Bunga	AR
7.	Ako kepah	<i>Spatholobus ferrugineus</i>	Fabaceae	Kulit batang	TO
8.	Ako sembelit	<i>Dissochaeta sp.</i>	Meliaceae	Bunga	AR
9.	Ampahrapah	<i>Ardisia sp.</i>	Myrsinaceae	Bunga	AR
10.	Anonim	<i>Spatholobus sp.</i>	Fabaceae	Getah batang	TO
11.	Antoe berbulu	-	Lauraceae	Kulit batang	TT
12.	Antoe lelabi	<i>Cryptocarya crassinervia</i>	Lauraceae	Kulit batang	TT
13.	Bakil	<i>Artocarpus anisophyllus</i>	Moraceae	Buah	BP
14.	Balam merah	<i>Palaquium sp.</i>	Sapotaceae	Getah batang	BK
15.	Balam putih	<i>Palaquium sp.</i>	Sapotaceae	Getah batang	BK
16.	Balek angin	<i>Omalanthus populneus</i>	Euphorbiaceae	Daun	AR
17.	Banar berbulu	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
18.	Banar dompas	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
19.	Banar licin	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
20.	Banar seluang	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
21.	Belom telapok	-	-	Batang	BB
				Buah	BP
22.	Bemban	<i>Donax canaeformis</i>	Maranthaceae	Batang	PRT, PN
23.	Bengkak	-	-	Batang	BB
24.	Bengkuang buntak	<i>Pteris sp.</i>	Pteridaceae	Tanaman	TI
25.	Beno lebo	-	-	Umbi	BP
26.	Benton	<i>Santiria dasyphylla</i>	Burseraceae	Buah	BP
27.	Berisil pohon besar	-	-	Kulit batang	TO
28.	Berumbung	<i>Timonium sp.</i>	Rubiaceae	Kulit batang	TO
29.	Beyoe	<i>Oncosperma horridum</i>	Arecaceae	Umbut	BP
30.	Bilau	<i>Ipomoea batatas</i>	Convolvulaceae	Umbi	BP
31.	Bungo kuning	<i>Ixora sp.</i>	Rubiaceae	Daun muda	TO
32.	Bungo lado-lado	<i>Chloranthus officinalis</i>	Chloranthaceae	Bunga	AR
33.	Bungo sekeduduk	<i>Melastoma sp.</i>	Melastomataceae	Bunga	AR
34.	Buntor	<i>Chionanthus sp.</i>	Oleaceae	Buah	BP
35.	Cabe embun	<i>Capsicum frutescens</i>	Solanaceae	Buah	BP
36.	Cepot	<i>Passiflora foetida</i>	Passifloraceae	Buah	BP
37.	Cerako	-	-	Kulit batang	TTI, TO
38.	Damar bayung	-	Dipterocarpaceae	Getah batang	BD
39.	Damar meranti	<i>Shorea sp.</i>	Dipterocarpaceae	Getah batang	BD
40.	Damar sarang	-	Dipterocarpaceae	Getah batang	BD
41.	Daun benal	<i>Garcinia sp.</i>	Clusiaceae	Daun	BA
42.	Daun cermin	-	-	Daun	TO
43.	Daun pepaya	<i>Phanera reinwardtiana</i>	Fabaceae	Daun	PT
44.	Durian daun	<i>Durio zibethinus</i>	Bombacaceae	Buah	BP
				Daun	TO
45.	Gadung	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
46.	Gelugur	<i>Garcinia sp.</i>	Clusiaceae	Buah	BP
47.	Gerutak beruang	<i>Dyera costulata</i>	Apocynaceae	Batang	AB
				Getah batang	BK
48.	Gitan labu	<i>Aromadendron sp.</i>	Apocynaceae	Buah	BP
				Getah batang	PG
49.	Guam godom	<i>Agelaea borneensis</i>	Connaraceae	Akar, daun	TO
50.	Hidon kuning	-	-	Buah	BP
51.	Jernang	<i>Daemonorops draco</i>	Arecaceae	Buah	BW
52.	Johoh pematong	-	-	Batang	BB
53.	Jomel	<i>Cinnamomum odorata</i>	Lauraceae	Akar	TO
54.	Jsgung	<i>Zea mays</i>	Poaceae	Buah	BP
55.	Kayu arang	<i>Diospyros buxifolia</i>	Ebenaceae	Batang	BB

Tabel 1. Jenis-jenis tumbuhan yang dimanfaatkan oleh Suku Kubu (*lanjutan*).

No.	Nama lokal	Nama jenis	Famili	Bagian bermanfaat	Kegunaan
56.	Kayu bunot	-	-	Buah	BP
57.	Kayu cendewon malom	<i>Cyrtandra picta</i>	Gesneriaceae	Daun	TO
58.	Kayu gesing	<i>Lithocarpus sp.</i>	Fagaceae	Batang	BB
59.	Kayu hitam	<i>Diospyros ferrea</i>	Ebenaceae	Batang	BB
60.	Kayu hitam	<i>Diospyros hasseltii</i>	Ebenaceae	Batang	BB
61.	Kayu hitam	<i>Diospyros pyrrocarpa</i>	Ebenaceae	Batang	BB
62.	Kayu hubi	<i>Pternandra azurea</i>	Melastomataceae	Batang	KP
63.	Kayu kasai	<i>Pometia pinnata</i>	Sapindaceae	Buah	TTI
64.	Kayu kolot	<i>Eugenia sp.</i>	Myrtaceae	Batang	BB
65.	Kayu kuwau	<i>Calophyllum sp.</i>	Clusiaceae	Batang	AB
66.	Kayu mampot	<i>Garcinia sp.</i>	Clusiaceae	Kulit batang	TO
67.	Kayu manis	<i>Cinnamomum burmani</i>	Lauraceae	Kulit batang	BR
68.	Kayu medang batu	<i>Shorea sp.</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
69.	Kayu mersik	<i>Atuna sp.</i>	Rosaceae	Batang	KB
70.	Kayu payau	<i>Adinandra sp.</i>	Theaceae	Batang	BB
71.	Kayu penggitan	<i>Polyalthia sumatrana</i>	Annonaceae	Batang	BB
72.	Kayu salok	<i>Knema laurina</i>	Myristicaceae	Getah batang	TO
73.	Kayu samak	<i>Eugenia sp.</i>	Myrtaceae	Getah batang	PG
74.	Kayu sapat	<i>Diospyros macrophylla</i>	Ebenaceae	Batang	BB
75.	Kayu tai	-	-	Kulit batang	TT
76.	Kayu temberas	<i>Memecylon laevigatum</i>	Melastomataceae	Batang	KP
77.	Kayu terjang angin	<i>Lasianthus sp.</i>	Rubiaceae	Bunga	TO
78.	Kayu tunggal butoh	-	-	Kulit batang	TO
79.	Kayu udang	<i>Palaquium sp.</i>	Clusiaceae	Batang	AB
80.	Karet	<i>Hevea brasiliensis</i>	Euphorbiaceae	Getah batang	BK
81.	Kedundung tunjuk	-	-	Akar	TO
82.	Keladi	<i>Colocasiasp.</i>	Araceae	Umbi	BP
83.	Kemenyan	<i>Styrax benzoin</i>	Styracaceae	Getah batang	AR
84.	Kendelo	-	-	Buah	UL
85.	Kenoik emdapath	<i>Hodgsonia macrocarpa</i>	Cucurbitaceae	Daun	TO
86.	KerANJI	<i>Dialium indum</i>	Fabaceae	Buah	BP
87.	Kilik	-	-	Batang	AB
88.	Kodom	<i>Hodsonia sp.</i>	Cucurbitaceae	Buah	BP
89.	Kunangon	<i>Bouea sp.</i>	Anacardiaceae	Buah	BP
90.	Lelendengon	<i>Curculigo</i>	Amaryllidaceae	Buah	BP
91.	Lelisan	<i>Commersonia echinata</i>	Sterculiaceae	Bunga	AR
92.	Lempeningan	<i>Lithocarpus sp.</i>	Fagaceae	Batang	BB
93.	Lipoi	<i>Licuala spinosa</i>	Arecaceae	Daun	TMG,PT
94.	Manau	<i>Calamus manan</i>	Arecaceae	Batang	PRT
95.	Medang labu	<i>Litsea sp.</i>	Lauraceae	Batang	BB
96.	Medang puding	<i>Litsea oppositifolia</i>	Lauraceae	Batang	BB
97.	Mendarung kedalung	<i>Trema orientalis</i>	Ulmaceae	Kulit batang	TMB
98.	Mengkarok kotom	<i>Xanthophyllum laevigatum</i>	Polygalaceae	Batang	AB
99.	Mengkudu rimbo	<i>Morinda citrifolia</i>	Rubiaceae	Buah	BP
100.	Mengkukuh	<i>Elateriospermum tapos</i>	Euphorbiaceae	Buah	BP
101.	Mensowan	-	-	Batang	BB
102.	Meranti	<i>Shorea acuminata</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
103.	Meranti	<i>Shorea gibbosa</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
104.	Meranti	<i>Shorea leprosula</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
105.	Meranti	<i>Shorea ovata</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
106.	Meranti	<i>Shorea parvifolia</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
107.	Meranti	<i>Shorea pauciflora</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
108.	Meranti	<i>Shorea sumatrana</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
109.	Merelang	<i>Pterospermum sp.</i>	Sterculiaceae	Buah Batang	BP BB
110.	Merepuyon	<i>Bouea oppositifolia</i>	Anacardiaceae	Batang	BB
111.	Oun onggelang	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	TT
112.	Padi	<i>Oryza sativa</i>	Poaceae	Buah	BP
113.	Paku baloe	-	-	Daun	TI
114.	Paku gajah	<i>Angiopteris sp.</i>	Marattiaceae	Daun	TO
115.	Paku panjang	-	-	Daun muda	BP

Tabel 1. Jenis-jenis tumbuhan yang dimanfaatkan oleh Suku Kubu (*lanjutan*).

No.	Nama lokal	Nama jenis	Famili	Bagian bermanfaat	Kegunaan
116.	Pauh	<i>Mangifera odorata</i>	Anacardiaceae	Buah	BP
117.	Pelomok ikan	<i>Baccaurea motleyana</i>	Euphorbiaceae	Batang	BB
118.	Pengendur urat	<i>Arcangelisia sp.</i>	Menispermaceae	Daun	TO
119.	Pepadi	-	-	Daun	PT
120.	Petai belalong	<i>Archidendron clipearia</i>	Fabaceae	Buah	BP
121.	Petaling	<i>Ochanostachys amentacea</i>	Olacaceae	Daun	TO
122.	Pianggu	<i>Myristica sp.</i>	Myristicaceae	Buah Batang	PB BB
123.	Pinang	<i>Areca catechu</i>	Arecaceae	Buah	BP
124.	Pisang belebas	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	Buah	BP
125.	Pisang bulu	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	Buah	BP
126.	Pisang embun	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	Buah	BP
127.	Pisang empang	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	Buah	BP
128.	Pisang serawak	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	Buah	BP
129.	Pisang susu	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	Buah	BP
130.	Playong songot	<i>Leptaspis urceolata</i>	Cyperaceae	Daun	MM
131.	Potoi	<i>Parkia roxburghii</i>	Fabaceae	Buah	BP
132.	Puar batu	-	Zingiberaceae	Buah	BP
133.	Puar bemban	-	Zingiberaceae	Buah	BP
134.	Puar betino	<i>Etingera sp.</i>	Zingiberaceae	Buah	BP
135.	Puar jelatang	-	Zingiberaceae	Daun	TO
136.	Puar jenton	<i>Etingera sp.</i>	Zingiberaceae	Buah	BP
137.	Puar lancang	<i>Alpinia sp.</i>	Zingiberaceae	Buah	BP
138.	Puar penyengol	-	Zingiberaceae	Buah	BP
139.	Puar punggung	<i>Nicolaia speciosa</i>	Zingiberaceae	Daun	TO
140.	Puar sisim	<i>Etingera elatior</i>	Zingiberaceae	Buah	BP
141.	Puar tapoi	-	Zingiberaceae	Buah	BP
142.	Puar tekelu	-	Zingiberaceae	Buah	BP
143.	Puding rimbo	<i>Garcinia sp.</i>	Clusiaceae	Daun	TO
144.	Pulai	<i>Alstonia scholaris</i>	Apocynaceae	Tanaman	SM
145.	Rambutan	<i>Nephelium lappaceum</i>	Sapindaceae	Buah Daun	BP TO
146.	Rantaih	<i>Canarium sp.</i>	Burseraceae	Buah	BP
147.	Ribu-ribu	-	-	Tanaman	TI
148.	Rotan badak	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	PRT
149.	Rotan cikoi	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Buah	BP
150.	Rotan kesur	-	Arecaceae	Batang	PRT
151.	Rotan manis bodoh	-	Arecaceae	Buah	BP
152.	Rotan peledas	-	Arecaceae	Batang	PRT
153.	Rotan semambu	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	PRT
154.	Rotan sioh	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	PRT
155.	Rotan temati	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	PRT
156.	Rotan temiang	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	PRT
157.	Rotan udang	<i>Calamus sp.</i>	Arecaceae	Batang	TT
158.	Rukam	<i>Flacourtia rukam</i>	Flacourtiaceae	Buah	BP
159.	Rumput kayu babi	<i>Ocimum sp.</i>	Lamiaceae	Daun	TO
160.	Rumput kerut	<i>Mimosa pudica</i>	Mimosaceae	Daun	TO
161.	Sawat	<i>Tacca integrifolia</i>	Taccaceae	Akar	TO
162.	Sebaloe	-	Araceae	Daun	TI
163.	Sebungon	<i>Macaranga gigantea</i>	Euphorbiaceae	Getah batang Batang	TO BB
164.	Sekedemek	<i>Clidemia hirta</i>	Melastomataceae	Daun	TO
165.	Sekusut	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
166.	Selancang berlari	<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Umbi	BP
167.	Selentuk	<i>Labisia pumila</i>	Myrsinaceae	Daun muda	TO
168.	Selolah	<i>Aporusa arborea</i>	Euphorbiaceae	Batang	BB
169.	Selolah	<i>Aporusa nervosa</i>	Euphorbiaceae	Batang	BB
170.	Selolah	<i>Aporusa subcordata</i>	Euphorbiaceae	Batang	BB

Tabel 1. Jenis-jenis tumbuhan yang dimanfaatkan oleh Suku Kubu (*lanjutan*).

No.	Nama lokal	Nama jenis	Famili	Bagian bermanfaat	Kegunaan
171.	Semampot	<i>Gynotroches axillaris</i>	Rhizophoraceae	Batang	BB
172.	Semasong	<i>Vatica sp.</i>	Dipterocarpaceae	Batang	BB
173.	Semeragi	<i>Carallia brachiata</i>	Rhizophoraceae	Batang	BB
174.	Sempalai	<i>Tetracera sp.</i>	Dilleniaceae	Air batang	TO
175.	Sempedu tanah	<i>Eurycoma longifolia</i>	Simaroubaceae	Akar	TO
176.	Sepah	-	-	Batang	BB
177.	Serdang	<i>Livistona chinensis</i>	Arecaceae	Daun	BA
178.	Siluk	<i>Gironniera nervosa</i>	Ulmaceae	Akar, daun	TO
179.	Simasom	<i>Symplocos cochinchinensis</i>	Symplocaceae	Getah batang	BK
180.	Singoris	<i>Koompassia malaccensis</i>	Fabaceae	Daun	PUB
				Batang	BB
181.	Sirih	<i>Piper betle L.</i>	Piperaceae	Daun	BP
182.	Sisik beneng	<i>Magnolia sp.</i>	Magnoliaceae	Batang	BB
183.	Tampoi sebangang	<i>Baccaurea sp.</i>	Euphorbiaceae	Buah	BP
184.	Tandai	<i>Mangifera pajang</i>	Anacardiaceae	Buah	BP
185.	Tayai	<i>Mangifera sp.</i>	Anacardiaceae	Buah	BP
186.	Tebedak	<i>Artocarpus champeden</i>	Moraceae	Buah	BP
187.	Tebo kapuk	<i>Saccharum officinale</i>	Poaceae	Batang	BP
188.	Tebo landak	<i>Saccharum officinale</i>	Poaceae	Batang	BP
189.	Tebo lian	<i>Saccharum officinale</i>	Poaceae	Batang	BP
190.	Tebo pupu	<i>Saccharum officinale</i>	Poaceae	Batang	BP
191.	Tembesu	<i>Fagraea fragrans</i>	Loganiaceae	Batang	BB,PRT
192.	Tengguli	<i>Gardenia augusta</i>	Rubiaceae	Buah	BP
193.	Terap	<i>Artocarpus elasticus</i>	Moraceae	Kulit batang	PDL
194.	Terentang	<i>Buchanania sessilifolia</i>	Anacardiaceae	Batang	BB
195.	Tobu punggung	<i>Costus speciosus</i>	Zingiberaceae	Daun	TO
196.	Tontomu	<i>Goniothalamus macrophyllus</i>	Annonaceae	Daun	PUB
197.	Tunom	<i>Scapium macropodum</i>	Sterculiaceae	Kulit batang	MM
198.	Ubi kayu	<i>Manihot esculenta</i>	Euphorbiaceae	Umbi, daun	BP

Keterangan :

AB = alat berburu	BR = bahan rempah	PDL = pakaian dalam laki-laki	TI = tumbuhan insektisida
AR = acara ritual	BW = bahan warna	PG = penggumpal getah	TMB = tempat merendam banar
BA = bahan atap	KB = kayu bakar	PN = pembungkus nasi	TMG = tempat menampung getah
BB = bahan bangunan	KP = kayu pasak	PRT = perabot rumah tangga	TO = tumbuhan obat
BD = bahan dempul	MM = mengambil madu	PT = pembungkus tembakau	TT = tali temali
BK = bahan karet	MP = menugal padi	PUB = pengeras ubun-ubun bayi	TTI = tumbuhan tuba ikan
BP = bahan pangan	PB = pakan burung	SM = sarang madu	UL = umpan landak

Tumbuh-tumbuhan sebagai penghasil getah yaitu jenis-jenis balam (*Palaquium spp.*) ditebang pada pagi hari, jelutung (*Dyera costulata*) dan karet (*Hevea brasiliensis*) keduanya diambil getahnya dengan cara disadap. Penyadapan biasa dilakukan orang kampung dengan sistem bagi hasil, yaitu: 2 bagian untuk penyadap dan 1 bagian pemilik pokok pohon.

Beberapa jenis tumbuhan digunakan sebagai bahan bangunan, di antaranya kayu hitam (*Diospyros spp.*), singoris (*Kompasia malaccensis*), medang puding (*Litsea oppositifolia*), kayu penggitan (*Polyalthia sumatrana*), meranti (*Shorea spp.*), dan selorah (*Aporosa spp.*)

Beberapa jenis tumbuhan sebagai bahan obat di antaranya adalah akar kunyit (*Arcangelisia flava*) dicampur dengan ako habu (*Stephania japonica*), keduanya direbus untuk mengobati sakit kuning. Sulistiarini (1992) mengatakan bahwa kayu akar kunyit yang masih muda digunakan sebagai obat

yang dikenal dengan nama kayu sariawan. Dinamakan demikian karena mungkin air yang keluar dari bagian tersebut enak diminum dan digunakan sebagai obat sariawan dan panas dalam. Bahan yang sama dipakai untuk meramu rokok dan dimanfaatkan sebagai obat sariawan hidung. Air rebusan kayu akar kunyit yang dicampur dengan daun sirih dan jeruk dipakai sebagai obat penyakit kuning, gangguan pencernaan dan obat cacing. Sebagai obat luar, air rebusan kayu akar kunyit digunakan untuk membersihkan luka bernanah dan penyakit gatal. Tumbuhan ini mempunyai status kelangkaan dan ancaman "rawan", karena yang digunakan sebagai obat adalah kayunya yang diambil dengan menebang pohon, maka ancaman kepunahan populasinya relatif tinggi, apalagi pertumbuhannya lambat sehingga regenerasinya tidak terjamin. Sempedu tanah atau pasak bumi (*Eurycoma longifolia*) direbus akarnya untuk mengobati malaria.

Rifai (1992) menyatakan bahwa sebenarnya pasak bumi sudah lama dipakai orang sebagai ramuan pelbagai obat tradisional. Peningkatan pemakaiannya secara mencolok terjadi sesudah terungkap manfaatnya sebagai obat kuat lelaki. Untuk itu orang menampilkan cara penggunaannya dalam berbagai bentuk baru, misalnya dengan mengukir batang dan akarnya menjadi cangkir minum ataupun sebagai tongkat. Tumbuhan ini mempunyai status kelangkaan dan ancaman "terkikis". Untuk mengobati berak darah digunakan ako kepah (*Spatholobus ferrugineus*) diambil kulit batangnya dan direbus selanjutnya diminum atau dapat juga memanfaatkan sawat (*Tacca integrifolia*) yang diambil akarnya, lalu direbus dan diminum. Akar selusuh (*Luvunga eleutherandra*) direndam ke dalam air panas dan kemudian diminum dapat untuk melancarkan persalinan. Jika ada yang sakit pinggang maka mereka mengobatinya dengan selentuk (*Labisia pumila*) diambil daun mudanya kemudian dibakar di atas api dan ditempelkan ke pinggang atau kayu cendewon malam (*Cyrtandra picta*) diambil daunnya dan dibakar di atas api kemudian ditempelkan ke pinggang. Tobu punggung (*Costus speciosus*) yang daunnya direbus dapat untuk mengobati panas dalam. Luka baru dapat diobati dengan daun sekedemek (*Clidemia hirta*) yang dipanaskan kemudian ditempelkan ke bagian yang luka. Selain itu dapat juga menggunakan daun kenoik emdapat (*H. macrocarpa*) yang dilumatkan lalu ditempelkan ke bagian yang luka. Di samping itu terdapat pula 'Besale' yaitu upacara pengobatan yang diselenggarakan oleh dukun. Dukun kampung adalah orang yang mengobati macam-macam penyakit, adapun orang yang membantu proses persalinan disebut Tohutangan.

KESIMPULAN

Masyarakat Anak Dalam (Kubu) masih sangat tergantung kepada tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitarnya dalam memenuhi kebutuhan hidup. Tercatat 198 jenis tumbuhan yang dimanfaatkan, yakni: untuk bahan pangan (69 jenis), obat (39 jenis), peralatan rumah tangga (11 jenis), bahan bangunan

(42 jenis), acara ritual (9 jenis), penghasil getah (5 jenis), dan lain-lain (23 jenis). Ada beberapa jenis tumbuhan obat yang sudah dikategorikan langka yaitu sempedu tanah (*Eurycoma longifolia*) dengan status terkikis, akar kunyit (*Arcangelisia flava*) dengan status rawan, dan potoi (*P. roxburghii*) dengan status jarang.

Masyarakat Anak Dalam (Kubu) merupakan masyarakat yang nomad, berpindah dari satu lokasi ke lokasi lain untuk meramu, mengumpulkan dan berkebun atau berladang. Mereka melakukan sistem perladangan berpindah dengan membentuk suatu siklus tertentu.

Masyarakat Anak Dalam (Kubu) sudah dapat menerima budaya dari luar lingkungannya sehingga sekarang mereka merasa membutuhkan adanya suatu hiburan dan juga informasi tentang perkembangan jaman dengan berusaha memiliki media elektronik seperti radio dan radio tape.

DAFTAR PUSTAKA

- Heyne, K. 1950. *De Nuttige Planten van Indonesie*. Djakarta: s'Gravenhage.
- Melalatoa, M.J. 1995. *Ensiklopedi Suku Bangsa di Indonesia*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan R.I.
- Muntholib. 1997. Orang Rimbo; prinsip kebudayaan, tradisi: ditinjau dari segi hukum adat, eksistensi atau pengakuan hak (HAM) dan otonomi mereka dalam kaitannya dengan pemanfaatan sumber daya alam. *Seminar Orang Rimbo. Kerjasama Warsi dengan BAPPEDA Tk.I Jambi*.
- Rifai, M.A. 1992. **Eurycoma longifolia** Jack. *Dalam*: Rifai, M.A. dkk. (ed.). Tiga Puluh Tumbuhan Obat Langka Indonesia. *Sisipan Floribunda 2*: 16-17.
- Sulistiarni, D. 1992. **Arcangelisia flava** (L.) Merr. *Dalam*: Rifai, M.A. (ed.). Tiga Puluh Tumbuhan Obat Langka Indonesia. *Sisipan Floribunda 2*: 10.
- Wiriadinata, H. 1992. **Parkia roxburghii** G. Don. *Dalam*: Rifai, M.A. (ed.). Tiga Puluh Tumbuhan Obat Langka Indonesia. *Sisipan Floribunda 2*: 21-22.
- Wiriadinata, H. 1997. Penelitian diversitas flora, tipe-tipe ekosistem hutan dan etnobotani di daerah penyangga Cagar Biosfer Bukit Duabelas, Propinsi Jambi. *Dalam*: *Laporan Kerjasama Baliitbang Botani, Puslitbang Biologi LIPI Bogor dan Warung Informasi Konservasi (WARS) Jambi*.
- Wiriadinata, H. dan F.M. Setyowati. 1998. Kajian pemanfaatan tumbuhan oleh Suku Anak Dalam di Cagar Biosfer Bukit Duabelas, Jambi. *Prosiding Seminar Nasional Etnobotani III*. Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor. Hal. 274-283.

missing file

REVIEW:

Genetic Diversity: Detection of Gene Variation at the DNA Level and Utilization of Gene Markers on Locating QTLs

SUTARNO

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Sebelas Maret University, Surakarta 57126

Received: 23 December 2002. Accepted: 15 January 2003

ABSTRACT

Advanced techniques of molecular biology have provided the opportunity to study genetic diversity within and among breeds at the single gene level. Many DNA markers, either of genomic DNA or cytoplasmic DNA, have been generated recently by utilizing molecular techniques, such as RFLP, microsatellites, PCR-RFLP, RAPD, sequencing etc. PCR-based techniques have recently progressed rapidly for the detection of both known- and unknown-mutation detections that may be applied in locating gene marker for economically important traits. There are basically two different approaches of locating quantitative trait loci (QTLs), candidate gene and random approaches. The first approach is based on prior supporting knowledge of physiological and biochemical evidence, showing that the gene is involved in the trait(s) of interest, while the random marker approach attempts to locate gene markers by measuring genotypes at a large number of loci with unknown phenotypic effects, in the hope that the loci are linked to a QTL influencing the trait of interest.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: gene variation, QTLs, gene marker.

DETECTION OF GENETIC DIVERSITY

Modern molecular technologies enable genetic variation to be identified directly at the DNA level. By utilizing genetic markers such as RFLP, minisatellite, microsatellite, PCR-RFLP and RAPD (Cushwa and Medrano, 1996), it may be possible to directly monitor the DNA variation responsible for phenotypic differences between lines of individuals. The ability to visualize polymorphisms at the DNA sequence level, combined with the development of powerful experimental designs, makes possible the ultimate objective of breeding for the improvement of production traits in livestock by DNA marker-based approaches.

The most important new technique that is now incorporated into almost all mutation-detection methods is the polymerase chain reaction (PCR), a reaction that exponentially amplifies defined regions of the genome (Saiki *et al.*, 1988). PCR-based techniques have recently progressed rapidly for the detection of both known- and unknown-mutation detections. For known mutations, the detection techniques are PCR-RFLP, ligase chain reaction (LCR), allele specific amplification (ASA), amplification refractory mutation system-PCR (ARMS-PCR) and short tandem (microsatellite) repeat-PCR (STR-PCR), while for unknown mutations, the techniques are heteroduplex polymorphism assay (HPA), single strand conformation polymorphism (SSCP), constant

denaturant capillary electrophoresis (CDCE), quantitative reverse-transcriptase PCR (QRT-PCR) and dideoxy fingerprinting (ddF) a method that combines SSCP and Sanger dideoxy sequencing. Many DNA markers, either of genomic DNA or cytoplasmic DNA, have been generated recently by utilizing molecular techniques, such as restriction fragment length polymorphism (RFLP), Microsatellites, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), random amplified polymorphic DNA (RAPD), sequencing, etc. Each of these methods has its own suitability, and advantages or disadvantages.

Restriction fragment length polymorphism (RFLP)

Restriction fragment length polymorphisms are genetic markers in which polymorphisms are detected and visualized in two steps; restriction endonuclease digestion and Southern blot hybridization (Winkelmann and Hodgetts, 1992). Restriction endonucleases recognize specific sequences, usually 4 to 8 bp long and catalyze endonucleolytic cleavages, resulting in fragments of defined length. These fragments can be separated by gel electrophoresis, transferred to a solid support such as nitrocellulose filter (Southern, 1975) and detected by hybridizing with radioactively labelled probes (Hallerman *et al.*, 1987; Jeffreys, Wilson and Thein, 1985), consisting of cloned DNA sequences homologous to a particular DNA fragment or some portion of it (Beckmann and Soller, 1983).

RFLPs have been widely used in both plant and animal agriculture as a means of identifying parentage and investigating polymorphic genetic loci affecting traits for marker assisted selection (Beckmann and Soller, 1987; Rafalski and Tingey, 1993). A major drawback of RFLPs, however, is the limited degree of variability of such loci. For example, a study of the Holstein-Friesian dairy cattle breed indicated that most RFLPs involved two allelic variants with the frequency of rare allele less than 0.10 (Hallerman *et al.*, 1988). In addition, RFLPs will be uninformative in pedigree analysis whenever critical individuals are homozygous (Jeffreys *et al.*, 1985). Kashi *et al.* (1986) also suggested that RFLPs have relatively little value for practical marker-based breeding applications; this is especially so since RFLP analysis cannot be automated for large scale applications (Rafalski and Tingey, 1993).

Microsatellites

Microsatellite, a new class of genetic marker, is a technique based on length variation within tandem arrays of di-, tri-, or tetra nucleotide motifs. Variable numbers of these nucleotide repeats may be amplified by PCR, and then detected as length variants by gel electrophoresis (Weber and May, 1989). This technique has low technical difficulties compared to RFLP analysis (Cushwa and Medrano, 1996), although sequence information is required to generate appropriate primers for PCR. In eukaryotic genomes, dinucleotide repeats, such as (AC)_n, (AG)_n and (AT)_n have been shown recently to be abundant and highly polymorphic (Weber and May, 1989). Microsatellites have been used for genotyping and constructing genetic maps in livestock species (MacHugh *et al.*, 1994; Yeh *et al.*, 1996).

Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

PCR-RFLP (Prosser, 1993; Unanian *et al.*, 1994) is a widely applied technique for the detection of DNA fragments of up to several kilobases (Mitchelson, Cheng and Kricka, 1997). This relatively new technique detects the availability of restriction endonuclease cleavage sites at a locus in amplified DNA fragments from target template. Base changes, insertion or deletion at the restriction site will result in different lengths of DNA fragments, which can be analyzed by UV detection when the digested fragments are run on an ethidium bromide-stained agarose gel.

This relatively new technique of identifying gene variants is based on PCR amplification and restriction endonuclease digestion of single loci (Lucy *et al.*, 1993; Unanian *et al.*, 1994). Base changes, insertions and deletions at the restriction site will result in different lengths of DNA fragments, which can be visualized using agarose gel electrophoresis.

This technique generates the same type of polymorphism as with traditional RFLP, but without

the need for Southern blotting (Cushwa and Medrano, 1996). It is therefore more sensitive and rapid compared with standard blotting and hybridization (Weber and May, 1989). In addition, this technique requires very little DNA, less than 100ng, compared to 2-10 g of DNA in traditional RFLP (Rafalski and Tingey, 1993). It has been extensively used for detecting gene polymorphisms in the growth hormone gene in cattle (Lucy *et al.*, 1993; Mitra *et al.*, 1995; Unanian *et al.*, 1994; Sutarno, 1997), kappa-casein, beta-casein and beta lactoglobulin in cattle (Dellama and Zago, 1996; Sabour *et al.*, 1996), MHC genes (Teutsch *et al.*, 1996), ABO blood group genes (Fukumori *et al.*, 1995; Sasaki and Shiono, 1996), and alcohol dehydrogenase (ADH) aldehyde dehydrogenase (ALDH) genes (Suzuki *et al.*, 1994), and bovine mitochondrial DNA (Sutarno, 2002).

Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

This method is based on the PCR amplification of genomic regions using short arbitrary oligonucleotide primers (Williams *et al.*, 1990). Amplification with the arbitrary primers results in several discrete products, since each short oligonucleotide primer is capable of amplifying a number of fragments from different loci in the same PCR reaction (Waugh and Powell, 1992). These can be separated by agarose gels and visualized by staining with ethidium bromide.

The sensitivity of RAPD in detecting polymorphisms due to single base mismatch between primer and template and mutations that affect the primer binding site or prevent amplification, has been demonstrated (Williams *et al.*, 1993), and applied extensively for genetic analysis in mice (Cheah *et al.*, 1994), and in many livestock animals, such as cattle (Kemp and Teale, 1994), goats (Cargill *et al.*, 1995), chickens (Plotsky *et al.*, 1995) and horses (Bailey and Lear, 1994).

Cushwa and Medrano (1996) suggested that RAPD markers are very useful for identifying breed or species-specific markers and the estimation of genetic divergence between breeds. The technique offers a quick and efficient assay for screening DNA polymorphism at a very large number of loci. The difficulty of reproducibility of this technique (Rafalski and Tingey, 1993), may be overcome by eliminating variation in DNA concentration, and maintaining consistent reaction conditions and thermal profile during amplification.

Utilization of gene markers

Because most traits of economic importance in livestock are quantitative in nature and controlled by many quantitative trait loci (QTLs) as well as environmental factors, it is generally impossible to genotype a certain animal with respect to an economic trait based on the examination of the phenotypic characteristics only. Traditionally, the genetic basis of polygenic traits has been approached by biometrical-statistical analysis, dealing with all the

numerous loci with individual small contributions to the total of the quantitative trait variation. A gene marker for a quantitative trait is defined as a variable DNA sequence that co-occurs with a variable quantitative trait, either because it directly influences the trait or because it is linked to another DNA sequence that influences the trait (Lymbery, 1996). Gene markers will be very useful additions to the traditional biometric approach to accurately selecting superior animals with the trait of interest (Soller, 1994; Schlee *et al.*, 1994; Whittaker *et al.*, 1995). There are basically 2 major approaches to locating genes that influence quantitative phenotype traits: the candidate marker and random marker approach (Cheverud and Routman, 1993).

Quantitative traits

Quantitative genetics is concerned with the inheritance of quantitative differences between individuals (Falconer, 1976). Quantitative traits caused by many genes, each having a small effect on the total phenotype, and by the environment in which those genes are expressed. Genes influencing quantitative traits are called quantitative trait loci (QTLs). In other word, a quantitative trait locus (QTL) is the location of a gene that affects a trait that is measured on a quantitative scale.

APPROACHES TO LOCATING GENE MARKERS

Candidate gene approach

The approach of locating candidate gene markers is based on prior supporting knowledge of physiological and biochemical evidence, showing that the gene is involved in the trait(s) of interest. An example of this approach is in choosing growth hormone and insulin-like growth factor 2 (IGF-2) loci for studying genes affecting murine growth (Winkelmann and Hodgetts, 1992), since the products of the genes, growth hormone and insulin-like growth factor-2, are known to be important in somatic growth.

The advantages of the approach are basically drawn from the involvement of the gene in determining the phenotypic trait. This approach is relatively straight forward, only focusing on relevant genes for the phenotypic characters of interest, can measure directly to the genotypic value, and is suitable for analyses which determine the contribution of the candidate locus to the total phenotypic variance of the trait. Moreover, the results are interpretable in term of trait physiology and the gene of interest can be located from known protein products by standard techniques.

The first step in finding candidate markers is to identify a locus or loci of interest, based on prior evidence of biochemical and physiological correlation with the phenotype, and then identify molecular variants at or near the loci. Molecular variants are usually identified by RFLP, PCR-RFLP, microsatellite

or any other molecular methods. After molecular variants are identified and grouped into genotype classes, differences in phenotypic value between the classes can be statistically tested using suitable analyses. The disadvantage of the candidate gene approach is that it is limited to certain traits with known biochemical and physiological causation. In addition, molecular variation at the candidate gene locus must exist and be both segregating and measurable in the population under study (Cheverud and Routman, 1993).

Random marker approach

In contrast to the candidate gene approach, the random marker approach attempts to locate gene markers by measuring genotypes at a large number of loci with unknown phenotypic effects, in the hope that the loci are linked to a QTL influencing the trait of interest. Generally, for the detection of linkage, the markers and QTL need to be located within at least 20cM to as close as 1cM (Soller *et al.*, 1976; Terwilliger, 1995), so variable markers are required throughout the genome.

The approach has been used recently for detecting linkages to economically important traits of livestock species, such as cattle (Barendse *et al.*, 1994; Bishop *et al.*, 1994; Bishop, 1995), sheep (Crawford *et al.*, 1995), pigs (Archibald *et al.*, 1995), and chickens (Burt *et al.*, 1995). It has also detected many QTLs in agricultural plants (Paterson *et al.*, 1990; Edwards *et al.*, 1992).

The advantages of this approach are that it is not limited to the traits that have already known biochemical and physiological causation and it searches variable markers on the entire genome, so it provides more possibilities for finding multiple QTLs even in locations that have not been previously been known to affect the trait of interest. This approach is suitable for locating QTLs of crosses between genetically and phenotypically divergent populations, since they will provide more variable markers.

The disadvantages of the approach are that the measures of the genetic effect are hard to interpret in term of specific biochemical and physiological relationship to the traits, since the loci detected are of unknown function. Moreover, the approach may be more suitable for experimental crosses between divergent populations than for the study of QTLs in natural populations, where specific crosses cannot be made. In addition, the approach is less valuable than the candidate marker approach, and eventual cloning of the QTL requires a linkage map containing a candidate sequence or a high-resolution physical map, which are not available for all species.

CONCLUSION

New technologies in molecular genetics potentially enable direct analysis of genetic diversity and traits at

the level of the gene. Coupled with innovations in quantitative genetics, advances in molecular genetics enable us to identify, map and measure the effects of quantitative trait loci (QTL) affecting production traits. The isolation and analysis of single genes are now standard molecular genetic techniques, as is the ability to transfer the isolated gene from one animal (plant) to another animal (plant), to produce a transgenic. It is therefore possible that these new techniques of molecular genetics will have a significant impact on animal/ plant breeding in the near future.

REFERENCES

- Archibald, A.L., C.S. Haley, J.F. Brown, S. Couperwhite, and H.A. McQueen. 1995. The PiGMaP consortium linkage map of the pig *Sus scrofa*. *Mammalian Genome* 6: 157-175.
- Bailey, E. and T.L. Lear. 1994. Comparison of thoroughbred and Arabian horses using RAPD markers. *Animal Genetics* 25: 105-108.
- Barendse, W., S.M. Armitage, L.M. Kossarek, A. Shalom, and B.W. Kirkpatrick. 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics* 6: 227-235.
- Beckmann, J.S. and M. Soller. 1983. restriction fragment length polymorphism s in genetic improvement: Methodologies, mapping and costs. *Theoretical and Applied Genetics* 67: 35-43.
- Beckmann, J.S. and M. Soller. 1987. Molecular marker in the genetic improvement of farm animals. *Bio/Technology* 5: 573-576.
- Bishop, M.D., S.M. Kappes, J.W. Keele, R.T. Stone, S.L.F. Sunden, G.A. Hawkins, S.S. Toldo, R. Fries, M.D. Grosz, J.Y. Yoo, and C.W. Beattie. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136: 619-639.
- Bishop, S.C. 1995. A comparison of bonus and quota mating systems for utilising the sex-determining region Y gene in terminal sire beef cattle breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 487-491.
- Burt, D.W., N. Bumstead, J.J. Bitgood, F.A.P. Deleon, and L.B. Crittenden. 1995. Chicken genome mapping - A new era in avian genetics [Review]. *Trends in Genetics* 11, 190-194.
- Cargill, S.L., G.B. Anderson, and J.F. Medrano. 1995. Development of a species-specific marker using RAPD analysis to distinguish between sheep and goats. *Animal Biotechnology* 6: 93-100.
- Cheah, Y.C., J.H. Nadeau, S. Pugh, and B. Paigen. 1994. New murine polymorphisms detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR and mapped by use of recombinant inbred strains. *Mammalian Genome* 5: 762-767.
- Cheverud, J.M. and E. Routman. 1993. Quantitative trait loci - individual gene effects on quantitative characters [Review]. *Journal of Evolutionary Biology* 6: 463-480.
- Crawford, A.M., K.G. Dodds, A.J. Ede, C.A. Pierson, and G.W. Montgomery. 1995. An autosomal genetic linkage map of the sheep genome [Review]. *Genetics* 140: 703-724.
- Cushwa, W.T. and J.F. Medrano. 1996. Applications of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for genetic analysis of livestock species. *Animal Biotechnology* 7: 11-31.
- Dellama, S.N. and M.A. Zago. 1996. Identification of the kappa-casein and beta-lactoglobulin genotypes in Brazilian **Bos indicus** and **Bubalus bubalis** populations. *Brazilian Journal of Genetics* 19: 73-77.
- Edwards, M.D., T. Helentjaris, S. Wright, and C.W. Stuber. 1992. Molecular marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 765-774.
- Falconer, D.S. 1976. *Introduction to Quantitative Genetics*. London: Longman Group Limited.
- Fukumori, Y., S. Ohnoki, H. Shibata, H. Yamaguchi, and H. Nishimukai. 1995. Genotyping of ABO blood groups by PCR and RFLP analysis of 5 nucleotide positions. *International Journal of Legal Medicine* 107: 179-182.
- Hallerman, E.M., A. Nave, Y. Kashi, Z. Halzer, M. Soller, and J.S. Beckmann. 1987. restriction fragment length polymorphism s in dairy and beef cattle at the growth hormone and prolactin loci. *Animal Genetics* 18: 213-222.
- Jeffreys, A.J., V. Wilson, and S.L. Thein. 1985. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* 314: 67-73.
- Kashi, Y., M. Soller, E. Hallerman, and J.S. Beckmann. 1986. restriction fragment length polymorphism s in dairy cattle genetic improvement. *Proceeding of Third International Congress on Genetic Application and Livestock Production, Lincoln, USA* 12: 576-631.
- Kemp, S.J. and A.J. Teale. 1994. Randomly primed PCR amplification of pooled DNA reveals polymorphism in a ruminant repetitive DNA sequence which differentiates **Bos indicus** and **B. taurus**. *Animal Genetics* 25: 83-88.
- Lymbery, A.J. 1996. Finding genetic markers for complex phenotypic traits in parasites. *International Journal for Parasitology* 26: 7-17.
- Lucy, M.C., S.D. Hauser, P.J. Eppard, G.G. Krivi, J.H. Clark, D.E. Bauman, and R.J. Collier. 1993. Variants of somatotropin in cattle - gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Domestic Animal Endocrinology* 10: 325-333.
- MacHugh, D.E., R.T. Loftus, D.G. Bradley, P.M. Sharp, and P. Cunningham. 1994. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 256: 25-31.
- Mitchelson, K.R., J. Cheng, and L.J. Kricka. 1997. The use of capillary electrophoresis for point-mutation screening. *TIBTECH* 15: 448-458.
- Mitra, A., P. Schlee, C.R. Balakrishnan, and F. Pirchner. 1995. Polymorphisms at growth-hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie* 112: 71-74.
- Paterson, A.H., J.W. DeVerna, B. Lanini, and S.D. Tanksley. 1990. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes in an interspecies cross of tomato. *Genetics* 124: 735-742.
- Plotsky, Y., M.G. Kaiser, and S.J. Lamont. 1995. Genetic characterization of highly inbred chicken lines by two DNA methods - DNA fingerprinting and polymerase chain reaction using arbitrary primers. *Animal Genetics* 26: 163-170.
- Rafalski, J. A. and S.V. Tingey. 1993. Genetics diagnostics in plant breeding - RAPDs, microsatellites and machines [Review]. *Trends in Genetics* 9: 275-280.
- Sabour, M.P., C.Y. Lin, A.J. Lee, and A.J. McAllister. 1996. Association between milk protein genetic variants and genetic values of Canadian holstein bulls for milk yield traits. *Journal of Dairy Science* 79: 1050-1056.
- Saiki, R. K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis, and H.A. Erlich. 1988. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Sasaki, M. and H. Shiono. 1996. ABO genotyping of suspects from sperm DNA isolated from postcoital samples in sex crimes. *Journal of Forensic Sciences* 41: 275-278.
- Schlee, P., R. Graml, E. Schallenberger, D. Schams, O. Rottmann, A. Olbrichbludau, and F. Pirchner. 1994. Growth hormone and insulin like growth factor I concentrations in bulls of various growth hormone genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 497-500.
- Southern, E. M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology* 98: 503-517.
- Soller, M. 1994. Marker assisted selection - an overview. *Animal Biotechnology* 5: 193-207.
- Sutarno, J.M. Cummins, J. Greeff, and A.J. Lymbery. 2002. Mitochondrial DNA polymorphisms and fertility in beef cattle. *Theriogenology* 57: 1603-1610.
- Sutarno and A.J. Lymbery. 1997. New RFLPs in the mitochondrial genome of cattle. *Animal Genetics* 28 (3): 240-241.
- Terwilliger, J.D. 1995. A powerful likelihood method for the analysis of linkage disequilibrium between trait loci and one or more polymorphic marker loci. *American Journal of Human Genetics* 56: 777-787.
- Teutsch, S.M., B.H. Bennetts, M. Castle, M. Hibbins, R.N.S. Heard, and G.J. Stewart. 1996. Hla-Dqa1 and -Dqb1 genotyping by PCR-RFLP, heteroduplex and homoduplex analysis. *European Journal of Immunogenetics* 23: 107-120.
- Unanian, M.M., S.K. Denise, H.M. Zhang, and R.L. Ax. 1994. Rapid communication - polymerase chain reaction - restriction

- fragment length polymorphism in the bovine growth hormone gene. *Journal of Animal Science* 72: 2203.
- Waugh, R. and W. Powell. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *TIBTECH* 10: 186-191.
- Weber, J.L. and P.E. May. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics* 44: 388-396.
- Whittaker, J.C., R.N. Curnow, C.S. Haley, and R. Thompson. 1995. Using marker-maps in marker-assisted selection. *Genetical Research* 66: 255-265.
- Williams, J.G.K., A. Kubelik, K. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18: 6531-6535.
- Williams, J.G.K., M.K. Hanafey, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods Enzymology* 218: 704-740.
- Winkelmann, D.C. and R.B. Hodgetts. 1992. RFLPs for somatotropic genes identify quantitative trait loci for growth in mice. *Genetics* 131: 929-937.
- Yeh, C.C., J.F. Taylor, D.S. Gallagher, J.O. Sanders, J.W. Turner, and S.K. Davis. 1996. Genetic and physical mapping of the bovine X chromosome. *Genomics* 32: 245-252.

REVIEW:

Penyudetan Sungai Citanduy, Buah Simalakama Konservasi Ekosistem Mangrove Segara Anakan***Citanduy river diversion, advantages and disadvantages plan to conserve mangrove ecosystem in Segara Anakan*****KUSUMO WINARNO, AHMAD DWI SETYAWAN**Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126
Program Studi Ilmu Lingkungan, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126

Diterima 21 Desember 2002. Disetujui 15 Januari 2003.

ABSTRACT

Mangrove ecosystem at Segara Anakan lagoon, Cilacap having specific characteristics so that in developing this area should consider the conservation aspect. This area is the widest conserved-mangrove ecosystem at Java, and the place for breeding of many species of fish, crustacean and others. Thousand families of fisheries were supported both direct and indirectly from this ecosystem. However, along with the development activities in the watershed of Citanduy, Cimeneng/Cikonde and other rivers connected to the area has brought about the increase of sediment, and threaten the existence of the lagoon and surrounding mangrove ecosystem. Diversion of Citanduy river, dredging sediment, and reboisation of the watershed river was a preference of conserving the ecosystem, however, the diversion could be forming a new ecosystem, that actually threat the fisheries and tourism activities at Pangandaran, Ciamis.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: mangrove, Citanduy river, Segara Anakan lagoon, sedimentation, diversion.**PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara pemiliki ekosistem mangrove terluas di dunia. Dari 15,9 juta ha mangrove dunia, sekitar 4,25 juta ha (27%) berada di Indonesia (FAO, 1982), namun luasan mangrove berkurang sangat cepat. Pada tahun 1982-1993 luas hutan mangrove berkurang sekitar 50%, hingga tinggal 2.496.185 ha (Dephut, 1994). Pada tahun 1985 luas hutan mangrove di Jawa masih 170.500 ha dan di Jawa Tengah masih 46.500 ha (Giesen, 1993), namun pada tahun 1997 secara berturut-turut luasnya tinggal 19.077 ha (11,19%) dan 13.577 ha (29%) (Republika, 23/7/2002). Pada tahun 1942 luas hutan mangrove di Segara Anakan masih 22.512 ha, namun pada tahun 1997 tinggal 8.958 ha (Suara Pembauran, 25/8/2002). Bahkan kajian terbaru menunjukkan luasnya tinggal 1.800 ha (Republika, 24/3/2001) atau tinggal 1.125 ha (Pikiran Rakyat, 1/5/2002). Kawasan Segara Anakan sendiri mencakup wilayah seluas 34.018,62 ha, meliputi 26.780,65 ha daratan dan 7.237,97 ha perairan (Suara Merdeka, 26/5/2001).

Degradasi hutan mangrove umumnya disebabkan reklamasi untuk membangun tambak udang, ikan,

dan garam (Terchunian *et al.*, 1986; Primavera, 1993), di samping itu diakibatkan pula oleh penebangan hutan (Walsh, 1974; Hussein, 1995), konversi hutan kayu putih (Kedaulatan Rakyat, 27/9/2001; Suara Merdeka, 16/6/2001), pertambangan, pembendungan sungai, pencemaran lingkungan (Lewis, 1990), tumpahan minyak (Ellison dan Farnsworth, 1996; IPIECA, 1993), pertanian, dan bencana alam (Nybakken, 1993; Knox dan Miyabara, 1984).

Ekosistem mangrove memiliki fungsi ekonomi, ekologi dan sosial-budaya sangat penting. Nilai ekonomi meliputi: kayu bangunan, kayu bakar, kayu lapis, bubur kertas, tiang telepon, tiang pancang, bagan penangkap ikan, dermaga, bantalan kereta api, kayu untuk mebel dan kerajinan tangan, atap, gula, alkohol, asam asetat, protein hewani, karbohidrat, madu, bahan obat, tannin, dan bahan pewarna (Ong, 2002; Manassrisuksi *et al.*, 2001; Ng dan Sivasothi, 2001; Dahdouh-Guebas *et al.*, 2000; Bandaranayake, 1998; Spaninks dan Beukering, 1997; IPIECA, 1993; Hamilton dan Snedaker, 1984).

Nilai ekologi mangrove paling utama adalah sebagai daerah pemijahan (*spawning ground*), daerah asuhan (*nursery ground*) dan tempat mencari makan (*feeding ground*) berbagai jenis ikan, udang,

kerang, burung dan biota lain (Haroen, 2002), di samping itu berperan pula sebagai penyerap karbon dioksida, filtrasi limbah, pembentuk daratan, menjaga kealamian habitat, menjaga pantai dari erosi, intrusi air laut, dan badai. Adapun nilai sosial-budayanya meliputi fungsi konservasi, pendidikan, ekoturisme, dan identitas budaya (Ong, 2002; Anonim, 2001; Manassrisuksi *et al.*, 2001; Ng dan Sivasothi, 2001; Spaninks dan Beukering, 1997; Tanaka, 1994; IPIECA, 1993; Howe *et al.*, 1992; Sukardjo, 1989; Tomlison, 1986; Thom, 1967).

Laguna Segara Anakan merupakan pertemuan muara sungai Citanduy, Cimeneng/Cikonde, Cibereum, Palindukan, serta beberapa sungai kecil lain yang dilindungi Pulau Nusakambangan dari gelombang laut selatan (Moeljono, 1982). Kawasan ini berair payau karena terhubung dengan laut melalui kanal barat dan timur. Kondisi itu sangat potensial bagi pertumbuhan hutan mangrove, serta menjadi daerah pemijahan, asuhan, dan mencari pakan berbagai jenis ikan, udang, kepiting, kerang, dan biota lain (Suara Pembauran, 25/8/2002; Haroen, 2002). Sehingga Segara Anakan sangat bernilai untuk mendukung perikanan di dalam laguna itu sendiri, dan di laut lepas pantai, serta merupakan sisa-sisa terakhir hutan mangrove terluas di pulau Jawa (Schweithelm, 1988; Amin dan Hariati, 1988).

Kini, sekitar 13.500 jiwa menempati tiga desa di Kecamatan Kawunganten, Kabupaten Cilacap yang dikenal sebagai Kampung Laut, yaitu: Desa Ujung Alang meliputi: Motean, Klaces, dan Mangunjaya; Ujung Gagak meliputi: Cibereum, Karanganyar, Karangari, Karangmulyo, dan Palindukan; serta Desa Panikel meliputi: Kalibener, Bugel, Muaradua, dan Panikel (Suara Pembauran, 9/4/2002; 25/8/2002; Nurwanto, 2001), serta satu desa Majingklak di Kecamatan Kalipucang, Kabupaten Ciamis. Akibat sedimentasi, Lempong Pucung (Suara Hidayatullah, 5/1999) dan Klaces (Kompas, 21/12/2002) praktis menyatu dengan Nusakambangan, sehingga orang luar dengan leluasa dapat masuk ke pulau tersebut tanpa meminta izin kepada pihak berwenang karena dengan berjalan kaki, terlebih pada musim kemarau sudah dapat memasukinya.

KEANEKARAGAMAN HAYATI EKOSISTEM MANGROVE SEGARA ANAKAN

Segara anakan merupakan barrier yang mencegah masuknya manusia ke kawasan Nusakambangan, sehingga pulau yang luasnya sekitar 12.106,43 ha ini menjadi salah satu warisan terakhir ekosistem hutan pantai dan hutan tropis dataran rendah di Jawa (Akar, 2001), sehingga terdapat upaya untuk mendirikan Pusat Riset Ekosistem Tropis di Cilacap (Kompas, 16/11/2002). Hutan Nusakambangan berperan dalam pengaturan tata lingkungan di sekitarnya, mencegah erosi, dan merupakan habitat berbagai jenis fauna langka, antara lain macan kumbang (*Panthera par-*

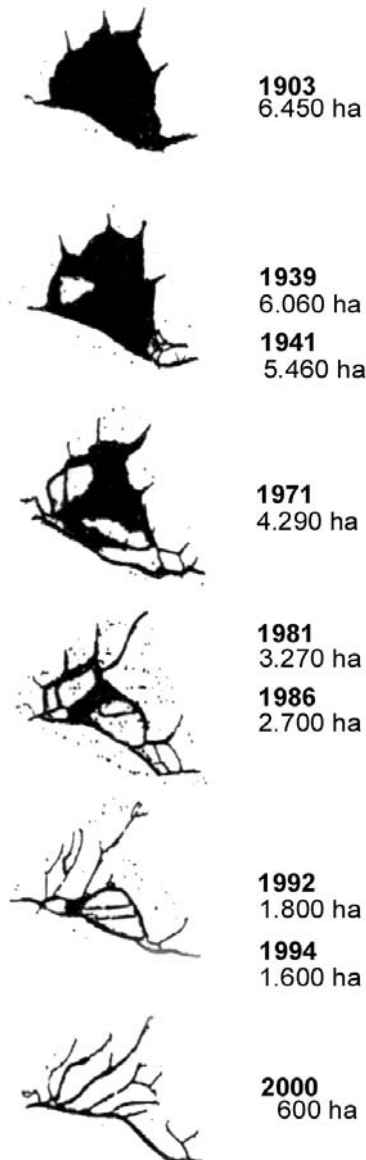
cus), landak (*Hystrix brachyura*), trenggiling (*Manis javanica*), ular sanca (*Python sp*), dan berbagai jenis burung seperti rangkong (*Buceros sp*). Di pulau ini telah berdiri empat kawasan konservasi alam kecil, yaitu Cagar Alam (CA) Nusakambangan Barat (928 ha), CA Nusakambangan Timur (277 ha), CA Wijayakusuma (1 ha), dan CA Karangbolong (0,5 ha) yang telah ditetapkan statusnya sejak jaman penjajahan Belanda (Sinar Harapan, 11/1/2003).

Hutan mangrove Segara Anakan di sebelah utara Nusakambangan merupakan ekosistem mangrove terluas di Jawa. Ekosistem mangrove merupakan salah satu ekosistem dengan keanekaragaman hayati tertinggi di daerah tropis. Flora tumbuhan mangrove di Indonesia terdiri dari 47 spesies pohon, 5 spesies semak, 9 spesies herba dan rumput, 29 spesies epifit dan 2 spesies parasit, di samping beberapa spesies algae dan bryophyta (Anonim, 1997). Di Segara Anakan terdapat 27 spesies tumbuhan mangrove, terdiri dari 13 spesies mayor, 8 spesies minor, dan 6 spesies tumbuhan asosiasi (Setyawan dkk., 2002). Jenis pohon mangrove yang mudah ditemukan adalah *Rhizophora apiculata*, *Bruguiera gymnorrhiza*, and *Aegiceras corniculatum*, sedangkan *Avicennia*, *Sonneratia* banyak dijumpai sebagai tumbuhan pioner daerah akresi (Soeroyo dan Soemodihardjo, 1990; Soemodihardjo *et al.*, 1988), dimana *Avicennia* tumbuh pada endapan tanah yang lebih lembek daripada *Sonneratia* (Harjosuwarno, 1978). Selama beberapa tahun hutan ini mengalami kerusakan terbukti adanya dominasi tumbuhan muda berupa pohon-pohon kecil yang membentuk semak dengan tinggi sekitar 5 m, sedangkan pohon-pohon besar telah ditebang dan banyak dijual sebagai kayu bakar (Harjosuwarno, 1978; Soemodihardjo *et al.*, 1988). Tempat-tempat terbuka bekas penebangan didominasi *Derris trifoliata*, *Finlaysonia maritima*, dan *Acanthus illicifolius* yang berkompetisi dengan sedling pohon mangrove (Soemodihardjo *et al.*, 1988).

Ekosistem mangrove juga kaya berbagai fauna. Laguna Segara Anakan menyediakan habitat bagi sekitar 85 spesies burung, fauna akuatik, rusa, monyet dan berbagai mamalia kecil lainnya (Segara Anakan, 1998). Nontji (1987) melaporkan bahwa kurang lebih 80 spesies dari Crustaceae dan 65 spesies Mollusca hidup pada ekosistem mangrove di Indonesia. Menurut Haroen (2002), tanaman dan seresah mangrove menjadi habitat berbagai fauna akuatik yang berasosiasi dengan ekosistem tersebut. Ekosistem ini berfungsi sebagai tempat untuk bertelur, memelihara larva, dan tempat pakan berbagai spesies akuatik, khususnya udang Penaeidae dan ikan bandeng (*Chanos chanos*).

Di perairan Segara Anakan, selain hidup ribuan jenis biota, hidup pula satwa langka yang dilindungi dan terancam punah, yaitu lumba-lumba khas yang disebut wersut (*Orcaella sp.*), kerabat dekat pesut sungai Mahakam dan lumba-lumba sungai Irrawaddy di Myanmar. Populasi satwa tersebut semakin menurun akibat perubahan habitat alami, seperti

pembuatan dermaga, pembabatan hutan mangrove, lalu lintas air yang semakin ramai, kurangnya sumber pakan, pencemaran lingkungan, dan pendangkalan (Sinar Harapan, 11/1/2003).



Gambar 1. Penurunan luas laguna Segara Anakan 1903-2000 (ECI, 1994).

Burung bangau (*Ciconia episcopus*) dan bangau tong-tong (*Myceteria cinerea*) masih ditemukan di hutan mangrove Segara Anakan. Unggas yang semakin langka ini termasuk binatang dilindungi, namun penangkapan burung masih terus berlangsung, baik ditangkap hidup-hidup untuk dijual di pasar burung, ataupun dibunuh untuk dimakan dagingnya. Pemburuan liar ini dapat mengancam kelestarian kehidupan bangau tersebut. Padahal upaya penangkaran seperti dilakukan Perhutani di Wana

Wisata Hutan Mangrove Tritih Kulon, Cilacap masih jauh dari berhasil (Suara Pembaruan, 25/11/2001; Segara Anakan, 1998). Di samping itu, kawasan Segara Anakan juga menjadi tempat perlindungan burung migran dari Asia, antara lain trinil (*Tringa stagnita*), grajakan (*Numentus spp*), dan cerek (*Charadrius javanicum*) (Nurwanto, 2001).

KERUSAKAN EKOSISTEM MANGROVE SEGARA ANAKAN

Indikasi kerusakan ekosistem hutan mangrove secara sederhana dapat diukur dari penurunan luas hutan. Penurunan luas terjadi oleh karena memang secara fisik tidak memungkinkan lagi berkembangnya tumbuhan mangrove, misalnya akibat sedimentasi yang tinggi dan abrasi, atau perubahan fisik lahan akibat intervensi manusia (Buana Katulistiwa, 2002).

Luas hutan mangrove Segara Anakan terus berkurang. Pada saat ini luasnya diperkirakan tinggal 1.800 ha (Republika, 24/03/2001) atau bahkan tinggal 1.125 ha (Pikiran Rakyat, 1/5/2002), sedangkan pada tahun 1942 masih 22.512 ha (Suara Pembauran, 25/8/2002). Di sisi lain luas laguna Segara Anakan juga terus menyusut. Pada tahun 1903 luasnya 6.450 ha, dan pada tahun 2000 diperkirakan luasnya tinggal 600 ha (Gambar 1.) (ECI, 1994), citra satelit pada bulan September 2002 menunjukkan luasnya tinggal 550 ha (Kompas, 21/12/2002). Sedimentasi tidak hanya mempersempit luas laguna namun juga membuatnya dangkal, pada tahun 1903 kedalaman laguna mencapai 30-40 m, namun pada tahun 2002 umumnya tinggal 0,5-1 m (Pikiran Rakyat, 7/11/2002; Suara Pembaruan, 9/4/2002).

Sedimentasi merupakan masalah utama yang mengancam kelestarian laguna dan hutan mangrove Segara Anakan. Di samping itu terdapat pula ancaman lain seperti penebangan hutan, pertambangan, dan berkembangnya desa-desa yang membutuhkan sarana dan prasarana kehidupan (Dudley, 2000), hingga muncul usulan untuk membatasi jumlah penduduk Segara Anakan (Suara Merdeka, 4/7/2001). Jumlah ideal penduduk pada kawasan pemukiman berkisar 80-150 jiwa/ha (Suara Merdeka, 26/5/2001).

Sedimentasi merupakan syarat utama terbentuknya ekosistem mangrove, di samping perlindungan dari ombak, masukan air tawar, aliran air pasang surut, dan suhu yang hangat (Walsh, 1974). Namun sedimentasi di Segara Anakan secara serius mengancam eksistensi kawasan mangrove. Sifat lagunanya yang tertutup, dimana muara sungai tidak langsung terhubung dengan laut bebas, menyebabkan sejumlah besar sedimen didepositkan dalam laguna. Sungai Citanduy membawa sejumlah besar lumpur erosi dari daerah hulu dan diendapkan di dalam laguna (Wirjodarmodjo dkk., 1978).

Setiap tahun sungai Citanduy dan Cimeneng/Cikonde masing-masing mengangkut 5 juta m³ dan 770.000 m³ sedimen, dimana 740.000 m³ dan

260.000 m³ di antaranya diendapkan di Segara Anakan (ECI, 1994). Pelumpuran ini menyebabkan menjoroknya daratan antara 17-30 m per tahun. Tanpa upaya yang berarti untuk mengatasinya, dalam jangka panjang ekosistem mangrove akan berubah menjadi ekosistem daratan, dengan jenis komponen biotik (flora dan fauna) yang berbeda (Tjitrosoepomo, 1981). Sehingga tidak hanya mempengaruhi komunitas alami dan habitatnya, namun juga mempengaruhi kultur masyarakat Kampung Laut (Hardoyo, 1982). Hal ini sudah terbukti dengan perubahan konstruksi rumah penduduk, dimana rumah-rumah penduduk yang sebagian besar nelayan semula merupakan rumah panggung di atas permukaan laut, namun kini sebagian besar sudah berubah menjadi rumah tembok di daratan (Pikiran Rakyat, 22/1/2001).

Sedimentasi menyebabkan berbagai permasalahan, seperti turunnya pendapatan nelayan yang merupakan pekerjaan sebagian besar penduduk (70-87,5%, tahun 1987), diubahnya area mangrove menjadi areal pertanian, munculnya konflik kepentingan antara penduduk setempat dengan Perhutani mengenai penggunaan tanah timbul, dan terancamnya Segara Anakan sebagai tempat pembibitan perikanan lepas pantai (Brotosusilo, 1988; Budihardjo, 1988). Bertambahnya daratan juga menimbulkan sengketa antara Perhutani yang ingin mempertahankannya sebagai hutan dan pemerintah daerah yang ingin mengubahnya menjadi lahan budidaya (Yudho, 1988).

Perubahan ekosistem perairan menjadi daratan mendorong penduduk untuk mengubah mata pencaharian dari nelayan menjadi petani (Brotosusilo, 1988), termasuk merambah hutan untuk mengambil kayu dan dijual sebagai kayu bakar atau arang. Meskipun mereka menyadari hal ini akan menurunkan produktivitas ikan dan udang (Republika, 24/03/2001). Pada tahun 2002 saja, untuk merestorasi hutan mangrove seluas 202,5 ha yang rusak akibat penebangan dan pertambahan, serta memelihara 700 ha hutan yang terancam rusak, diperlukan 470.575 berbagai jenis bibit mangrove (Pikiran Rakyat, 3/8/2002). Pada masa lalu banyak digunakan *Bruguiera gymnorrhiza* dan *Rhizophora mucronata* sebagai pohon penghijauan (Haditenojo dan Abbas, 1982; Moeliono, 1982).

Kebanyakan peneliti meyakini adanya hubungan positif antara besarnya hasil tangkapan ikan, udang dan biota laut komersial lainnya dengan kondisi ekosistem mangrove di wilayah pesisir, dimana semakin luas hutan mangrove maka semakin banyak udang yang tertangkap (Kompas, 18/4/2002; Sukartika, 1980). Hal ini dikarenakan ekosistem mangrove dapat menangkap bahan organik sehingga memiliki produktivitas tinggi sebagai sumber pakan ikan, perairan mangrove yang keruh dapat menurunkan jarak pandang predator, serta keanekaragaman struktur dan relung habitat mangrove menyediakan ruang yang luas untuk beragam

spesies. Jumlah hasil tangkapan perikanan komersial juga sangat dipengaruhi oleh kondisi geografi lokasi penangkapan, luas penutupan mangrove, luas wilayah pesisir, panjang garis pantai, luas area pasang surut, karakter sungai, dan masukan bahan organik (Haroen, 2002).

Kerusakan hutan mangrove menyebabkan merosotnya nilai potensi ekonomi Segara Anakan, karena berkurangnya tempat pemijahan udang, ikan dan biota lain yang bernilai ekonomi tinggi. Nilai total ekonomi ekosistem mangrove Segara Anakan sebesar Rp. 140.880.427.700 per tahun atau Rp. 8.188.980 per hektar per tahun, dimana sebagian besar berupa sumberdaya alam perairan (Paryono dkk., 1999). Penelitian pada tahun 1999-2000 menunjukkan 8% ikan dan 34% udang yang ditangkap nelayan di perairan pantai Cilacap dan Ciamis menetas dan dibesarkan di Segara Anakan, angka ini senilai Rp. 62 milyar per tahun (Dudley, 2000). Rusaknya lingkungan di Segara Anakan mengancam nasib sekitar 22.000 nelayan (Pikiran Rakyat, 1/5/2002).

Sedimentasi tidak hanya menimbulkan kerugian material namun juga menyebabkan kematian akibat bencana banjir (Kompas, 30/10/2001). Faktor utama penyebab banjir adalah melimpahnya curah hujan, hingga tidak dapat diserap tanah dan tidak dapat ditampung sungai-sungai (Buana Katulistiwa, 2002). Sedimentasi menyebabkan laguna Segara Anakan menyempit, dangkal, dan menaikkan dasar sungai terutama di kawasan muara, sehingga daya tampungnya berkurang. Akibatnya dataran di sepanjang tepian sungai-sungai yang bermuara di Segara Anakan menjadi langganan banjir rutin setiap musim hujan (Suara Pembaruan, 26/5/2002; Mitra Bisnis, 11/2001; Kompas, 30/10/2001;).

Kepadatan penduduk di daerah aliran sungai (DAS) menyebabkan besarnya permintaan akan sumberdaya, sehingga ekosistem alami diubah menjadi lahan pemukiman, pertanian, usaha, jalan dan lain-lain, akibatnya terjadi penurunan kemampuan tanah dalam menyerap air. Kegiatan yang paling serius menyebabkan terjadinya banjir adalah penggundulan hutan, baik oleh pencuri kayu dan perambah hutan ataupun oleh aparat Perhutani dengan dalih penjarangan tanaman. Hal ini terbukti pada kasus banjir besar pada bulan Oktober 2000 di Cilacap (Buana Katulistiwa, 2002; Kompas, 21/03/01). Penyudetan sungai Citanduy dan Cimeneng/Cikonde diperkirakan dapat mengurangi banjir di Kecamatan Kawunganten, Sidareja, dan Patimuan, Kabupaten Cilacap, serta di Kecamatan Kalipucang, Padaherang, dan Lakbok, Kabupaten Ciamis (Suara Pembaruan, 6/7/2002; 26/5/2002; Mitra Bisnis, 11/2001).

PENYUDETAN SUNGAI CITANDUY

Sungai Citanduy berasal dari mata air di Gunung Cakrabuana (1.921 m dpl), dengan luas daerah aliran sungai sekitar 279.830 ha, dimana hampir 70%

berbukit-bukit. Jumlah penduduk kawasan ini lebih dari 2 juta jiwa dengan kepadatan 704 orang per km² DAS Citanduy hulu, semakin kritis dengan semakin sedikitnya lahan berhutan dan intensifnya eksploitasi lahan. Kawasan ini mencakup enam kabupaten, yakni Garut, Tasikmalaya, Ciamis, Majalengka, Kuningan, dan Cilacap, sehingga harus dikelola secara adil dimana setiap wilayah memiliki hak dan kewajiban, serta integratif untuk mengakomodasi kemungkinan konflik kepentingan antar wilayah. Di Jawa Barat, Citanduy hulu merupakan salah satu daerah aliran sungai yang mendapat prioritas untuk ditangani karena tingginya tingkat erosi, sedimentasi, dan sampah. Sedimentasi dari Citanduy merupakan penyebab utama atau 70% penyempitan laguna Segara Anakan, tingkat erosinya mencapai 19,15 mm/tahun (Kompas, 25/1/2001).

Untuk mengurangi laju sedimentasi, serta menyelamatkan laguna dan ekosistem mangrove Segara Anakan, pada tahun 1996 Pemerintah Indonesia dengan dana hutang dari Bank Pembangunan Asia (*Asian Development Bank*; ADB) menggelar proyek konservasi dan pembangunan Segara Anakan (SACDP) selama lima tahun (1997-2002). Pekerjaan ini terdiri dari tiga komponen. Komponen A meliputi: penyudetan sungai Citanduy kurang lebih 3 km, penyudetan sungai Cimeneng kurang lebih 8 km, pengerukan Segara Anakan sekitar 600 ha, dan normalisasi sungai di DAS Segara Anakan kurang lebih 20 km. Komponen B berupa pembangunan desa yang meliputi: rehabilitasi hutan mangrove rakyat seluas 1125 ha, pengelolaan hutan mangrove rakyat seluas 5.000 ha, pembuatan percontohan akuakultur seluas 20 ha, perbaikan prasarana desa (jalan, air minum, kantor desa, dan lain-lain), konservasi tanah dan pengendalian erosi seluas 5.000 ha di DAS Cimeneng. Komponen C berupa pelaksanaan dan pengawasan proyek yang meliputi: pengelolaan administrasi dan program pembangunan desa, pelaksanaan dan pengawasan program di laguna Segara Anakan, persiapan dan administrasi pelatihan dan kepedulian masyarakat, *orthophoto*, survey kepemilikan tanah, dan pembuatan foto udara (Pikiran Rakyat, 20/11/2002; Akar, 2001). ADB menyediakan 60% kebutuhan dana, sebesar US\$ 76.89 juta, sedangkan pemerintah Indonesia menyediakan sisanya (ADB News Release, 1996).

Sejarah penyudetan

Sejarah pengelolaan laguna Segara Anakan dapat dirujuk dari studi de Haan pada tahun 1865 yang menyatakan perlunya menciptakan sebuah reservasi hutan mangrove untuk menjamin ketersediaan kayu bagi penduduk Segara Anakan. Studi lebih lanjut menunjukkan sedimentasi yang tinggi di laguna berpotensi mengubah ekosistem mangrove menjadi ekosistem terestrial, sehingga masyarakat harus berganti profesi dari nelayan menjadi petani. Hal ini menginspirasi Blommenstain untuk mengubah tanah timbul menjadi areal pertanian. Bahkan untuk mem-

percepat sedimentasi, pada tahun 1972 PT Indah Karya menyarankan pelurusan aliran sungai Citanduy ke laguna Segara Anakan melalui kanal Nusawulung. Namun pada tahun 1975, ECI memberi rekomendasi bahwa reklamasi laguna menyebabkan ketidakpastian penghidupan nelayan, sebaliknya menyarankan peningkatan usaha nelayan tradisional menjadi nelayan modern, dengan mengembangkan laguna sebagai sumber pemijahan biota akuatik. Tetapi lembaga ini juga melaporkan adanya percepatan sedimentasi di laguna melebihi perkiraan semula (Pikiran Rakyat, 20/11/2002; ECI, 1975).

Kajian ECI ditindaklanjuti dengan penyusunan rencana pengembangan DAS Citanduy secara integral dengan tujuan mengendalikan banjir, irigasi pertanian, serta konservasi daerah hulu dan hilir Segara Anakan. Pada tahun 1979, ECI melakukan studi kelayakan irigasi Citanduy hilir, diikuti pelaksanaan konstruksi irigasi Sidareja-Cihaur pada tahun 1982 yang diperluas pada tahun 1993. Pada tahun 1980, LIPI melakukan penelitian ekologi ekosistem Segara Anakan, beserta beberapa aspek lainnya dengan memfokuskan pada manajemen sumber daya kelautan (Pikiran Rakyat, 20/11/2002). Hasil kajian menarik perhatian ADB antara lain dengan membiayai proyek pemantauan dan rencana penggunaan optimal periode 1981-1985. Kegiatan yang dianggap layak adalah pengerukan sedimen, serta pembentukan area pertanian dengan menaikkan daratan dan meningkatkan pembilasan (Ludwig, 1985). Pada tahun 1987 kembali ADB membiayai studi rencana pekerjaan umum (ECI, 1987) yang hasilnya menarik minat pemerintah Amerika Serikat untuk membiayai studi rencana manajemen terpadu Segara Anakan oleh ICLARM (*International Center for Living Aquatic Resources Management*) yang diselesaikan pada 1988 (Pikiran Rakyat, 20/11/2002).

Berdasarkan studi ECI pada tahun 1994, Departemen Pekerjaan Umum dan ADB mengusulkan beberapa alternatif pengelolaan laguna Segara Anakan, diantaranya adalah tidak melakukan tindakan apapun, mengeruk sedimen, membangun pintu gerak atau bendungan di kanal barat, dan membangun sudetan sungai Citanduy (Pikiran Rakyat, 20/11/2002; ECI, 1994). Usul penyudetan sungai Citanduy semakin mengkrystal dengan adanya pertemuan antara Kementerian Lingkungan Hidup, Departemen Pekerjaan Umum, Departemen Dalam Negeri, dan Departemen Kehakiman dengan ADB, perguruan tinggi, dan pemerintah daerah setempat yang menyepakati perlunya upaya penyelamatan Segara Anakan. Sasaran adalah upaya konservasi areal seluas 12.000 ha meliputi laguna (1.800 ha), hutan mangrove (5.200 ha), dan tanah daratan (5.000 ha). Fokus pekerjaan meliputi: penanganan penyebab sedimentasi pada daerah aliran sungai dengan metode agroteknik, yaitu perbaikan lahan, penghijauan, dan pengaturan sedimentasi, pengalihan sedimen yang masuk ke laguna sebelum agroteknik efektif,

pengerukan sedimen di laguna, dan penanganan aspek sosial. Hasilnya pada tahun 1995-1997 dilakukan pengerukan sedimen untuk menjamin tempat tumbuh vegetasi mangrove dan mencegah penyempitan laguna (Pikiran Rakyat, 20/11/2002). Selanjutnya pada tahun 1996, pemerintah dan ADB sepakat menggelar proyek konservasi dan pembangunan Segara Anakan selama lima tahun dengan rencana kerja sebagaimana telah disebutkan di atas, dimana upaya penyudetan sungai Citanduy menjadi masalah paling kontroversial (Pikiran Rakyat, 20/11/2002; Berita KAI, 14/8/2002; Akar, 2001).

Setelah uji kelayakan, pemerintah dalam hal ini Departemen Pemukiman dan Prasarana Wilayah (Depkimpraswil) tampaknya bermaksud segera melaksanakan proyek tersebut. Sungai Citanduy yang bermuara di Segara Anakan, dekat ujung barat Pulau Nusakambangan, di wilayah Kabupaten Cilacap, akan dibuatkan kanal sejauh 3 km ke laut selatan, sehingga alirannya langsung masuk ke perairan laut Nusawere di sebelah timur Pangandaran, Kabupaten Ciamis. Program ini mendapat tantangan warga Pangandaran, yang umumnya hidup sebagai nelayan dan pelaku pariwisata. Mereka mendesak Pemerintah Kabupaten Ciamis untuk mencabut persetujuan yang pernah diberikan kepada pemerintah pusat terhadap proyek penyudetan tersebut (Media Indonesia, 29/8/2002; Mitra Bisnis, 11/2001).

Kegiatan proyek ini menimbulkan keragu-ruguan di kalangan masyarakat Pangandaran, karena khawatir nutrien yang dibawa sungai Citanduy akan langsung terbuang ke laut, terjadi perubahan salinitas di Segara Anakan yang mengganggu keanekaragaman hayati dan memusnahkan tempat pemijahan berbagai jenis biota laut, bertumpuknya lumpur dan sampah di pantai Pangandaran, serta terjadinya banjir di daratan rendah pada musim hujan dan kekeringan pada musim kemarau (Pikiran Rakyat, 20/11/2002; Mitra Bisnis, 11/2001).

Sebelumnya permasalahan hilangnya nutrien dan berubahnya salinitas telah disinggung dalam laporan ECI (1994) yang menjadi dasar ADB membiayai proyek penyudetan ini. Laporan tersebut meyakinkan bahwa penyudetan tidak akan mempengaruhi daur nutrien pada ekosistem mangrove, suatu hal yang menimbulkan pertanyaan mengingat daur nutrien pada ekosistem mangrove sangat dipengaruhi masukan dari sungai dan laut. Selanjutnya laporan tersebut mengakui kemungkinan terjadinya peningkatan salinitas hingga tiga kali lipat, sehingga biota akuatik tertentu diperkirakan tidak akan bertahan hidup. Namun dari segi akuakultur, hal ini dapat di atasi dengan didatangkannya spesies bernilai ekonomi yang tahan salinitas dari luar, misalnya dengan membuat tambak udang (Pudjiastuti dan Siregar, 2002).

Potensi konflik

Permasalahan lingkungan merupakan salah satu problem besar yang akan muncul dalam penerapan otonomi daerah, terutama apabila otonomi diartikan

secara sempit. Lingkungan hidup sebagai ruang interaksi antara sesama makhluk hidup dan dengan makhluk tidak hidup, tidak mengenal batas wilayah. Kasus penyudetan sungai Citanduy merupakan konflik lingkungan terbesar yang muncul pada awal penerapan otonomi daerah, yang implikasinya dapat menimbulkan benih-benih perselisihan menuju krisis sosial. Di satu sisi pemerintah Kabupaten Cilacap bermaksud melakukan penyudetan untuk menyelamatkan Segara Anakan dari pendangkalan akibat sedimentasi sungai Citanduy yang utamanya berasal dari Kabupaten Ciamis. Di sisi lain upaya ini mendapat tantangan keras dari anggota DPRD Ciamis, warga dan LSM, karena dikhawatirkan akan berdampak negatif terhadap lingkungan pantai Pangandaran. Menanggapi keberatan ini Pemerintah Kabupaten Cilacap mengancam akan membendung sungai tersebut di daerah Plawangan, ujung barat Nusakambangan yaitu tempat bertemunya perairan Segara Anakan dengan laut selatan (Pikiran Rakyat, 17/5/2000). Jika penyudetan ini direalisasikan diduga banyak nelayan dan pelaku wisata Pangandaran yang menderita dan sebaliknya penduduk Segara Anakan akan menikmati panen berlimpah dari hasil perikanan. Penyelesaian konflik lingkungan memerlukan pemahaman yang mendalam secara keilmuan dan kemampuan analisis secara holistik (Media Indonesia, 9/6/2000).

Benturan antara dua atau lebih wilayah akibat persoalan lingkungan harus diselesaikan dengan tetap berpegang pada prinsip-prinsip keadilan. Suatu wilayah yang menjadi biang pencemaran di wilayah lain tidak dapat menutup mata atas kerugian yang ditimbulkannya. Saling mengancam antara para elite politik tidak menyelesaikan masalah, bahkan dapat menimbulkan persoalan baru yang melibatkan masyarakat banyak. Otonomi daerah bukan sarana untuk membentuk tirani baru, namun suatu keberkahan sehingga perlu dipahami semangat di belakang kelahirannya. Para politisi tidak dapat menganggap ringan potensi berkembangnya konflik, karena dampaknya sangat dekat dengan persoalan disintegrasi bangsa (Media Indonesia, 9/6/2000).

Upaya konservasi dan pengembangan Segara Anakan secara integratif sebagaimana direncanakan harus dilaksanakan dengan sungguh-sungguh tidak menggunakan pendekatan proyek sebagaimana umum dilakukan pada masa lalu. Konsep tersebut perlu dipadukan antara Kabupaten Ciamis dan Cilacap sehingga tidak mewariskan masalah bagi pemerintahan selanjutnya (Republika, 16/1/2002). Kajian teknis dan sosialisasi rencana harus diberikan secara jujur dan terbuka agar masyarakat dapat mempelajari dan mengantisipasi berbagai dampak yang dapat timbul, sehingga persetujuan masyarakat bukan merupakan hasil penggiringan opini, namun merupakan pemahaman atas kekurangan, kelebihan dan konsekuensi yang harus ditanggung apabila penyudetan dilaksanakan atau dibatalkan (Sinar Harapan, 11/3/2002; Republika, 16/1/2002;). Pelaksa-

naan penyudetan sungai Citanduy tanpa melibatkan kesertaan masyarakat dapat memunculkan gejolak yang pada akhirnya membuat proyek menjadi mubasir (Republika, 16/1/2002).

Kaji ulang

Tarik ulur upaya penyudetan menyebabkan rencana yang sedianya dilaksanakan pada tahun anggaran 1999/2000 ditunda dan dikaji ulang, khususnya oleh pemerintah Kabupaten Ciamis. Sebelumnya pihak proyek Citanduy telah bekerja sama dengan para pakar untuk meneliti segala kemungkinan yang dapat terjadi sebagai dampak penyudetan. Namun tingginya tantangan atas penyudetan tersebut menyebabkan pengkajian yang melibatkan para pakar itu harus dilaksanakan kembali. Kaji ulang dilakukan oleh tim gabungan perguruan tinggi, di antaranya dari Institut Teknologi Bandung, Institut Pertanian Bogor, Universitas Padjadjaran, dan Universitas Galuh. Dengan kaji ulang diharapkan dapat diperoleh hasil yang obyektif dan komprehensif, termasuk kemungkinan ditemukannya alternatif baru agar sedimen dari sungai Citanduy yang masuk ke perairan Segara Anakan dapat ditekan (Suara Merdeka, 14/8/2002; Suara Pembaruan, 26/5/2002; Kompas, 11/5/2001; Pikiran Rakyat, 22/1/2001).

Para pakar berkesimpulan bahwa penanganan sedimentasi di Segara Anakan dengan atau tanpa penyudetan sungai Citanduy sama-sama mengandung risiko, namun penanganan dengan penyudetan memiliki risiko lebih kecil daripada tanpa penyudetan. Berdasarkan hasil kaji ulang yang pembahasannya telah dilaksanakan di Depkimpraswil (24/8/2001), maka diputuskan untuk melanjutkan upaya penyudetan sungai Citanduy. Untuk itu pemerintah dan ADB sepakat memperpanjang proyek hingga tahun 2004, selanjutnya hal ini menunggu "lampu hijau" dari Pemerintah Kabupaten dan DPRD Ciamis (Suara Merdeka, 14/8/2002; Mitra Bisnis, 11/2001).

Terbentuknya ekosistem baru

Penyudetan sungai Citanduy dengan memindahkan muaranya dari laguna Segara Anakan langsung ke laut selatan dapat mengakibatkan terjadinya pelumpuran, pengeruhan, dan penumpukan sampah di kawasan pantai, serta menimbulkan banjir di sepanjang tepi kanal sudetan. Di samping itu memungkinkan terbentuknya ekosistem baru menggantikan ekosistem lama khususnya terumbu karang yang banyak dijumpai di sepanjang pantai, khususnya di CA Pananjung, Pangandaran. Dampak ekologis terbentuknya ekosistem baru ini sulit diprediksi dan diperkirakan akan memunculkan permasalahan sosial baru pula (Suara Pembaruan, 25/8/2002; Sinar Harapan, 11/3/2002; Republika, 16/1/2002; Mitra Bisnis, 11/2001).

Perubahan pola aliran sungai menyebabkan arus balik ombak dan arus pasang surut laut selatan, lambat laun dapat menyebabkan pendangkalan di muara barat Segara Anakan dan memungkinkan

bersatunya Pulau Jawa dengan Nusakambangan. Tertutupnya kanal barat di Plawangan ini dapat menyebabkan sedimen dari sungai Cibeureum, Palindukan, dan sungai-sungai lain yang tidak disudet dan tetap bermuara di Segara Anakan akan tertahan dan tertimbun di dalam laguna, sehingga tetap menjadi ancaman eksistensi Segara Anakan. Di samping itu gundulnya bukit-bukit di Nusakambangan akibat masuknya pendatang turut menyumbang peningkatan sedimentasi (Pikiran Rakyat, 23/11/2000).

Potensi sedimentasi dari Nusakambangan

Sampai tahun 1980-an, Nusakambangan masih merupakan kawasan yang benar-benar tertutup. Akan tetapi sejalan dengan upaya pemanfaatan potensi alamnya, berbagai aktivitas mulai dilakukan. Penambangan batu kapur untuk keperluan pabrik semen diduga menjadi katalis utama masuknya manusia ke kawasan ini (Kompas, 24/2/2001). Pemukim pertama didatangkan pada tahun 1997, sebagai buruh tani oleh sebuah proyek penanaman pisang cavendish yang gagal, yakni 400 KK dari Banjarpatoman, Ciamis. Selanjutnya masuk pendatang lain hingga jumlahnya mencapai sekitar 900 KK (Kompas, 29/5/2001; 24/2/2001; Akar, 2001). Akibatnya sekitar 1.000 ha hutan lindung rusak parah karena pencurian kayu atau dikoversi menjadi ladang, di luar kerusakan akibat penambangan batu kapur (Suara Merdeka, 8/5/2000; Kompas, 9/8/2000; 29/5/2001; 22/6/2002).

Para pendatang seringkali menanam lahan miring tanpa pembuatan teras, sehingga menyebabkan terjadinya erosi. Penertiban pendatang pernah dilakukan pada bulan Januari-Februari 2001, namun pada bulan Juni 2001 mereka kembali datang (Suara Merdeka, 16/6/2001; Akar, 2001), bahkan kembali mencapai sekitar 300 KK pada awal tahun 2002 (Suara Merdeka, 28/3/2002). Kehadiran pendatang yang cenderung dibiarkan mendorong penduduk asli ikut menjamah hutan Nusakambangan, terlebih sedimentasi telah menyatukan kampung mereka dengan pulau tersebut seperti di Lempong Pucung (Suara Hidayatullah, 5/1999) dan Klaces (Kompas, 21/12/2002). Sehingga semakin meningkatkan sedimentasi dari sisi selatan laguna Segara Anakan.

Tidak ada jaminan terhentinya sedimentasi

Hingga kini tidak ada jaminan bahwa pelumpuran di Segara Anakan akan berhenti setelah muara sungai Citanduy dan Cimeneng dialihkan ke laut selatan, mengingat tingginya arus degradasi hutan Nusakambangan dan adanya pelumpuran dari sungai-sungai kecil lain, meskipun tidak sebesar kedua sungai tersebut (Republika, 16/1/2002). Di samping itu sudetan dapat patah oleh proses geologi yang belum ditelaah, sehingga tidak menyelesaikan masalah bahkan sebaliknya menimbulkan permasalahan baru, seperti terhentinya pasokan air tawar di Majingklak, terputusnya transportasi air sungai dari Kalipucang-Majingklak, dan terjadinya perebutan lahan bekas hutan mangrove (Sinar Harapan, 11/1/2003).

Dalam hal ini alasan penolakan masyarakat, LSM, dan DPRD Ciamis memiliki pembenaran yang kuat. Bahkan Menteri Kelautan dan Perikanan Rokhmin Dahuri yang pernah menjadi tim konsultan pada proyek konservasi dan pembangunan Segara Anakan juga berpendapat penyudetan tersebut kurang tepat karena hanya mengalihkan permasalahan lama ke permasalahan baru. Proyek sudetan tidak akan efektif, kecuali secara teknis tidak berdampak negatif pada ekosistem (Suara Pembauran, 25/8/2002).

Akan tetapi pada bulan Juli 2002 pejabat Depkimpraswil kembali menetapkan jadwal rencana penyudetan sungai Citanduy yang akan dimulai pada bulan September 2002, dengan alasan pembebasan tanah dan kekhawatiran terhadap dampak negatif proyek tersebut telah dapat diatasi (Suara Pembauran, 6/7/2002). Namun sebulan kemudian ribuan nelayan dan warga Pangandaran kembali menyatakan keberatannya dengan mendatangi kantor Gubernur Jawa Barat (Media Indonesia, 29/8/2002).

Penyelamatan Segara Anakan merupakan komitmen nasional (Kompas, 5/10/2002). Dalam Rakorbangnas 22 Oktober 2002 dinyatakan bahwa permasalahan sudetan sungai Citanduy dan pendangkalan Segara Anakan masih terus diupayakan untuk diselesaikan bersama antara Pemerintah Propinsi Jawa Barat, Jawa Tengah dan Pemerintah Pusat c.q. Depkimpraswil, sehingga babak akhir kelanjutan penyudetan ini masih ditunggu-tunggu. Banyaknya kepentingan yang turut ambil bagian tampaknya menjadi penyebab tertunda-tundanya rencana penyudetan tersebut (Suara Merdeka, 14/8/2002).

Hambatan lain

Di samping tekanan masyarakat Ciamis, terutama Pangandaran untuk membatalkan penyudetan sungai Citanduy, Cimeneng/Cikonde, dan sungai-sungai di sekitarnya, upaya ini juga mendapat hambatan dari para pemilik jaring apung dan pemilik tanah pendatang yang meminta harga ganti jauh di atas nilai jual obyek pajak (NJOP) (Pikiran Rakyat, 12/3/2002; 1/5/2002; Sinar Harapan, 1/5/2002). Misalnya seorang pengusaha yang menguasai tanah seluas 125 ha meminta agar seluruh tanahnya dibebaskan dengan harga jauh di atas NJOP, sedangkan proyek hanya memerlukan 25 ha tanahnya (Mitra Bisnis, 11/2001).

Berlarut-larutnya upaya penyudetan sungai ini menyebabkan ADB selaku lembaga donor mengancam untuk menarik pinjamannya (Pikiran Rakyat, 12/3/2002), sebaliknya pemerintah Indonesia tetap diwajibkan membayar biaya komitmen atas janji hutang tersebut (Jawa Pos, 22/10/2002). Proyek konservasi lingkungan demikian selayaknya didanai dengan hibah bukannya dana hutang (Suara Pembauran, 25/8/2002; Media Indonesia, 29/8/2002), sebagaimana jargon hutang ditukar lingkungan (*environmental debt swap*).

Penghijauan dan pengerukan

Penyudetan sungai Citanduy bukan merupakan satu-satunya cara untuk mengurangi pelumpuran di Segara Anakan. Pembenahan lingkungan daerah aliran sungai, penghijauan, dan pengerukan sedimen secara rutin diharapkan dapat mengurangi laju sedimentasi (Koran Tempo, 6/6/2002; Suara Pembauran, 25/8/2002; Media Indonesia, 29/8/2002). Namun dalam prakteknya penghijauan sulit dilaksanakan, mengingat kawasan hulu sungai-sungai yang bermuara di Segara Anakan umumnya merupakan tanah milik pribadi. Para petani yang kebanyakan juga miskin, menanaminya dengan tanaman pangan yang lebih cepat dipanen dari pada tanaman tahunan yang lebih bernilai konservasi (Akar, 2001). Di sisi lain tanpa pembenahan dan penghijauan di daerah aliran sungai, maka upaya pengeruhan sedimen dapat dipastikan tidak efektif, mengingat tidak diputusnya sumber pelumpuran. Sebagai jalan pintas yang segera dapat dilihat hasilnya adalah dibuatnya kanal penyudetan. Adapun upaya pembenahan dan penghijauan harus tetap dilakukan.

Untuk kawasan sempadan sungai sebenarnya telah dibuat aturan perlindungan, yakni Keppres No. 20 Tahun 1990, yang menyatakan bahwa di sepanjang sungai besar harus dibuat sabuk hijau (*green belt*) selebar 100 m di sebelah kanan sungai dan 60 m di sebelah kiri sungai yang harus ditanami aneka jenis pohon (Suara Pembauran, 25/8/2002). Namun luasan ini tampaknya terlalu sempit untuk daerah aliran sungai Citanduy dan sungai-sungai lain yang bermuara di Segara Anakan. Di kawasan Segara Anakan, jalur hijau yang mutlak harus dilindungi terdiri dari sempadan laguna seluas 101,64 ha, sempadan sungai seluas 2.095 ha, sempadan pantai Nusakambangan seluas 5.674,08 ha, hutan mangrove seluas 2.769,11 ha, dan hujan tropis dataran rendah di Nusakambangan seluas 9.939,30 ha (suara Merdeka, 26/5/2001).

PENUTUP

Uraian di atas menunjukkan upaya penyudetan sungai Citanduy bagaikan buah simalakama, disudet ataupun tidak disudet masing-masing memiliki kerugian dan kelebihan, meskipun secara umum – dari segi konservasi ekosistem mangrove – tampaknya upaya penyudetan lebih memberikan harapan bagi perpanjangan umur ekosistem tersebut dari pada tanpa penyudetan. Mengingat tanpa penyudetan hilangnya laguna dan menciutnya ekosistem mangrove di Segara Anakan merupakan sebuah kepastian dan tinggal menunggu waktu.

Sebenarnya dalam kultur masyarakat Ciamis selatan terdapat pembenaran atas upaya penyudetan sungai ini, dimana petuah leluhur (*uga kawasen*) menyatakan bahwa kelak kawasan Lakbok, Ciamis dan sekitarnya akan subur makmur dan sejahtera,

apabila sungai-sungainya sudah bermuara ke selatan (Pikiran Rakyat, 11/10/2002). Namun pendekatan kultural tampaknya diabaikan pelaksana proyek, yang lebih mementingkan aspek teknis dan mengabaikan aspek nonteknis. Pelibatan masyarakat dan pihak-pihak terkait (*stakeholders*) dalam perencanaan, dapat menghasilkan proyek yang lebih sesuai dengan kepentingan masyarakat, karena masyarakat yang membiayai, memanfaatkan dan menanggung risiko apabila terjadi kegagalan (Suara Publik, 2002).

Sebagai suatu tata lingkungan, kawasan laguna, hutan mangrove Segara Anakan, dan hutan Nusa-kambangan perlu dikelola menurut perencanaan terpadu, baik dalam aras manajemen konservasi maupun administrasi antar pemerintah daerah, masyarakat maupun pihak-pihak terkait lainnya sehingga terjadi keselarasan dalam upaya perlindungan, penelitian dan pemanfaatannya.

DAFTAR PUSTAKA

- ADB News Release. 1996. ADB lends US\$ 45.6 million to Indonesia to save Java ecosystem. *ADB News Release* No. 119/96, 17 Oktober 1996.
- Akar. 2001. Konflik di Segara Anakan: kelalaian pemerintah Orde Baru, tantangan bagi pemerintah sekarang. *Akar* 2 (1): www.arupa.or.id/publications/akar2-1/konflik_di_segara_anakan.htm
- Amin, E.M. dan T. Hariati. 1988 The capture fisheries of Segara Anakan, Indonesia. *ASEAN/US Technical Workshop on Integrated Tropical Coastal Zone Management, Singapore, 28-31 October 1988*.
- Anonim. 1997. *National Strategy for Mangrove Management in Indonesia. Volume 1: Strategy and Action Plan. Volume 2: Mangrove in Indonesia Current Status*. Jakarta: Office of the Minister of Environment, Departement of Forestry, Indonesian Institute of Science, Department of Home Affairs, and The Mangrove Foundation.
- Anonim. 2001. Shoreline stabilization and storm protection. *Wetland Values and Function*. Gland: The Ramsar Bureau
- Bandaranayake, W.M. 1998. Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangrove and Salt Marshes* 2: 133-148.
- Berita KAI. 14/8/2002. *Proyek Sudetan Citanduy Masih Kontroversi*.
- Brotosusilo, A. 1988. Social change in Segara Anakan-Cilacap, Indonesia. *ASEAN/US Technical Workshop on Integrated Tropical Coastal Zone Management, Singapore, 28-31 October 1988*
- Buana Katulistiwa. 2002. *Beberapa Indikasi Terjadinya Degradasi Lingkungan Hidup dan Kegiatan Masyarakat sebagai Faktor Pendorongnya di Indonesia*. Depok: Buana Katulistiwa - NGO for Spatial Information, Jawa Barat, Indonesia
- Budihardjo. 1988. Economic analysis of existing income sources of Kampung Laut, Segara Anakan-Cilacap, Indonesia. *ASEAN/US Technical Workshop on Integrated Tropical Coastal Zone Management, Singapore, 28-31 October 1988*.
- Dahdouh-Guebas, F., C. Mathenge, J.G. Kairo, and N. Koedam. 2000. Utilization of mangrove wood products around Mida Creek (Kenya) among subsistence and commercial users. *Economic Botany* 54: 513-527.
- Departemen Kehutanan. 1994. *Pedoman Penyusunan Rencana Teknik Rehabilitasi (RTR) Daerah Pantai*. Jakarta: Direktorat Jenderal Reboisasi dan Rehabilitasi Lahan, Departemen Kehutanan.
- Dudley, R.G. 2000. *Segara Anakan Fisheries Management Plant*. Cilacap: Segara Anakan Conservation and Development Project.
- ECl (Engineering Consultant Inc.). 1975. *The Citanduy River Basin Development Project Segara Anakan*. Denver: Banjan.
- ECl. 1987. *Segara Anakan Engineering Measurement Study*. Jakarta: Ministry of Public Work.
- ECl. 1994. *Segara Anakan Conservation and Development Project*. Jakarta: Asian Development Bank.
- Ellison, A.M. and E.J. Farnsworth. 1996. Anthropogenic disturbance of Caribbean mangrove ecosystems: past impacts, present trends, and future predictions. *Biotropica* 24: 549-565.
- FAO. 1982. *Management and Utilization of Mangrove in Asia and the Pacific*. Rome: FAO Environment Paper 3.
- Giesen, W. 1993. Indonesian mangroves: an update on remaining area and main management issues. *International Seminar on Coastal Zone Management of Small Island Ecosystem, Ambon, 7-10 April 1993*.
- Haditenojo, P.S. dan T.S. Abbas. 1982. Pengalaman pengelolaan hutan mangrove di Cilacap. *Seminar II Ekosistem Mangrove, Baturraden, 3-5 Agustus 1982*.
- Hamilton, L.S. and S.C. Snedaker. 1984. *Handbook for Mangrove Area Management*. Honolulu: Environment and Policy Institute, East-West Center.
- Hardoyo, S.R. 1982. The Kampung Laut of the Segara Anakan: A study of socio-economic problems. In Bird, E.C.F., A. Soegiarto, and K. A. Soegiarto (eds.). *Workshop on Coastal Resources Management in the Cilacap Region*. Jakarta: Indonesian Institute of Sciences and the United Nations University.
- Harjosuwarno, S. 1978. Aspek sosial ekonomi hutan mangrove Cilacap. *Seminar I Ekosistem Mangrove Jakarta 27 Pebruari – 1 Maret 1978*.
- Hareon, Z.A. 2002. *Konsiderasi Komunitas dalam Perlindungan dan Rehabilitasi Mangrove; Suatu Filosofi*. Program Pasca Sarjana: Institut Pertanian Bogor.
- Howe, C.P., G.F. Claride, R. Hughes, and Zuwendra. 1992. *Manual of Guideline for Scoping EIA in Indonesia Wetland*. Second edition. PHPA/AWB Sumatra Wetland Project No. 6B. Jakarta: Direktorat General of Forest Protection and Nature Conservation-Asian Wetland Bureau Indonesia
- Hussein, M.Z. 1995. Silviculture of mangroves. *Unasyilva* 46: 36-42.
- IPIECA. 1993a. *Biological Impact of Oil Pollution: Mangroves*. IPIECA Report No. 4. London: International Petroleum Industry Environmental Conservation Association.
- Jawa Pos, 22/10/2002. *Indonesia Dapat Kolaps*.
- Kedaulatan Rakyat, 27/9/2001. *Pasca Penjarahan Hutan Jateng Selatan; Lolos dari Mulut Buaya, Masuk Mulut Harimau*.
- Knox, G.A. and T. Miyabara. 1984. *Coastal Zone Resource Development and Conservation in South East Asia, with special Reference to Indonesia*. Jakarta: UNESCO.
- Kompas, 11/5/2001, *Dikaji Ulang, Proyek Konservasi Segara Anakan*
- Kompas, 16/11/2002. *Cilacap, Pusat Riset Ekosistem Tropis*.
- Kompas, 18/4/2002. *Mangrove Hancur, Perikanan Terancam*.
- Kompas, 21/03/01. *Hutan Jati Cilacap Dijarah Massa*.
- Kompas, 21/12/2002. *Nusakambangan Menyatu dengan Kampung Klaces*.
- Kompas, 22/6/2002. *Hutan Nusakambangan Menjadi Incaran Pencuri*.
- Kompas, 24/2/2001. *Nusa Kambangan, Pulau Wisata atau Pusat Judi*.
- Kompas, 25/1/2001. *DAS Citanduy Hulu Semakin Kritis*.
- Kompas, 29/5/2001. *Penduduk Liar Ancam Konservasi Air Nusakambangan*.
- Kompas, 30/10/2001. *Banjir Melanda Berbagai Daerah; Di Cilacap Tiga Orang Tewas*
- Kompas, 5/10/2002. *Penyelamatan Segara Anakan, Komitmen Nasional*.
- Kompas, 9/8/2000. *600 Kubik Kayu Nusakambangan Disita*.
- Koran Tempo, 6/6/2002. *Penyedotan Citanduy Sebaiknya Diurungkan*.
- Lewis, R.R. 1990. Creation and restoration of coastal wetlands in Puerto Rico and the US Virgin Islands. In Kusler J.A. and M.E. Kentula (ed.) *Wetland Creation and Restoration: The Status of Science, Vol. I: Regional Reviews*. Washington: Island Press.
- Ludwig, E.H.F., 1985. *Final Report of Consult Phase I Report Segara Anakan*. Bandung: Segara Anakan Environmental Monitoring and Optimal Use Planning Project, IHE-ARD.
- Manassrisuksu, K., M. Weir, and Y.A. Hussin. 2001. Assessment of mangrove rehabilitation programme using remote sensing and GIS: a case study of Amphur Khlung, Chantaburi Province, Eastern Thailand. *22nd Asian Conference on Remote Sensing, Singapore 5-9 November 2001*.

- Media Indonesia, 29/8/2002. *Pemprov Jabar Cari Solusi Soal sungai Citanduy.*
- Media Indonesia, 9/6/2000. *Otonomi Daerah dan Konflik Lingkungan*
- Mitra Bisnis. 11/2001. *Segara Anakan Perlu Segera Diselamatkan, Sudetan Sungai Citanduy Salah satu Solusinya*
- Moeliono, H.S. Pemilihan jenis pada rehabilitasi hutan payau Cilacap. *Duta Rimba* 8 (52): 12-15.
- Ng, P.K.L. and N. Sivasothi (ed.). 2001. *A Guide to Mangroves of Singapore. Volume 1: The Ecosystem and Plant Diversity and Volume 2: Animal Diversity.* Singapore: The Singapore Science Centre.
- Nontji, A. 1987. *Laut Nusantara.* Jakarta: Penerbit Djambatan.
- Nurwanto, Y.A. 2001. *Keanekaragaman Vegetasi Hutan Mangrove di Segara Anakan Cilacap.* [Tesis]. Surakarta: Program Studi Ilmu Lingkungan, Program Pasca Sarjana, Universitas Sebelas Maret.
- Nybakken, J.W. 1993. *Marine Biology, An Ecological Approach.* Third edition. New York: Harper Collins College Publishers.
- Ong, J.E. 2002. The hidden costs of mangrove services: use of mangroves for shrimp aquaculture. *International Science Round Table for the Media, Bali Indonesia, 4 June 2002.* Joint event of ICSU, IGBP, IHDP, WCRP, DIVERSITAS and START.
- Paryono, T.J., T. Kusumastanto, R. Dahuri dan D. G. Bengen. 1999. Kajian ekonomi pengelolaan tambak di kawasan mangrove Segara Anakan, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah. *Pesisir & Lautan* 2 (3): 8-16.
- Pikiran Rakyat, 1/5/2002. *Kawasan Segara Anakan dan Hutan Mangrove Rusak Mafia Tanah Hambat Penyudetan Citanduy.*
- Pikiran Rakyat, 11/10/2002. *Menyelamatkan Segara Anakan Citanduy Tak Perlu Disudet.*
- Pikiran Rakyat, 12/3/2002. *Soal Pembebasan Tanah Segara Anakan.*
- Pikiran Rakyat, 17/5/2000. *Penyudetan sungai Citanduy.*
- Pikiran Rakyat, 20/11/2002. *Di Balik Pro-Kontra Sudetan Citanduy*
- Pikiran Rakyat, 22/1/2001. *Dekan Fisip Unigal: Jangan Hanya Konsultasi Publik Proses Kajiulang Citanduy Harus Bersifat Teknis.*
- Pikiran Rakyat, 23/11/2000. *Disudet, Ekosistem Bisa Rusak, Akan Terjadi Pendangkalan di "Outlet" Segara Anakan*
- Pikiran Rakyat, 3/8/2002. *Perlu 470.000 Bibit Mangrove.*
- Pikiran Rakyat, 7/11/2002. *Melihat Segara Anakan yang Nyaris Rusak Total; Pangandaran Menolak, Karanganyar Ancam Bendung Citanduy.*
- Primavera, J.H. 1993. A critical review of shrimp pond culture in the Philippines. *Reviews in Fisheries. Science* 1 (2): 151-201
- Pudjiastuti, S. and P.R. Siregar. 2002. The Citanduy River Diversion Project some critical thoughts. *In Good Governance or Bad Mangement; An Overview of the ADB's Decision Making Processes and Policies.* Bangkok: Focus on the Global South, Chulalongkorn University, Bangkok.
- Rakorbangnas. 2002. *Notulensi Persidangan Hari Kedua Selasa, 22 Oktober 2002.* Jakarta: Kantor Menteri Negara Perencanaan Pembangunan Nasional/Badan Perencanaan Pembangunan Nasional.
- Republika, 23/7/2002. *Kajian Ekonomi Ekosistem Hutan Mangrove Mengejutkan.*
- Republika, 24/03/2001. *Hutan Mangrove di Cilacap Menyusut.*
- Republika, 16/1/2002. *Sudetan Citanduy: Menghitung Dampak Mengurai Harapan*
- Schweithelm, J. 1988. Watershed land use and coastal sedimentation: the Citanduy/Segara Anakan system. *ASEAN/US Technical Workshop on Integrated Tropical Coastal Zone Management, Singapore, 28-31 October 1988.*
- Segara Anakan. 1998. *Introduction of the official home page of the Segara Anakan Conservation and Development Project (SACDP), Directorate General for Regional Development, Ministry of Home Affairs, the Republic of Indonesia* <http://members.tripod.com/~sacdp/intro.html>
- Setyawan, A.D., A. Susilowati dan Wiryanto. 2002. Habitat reliks vegetasi mangrove di pantai selatan Jawa. *Biodiversitas* 3 (2): 242-256.
- Sinar Harapan, 1/5/2002. *Akibat Sedimentasi, Segara Anakan Menyempit.*
- Sinar Harapan, 11/1/2003. *Mendesak, Konservasi Ekosistem Nusakambangan.*
- Sinar Harapan, 11/3/2002. *Pakar Lingkungan Tolak Proyek Sudetan sungai Citanduy.*
- Soemodihardjo, S., Suroyo, Suyarso. 1988. The mangroves of Segara Anakan: An assessment of their condition and prospects. *ASEAN/US Technical Workshop on Integrated Tropical Coastal Zone Management, Singapore, 28-31 October 1988*
- Soeroyo dan S. Soemodihardjo. 1990. Tumbuhan gulma dan semai alami di hutan mangrove Segara Anakan, Cilacap. *Seminar IV Ekosistem Mangrove, Bandar Lampung, 7-9 Agustus 1990.*
- Spaninks, F. and P. van Beukering. 1997. *Economic Valuation of Mangrove Ecosystems: Potential and Limitations.* CREED Working Paper No 14, July 1997. London and Amsterdam: International Institute for Environment and Development, and Institute for Environmental Studies.
- Suara Hidayatullah. 5/1999. *Kampung "Pensiun" di Nusakambangan.*
- Suara Merdeka, 14/8/2002. *Pro Kontra Sudetan Citanduy; Tertunda akibat Banyak Kepentingan.*
- Suara Merdeka, 16/6/2001. *Hutan Mangrove Dimodifikasi dengan Kayu Putih.*
- Suara Merdeka, 16/6/2001. *Penduduk Liar Rambah Nusakambangan Lagi.*
- Suara Merdeka, 26/5/2001. *Segara Anakan Ditetapkan sebagai Kawasan Lindung.*
- Suara Merdeka, 28/3/2002. *Penduduk Liar di Nusakambangan Marak Lagi.*
- Suara Merdeka, 4/7/2001. *Penduduk Segara Anakan Harus Dibatasi.*
- Suara Merdeka, 8/5/2000. *Polres Kejar Pencuri Kayu Nusakambangan.*
- Suara Pembaruan, 25/11/2001. *Bangau Segara Anakan Kian Langka*
- Suara Pembaruan, 26/5/2002. *Segara Anakan yang Terus Menyusut.*
- Suara Pembaruan, 6/7/2002. *Proyek Sudetan Citanduy Dimulai September 2002.*
- Suara Pembaruan, 9/4/2002. *Segara Anakan Kian Dangkal.*
- Suara Pembaruan, 25/8/2002. *Sudetan Laguna Segara Anakan Tak Efektif.*
- Suara Publik, 2002. *Training Workshop Pelibatan Stakeholders dalam Proses Pengambilan Keputusan Pembangunan Prasarana Sumberdaya Air; Melibatkan Stakeholder, Menggeser Paradigma Lama.* Jakarta: LP3ES.
- Sukardjo, S. 1989. The mangrove forests of Java and Bali (Indonesia). *Symposium on Mangrove Management.* Biotrop Special Publication No 37.
- Sukartika, B. 1980. Intensifikasi tumpangsari tambak di Cilacap. *Kertas Kerja pada Lokakarya Pengalaman dengan Agroforestry di Jawa.* Yogyakarta: UGM.
- Tanaka, S., 1992. *Bali Environment the Sustainable Mangrove Forest.* Jakarta: Development of Sustainable Mangrove Management Project.
- Terchunian, A., V. Klemas, A. Alvarez, B. Vasconez, and L. Guerrero. 1986. Mangrove mapping in Ecuador: The impact of shrimp pond construction. *Environmental Management* 10: 345-350
- Thom, B.G. 1967. Mangrove ecology and deltaic geomorphology: Tabasco, Mexico. *Journal of Ecology* 55: 301-343
- Tjitrosoepoma, G. 1981. Pembangunan wilayah pantai Cilacap. *Paper presented at a panel discussion on urban and rural planning in Semarang, Central Java.*
- Tomlinson, C.B. 1986. *The Botany of Mangroves.* Cambridge: Cambridge University Press.
- Walsh, G.E. 1974. Mangroves: a review. *In* Reimold, R.J., and W.H. Queen (ed.). *Ecology of Halophytes.* New York: Academic Press.
- Wirjodarmodjo, H., Soeroso, dan B. Soekartiko. 1978. Pengelolaan hutan payau Cilacap. *Seminar I Ekosistem Mangrove Jakarta 27 Februari - 1 Maret 1978.*
- Yudho, W. 1988. Local environment awareness and attitudes toward coastal resources management in Segara Anakan-Cilacap, Indonesia. *ASEAN/US Technical Workshop on Integrated Tropical Coastal Zone Management, Singapore, 28-31 October 1988.*

THIS PAGE INTENTIONALLY LEFT BLANK

BIODIVERSITAS

Journal of Biological Diversity
Volume 4 - Nomor 1 - Januari 2003

Identifikasi Polimorfisme pada fragmen ND-5 DNA Mitokondria Sapi Benggala dan Madura dengan Teknik PCR-RFLP NEO ENDRA LELANA, SUTARNO, NITA ETIKAWATI	1-6
Polimorfisme DNA pada Lokus-2 Gen Hormon Pertumbuhan Sapi Madura AGUS PURWOKO, SUTARNO, NITA ETIKAWATI	7-11
Isolasi dan Karakterisasi Protease dari <i>Bacillus subtilis</i> 1012M15 ELFI SUSANTI VH	12-17
Kajian Keragaman Jenis dan Pertumbuhan Kapang dalam Acar Mentimun HAPSARI SETIA PUTRI, SURANTO, RATNA SETYANINGSIH	18-23
Keanekaragaman Jenis Plankton sebagai Indikator Kualitas Air Limbah berbagai Industri di Kota Surakarta dan Sekitarnya WIRYANTO, ARI SUSILOWATI, AHMAD DWI SETYAWAN	24-29
Analisis Vegetasi Spermatophyta di Taman Hutan Raya (Tahura) Seulawah Aceh Besar DJUFRI	30-34
Vegetasi di Sekitar Danau Tiga Warna Taman Nasional Kelimutu Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur DEDEN MUDIANA, SUHARMONO, I MADE RAHARDJA PENDIT, I WAYAN MUDARSA	35-37
Phenetic Study on Clustered <i>Pinanga</i> of Java and Bali JOKO R. WITONO	38-42
Keragaman Puring (<i>Codiaeum variegatum</i> (Linn.) Blume) di Daerah Istimewa Yogyakarta MUZAYYINAH	43-46
Hubungan Keterikatan Masyarakat Kubu dengan Sumberdaya Tumbuh-tumbuhan di Cagar Biosfer Bukit Duabelas, Jambi FRANCISCA MURTI SETYOWATI	47-54
Study in the Responses of Some Soybean (<i>Glycine max</i> L.) Cultivars Under Water Stress Condition EDI PURWANTO	55-57
REVIEW: Genetic Diversity: Detection of Gene Variation at the DNA Level and Utilization of Gene Markers on Locating QTLs SUTARNO	58-62
REVIEW: Penyudetan Sungai Citanduy, Buah Simalakama Konservasi Ekosistem Mangrove Segara Anakan KUSUMO WINARNO, AHMAD DWI SETYAWAN	63-72

Gambar sampul depan:
A-site dan P-site pada ribosom