

PENGEMBANGAN METODE PENANDA GENETIKA MOLEKULER UNTUK LACAK BALAK (STUDI KASUS PADA JATI)

Iskandar Z. siregar^{1)*}, Ulfah J. Siregar¹⁾, Lina Karlinasari²⁾, Tedi Yunanto¹⁾

ABSTRACT

THE DEVELOPMENT OF GENETIC A MOLECULAR MARKER METHOD FOR TRACKING TIMBER—A CASE STUDY ON TEAK

Tracking timber on teak and teak wood products can be conducted using different methods, such as DNA finger printing, chemical composition of the wood, Near Infra Red spectra (NIR) and stable isotopes. Samples were collected from wood material and leaves in Java (9 Forest Management Units district) of Perhutani to determine: i) pattern of genetic variation within and among populations, ii) to determine the protocol for DNA extraction from wood, and iii) to study the feasibility of DNA marker for timber tracking in the field. Results show that: i) genetic variation of cpDNA (PCR-RFLP) is low, while RAPD variation is moderate, ii) there are differences in chemical composition of wood among the Forest Management Units (FMUs) of Perhutani, iii) variation of isotopic carbon and oxygen in Central and East Java were higher than from of West Java, iv) absorbtion intensity of NIR in West Java was higher than for Central and East Java, and iv) testing of DNA marker showed that genetic structure in the forest site is not significantly different from that in log yards, indicating that the timber flow is still according to the procedure. RAPD marker also is able to determine the origin of illegal timber and wood in industry without clear identity.

Keywords: genetik marker, teak, timber tracking

ABSTRAK

Lacak balak pada kayu jati dan produk kayu jati dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya dengan metode sidik jari DNA, analisis komponen kimia kayu, spektra *Near Infrared* (NIR) dan metode sidik jari isotop stabil. Pada penelitian ini, contoh uji daun dan kayu jati dikumpulkan dari sembilan Kesatuan Pemangkuan Hutan (KPH) milik Perhutani untuk menentukan i) variasi genetik didalam dan antar populasi, ii) protokol atau prosedur yang tepat untuk mengisolasi DNA pada kayu, dan iii) untuk meneliti keabsahan penanda DNA untuk lacak balak di lapangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: i) variasi genetik cpDNA (PCR-RFLP) sangat rendah, sedangkan variasi genetik dengan menggunakan penanda RAPD cukup tinggi, ii) hasil analisis komponen kimia kayu menunjukkan perbedaan yang nyata dari masing-masing komponen kimia kayu antar KPH, iii) berdasarkan analisis isotop, kayu jati dari Jawa Tengah dan Jawa Timur memiliki isotop karbon dan oksigen yang lebih tinggi dibanding dari Jawa Barat, iv) berdasarkan analisis spektra NIR, intensitas absorpsi NIR kayu jati yang berasal dari Jawa Barat lebih tinggi daripada kayu jati dari Jawa Tengah dan Jawa Timur,

dan v) hasil pengujian struktur genetik dengan analisis RAPD untuk studi kasus lacak balak jati di lapangan menyimpulkan bahwa kayu yang berasal dari TPK dengan kayu yang berasal dari tunggak di blok penebangan adalah berasal dari pohon yang sama, dimana aliran tata usaha kayu di Perhutani masih sesuai dengan prosedur. Selain itu, penanda RAPD juga mampu menduga asal-usul daerah dari kayu curian dan kayu industri dengan identitas asal-usul yang tidak jelas.

Kata kunci: jati, lacak balak, penanda genetik

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sertifikasi lacak balak (*chain of custody*) merupakan salah satu kegiatan utama sertifikasi ecolabel untuk memantau aliran kayu dari hutan ke pabrik. Beberapa jenis kayu yang sedang menuju proses sertifikasi ecolabel di Indonesia adalah jati, merbau, meranti, ramin, eukaliptus dan mangium. Jati menjadi salah satu prioritas sertifikasi karena harganya yang mahal, permintaannya yang tinggi baik domestik maupun internasional serta adanya tuntutan konsumen akan produk jati yang ramah lingkungan. Sertifikasi lacak balak menuntut adanya suatu prosedur dokumentasi aliran kayu yang dapat diandalkan. Namun, prosedur dokumentasi ini belum dilengkapi dengan metode

1) Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan, IPB JL. Lingkar Akademik Kampus IPB Darmaga PO Box 168 Bogor 16680

2) Departemen Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan, IPB JL. Lingkar Akademik Kampus IPB Darmaga PO Box 168 Bogor 16680

* Penulis Korespondensi: (+6251) 8624065

pembuktian yang akurat untuk memecahkan kasus asal-usul kayu yang meragukan.

Penggunaan teknologi genetik, analisis komponen kimia, isotop dan *near infrared* (NIR) merupakan metode baru yang mungkin dapat dikembangkan dan diterapkan di masa datang untuk sertifikasi lacak balak dan pembuktian kasus kejahatan hutan, seperti *illegal logging*. Penanda tersebut bersifat internal yang melekat dalam materi dasar kayu sehingga sulit dimanipulasi. Teknologi genetik melalui analisis molekul DNA telah digunakan luas dalam studi forensik di bidang kedokteran dan terbukti akurat mengungkap berbagai kasus kejahatan, meskipun mahal dan lama prosesnya (Eckert 1997). Teknologi isotop selama ini mampu menelusuri proses-proses fisiologis tanaman secara akurat, analisis yang cepat, tetapi mahal (Evans, Schrag 2004). NIR memiliki keunggulan murah, cepat dan ramah lingkungan, namun akurasi tergantung tingkat interpretasi spektranya. Beberapa studi menunjukkan cukup akurat dalam memprediksi sifat kayu (Yeh *et al.* 2005).

Dasar untuk mengenali asal usul kayu atau produk kayu jati yang tumbuh di Jawa adalah adanya perbedaan keragaman karakteristik kayu jati secara geografis. Langkah identifikasi ini memerlukan data yang dapat menggambarkan struktur tegakan hutan atau kawasan dimana kayu jati ditebang, mencakup representasi tiap-tiap individu di setiap daerah dan populasi sebagai referensi untuk pencocokan spesimen. Studi keragaman morfologi jati yang dilakukan Mahfudz *et al.* (2004) dapat membedakan jati menjadi jati ri (*knobel*), jati pring, jati gembol, dan jati kijong. Berdasarkan sifat kayunya dikenal adanya jati lengo, jati sungu hitam, jati werut, jati doreng, jati kembang, dan jati kapur. Suryana (2001) membedakan jati di Jawa dari penampakan lingkaran tahun dan kayu terasnya. Jati di daerah Jawa Tengah (Cepu dan Jepara) dan Jawa Timur (Bondowoso dan Situbondo) memiliki lingkaran tahun yang lebih artistik dan kayu teras yang lebih kuat sehingga produk kayunya tergolong kelas I. Jati dari Jawa Barat (Sukabumi) menghasilkan produk kayu kelas II-III dengan lingkaran tahun yang terbentuk kurang menarik. Pendugaan variasi genetik jati telah dilakukan oleh beberapa peneliti dengan menggunakan bahan tanaman berupa daun. Studi NIR dan isotop belum pernah dilakukan untuk jati. Penelitian terdahulu khususnya untuk DNA hanya dilakukan pada beberapa lokasi dan berbasis individu sehingga kurang mewakili variasi genetik jati di Jawa dan belum cukup menyediakan informasi yang diperlukan bagi lacak balak (Widyatmoko 1996; Widiyanto 2000; Dewi 2003, Purnamasari 2008).

Tujuan Penelitian

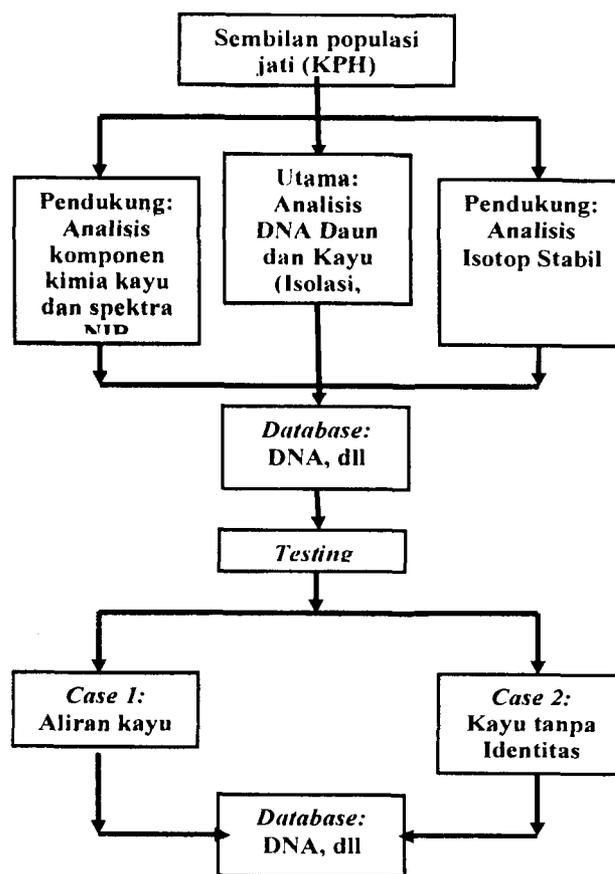
Tujuan dari penelitian ini adalah: i) Mengetahui variasi genetik populasi jati di Jawa baik dari contoh daun maupun kayu dengan teknik isolasinya, ii) Mengetahui variasi isotop, kandungan kimia kayu dan spektra NIR kayu jati di Jawa, dan iii) Mengetahui kelayakan metode sidik

jari DNA di lapangan dengan kasus aliran kayu di beberapa KPH serta pendugaan asal usul kayu tanpa identitas.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Contoh Bahan Tanaman Daun dan Kayu

Bahan tanaman yang digunakan untuk penelitian Tahun I, Tahun II dan Tahun III adalah daun jati dan contoh uji berupa piringan kayu pada lokasi tebang di setiap KPH milik Perhutani yang masih produktif di Pulau Jawa, yaitu Perum Perhutani Unit III Jawa Barat-Banten, Perum Perhutani Unit I Jawa Tengah dan Perum Perhutani Unit II Jawa Timur (Tabel 1). Untuk uji lacak balak diambil tunggak kayu dari blok penebangan dengan kayu yang ada di TPK. Selain itu dilakukan pengambilan contoh kayu curian dan dari industri (Tabel 2). KPH Perhutani yang dipilih sebagai populasi adalah: 1). Perhutani Unit I Jawa Tengah: KPH Cepu, KPH Kendal, KPH Kebonharjo dan KPH Randublatung, 2). Perhutani Unit II Jawa Timur: KPH Bojonegoro dan KPH Ngawi dan 3). Perhutani Unit III Jawa Barat-Banten: KPH Banten, KPH Indramayu, KPH Purwakarta dan KPH Ciamis.



Gambar 1 Prosedur Penelitian Tentang Pengembangan Metode Penanda Genetika Molekuler untuk Lacak Balak pada Kayu Jati

Tabel 1 Rincian Pengambilan Contoh Uji Daun dan Kayu pada Hutan Tanaman Jati di Jawa Menurut Kelas Umur

No.	Lokasi	Kelas Umur (KU)	Jumlah Contoh		Letak geografis	Ketinggian (dpl)
			Daun	Kayu		
1	KPH Banten	KU IV (30–40 th)	5	5	06°36'37.4"S–105°45'44.9"E	69m
2	KPH Indramayu	KU IV (30–40 th)	5	5	06°36'49.0"S–107°58'54.5"E	95m
3	KPH Ciamis	KU IV (30–40 th)	5	5	07°20'20.3"S–108°31'45.2"E	100m
4	KPH Cepu	KU IV (30–40 th)	5	5	07°02'53.1"S–111°32'00.8"E	169m
5	KPH Randublatung	KU IV (30–40 th)	5	5	07°06'04.7"S–111°26'06.7"E	128m
6	KPH Kendal	KU V (50–60 th)	5	5	07°01'19.6"S–110°15'51.9"E	116m
7	KPH Bojonegoro	KU IV (30–40 th)	5	5	07°19'22.1"S–111°47'26.1"E	173m
8	KPH Ngawi	KU VI (60–70 th)	5	5	07°20'38.3"S–111°18'22.9"E	176m
9	KPH Kebonharjo	KU VII (70–80 th)	5	5	06°49'41.8"S–111°36'02.9"E	196m

Keterangan : KPH= Kesatuan Pemangkuan Hutan; dpl= dari permukaan laut

Tabel 2. Lokasi Pengambilan Contoh Kayu Jati untuk Uji Coba Lapangan (Lacak Balak)

No.	Lokasi	Kelas Umur (KU)	Jumlah Contoh				Letak geografi	Ketinggian (dpl)
			Tunggak Kayu	Kayu di TPK	Curian	Industri		
1	KPH Ciamis	KU IV (30–40 th)	11	11	7	12	07°21'30.1"S – 108°33'24.7"E	69m
2	KPH Purwakarta	KU VI (50–60 th)	20	20	-	-	06°28'08.3"S – 107°28'51.0"E	96m

Keterangan: KPH= Kesatuan Pemangkuan Hutan; dpl= dari permukaan laut

Prosedur Penelitian

Secara umum prosedur penelitian tentang pengembangan metode penanda genetik molekuler untuk lacak balak pada kayu jati disajikan seperti pada Gambar 1.

Analisis Keragaman DNA

Pendugaan keragaman genetik DNA daun dan DNA kayu jati dilakukan dengan menggunakan teknik RAPD dan PCR-RFLP. Bahan dan alat yang digunakan adalah vortex, mesin centrifuge, tube, tips, mikropipet, Fenol, kloroform, etanol, EtBr, *Taq Polymersae*, primer, dan lain-lain.

Ekstraksi dan Isolasi DNA

Kegiatan ekstraksi dan isolasi DNA dari daun dan kayu jati dilakukan dengan menggunakan metode CTAB

(*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang telah dimodifikasi. Contoh daun (2cm×2cm) atau serpihan kayu (±2g) digerus dengan menggunakan nitrogen cair, kemudian hasil gerusan ditambahkan 500–700 mikro liter (µl) larutan buffer ekstrak dan 100µl PVP 2%. Untuk mengikat DNA ditambahkan Chloroform IAA 500µl dan fenol 10µl (supernatant). Supernatan lalu ditambahkan isopropanol dingin 500µl dan NaCl 300µl dan disimpan dalam freezer selama 45 menit hingga 1 jam. Kegiatan selanjutnya adalah proses pencucian DNA dengan menambahkan etanol 100% sebanyak 300µl. Selanjutnya pellet DNA ditambahkan larutan buffer TE 20µl.

Proses Amplifikasi DNA dengan Teknik Polymerase Chain Reactions (PCR)

Komponen yang diperlukan untuk analisis DNA dari daun dan kayu dengan teknik RAPD adalah H₂O, *Go Taq Green Master Mix kit* (Promega), Primer, dan cetakan

DNA, sedangkan pada teknik PCR-RFLP digunakan komponen yang sama, namun perbedaan terletak pada penggunaan primernya, yaitu digunakan dua pasang primer. Runutan primer yang digunakan untuk analisis PCR-RFLP adalah *TrnLF* dan enzim restriksi *AluI*. Primer yang digunakan untuk analisis RAPD pada daun jati adalah OPO-7, OPO-10, OPO-15, OPO-16, OPY-14, OPO-13, OPY-2, dan OPY-9. Runutan pada DNA kayu jati primer yang digunakan adalah OPO-09, OPO-19, OPY-13, OPO-14, OPO-13, OPO-10 dan OPY-20. Tahapan proses PCR pada PCR-RFLP dan RAPD secara umum sama yaitu Pradenaturasi, Denaturasi, *Annealing* dan ekstensi. Hasil proses PCR kemudian dianalisis dengan melakukan elektroforesis menggunakan 2,0% gel *agarose* dalam larutan buffer 1×TE dan *distaining* di dalam larutan Ethidium Bromida.

Restriksi DNA

Proses restriksi ini khusus dilakukan pada teknik PCR-RFLP. Komponen yang dibutuhkan yaitu H₂O, enzim restriksi, buffer, dan produk PCR yang diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama ±3 jam, lalu dielektroforesis dengan 2,5% gel *agarose*.

Analisis Data RAPD

Hasil dari kegiatan teknik RAPD daun dan kayu yang telah dielektroforesis difoto dan dianalisis dengan melakukan skoring pola pita yang muncul. Pola pita yang muncul (positif) diberi nilai 1 dan pola pita yang tidak muncul (negatif) diberi nilai 0. Hasil interpretasi foto kemudian dianalisis untuk mengetahui frekuensi dan keragaman dalam jenis dan antar populasi dengan menggunakan *software* POPGENE 32 Versi 1.31. Pendugaan hubungan kekerabatan dilakukan berdasarkan jumlah pita polimorfik yang dimiliki bersama (Nei dan Lei 1979 dalam Yunanto 2006), sedangkan pengelompokan kerabat berdasarkan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group with Arithmetic Average*) (Nei 1973 dalam Yunanto 2006) dengan menggunakan *software* NTSYS Ver 2.0 (Rohlf 1998).

Analisis Data PCR-RFLPs

Situs restriksi yang muncul (positif) diberi nilai 1 (satu) dan yang tidak muncul (negatif) diberi nilai 0 (nol). Hasil perhitungan kemudian dianalisis untuk mengetahui frekuensi dan keragaman *haplotype* dalam populasi, antar populasi, dan antar grup (AMOVA - *Analysis of Molecular Variance*) dengan menggunakan *software* ARLEQUIN Ver 3.01. Situs restriksi digunakan juga untuk melihat kemiripan antar *haplotype*, perhitungan jarak genetik menggunakan POPGENE32, dan untuk melihat dendrogramnya dengan menggunakan metoda UPGMA (*Unweighted Pair Group with Arithmetic Average*).

Analisis Sifat Komponen Kimia Kayu

Sifat komponen kimia kayu dianalisis di Laboratorium

Kimia Kayu, Departemen Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor (IPB). Analisis sifat kimia kayu jati yang dilakukan di antara populasi dengan menggunakan contoh komposit adalah kadar air serbuk, kadar selulosa, kadar holoselulosa, kadar hemiselulosa, kadar lignin, kelarutan dalam air panas, kelarutan dalam air dingin, dan kelarutan kayu dalam Ethanol-Benzene. Bahan kimia dan alat yang digunakan untuk analisis komponen kimia kayu jati adalah C₂H₅OH (ethanol), C₆H₆ (benzene), NaOH, NaClO₂, CH₃COOH, Na₂SO₃, H₂SO₄, HCl, AgNO₃, dan aqua destilata. Alat yang digunakan dalam analisis kimia kayu jati adalah *hammer mill*, saringan elektrik, *shoklet ekstraktor*, desikator, *water bath*, *erlenmeyer glass*, *beaker glass*, cawan porselen, kertas saring, kertas *whatman*, kertas lakmus, *aluminium foil*, pipet, oven, timbangan, golok, dan *cutter*. Nilai komponen kimia tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan metode *Principal Component Analysis* (PCA) dengan *software* Minitab 14.

Analisis Isotop

Isotop dianalisis di Laboratorium Pengujian Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) BATAN, Jakarta. Serbuk kayu berukuran 40–60 mesh dalam bentuk komposit dari lima contoh uji kayu jati dari masing-masing lokasi, digunakan untuk mengetahui kandungan isotop karbon ($\delta^{13}\text{C}$) dan oksigen ($\delta^{18}\text{O}$). Preparasi gas CO₂ dilakukan dengan metode pembakaran (Ehleringer *et al.* 2007). Contoh serbuk kayu sebanyak 70mg dioksidasi dengan 70mg Cu₂O pada suhu 1200°C selama 2 jam dalam alat *sulphate preparation line*. Proses pembakaran berlangsung dalam kondisi vakum. Sesudah reaksi sempurna, gas CO₂ yang terbentuk dipisahkan dengan uap air dengan metode *trapping* menggunakan *dry ice acetone* dan nitrogen cair. Gas CO₂ hasil pembakaran diinjeksikan dan diukur dengan menggunakan spektrometer massa SIRA-9 (Djijono *et al.* 1996). Hasil pengukuran berupa rasio isotop ¹³C/¹²C dan ¹⁸O/¹⁶O terhadap gas CO₂ pembanding yang juga dialirkan ke spektrometer massa tersebut. Selanjutnya nilai tersebut distandarkan terhadap standar *Pee Dee Belemnite* (PDB) dan dituliskan dengan notasi $\delta^{13}\text{C}$ dan $\delta^{18}\text{O}$ dalam satuan per mill (‰). Nilai rasio isotop tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan metode PCA dengan perangkat lunak Minitab 14 untuk melihat keragaman geografis.

Analisis Spektra NIR

Spektra NIR dianalisis di Laboratorium Pengujian Mutu Pakan Ternak, Balai Pengujian Mutu Pakan Ternak, Bekasi. Bahan yang digunakan adalah serbuk komposit kayu jati berukuran 45–60 mesh yang diperoleh dari tiap individu pohon contoh. Pemindaian (*scanning*) contoh dilakukan pada kisaran panjang gelombang 1.000–2.500 nm, yang selanjutnya dirata-ratakan untuk menghasilkan satu spektra tiap lokasi. Alat yang digunakan untuk pengukuran ini adalah Spektroskopi (Buchi NIRLab Model N-200). Keluaran data berupa nilai reflektan (R) berjumlah

Tabel 3 Variasi Genetik dalam Populasi Daun Jati Jawa

No.	Populasi	N	PLP(%)	na	Ne	He
1	KPH Banten	5	34,40	1,3440	1,2496	0,1395
2	KPH Indramayu	5	58,40	1,5840	1,4354	0,2393
3	KPH Ciamis	5	34,40	1,3440	1,1976	0,1176
4	KPH Kendal	5	46,40	1,4640	1,2587	0,1540
5	KPH Cepu	5	45,60	1,4560	1,2962	0,1685
6	KPH Randublatung	5	37,60	1,3760	1,2168	0,1289
7	KPH Kebonharjo	5	32,00	1,3200	1,2033	0,1173
8	KPH Bojonegoro	5	46,40	1,4640	1,2883	0,1666
9	KPH Ngawi	5	28,00	1,2800	1,1257	0,0815
Rata-rata		5	40,36	1,4036	1,2524	0,1459

Keterangan: N = Jumlah total individu; PLP = Persentase Locus Polimorfik; na = Jumlah alel yang diamati; ne = Jumlah alel efektif (Kimura and Crow (1964)); He = Diferensiasi genetik Nei (1973)/Heterozigositas harapan

1.557 titik nilai untuk setiap contoh. Nilai tersebut dikonversi menjadi absorpsi NIR dengan $\log(1/R)$. Adanya noise menyebabkan kurva absorpsi memerlukan pemulusan yang dilakukan dengan metode *running mean* dengan 10 titik yang dirata-ratakan dan selanjutnya dilakukan interpretasi spektra menggunakan ketetapan kimia absorpsi NIR (*chemical assignment*) yang dinyatakan Osborne *et al.* (1993). Data absorpsi NIR dianalisis lebih lanjut menggunakan metode PCA dengan *software* Minitab 14.

Analisis Lacak Balak

Analisis uji coba lapangan (lacak balak) dilakukan dengan menggunakan analisis *Chi Square Test* (X^2) dengan bantuan versi excel. Analisis diujikan pada pita DNA hasil analisis RAPD kayu tunggak dan kayu di TPK.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Isolasi DNA Kayu Jati

Pola pita DNA bervariasi dari yang tebal sampai yang tipis. Pita DNA yang tebal mengindikasikan bahwa hasil ekstraksi tersebut sangat kotor. Menurut Qiagen (2001), hasil ekstraksi yang kotor ini masih mengandung *phenol* yang tinggi, *chloroform*, dan alkohol. Pita DNA daun jati secara umum memperlihatkan pola pita yang tebal, sedangkan pola pita DNA dari ekstraksi kayu memperlihatkan pola pita yang tipis, hal tersebut mungkin karena pita DNA genomik yang didapatkan dari ekstraksi kayu adalah pita-pita dengan rantai yang pendek, sudah terpecah-pecah dan disebabkan oleh umur sel yang tua.

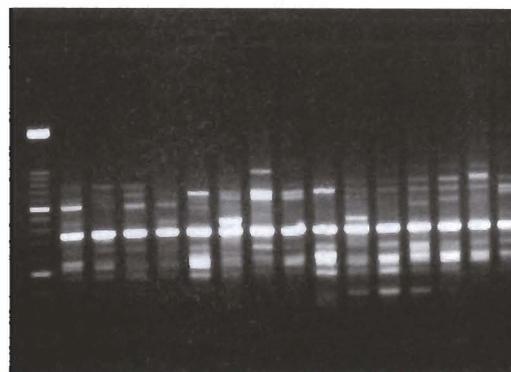
Hasil Analisis PCR-RFLP Daun Jati

Hasil pemotongan PCR *trnLF* dengan enzim restriksi *AluI*, memperlihatkan bahwa terdapat 2 *haplotype* (pola pita pemotongan). *Haplotype* yang pertama terbagi menjadi 2 potong yaitu pada 700bp dan 200bp, sedangkan *haplotype* yang kedua juga terbagi menjadi 3 potong, yaitu 520bp, 200bp, dan 180bp. *Haplotype* yang kedua terdapat pada jati

yang berasal dari Ciamis, Indramayu, dan Kendal. Hal tersebut menunjukkan bahwa keragaman DNA kloroplas sangatlah rendah, tidak banyak mengalami perubahan. Sifat genetik DNA kloroplas di antara semua tumbuhan tingkat tinggi sangat penting untuk dikonservasi karena banyak gen dalam DNA kloroplas memiliki kode protein yang berguna dalam keterlibatannya dalam proses fotosintesis.

Keragaman DNA pada Daun dan Kayu Jati Berdasarkan RAPD

Variasi genetik dapat diukur dengan dua parameter, yaitu



Gambar 2 Hasil Foto RAPD pada Daun Jati dengan Primer OPY-09



Gambar 3 Hasil Foto RAPD pada Kayu Jati dengan Primer OPO-19

Tabel 4 Variasi Genetik dalam Populasi pada Kayu Jati di Pulau Jawa

No	Populasi	N	PLP (%)	Na	Ne	He
1	Banten	5	44,71	1,4471	1,2312	0,1421
2	Indramayu	5	49,41	1,4941	1,2210	0,1413
3	Ciamis	5	45,88	1,4588	1,2437	0,1488
4	Cepu	5	44,71	1,4471	1,2174	0,1353
5	Randublatung	5	43,53	1,4353	1,1891	0,1216
6	Kendal	5	48,24	1,4824	1,1900	0,1290
7	Bojonegoro	5	45,88	1,4588	1,2141	0,1353
8	Ngawi	5	47,06	1,4706	1,2402	0,1481
9	Kebonharjo	5	62,35	1,6235	1,2609	0,1705
Rata-rata		5	47,97	1,4797	1,2231	0,1413

Keterangan: N = jumlah individu/populasi; PPL = Percentage of Polymorphic Loci; na = Observed number of alleles, ne = Effective number of alleles (Kimura, Crow (1964)); h = Gene diversity Nei's (1973)

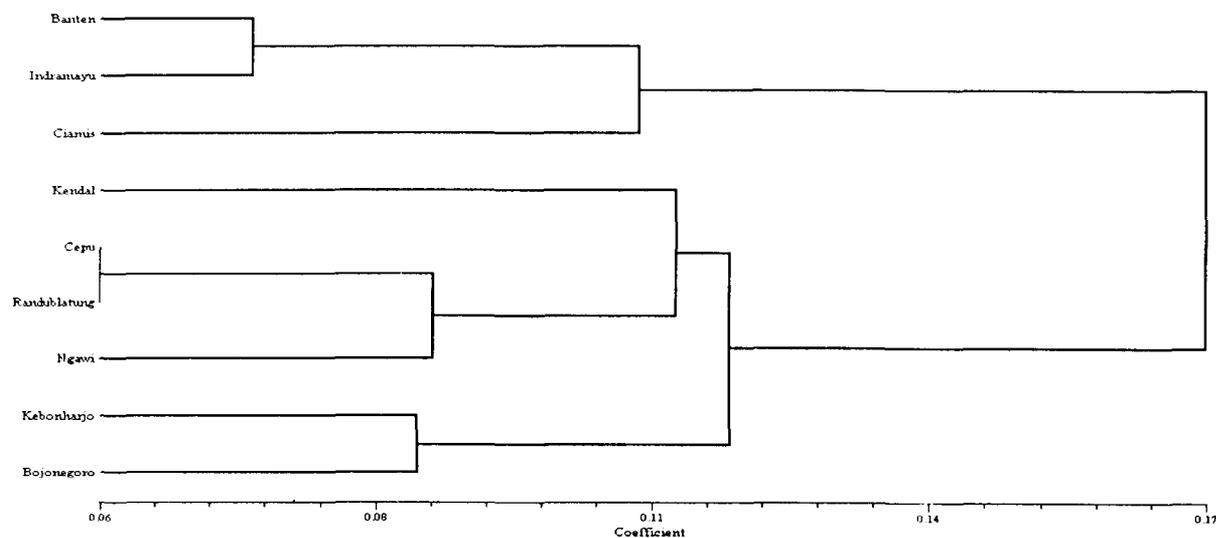
dalam populasi dan antar populasi. Peubah yang digunakan untuk mencirikan variasi genetik dalam populasi yaitu Presentase Lokus Polimorfik (PLP), rata-rata jumlah alel per lokus (A/L), dan variasi genetik (He) (Finkeldey 2005).

Variasi Genetik dalam Populasi

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa variasi genetik jati Jawa dari daun memiliki nilai rata-rata PLP = 40,36%; $na = 1,4036$; $ne = 1,2524$; dan $H_e = 0,1459$. Secara umum nilai variasi genetik ini lebih besar bila dibandingkan dengan pohon tropis lainnya yang juga dianalisis dengan menggunakan metode RAPD (Kayu Afrika $H_e=0,1366$ (Wulandari 2008), *Shorea johorensis* $H_e=0,0809$ (Yunanto 2006)). Populasi jati Indramayu memiliki nilai variasi genetik tertinggi, sedangkan populasi jati Ngawi memiliki nilai variasi genetik terendah (Tabel 3).

Hal ini dapat menjadi bahan pertimbangan dalam merancang program pemuliaan dalam mempertahankan atau meningkatkan variasi sumberdaya genetik jati. Contoh foto DNA daun disajikan pada Gambar 2.

Hasil analisis RAPD pada kayu jati menunjukkan



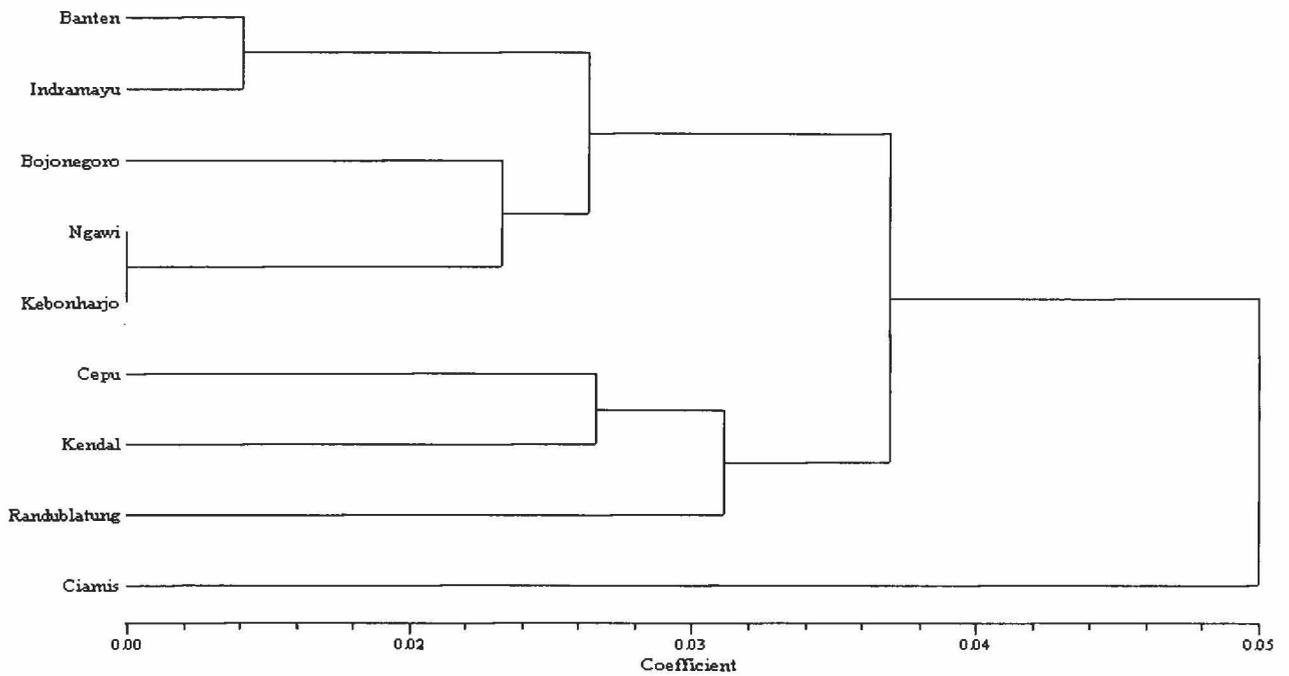
Gambar 4 Dendrogram Populasi Daun Jati Jawa Berdasarkan Analisis RAPD

bahwa populasi jati dari KPH Kebonharjo menunjukkan nilai-nilai variabilitas genetik yang tertinggi, sedangkan populasi jati dari KPH Randublatung menunjukkan nilai-nilai variabilitas genetik yang terendah (Tabel 4).

Secara umum nilai variabilitas genetik pada kayu jati yang dianalisis dengan teknik RAPD lebih rendah apabila dibandingkan dengan nilai variabilitas genetik pada daun jati. Hal tersebut bisa disebabkan oleh sedikitnya DNA yang dapat teramplifikasi pada kayu bila dibandingkan dengan DNA pada daun, karena DNA genomik pada kayu jumlahnya lebih sedikit bila dibandingkan dengan DNA genomik pada daun. Foto DNA kayu disajikan pada Gambar 3.

Variasi Genetik antar Populasi

Peubah yang digunakan untuk mencirikan variasi genetik antar populasi menurut Finkeldey (2005) salah satunya adalah dengan analisis klaster/kelompok. Berdasarkan analisis nilai jarak genetik daun jati dihasilkan dendrogram jarak genetik antar populasi seperti terlihat pada Gambar 4.



Gambar 5 Dendrogram Populasi Kayu Jati di Jawa Berdasarkan Analisis RAPD

Berdasarkan dendrogram tersebut, dapat dilihat bahwa sembilan populasi yang dianalisis tidak mengelompok seluruhnya berdasarkan unit pengelolaan Perum Perhutani kecuali untuk Unit III Jawa Barat-Banten. Populasi yang termasuk Unit I dan Unit II mengelompok secara acak. Penetapan pola struktur dan variasi distribusi genetik di dalam dan antar populasi akan memberikan informasi dasar bagi kepentingan penetapan aktivitas pemuliaan pohon di masa datang dan upaya melakukan konservasi sumberdaya genetik serta penelusuran asal usul bahan tanaman. Berdasarkan analisis gerombol dan nilai jarak genetik dihasilkan dendrogram jarak genetik antar populasi pada kayu jati seperti terlihat pada Gambar 5.

Gambar dendrogram pada kayu jati dibandingkan dengan hasil dendrogram pada daun terdapat perbedaan pembentukan kelompok. Pada dendrogram kayu jati, kayu dari KPH Ciamis memisah dari kelompok kayu populasi Perhutani Unit III Jawa Barat-Banten. Hal ini dapat

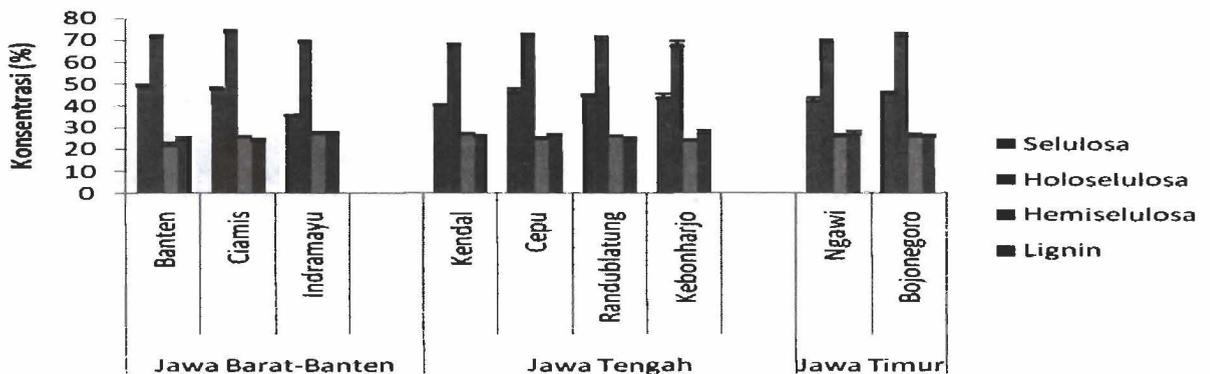
dikatakan bahwa kayu dari KPH Ciamis sudah dapat dibedakan dengan kayu dari 8 populasi lainnya.

Analisis Komponen Kimia Kayu

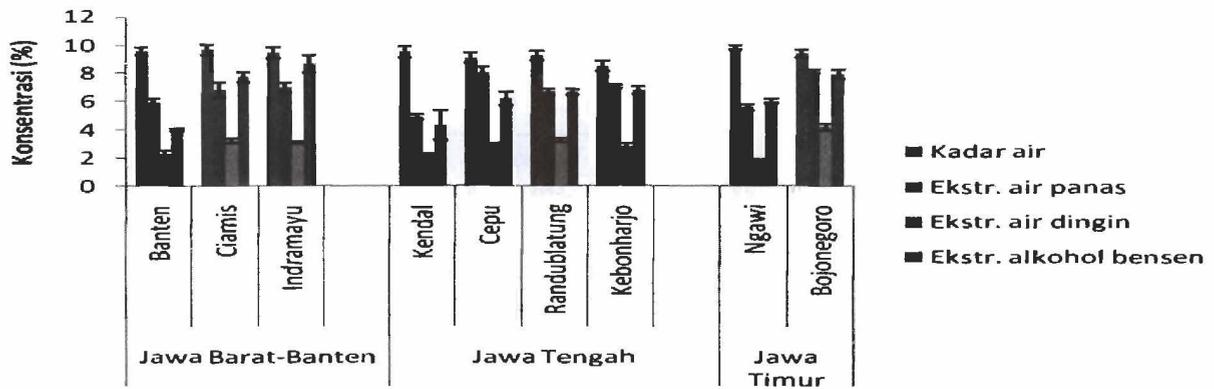
Hasil analisis komponen kimia kayu struktural dan non struktural pada kayu jati dari berbagai daerah di Jawa disajikan pada Gambar 6 dan Gambar 7. Kandungan komponen kimia menunjukkan selulosa lebih dominan, diikuti oleh lignin dan hemiselulosa. Hasil tersebut tercakup dalam kisaran kandungan komponen kimia kayu seperti yang dilaporkan Tsoumis (1991).

Analisis Keragaman Isotop Stabil Kayu Jati

Hasil analisis isotop menunjukkan nilai yang bervariasi antar lokasi kayu jati di Jawa seperti yang disajikan dalam Gambar 8. Nilai rata-rata isotop $\delta^{13}C$ sebesar $-14,83\%$ ($-23,94$ sampai $-8,10\%$) sedangkan



Gambar 6 Kandungan Komponen Kimia Struktural Kayu Jati di Jawa

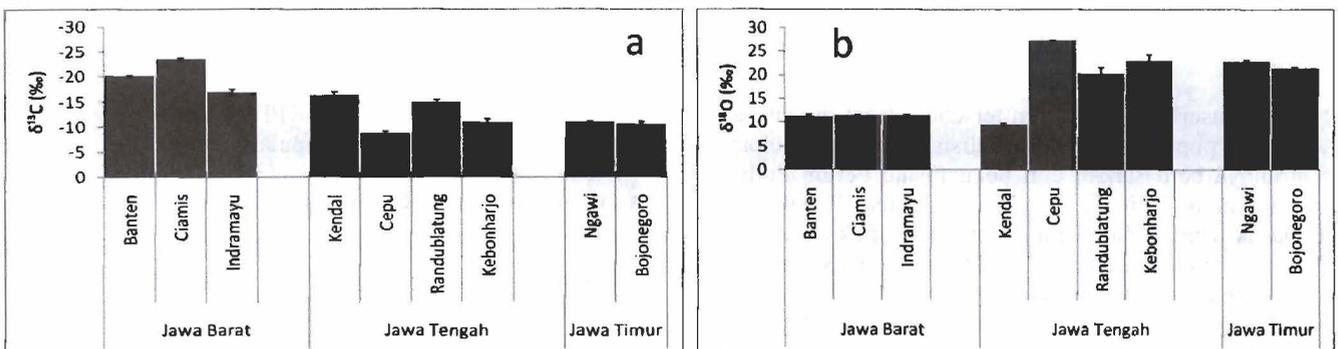


Gambar 7 Kandungan Komponen Kimia Non Struktural Kayu Jati di Jawa

Isotop $\delta^{18}\text{O}$ nilai rata-ratanya sebesar 17,62‰ (8,95 sampai 27,33‰). Nilai isotop $\delta^{13}\text{C}$ dari kayu jati lebih rendah dari isotop $\delta^{13}\text{C}$ di atmosfer (-8‰), untuk isotop $\delta^{18}\text{O}$ nilainya lebih tinggi dari isotop dalam air hujan (-8‰) (Ehleringer dan Osmond 1991), yang mengindikasikan bahwa tanaman jati mengadakan perubahan isotop selama pembentukan

1996).

Berdasarkan analisis PCA seperti disajikan pada Gambar 9 didapatkan dua pengelompokan komposisi isotop yang dimiliki masing-masing populasi jati di Jawa. Kelompok pertama merupakan kayu jati dari Jawa Barat dan Kendal (Jawa Tengah), sedangkan jati dari Jawa

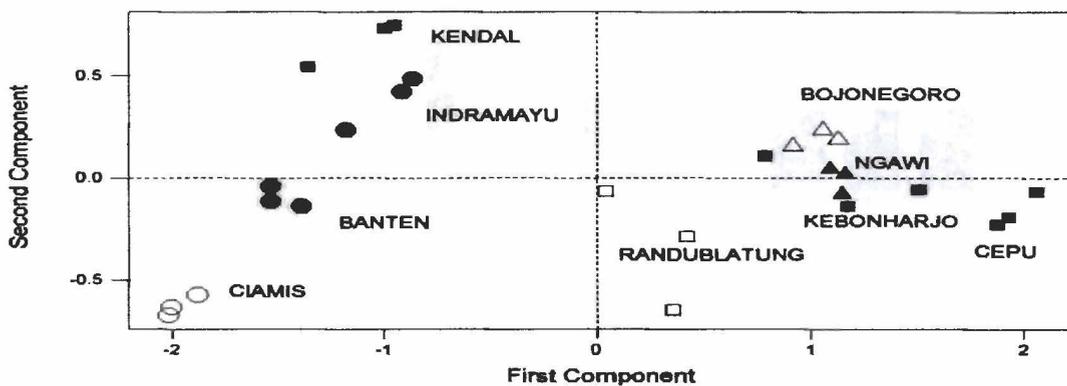


Gambar 8 Komposisi Isotop $\delta^{13}\text{C}$ (a) dan Isotop $\delta^{18}\text{O}$ (b) Kayu Jati di Jawa

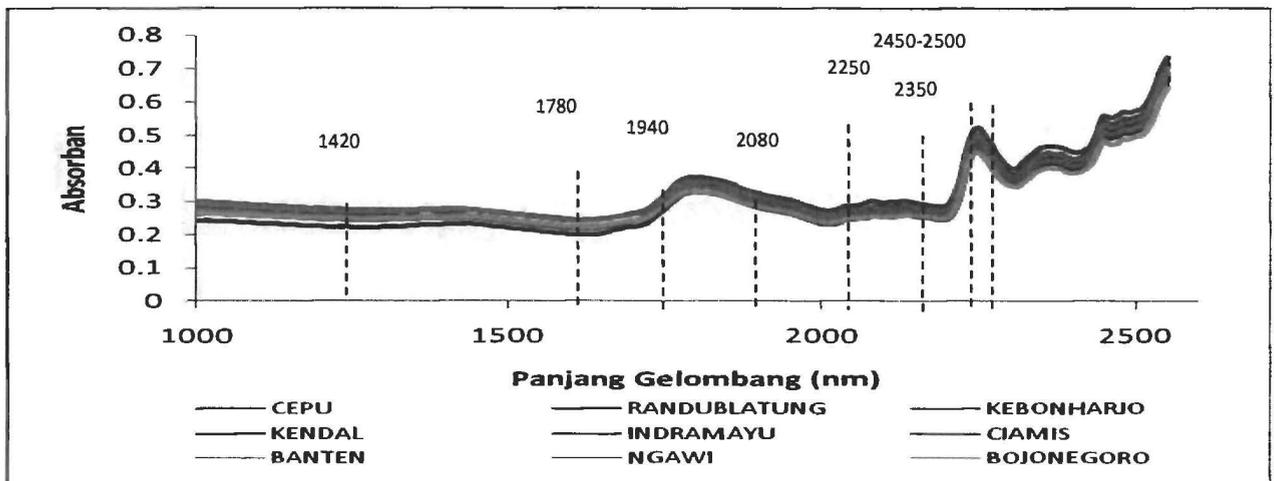
kayu. Perbedaan tersebut disebabkan oleh efek kinetik selama berlangsungnya fotosintesis yang menyebabkan pemiskinan C pada CO_2 dan pengayaan O oleh pertukaran kimia dalam sistem fotosintesis yang tertinggal dan terkonsentrasi pada sintesa bahan organik (Djiono *et al.*

Tengah, minus Kendal dan Jawa Timur membentuk kelompok lain. Bila dikaitkan dengan data pada Gambar 8 menunjukkan kayu jati dari Jawa Tengah dan Jawa Timur terlihat memiliki nilai isotop $\delta^{13}\text{C}$ dan $\delta^{18}\text{O}$ yang lebih tinggi daripada Jawa Barat.

Isotop C-13 dan O-18



Gambar 9 Hasil Analisis PCA dari Isotop $\delta^{13}\text{C}$ dan $\delta^{18}\text{O}$ Kayu Jati di Jawa



Gambar 10 Spektra Absorpsi NIR Kayu Jati dari Sembilan Populasi Jati di Jawa

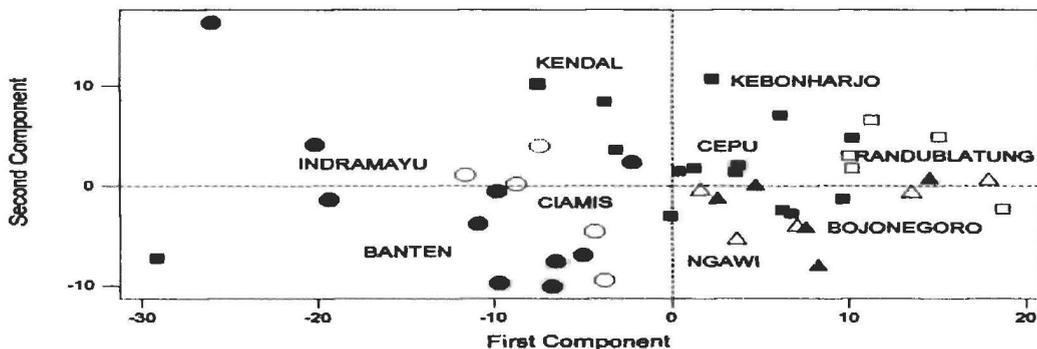
Distribusi dan pengelompokan tersebut diduga berhubungan dengan kondisi lingkungan dan iklim mikro yang berbeda pada masing-masing lokasi. Suryana (2001) menyebutkan daerah Jawa Barat memiliki curah hujan tinggi (>1.500mm per tahun) dan tanaman jati tidak menggugurkan daun. Di daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur memiliki musim kemarau yang panjang dan tanaman jati biasanya akan menggugurkan daunnya. Kompensasi distribusi hujan yang tidak merata juga menyebabkan daerah-daerah di Jawa Timur dan Jawa Tengah relatif lebih kering dibanding daerah-daerah di Jawa Barat sehingga menghasilkan evapotranspirasi dan presipitasi yang tinggi. Tanaman jati yang tumbuh di Jawa Tengah dan Jawa Timur akan beradaptasi selama fotosintesis dengan efisiensi penggunaan air dan pengaturan kelembaban. Ehleringer dan Osmond (1991) menyebutkan efisiensi penggunaan air selama fotosintesis akan menghasilkan nilai isotop $\delta^{13}C$ dan $\delta^{18}O$ yang tinggi. Studi yang dilakukan Djiono *et al.* (1989) terhadap isotop $\delta^{18}O$ dalam air hujan menunjukkan setiap kenaikan curah hujan 100 mm akan menurunkan kandungan nilai isotop $\delta^{18}O$ sebanyak 1,5‰.

Analisis Spektra Near Infrared

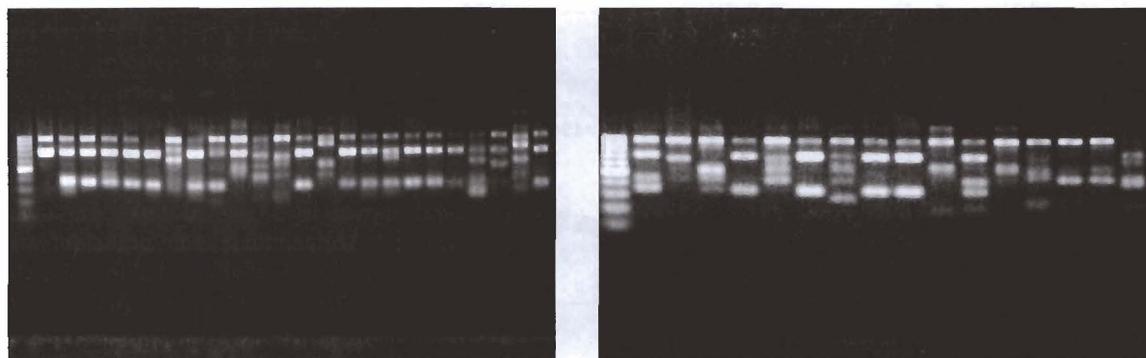
Absorpsi *Near Infrared* (NIR) oleh 45 contoh kayu jati pada panjang gelombang 1.000 sampai 2.500 nm berkisar 0,2 sampai 0,8. Karakteristik serapan panjang gelombang NIR pada contoh kayu jati dari sembilan lokasi yang diamati diilustrasikan pada Gambar 10. Spektra NIR kayu jati antar populasi terlihat relatif sama sehingga masih sulit membedakan perbedaan spesifik tiap populasi jati di Jawa. Perbedaan yang nampak hanya pada intensitas absorpsi yang dihasilkan, sedangkan bentuk dan ukuran spektra NIR relatif sama. Hal ini mengingat semua contoh berasal dari jenis kayu yang sama, yaitu jati sehingga komponen kimia yang dikandungnya pun sama dan semua contoh dikondisikan sama pada kondisi kering udara (kadar air 12%) selama pengumpulan data spektra.

Secara visual terlihat bahwa puncak-puncak penyerapan NIR terjadi pada panjang gelombang 1.420 nm, 1780nm, 1.940nm, 2.080nm, 2.250nm, 2.350nm, dan 2.450 – 2.500nm. Osborne *et a.* (1993) menyatakan bahwa absorpsi

Spektra Near Infrared (NIR)



Gambar 11 Hasil Analisis PCA dari 45 Spektra Kayu Jati di Jawa



Gambar 12 Hasil PCR RAPD Kayu Tunggak dan TPK dengan Primer OPO 14

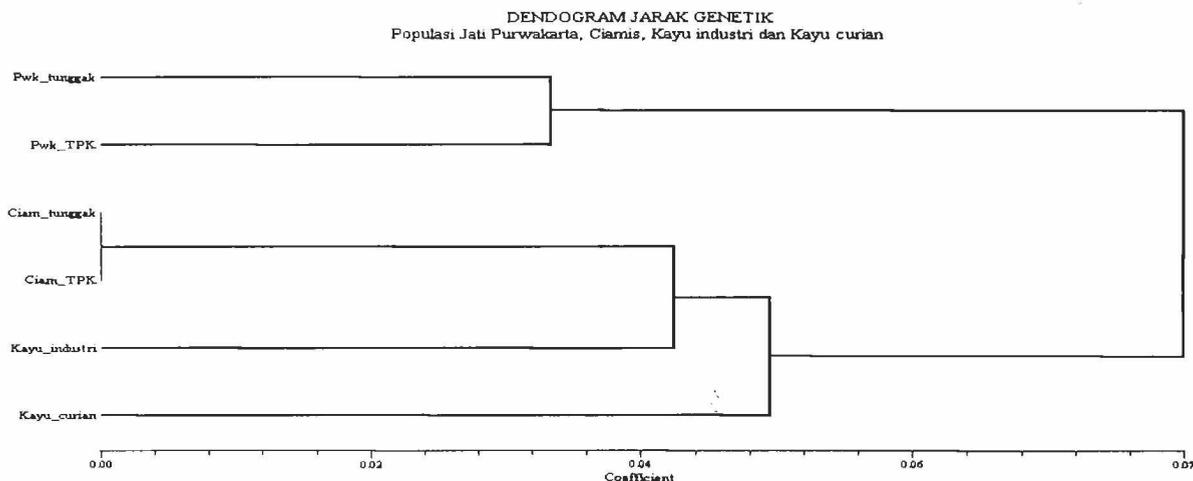
pada panjang gelombang 1.420nm berkorelasi dengan ArOH; 1.780nm berkorelasi dengan selulosa; 1.940nm dengan H₂O; 2.080 nm dengan ROH, sukrosa, dan pati (*starch*), 2.250nm dengan karbohidrat, 2.350nm dengan selulosa dan 2.450-2.500nm dengan pati (*starch*). Secara umum terlihat bahwa penyerapan tersebut menunjukkan banyaknya komponen karbohidrat yang merupakan komponen utama penyusun kayu. Namun secara spesifik, puncak-puncak penyerapan tersebut belum dapat menjelaskan kandungan kimia secara langsung.

Pada Gambar 11 terlihat adanya pengelompokan contoh kayu jati yang berasal dari daerah Jawa Tengah (Cepu, Randublatung dan Kebonharjo) dan Jawa Timur (Ngawi dan Kebonharjo). Sebaliknya daerah Jawa Barat (Indramayu, Ciamis dan Banten) dan Kendal (Jawa Tengah) membentuk kelompok sendiri. Hasil ini menunjukkan pada kelompok yang sama terdapat kemiripan kandungan komponen kimia tertentu yang sama pula. Model pengelompokan tersebut mirip dengan yang dijumpai pada analisis isotop. Intensitas absorpsi pada panjang gelombang di atas 1.780nm (Gambar 10) menunjukkan kayu jati dari Jawa Barat lebih tinggi dibanding dari Jawa Tengah-Jawa Timur. Faktor

lingkungan, tempat tumbuh dan genetis kayu merupakan salah satu yang ikut berperan memunculkan perbedaan-perbedaan tersebut (Barnett, Jeronimidis 2003). Secara umum sifat-sifat kayu, termasuk sifat kimia kayu, berbeda antar jenis kayu, dalam satu jenis, bahkan dalam satu pohon. Menurut Browning (1963) dalam Fengel, Wegener (1995), terdapat perbedaan komposisi kimia dalam kayu di beberapa tempat atau bagian dari suatu pohon. Kayu gubal terutama *softwood* mengandung lebih banyak lignin, selulosa, dan ekstraktif dibandingkan kayu teras, sedangkan pada beberapa *hardwood* jumlah lignin, selulosa dan ekstraktif pada kayu gubal dan kayu teras tidak menunjukkan adanya perbedaan yang mencolok. Kayu akhir memiliki selulosa lebih tinggi dan kadar lignin yang lebih rendah dibandingkan kayu awal.

Implikasi Lacak Balak

Kayu jati yang dihasilkan dari beberapa sentra jati di Jawa menunjukkan perbedaan geografis menurut propinsi berdasarkan hasil analisis genetik, isotop dan spektra NIR seperti terlihat dalam Tabel 5. Penggunaan DNA, isotop, komponen kimia dan spektra NIR sebagai teknologi



Gambar 13 Dendrogram Populasi Jati Purwakarta, Ciamis, Kayu Curian dan Kayu Industri Berdasarkan Analisis RAPD

Tabel 5 Perbedaan Geografis Jati di Jawa Berdasarkan DNA, Isotop dan Spektra NIR

Propinsi	Jawa Barat-Banten	Jawa Tengah	Jawa Timur
Jawa Barat-Banten	-		
Jawa Tengah	DNA	-	
Jawa Timur	Spektra NIR Isotop	DNA	-

Tabel 6 Lingkup Kelayakan Teknologi DNA, Isotop dan Spektra NIR

	DNA	Isotop	Komponen Kimia	Spektra NIR
Kompleksitas pengujian	+++	++	++	+
Kebutuhan contoh (serbuk kayu)	++	+	+++	+++
Waktu pengujian	+++	++	++	+
Reproduksibilitas	+++	+	++	+
Peralatan yang digunakan	+++	++	++	+
Kebutuhan biaya	+++	++	++	+
Akurasi	+++	++	+	++

Keterangan : + = rendah; ++ = sedang; +++ = tinggi

Tabel 7 Hasil uji *Chi Squazre* pada Kayu Tunggak dan TPK

No	Primer	Populasi	N		X hitung	X tabel
			Tunggak	TPK		
1	OPO 10	Purwakarta	20	20	10.305	50.998
2		Ciamis	11	11	1.677	
3	OPO 14	Purwakarta	20	20	3.415	38.885
4		Ciamis	11	11	0.529	
5	OPY 13	Purwakarta	20	20	1.783	48.602
6		Ciamis	11	11	2.225	
7	OPY 20	Purwakarta	20	20	7.054	38.885
8		Ciamis	11	11	0.595	

penanda untuk membedakan asal usul kayu memiliki tingkat kelayakan yang tidak sama seperti terlihat dalam Tabel 6. Teknologi DNA menunjukkan keunggulan dari segi akurasi, spektra NIR lebih praktis secara teknis dan ekonomis, sedangkan teknologi isotop menunjukkan kelayakan diantara teknologi DNA – spektra NIR.

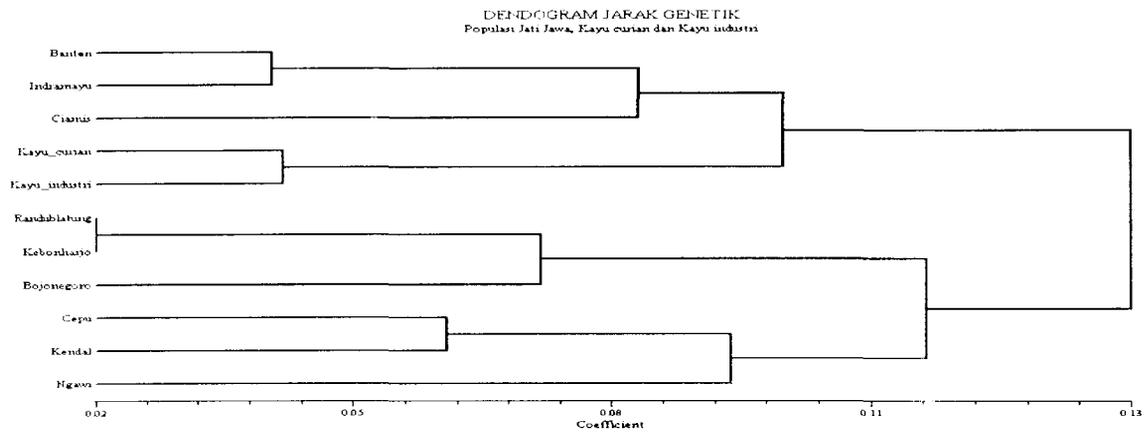
Uji Coba Lapangan (Lacak Balak)

Berdasarkan hasil analisis *Chi-Square Test* (Tabel 7) yang dilakukan pada hasil analisis RAPD (Gambar 12) dapat disimpulkan bahwa kayu yang berasal dari TPK dengan kayu yang berasal dari tunggak di blok penebangan baik dari KPH Ciamis maupun Purwakarta adalah dari pohon yang sama. Untuk pendugaan asal usul kayu yang tidak jelas, yaitu kayu industri dan kayu curian yang diambil dari KPH Ciamis, berdasarkan dendrogram

(Gambar 13) dapat dilihat bahwa kayu industri dan kayu curian mengelompok dengan kayu tunggak dan kayu TPK dari KPH Ciamis. Hal tersebut sesuai dengan hasil wawancara yang mengatakan bahwa kayu industri dan kayu curian tersebut berasal dari kayu jati yang dikelola oleh KPH Ciamis. Begitu juga dengan dendrogram (Gambar 14) seluruh populasi (9 KPH), kayu industri dan kayu curian mengelompok dengan jati dari populasi Perhutani Unit III Jawa Barat-Banten. Hal ini menunjukkan bahwa sidik jari DNA dapat digunakan untuk analisis aliran kayu dan pendugaan asal usul kayu yang tidak jelas.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini (Tahun I–Tahun III) adalah: i). Berdasarkan hasil penelitian I keragaman cpDNA jati di



Gambar 14 Dendrogram Populasi Jati Jawa, Kayu Curian dan Kayu Industri Penggergajian Berdasarkan Analisis RAPD

Jawa dan Muna sangat rendah, dimana kombinasi amplifikasi dengan primer *trnLF* dan restriksi dengan enzim *AhaI* menghasilkan dua haplotipe jati (haplotipe I dan haplotipe 2), ii). Nilai variasi genetik pada kayu jati secara umum lebih rendah bila dibandingkan dengan nilai variasi genetik pada daun jati, iii). Teknik analisis DNA dengan metode RAPD (ekstraksi, isolasi dan PCR) dapat diterapkan pada bahan berupa kayu jati yang merupakan indikator utama untuk aplikasi lapangan, iv). Analisis komponen kimia kayu, isotop dan spektra NIR masih belum bisa untuk memisahkan atau membedakan kayu jati antar propinsi di Pulau Jawa, dan vi). Hasil uji coba lapangan mengindikasikan bahwa proses tata usaha kayu yang dilakukan oleh Perum Perhutani berjalan dengan baik dan dapat diterapkan untuk lacak balak kayu jati dan mengindikasikan bahwa teknologi molekuler dapat digunakan untuk lacak balak kayu jati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dikti yang telah membiayai penelitian ini. Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional dalam rangka penelitian hibah bersaing XIV pada tahun 2006 hingga 2008. Selain itu penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Perum Perhutani dan mahasiswa baik program sarjana (4 orang) maupun pasca sarjana (3 orang) yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnett JR, G Jeronimidis. 2003. Wood Quality and its Biological Basis. Blackwell Publishing. UK.
- Dawson TE, Siegwolf RTW. 2007. Stable Isotopes as Indicators of Ecological Change. Ed ke-1. Elsevier.
- Dewi SP. 2003. Pendugaan Keragaman Genetik serta Sistem Perkawinan (Mating System) di Kebun Benih Klon Jati (*Tectona grandis* Linn.f.) [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Djiono, Pratikno B, Alip. 1996. Spektrometer Massa Rasio Isotop. Prosiding Pertemuan Ilmiah Jabatan Fungsional Pranata Nuklir dan Pengawas Radiasi IV. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN. Jakarta : 116 – 129.
- Eckert WG. 1997. Introduction to Forensic Science. 2nd Ed. CRC-Press. USA.
- Ehleringer JR, Osmond CB. 2007. Stable Isotopes. Dalam : Percy RW, Ehleringer J. Mooney HA, Rundel PW, editor. Plant Physiological Ecology: Field Method and Instrumentation. Chapman and Hall. London : 281-300.
- Evans MN, Schrag DP. 2004. A Stable Isotope-Based Approach to Tropical Dendroclimatology. *Geo. et Cos. Acta.* 68 (16) : 3295 – 3305.
- Fengel D, Wegener G. 1995. Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Finkeldey R. 2005. *Pengantar Genetika Hutan Tropis*. E. Jamhuri, I.Z. Siregar, U.J. Siregar dan A.W. Kertadikara, penerjemah. Göttingen : Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding Georg-August-University-Göttingen. Terjemahan dari : *An Introduction to Tropical Forest Genetics*.
- Mahfudz *et al.* 2004. *Sekilas Jati*. Yogyakarta: Puslitbang Biotek dan Pemuliaan Tanaman Hutan.
- Osborne BG, Fearn T, Hindle PH. 1993. Practical NIR Spectroscopy. E. Longman Singapore Publisher. Singapura.

- Purnamasari EH. 2008. Variasi Genetik Jati Jawa Berdasarkan Metode *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Qiagen. 2001. *HotStarTaq PCR Handbook*. Germany: Qiagen.
- Rohlf FJ. 1998. *Numerical Taxonomy and Analysis System (NTSYSpc) Version 2.0*. New York: Department of Ecology and Evolution State University of New York.
- Suryana Y. 2001. *Budidaya Jati*. Swadaya. Bogor.
- Tsoumis G. 1991. *Science and Technology of Wood: Structure, Properties, Utilization*. Van Nostrand Reinhold Publish. New York.
- Widianto AN, A. Pancoro, D. Sasmitamihardja, MR Moeis, A. Pingkan. 2000. Laporan Akhir Penelitian. Bioteknologi Tanaman Hutan: Analisis Keragaman Genetik dan Rekayasa Genetik Pohon Jati. Lembaga Penelitian IPB. Bandung.
- Widyatmoko AYPBC. 1996. Identifikasi Klon Jati Berdasarkan Marker Isozyme. Ekspose Hasil-hasil Penelitian dan Pengembangan Pemuliaan Benih Tanaman Hutan; Yogyakarta, 28 Maret 1996. Yogyakarta. hlm 241-257.
- Wulandari Y. 2008. Analisis Keragaman Genetik Kayu Afrika (*Maesopsis eminii* Engl.) Berdasarkan Penanda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) [skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Yeh TF, Yamada T, Capanema E, Chang HM, Chiang, dan Kadla JF. 2005. Rapid Screening of Wood Chemical Component Variations Using Transmittance Near-Infrared Spectroscopy. *Agric. Food Chem. J.* 53 : 3328-3332.
- Yunanto T. 2006. Implikasi Genetik Sistem Silvikultur Tebang Pilih Tanam Jalur (TPTJ) pada Jenis *Shorea johorensis* berdasarkan Metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). [Skripsi]. Bogor: Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.