

**KARAKTERISTIK PEMBUNGAAN DAN SISTEM PERKAWINAN NYAMPLUNG
(*Calophyllum inophyllum*) PADA HUTAN TANAMAN
DI WATUSIPAT, GUNUNG KIDUL
[Flowering characteristics and mating system of nyamplung (*Calophyllum inophyllum*)
plantation at Watusipat, Gunung Kidul]**

ILG. Nurtjahjaningsih^{*}, P. Sulistyawati, AYPBC. Widyatmoko, dan A. Rimbawanto
Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
e-mail : iluh_nc@yahoo.com

ABSTRACT

Flowering are influenced by internal factors, such as genetic and phytohormone, and environment factors, such as sunlight and nutrition intake. The flowering characteristics influence fruiting and genetic diversity seedlings through mating systems. This study aims to assess flowering and fruiting characteristics and to determine pattern of mating system of a *Calophyllum inophyllum* plantation at Watusipat, Gunung Kidul. Flowering and fruiting were observed at 4 locations, 3 parts of crown, and 4 main directions to know the effects of sunlight, nutrition intake and phytohormone in the flowering process. Mating system was assessed by comparing genetic diversity values between parent trees and offsprings. The values of genetic diversity were analyzed using 5 RAPD primers with 17 polymorphic loci. Analysis of variant showed that the locations, crown parts, directions and interaction between a location and direction significantly affected to differences number of flowers and fruits. Values of genetic diversity (h) of parent trees ranged between 0.1471 and 0.3056. The values increased at almost overall offsprings; it ranged between 0.2864 and 0.3750. Values of genetic distance (D_a) between parent trees were high and very high (0.197 – 0.364), but the values was decreased between parent trees and their offspring, even between offspring populations. A dendrogram showed two main clusters; first cluster consisted parent trees at up edge with rare trees and second cluster consisted sub cluster parent trees at up edge; sub cluster parent trees at down middle; and sub cluster parent trees at down edge and overall offsprings. Flowering/ fruiting characteristics and pattern of mating systems of *C. inophyllum* were briefly discussed.

Key words : Flowering characteristic, genetic diversity, *Calophyllum inophyllum*, RAPD analysis

ABSTRAK

Proses pembungaan dipengaruhi oleh faktor internal seperti genetik dan fitohormon, dan faktor lingkungan, seperti intensitas cahaya matahari dan unsur hara. Karakteristik pembungaan tersebut mempengaruhi proses terbentuknya buah dan keragaman genetik benih yang dihasilkan melalui keberhasilan mating system. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik pembungaan/pembuahan dan untuk mengetahui sistem perkawinan di hutan tanaman *Calophyllum inophyllum* di Watusipat, Gunung Kidul. Jumlah bunga dan buah diamati di 4 lokasi sub plot, 3 bagian tajuk, dan 4 arah mata angin, untuk mengetahui pengaruh intensitas cahaya matahari, unsur hara dan fitohormon terhadap proses pembungaan/pembuahan. Sistem perkawinan pada nyamplung diduga dengan cara membandingkan nilai keragaman genetik antara kelompok pohon induk dan anakan. Analisis keragaman genetik dilakukan menggunakan 5 penanda RAPD yang terdiri dari 17 lokus polimorfik. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa lokasi, tajuk, arah mata angin dan interaksi antara lokasi dan arah mata angin secara nyata mempengaruhi jumlah bunga dan buah. Keragaman genetik (h) populasi pohon induk berkisar antara 0,1471 dan 0,3056. Nilai h meningkat hampir pada semua populasi anakan, nilai berkisar antara 0,2864 dan 0,3750. Nilai jarak genetik (D_a) antara populasi pohon induk sangat tinggi (0,197 – 0,364), nilai D_a turun antara populasi pohon induk dan anaknya, juga antar populasi anakan. Dendrogram membentuk dua kluster utama, kluster pertama terdiri dari pohon induk sub plot pinggir atas jarang, dan kluster kedua terdiri dari sub kluster pohon induk pinggir atas, sub kluster pohon induk tengah bawah dan sub kluster yang terdiri dari pohon induk pinggir bawah dan anakan di semua sub plot. Karakteristik pembungaan dan sistem perkawinan *C. inophyllum* didiskusikan secara singkat.

Kata kunci : Karakteristik pembungaan, keragaman genetik, *Calophyllum inophyllum*, analisis RAPD

I. PENDAHULUAN

Pola sebaran serbuk sari merupakan salah satu faktor yang ikut menentukan nilai

inbreeding, ukuran populasi efektif dan level

keragaman genetik di dalam dan antar populasi (Burczyk dan Prat 1997). Pola

sebaran ini ditentukan oleh fenologi pembungaan seperti kemampuan berbunga, jumlah produksi bunga dan sinkronisasi kematangan bunga jantan dan betina, dan efektivitas polinator, yang membawa serbuk sari ke kepala putik sehingga terjadi penyerbukan (El-Kassaby dkk. 1988; Robledo-Arnuncio dkk. 2004). Penyerbukan pada jenis konifer yang dibantu oleh angin seperti pada *Pseudotsuga menzesii*, disertai musim berbunga yang berlimpah dapat menyebabkan produksi benih meningkat dan mempunyai variasi genetik yang tinggi (El-Kassaby dkk. 1988). Sebaliknya, produksi benih menurun karena banyak biji hasil silang dalam dan menurunnya kualitas benih yang dihasilkan pada musim berbunga yang berjumlah sedikit misalnya pada awal maupun akhir musim berbunga di kebun benih *Pseudotsuga menzesii* (El-Kassaby dkk. 1988) atau populasi yang terfragmentasi di hutan alam *Pinus sylvestris* (Robledo-Arnuncio dkk. 2004). Pengaruh yang nyata pembungaan terhadap kualitas genetik benih yang dihasilkan juga diamati pada jenis daun lebar seperti jenis *Eucalyptus* (Chaix dkk. 2003).

Proses reproduksi dipengaruhi oleh banyak faktor yang diawali dengan fenologi pembungaan sampai terjadinya buah/biji. Fenologi pembungaan dikendalikan oleh gen pengendali sintesa hormon pembungaan dan fitohormon (Burczyk dan Chalupka 1997).

Fenologi pembungaan juga didukung oleh faktor lingkungan seperti kecukupan matahari dan kecukupan unsur hara. Terbentuknya buah selain dipengaruhi oleh jumlah dan sinkronisasi kematangan bunga jantan dan bunga betina, efektivitas polinator, juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan diantaranya kecukupan sinar matahari, yang dipengaruhi oleh topografi, kerapatan pohon, posisi tajuk dan arah mata angin (Burczyk dan Chalupka 1997). Selain itu, tanaman yang penyerbukannya dibantu oleh hewan, khususnya serangga, cenderung mempunyai pemindahan gen (*gene flow*) yang tidak terlalu jauh, karena keterbatasan jarak terbang serangga (Chaix dkk. 2003).

Calophyllum inophyllum (nyamplung) merupakan tanaman asli Indonesia dan tumbuh secara alami di area pantai sampai pegunungan. Biji nyamplung mempunyai nilai ekonomi yang tinggi terutama dimanfaatkan sebagai bahan mentah untuk bahan bakar minyak nabati. Meskipun nyamplung berbunga sepanjang tahun, namun musim berbunga/berbuah paling banyak diamati pada bulan Agustus (Bustomi dkk. 2008). Untuk memenuhi kebutuhan biji nyamplung berkualitas dalam jumlah cukup, strategi pemuliaan tanaman nyamplung telah diinisiasi dengan dibangunnya uji provenan di beberapa lokasi di Jawa. Kemampuan berbunga dan keberhasilan terjadinya buah/biji merupakan

parameter utama dalam menunjang keberhasilan pelaksanaan strategi pemuliaan nyamplung, sehingga karakteristik pembungaan dan kualitas benih yang dihasilkan merupakan informasi yang penting. Selain itu, permasalahan yang paling mendesak pada jenis ini adalah pembungaan cenderung tidak serempak, sehingga dikawatirkan dapat mempengaruhi kuantitas dan kualitas biji. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui variasi pembungaan, keberhasilan terjadinya buah dan mengetahui sistem perkawinan pada nyamplung di hutan tanaman nyamplung di Watusipat, Gunung Kidul. Hasil penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan baik untuk program konservasi maupun pemuliaan nyamplung.

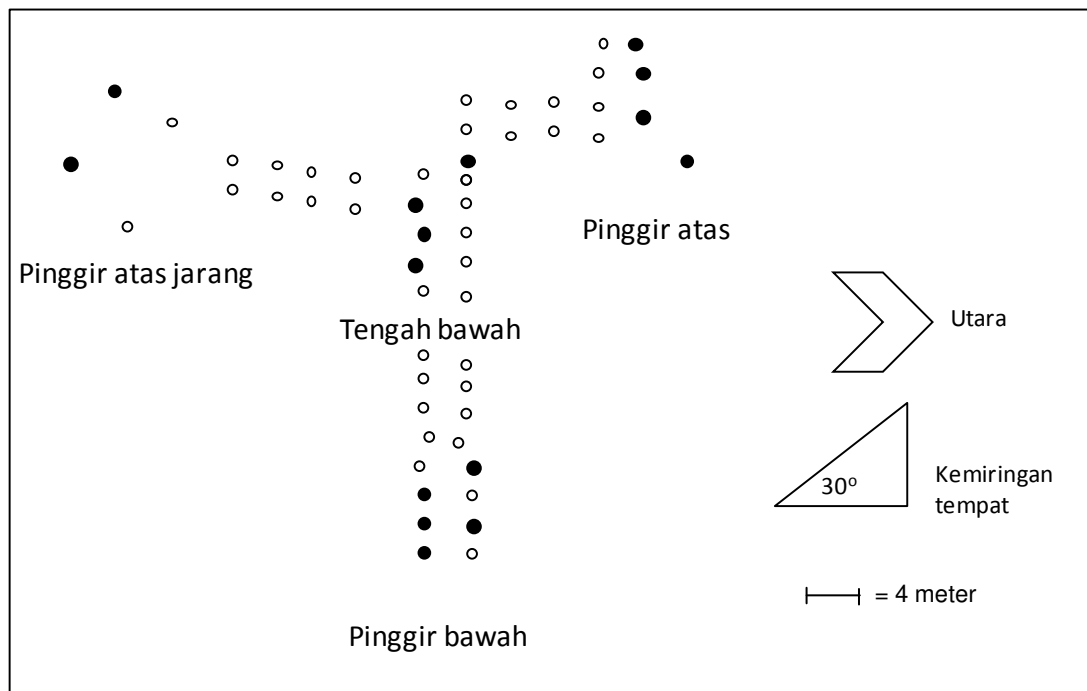
II. BAHAN DAN METODE

Deskripsi plot pengamatan

Hutan penelitian Watusipat, Gunung Kidul dibangun sejak tahun 1958, merupakan hutan koleksi jenis tanaman introduksi untuk tujuan uji kesesuaian lahan dan konservasi, terdiri dari 39 jenis tanaman, ditanam pada 78 petak dengan total area seluas 10 Ha (Anonim, 2004). Pengamatan pembungaan dan pendugaan sistem perkawinan nyamplung dilakukan di petak no.12 tahun tanam 1958 dan petak no. 29 tahun tanam 1967, materi genetik berasal

dari pulau Jawa. Masing-masing petak berukuran 40 m x 40 m. Antara petak no.12 dan no.29 dibatasi oleh tanaman *Swietenia candolei* Pittier., *Acacia catechu*, *Patinarium corymbosium* Miq. Jumlah tanaman nyamplung di plot tersebut sebanyak \pm 50 pohon dan pada umumnya jarak tanam 2 x 4 m², tetapi karena beberapa pohon ada yang mati, sehingga jarak tanam menjadi tidak beraturan (Gambar 1).

Pada saat pengamatan, tidak semua pohon di plot pengamatan berbunga, dari sekitar 50 pohon induk hanya 15 pohon yang berbunga (Gambar 1). Pengamatan terhadap jumlah bunga/buah maupun analisis keragaman genetik hanya dilakukan terhadap 15 pohon induk saja. Untuk mengetahui pengaruh lokasi terhadap jumlah bunga/buah dan untuk mengetahui pola sebaran serbuk sari di hutan tanaman nyamplung tersebut, 15 pohon induk tersebut dikelompokkan menjadi 4 sub plot yaitu (1) pinggir bawah, (2) tengah bawah, (3) pinggir atas dan (4) pinggir atas jarang. Jumlah pohon berbunga di sub plot pinggir bawah sebanyak 5 pohon; di tengah bawah sebanyak 4 pohon; di pinggir atas sebanyak 4 pohon; dan di pinggir atas jarang sebanyak 2 pohon. Jarak antar sub plot dibatasi oleh sejumlah pohon yang tidak berbunga sama sekali. Plot pengamatan membentang arah Barat-Timur dengan kemiringan tempat (topografi) mendekati 30°.



Gambar 1. Posisi pohon induk nyamplung yang berbunga dan berbuah di masing-masing sub plot pengamatan di Watusipat, Gunung Kidul

Keterangan:

- pohon induk yang berbunga/berbuah; ○ pohon induk tidak berbunga/berbuah

Metode

Pengamatan karakter pembungaan dan pematangan

Pengamatan variasi pembungaan dilakukan pada musim berbunga berlimpah pada nyamplung, yaitu bulan Agustus tahun 2009 terhadap 15 pohon yang sedang berbunga (Gambar 1). Untuk mengetahui faktor lingkungan yaitu kecukupan cahaya matahari, unsur hara dan fitohormon, pengamatan jumlah bunga dilakukan di 4 lokasi/ sub plot pengamatan, yaitu pinggir bawah, tengah bawah, pinggir atas dan pinggir atas jarang; di 3 bagian tajuk yaitu atas, tengah dan bawah pada setiap pohon;

dan 4 mata angin yaitu Utara, Selatan, Timur dan Barat.

Pengamatan variasi pematangan dilakukan enam bulan setelah pengamatan pembungaan yaitu bulan Pebruari tahun 2010; terhadap 15 pohon yang sama tersebut di atas. Seperti pada pengamatan pembungaan, pematangan diamati di lokasi/ sub plot pengamatan, tajuk dan mata angin.

Pengambilan sampel untuk analisis RAPD

Analisis keragaman genetik menggunakan penanda RAPD dilakukan terhadap 15 pohon induk dan beberapa anakan di setiap sub plot. Supaya lebih

mudah dipahami, selanjutnya sampel pohon induk disebut sebagai kelompok pohon induk dan sampel anakan disebut sebagai kelompok anakan. Sampel daun kelompok pohon induk dikumpulkan dari semua pohon induk yang sedang berbunga saja di masing-masing sub plot pengamatan. Sesuai Gambar 1 di atas, jumlah sampel pohon induk di sub plot pinggir bawah sebanyak 5 pohon, di sub plot tengah bawah sebanyak 4 pohon, di sub plot pinggir atas sebanyak 4 pohon, dan di sub plot pinggir atas jarang sebanyak 2 pohon. Total sampel daun kelompok pohon induk sebanyak 15 pohon. Sedangkan sampel daun kelompok anakan dikumpulkan dan dipilih secara acak dari anakan yang ada di bawah pohon induk di masing-masing sub plot pengamatan. Jumlah sampel daun anakan di sub plot pinggir bawah sebanyak 14 anakan, di sub plot tengah bawah sebanyak 13 anakan, di sub plot pinggir atas sebanyak 21 anakan dan di sub plot pinggir atas jarang sebanyak 10 anakan. Total sampel daun kelompok anakan sebanyak 58 anakan. Kemudian, sampel daun tersebut dimasukkan dalam amplop yang sudah diberi *silica gel* dan disimpan pada suhu ruang sampai dilakukan ekstraksi DNA.

Analisis DNA menggunakan penanda RAPD

Screening penanda RAPD pada nyamplung telah dilakukan terhadap 100

primer RAPD. Namun demikian dari 100 hanya 5 primer yang bersifat stabil dan polimorfik yaitu OPQ13, OPQ14; OPQ16; OPQ17 dan OPY14, selanjutnya 5 primer ini digunakan untuk analisis keragaman genetik. Sekuen oligonukleotida 5 primer RAPD dan jumlah lokus polimorfik pada nyamplung disajikan pada Tabel 1.

Larutan PCR terdiri dari 10 μ L campuran 10 x *buffer stoffel*, 3 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0.05Unit *AmpliTaq stoffel polymerase*, 10 μ M primer RAPD dan 10 ng/ μ L *template DNA*. Kondisi PCR terdiri dari denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 45 siklus yang terdiri dari denaturasi (94°C selama 1,5 menit), penempelan primer (37°C selama 30 detik) dan pemanjangan untai DNA (70°C selama 30^oC), kemudian pemantapan pada suhu 70°C selama 5 menit. Proses PCR dilakukan menggunakan mesin *thermal cycler GeneAmp PCR system 9700* (Applied Biosystem).

Tabel 1. Primer RAPD dan jumlah lokus polimorfik

No.	Primer	Sekuen (5'-3')	Jumlah lokus polimorfik	Ukuran lokus (bp)
1	OPQ-13	GGAGTGGACA	4	350, 380, 400, 650
2.	OPQ-14	GGACGCTTCA	4	450, 550, 650, 1050
3.	OPQ-16	AGTGCAGCCA	3	220, 290, 550
4.	OPQ-17	GAAGCCCTTG	3	300, 400, 700
5.	OPY-14	GGTCGATCTG	3	350, 500, 600
		Jumlah	17	

Analisis data

Data hasil pengamatan terhadap jumlah bunga dan buah dianalisis menggunakan analisis sidik ragam menggunakan 3 faktor yaitu lokasi sub plot, tajuk dan mata angin. Analisis dilakukan berdasarkan data jumlah bunga dan buah pada setiap lokasi sub plot, tajuk, mata angin, interaksi lokasi dengan tajuk, interaksi lokasi dengan mata angin, interaksi tajuk dengan mata angin, dan interaksi lokasi, tajuk dan mata angin. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk membedakan rata-rata sumber variasi yang diuji. Analisis sidik ragam dan uji LSD dilakukan menggunakan program komputer SPSS versi 19.

Sistem perkawinan pada tegakan nyamplung, diduga dengan cara membandingkan parameter keragaman genetik antara kelompok pohon induk dan anakan. Parameter keragaman genetik yang digunakan yaitu tingkat keragaman genetik berdasarkan Nei (1973) (h), dan tingkat *linkage disequilibrium* ($L-D$) dianalisis

menggunakan program komputer POPGENE versi 1.31 (Yeh dkk. 1999). Dendrogram disusun berdasarkan data jarak genetik (D_a ; Nei dkk. 1983) menggunakan metode UPGMA, untuk mengetahui kedekatan genetik antar kelompok pohon induk dan anakan, tingkat kepercayaan dengan 1,000 kali pengulangan (bootstrap) dan dianalisis menggunakan software POPTREE2 (Takezaki dkk. 2010).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Variasi jumlah bunga dan buah

Hasil analisis sidik ragam jumlah bunga dan buah di masing-masing lokasi sub plot pengamatan, tajuk dan mata angin dan masing-masing interaksinya disajikan pada Tabel 1. Jumlah bunga dan buah berbeda secara nyata pada lokasi, tajuk, mata angin, interaksi lokasi dengan mata angin.

Tabel 1. Analisis sidik ragam lokasi, tajuk dan mata angin terhadap jumlah bunga dan buah di hutan tanaman nyamplung di Watusipat Gunung Kidul

Sumber variasi	db	Kuadrat tengah	
		Bunga	Buah
Lokasi	3	19222390,8 *	17301,3 *
Tajuk	2	4768531,1 *	5973,9 *
Mata angin	3	3099096,0 *	5561,7 *
Lokasi*Tajuk	6	1413676,6 ns	1691,2 ns
Lokasi*Mata angin	9	2913273,5 *	4610,0 *
Tajuk*Mata angin	6	1180003,9 ns	1349,7 ns
Lokasi*Tajuk*Mata angin	18	413193,4 ns	787,5 ns

Keterangan: * Berbeda nyata pada taraf uji 5%, ns= Tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

Rata-rata jumlah bunga dan buah banyak di lokasi pinggir atas maupun pinggir berdasarkan lokasi sub plot disajikan pada atas jarang namun terbentuknya buah lebih Tabel 2. Meskipun jumlah bunga lebih banyak di lokasi pinggir atas saja.

Tabel 2. Uji LSD rata-rata jumlah bunga dan buah berdasarkan lokasi sub plot di hutan tanaman nyamplung Watusipat Gunung Kidul

Lokasi	Rerata Jumlah Bunga ±S.D	Rerata Jumlah Buah ±S.D
Pinggir Bawah	444,75 ± 402,31 b	6,90 ± 16,52 c
Tengah Bawah	265,33 ± 574,71 b	1,54 ± 4,29 c
Pinggir Atas	1638,67 ± 1725,16 a	43,35 ± 64,10 a
Pinggir Atas Jarang	1153,33 ± 1408,71 a	23,88 ± 39,86 b

Keterangan: Rata-rata yang dihubungkan dengan huruf yang tidak sama, berbeda nyata pada taraf uji 5%

Rata-rata jumlah bunga dan buah sedangkan jumlah buah paling banyak berdasarkan tajuk disajikan pada Tabel 3. diamati di bagian atas sampai dengan tengah Jumlah bunga paling banyak diamati di tajuk. bagian tengah sampai dengan atas tajuk,

Tabel 3. Uji LSD rata-rata jumlah bunga dan buah berdasarkan tajuk pohon di hutan tanaman nyamplung di Watusipat, Gunung Kidul

Tajuk	Rerata Jumlah Bunga ±S.D	Rerata Jumlah Buah ±S.D
Atas	769,07 ± 1364,94 ab	25,70 ± 57,19 a
Tengah	1104,81 ± 1395,21 a	19,12 ± 37,24 ab
Bawah	566,40 ± 788,94 b	7,75 ± 15,93 b

Keterangan: Rata-rata yang dihubungkan dengan huruf yang tidak sama, berbeda nyata pada taraf uji 5% ,

Rata-rata jumlah bunga dan buah di sebelah Utara dan Timur, sedangkan berdasarkan arah mata angin disajikan pada jumlah buah paling banyak terlihat sebelah Tabel 4. Jumlah bunga paling banyak terlihat Utara saja.

Tabel 4. Uji LSD rata-rata jumlah bunga dan buah berdasarkan arah mata angin di hutan tanaman nyamplung di Watusipat, Gunung Kidul

Mata angin	Rerata Jumlah Bunga \pm S.D		Rerata Jumlah Buah \pm S.D	
Timur	1017,45 \pm 1656,38	ab	17,57 \pm 38,75	b
Barat	490,67 \pm 538,80	c	10,67 \pm 20,34	b
Utara	1107,91 \pm 1320,67	a	33,07 \pm 64,89	a
Selatan	635,73 \pm 1055,31	bc	8,76 \pm 17,70	b

Keterangan: Rata-rata yang dihubungkan dengan huruf yang tidak sama, berbeda nyata pada taraf uji 5%,

Tabel 5 menunjukkan rata-rata jumlah Timur, serta pinggir atas jarang sebelah bunga dan buah berdasarkan interaksi lokasi Selatan, sedangkan buah banyak terlihat di dengan arah mata angin. Bunga banyak pinggir atas Utara. terlihat di pinggir atas sebelah Utara dan

Tabel 5. Uji LSD rata-rata jumlah bunga dan buah berdasarkan interaksi lokasi dengan arah mata angin di hutan tanaman nyamplung di Watusipat, Gunung Kidul

Lokasi* Mata angin	Rerata Jumlah Bunga \pm S.D		Rerata Jumlah Buah \pm S.D	
Pinggir Bawah*Timur	1996,8 \pm 843,5	c	19,0 \pm 34,7	bc
Pinggir Bawah*Barat	1299,2 \pm 756,8	c	37,6 \pm 65,8	bc
Pinggir Bawah*Utara	1280,0 \pm 613,9	c	14,0 \pm 19,5	bc
Pinggir Bawah*Selatan	774,4 \pm 471,1	c	10,8 \pm 17,4	bc
Tengah Bawah*Timur	1216,0 \pm 2137,4	c	11,3 \pm 22,5	bc
Tengah Bawah*Barat	440,0 \pm 596,0	c	4,8 \pm 9,5	bc
Tengah Bawah*Utara	1224,0 \pm 1866,3	c	0,0 \pm 0,0	c
Tengah Bawah*Selatan	304,0 \pm 441,5	c	2,5 \pm 5,0	c
Pinggir Atas*Timur	6280,0 \pm 6701,4	ab	108,0 \pm 109,7	b
Pinggir Atas*Barat	2584,0 \pm 1376,5	c	50,0 \pm 36,3	bc
Pinggir Atas*Utara	8000,0 \pm 2405,3	a	300,8 \pm 185,4	a
Pinggir Atas*Selatan	2800,0 \pm 480,0	bc	61,5 \pm 76,5	bc
Pinggir Atas Jarang*Timur	2656,0 \pm 995,6	bc	100,5 \pm 140,7	bc
Pinggir Atas Jarang*Barat	1744,0 \pm 2149,6	c	36,5 \pm 51,6	bc
Pinggir Atas Jarang*Utara	3280,0 \pm 2285,4	bc	107,5 \pm 137,9	bc
Pinggir Atas Jarang*Selatan	6160,0 \pm 8259,0	ab	42,0 \pm 59,4	bc

Keragaman genetik di dalam plot pengamatan.

Tabel 6 menunjukkan tingkat keragaman genetik kelompok pohon induk dan kelompok anakan di dalam sub plot pengamatan. Tingkat keragaman genetik (*h*) kelompok pohon induk berkisar antara 0,1471 (pohon induk pinggir atas jarang) sampai dengan 0,3056 (pohon induk pinggir

bawah). Sedangkan nilai *h* kelompok anakan lebih tinggi dibandingkan kelompok pohon induk berkisar antara 0,2864 (anakan pinggir bawah) sampai dengan 0,3750 (anakan pinggir atas jarang). Bahkan kenaikan nilai *h* kelompok anakan di lokasi pinggir atas jarang hampir 3 kali nilai *h* kelompok pohon induk. Nilai *linkage disequilibrium* (*L-D*) kelompok anakan umumnya lebih tinggi

dibandingkan kelompok pohon induk. nilai $L-D$ yang tidak signifikan (nilainya nol) Bahkan kelompok pohon induk di lokasi namun kelompok anakan di lokasi yang tengah bawah dan pinggir atas mempunyai sama mempunyai nilai $L-D$ yang tinggi.

Tabel 6. Tingkat keragaman genetik dalam kelompok pohon induk dan anakan di setiap lokasi sub plot pengamatan

Keragaman genetik	Lokasi sub plot pengamatan							
	Pinggir bawah		Tengah bawah		Pinggir atas		Pinggir atas jarang	
	Pohon induk	Anakan	Pohon induk	Anakan	Pohon induk	Anakan	Pohon induk	Anakan
N	5	14	4	13	4	21	2	10
h	0,3056	0,2864	0,2647	0,3559	0,2230	0,3594	0,1471	0,3750
$\uparrow\downarrow h$	Turun 0,9 x		Naik 1,3 x		Naik 1,6 x		Naik 2,5	
$L-D$	48	44	0	36	4	32	0	32

N:jumlah sampel, h : keragaman genetik Nei (1973), $L-D$: linkage disequilibrium, $\uparrow\downarrow h$: kenaikan/penurunan nilai h pohon induk terhadap anakan

Keragaman genetik antar sub plot tinggi (0,197-0,364). Nilai Da antar pengamatan

Tabel 7 menunjukkan jarak genetik (Da , Nei dkk. 1983) kelompok pohon induk dan anakan antar plot pengamatan. Nilai Da antar kelompok pohon induk termasuk dalam kategori dalam nilai tinggi sampai sangat

Tabel 7. Jarak genetik antar kelompok pohon induk dan anakan (Da , Nei dkk. 1983)

	1	2	3	4	5	6	7	8
1		<u>0,111</u>	0,224	0,082	0,237	0,101	0,217	0,074
2			0,188	<u>0,051</u>	0,203	<u>0,057</u>	0,264	<u>0,043</u>
3				<u>0,181</u>	0,220	0,131	0,197	0,143
4					0,132	<u>0,033</u>	0,213	<u>0,032</u>
5						<u>0,178</u>	0,364	0,208
6							0,184	<u>0,013</u>
7								<u>0,184</u>

Keterangan:

- | | |
|------------------------------------|-------------------------------|
| 1. Pohon Induk Pinggir Bawah | 2. Anakan Pinggir Bawah |
| 3. Pohon Induk Tengah Bawah | 4. Anakan Tengah Bawah |
| 5. Pohon Induk Pinggir Atas | 6. Anakan Pinggir Atas |
| 7. Pohon Induk Pinggir Atas Jarang | 8. Anakan Pinggir Atas Jarang |

Angka digarisbawahi: nilai Da antara kelompok pohon induk dengan kelompok anakan

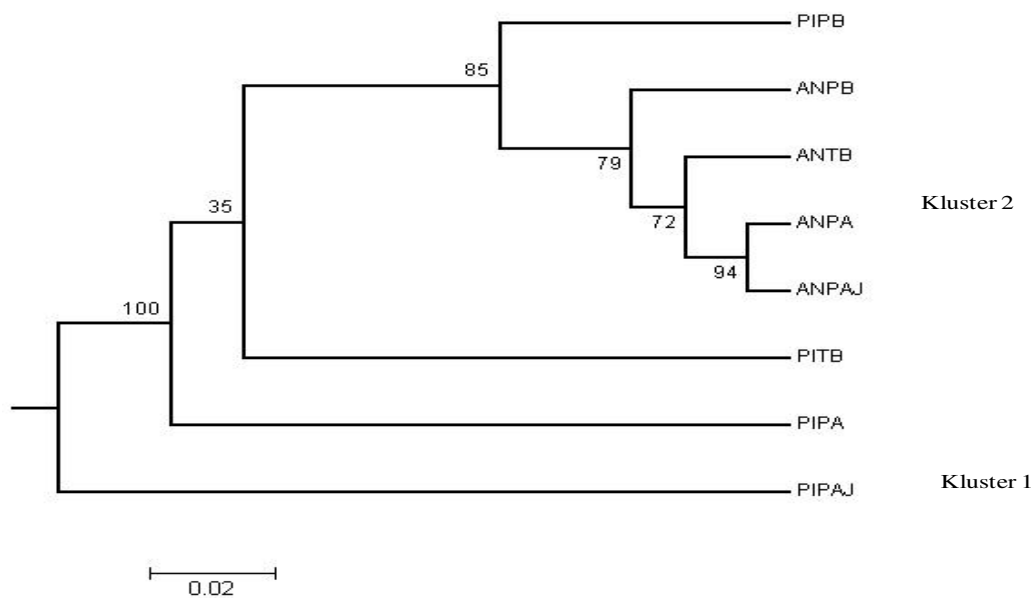
Angka ditebalkan: nilai Da antar kelompok pohon induk

Angka dimiringkan: nilai Da antar kelompok anakan

Gambar 2 menunjukkan dendrogram antar kelompok pohon induk dan anakan yang menunjukkan hubungan kekerabatan pada setiap sub plot pengamatan.

Dendrogram terbagi menjadi 2 kluster; kluster 1 terdiri dari pohon induk pinggir atas jarang dan kluster 2 terdiri dari 2 sub kluster yaitu sub kluster kelompok pohon induk pinggir atas dan sub-kluster pohon induk tengah bawah dan sub-kluster anakan dari semua sub plot dan pohon induk pinggir bawah. Sub kluster pohon induk pinggir atas

terpisah secara jelas dengan pohon induk tengah bawah maupun pohon induk pinggir bawah dengan tingkat kepercayaan 100%. Sedangkan sub kluster pohon induk tengah bawah dan pohon induk pinggir bawah terlihat terpisah namun mempunyai tingkat kepercayaan rendah (35%).



Gambar 2. Dendrogram menunjukkan hubungan kekerabatan antar kelompok pohon induk dan anakan pada setiap sub plot pengamatan

Keterangan:

PIPBA=Pohon Induk Pinggir Bawah

ANPB=Anakan Pinggir Bawah

PITB=Pohon Induk Tengah Bawah

ANTB=Anakan Tengah Bawah

PIPA=Pohon Induk Pinggir Atas

ANPA=Anakan Pinggir Atas

PIPAJ=Pohon Induk Pinggir Atas Jarang

ANPAJ=Anakan Pinggir Atas Jarang

B. Pembahasan

Karakterisasi pembungaan dan pembuahan

Penelitian ini menunjukkan bahwa nyamplung ditanam pada dua tahun yang

berbeda (1958 dan 1967) dan pengamatan dilakukan pada musim bunga berlimpah, hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak semua pohon berbunga. Sub plot pinggir atas merupakan tanaman tahun 1967 sedangkan

sub plot pinggir atas jarang ditanam tahun 1958. Namun demikian perbedaan tahun tanam ini tidak berpengaruh terhadap kelimpahan bunga. Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah bunga antara dua tahun tanam tersebut tidak berbeda nyata. Jumlah bunga bervariasi antar lokasi, tajuk maupun arah mata angin. Variasi jumlah bunga sering dilaporkan meskipun di hutan tanaman seperti variasi produksi bunga antar klon, tajuk dan tahun pada kebun benih *Pinus sylvestris* (Burczyk dan Chalupka, 1997).

Faktor lingkungan seperti kecukupan cahaya matahari dan unsur hara mempengaruhi proses pembungaan. Kecukupan cahaya matahari berhubungan dengan tingkat fotosintesis sebagai sumber energi bagi proses pembungaan, sedangkan kecukupan unsur hara dalam tanah berhubungan dengan ketersediaan suplai energi dan bahan pembangun bagi proses pembentukan dan perkembangan bunga. Selain faktor lingkungan, efek persaingan antar individu pohon juga menentukan proses pembungaan (Burczyk dan Chalupka, 1997). Walaupun tidak mengukur secara langsung, namun bisa diamati bahwa tanaman di lokasi pinggir dan tengah bawah memperoleh cahaya matahari lebih sedikit dibandingkan di lokasi pinggir atas dan pinggir atas jarang karena di dua lokasi bawah tersebut pohon dewasa saling menutup satu sama lain, sementara di dua

lokasi atas, intensitas cahaya mampu menembus area diantara pohon-pohon yang ada. Selain intensitas cahaya, lokasi sub plot juga dihubungkan dengan persaingan antar individu pohon dalam mendapatkan unsur hara yang dibutuhkan selama proses pembungaan. Jumlah pohon berbunga di lokasi sub plot pinggir bawah dan tengah bawah masing-masing sebanyak 5 dan 4 pohon sehingga di plot tersebut membutuhkan unsur hara (selain intensitas cahaya) yang lebih banyak dibandingkan lokasi sub plot lainnya dengan densitas pohon yang lebih rendah. Kebutuhan cahaya dan unsur hara tidak cukup mendukung proses pembungaan di dua lokasi bawah tersebut sehingga bunga berjumlah sedikit. Kondisi lingkungan di lokasi pinggir atas dan pinggir atas jarang menunjukkan kondisi yang ideal untuk terjadinya bunga, dalam hal kerapatan pohon dan kecukupan kebutuhan cahaya matahari. Fenomena intensitas cahaya matahari juga berlaku untuk pengaruh tajuk dan arah mata angin terhadap pembungaan. Selain itu, pengaruh fisiologi distribusi fitohormon pembungaan berbeda pada setiap bagian tajuk yang berpengaruh terhadap proses pembungaan (Burczyk dan Chalupka, 1997). Intensitas cahaya dari arah Utara dan Timur merupakan arah mata angin yang paling baik untuk pembungaan pada nyamplung dibandingkan Selatan dan Barat.

Banyak faktor yang mempengaruhi

terbentuknya buah, diantaranya jumlah bunga yang tersedia dan efektifitas polinator (Burczyk dan Chalupka 1997). Lokasi pinggir atas menunjukkan keberhasilan terjadinya buah yang paling banyak dibandingkan tiga lokasi lainnya. Seperti disebutkan di atas bahwa jumlah bunga berlimpah di lokasi pinggir atas, posisi tajuk tengah ke atas, dan arah mata angin Utara dan Timur menunjukkan jumlah bunga yang lebih berlimpah dibandingkan lokasi lainnya. Selain jumlah bunga, terbentuknya buah juga dipengaruhi oleh efektifitas polinator yang membantu terjadinya penyerbukan. Serbuk sari nyamplung bersifat relatif basah dengan bunganya yang harum sehingga proses penyerbukan lebih didominasi oleh serangga seperti kumbang, kupu-kupu dan lebah. Serangga menyukai kondisi dengan sinar matahari yang cukup yaitu di pinggir atas dan pinggir atas jarang. Selain itu, bunga di lokasi ini lebih mudah terlihat oleh mata facet serangga.

Penelitian ini juga menunjukkan bahwa interaksi lokasi dengan mata angin mempengaruhi jumlah buah. Lokasi pinggir atas di sebelah Utara menunjukkan pembuahan yang paling banyak dibandingkan interaksi lokasi dengan arah mata angin lainnya. Lokasi pinggir atas sebelah utara menghadap area terbuka di plot pengamatan, sehingga memberi peluang yang lebih besar terjadinya pembuahan.

Selain itu, tidak semua bunga yang telah diserbuki menghasilkan buah. Hal ini ditunjukkan di sub plot pinggir atas dan pinggir atas jarang yang mempunyai jumlah bunga yang sama banyak namun tidak diikuti dengan jumlah buah yang sama banyak. Selain produksi bunga, banyak faktor lain yang mempengaruhi terbentuknya buah, diantaranya kematangan bunga betina dan jantan, kesehatan embrio setelah penyerbukan dan efektifitas polinator.

Keragaman genetik kelompok pohon induk dan anakan

Hampir semua nilai keragaman genetik (h) kelompok anakan meningkat dibandingkan pohon induk di semua sub plot pengamatan, bahkan plot pinggir atas jarang nilai h kelompok anakan meningkat hampir 3 kali lipat dibandingkan nilai kelompok pohon induk. Nilai h yang meningkat di kelompok anakan dibandingkan indukannya mengindikasikan sistem perkawinan random (El Kassaby dkk. 1984).

Nilai $L-D$ adalah salah satu parameter keragaman genetik didalam populasi dan menunjukkan asosiasi allele yang tidak random pada beberapa lokus pada proses segregasi/perkawinan. Nilai $L-D$ meningkat di hampir semua kelompok anakan dan nilainya termasuk tinggi. Tingginya nilai $L-D$ menunjukkan bahwa anakan yang dihasilkan

berasal dari kombinasi gamet beberapa pohon induk saja yang berkerabat. Hal ini beralasan karena pohon induk yang berbunga di hutan tanaman Nyampung hanya beberapa saja. Hal yang sama juga dilaporkan di kebun benih klon *Pseudotsuga menziesii* bahwa nilai *L-D* meningkat di awal dan akhir dibandingkan puncak musim pembungaan dimana pembungaan di musim tersebut berjumlah sedikit (El Kassaby dkk. 1988).

Nilai jarak genetik (*Da*) adalah salah satu parameter keragaman genetik antar populasi dan menunjukkan perbedaan genetik antar populasi. Nilai jarak genetik (*Da*) antar kelompok pohon induk dikategorikan tinggi namun nilai tersebut menurun di kelompok anakan, bahkan nilainya semakin menurun antar kelompok anakan. Hal ini mengindikasikan bahwa sebaran serbuk sari tidak terhalang dari satu sub plot ke sub plot yang lain. Meskipun pohon induk yang berbunga hanya beberapa pohon saja namun polinator bergerak bebas membantu proses penyerbukan. *Gene flow* yang tidak terhalang ini membantu mempertahankan keragaman genetik suatu populasi (Dow dan Ashley, 1998).

Dendrogram menunjukkan hubungan kekerabatan secara genetik antar kelompok pohon induk dan anakan. Dari hasil dendrogram tersebut terlihat bahwa semua anakan mengelompok dengan pohon induk

pinggir bawah; sedangkan pohon induk mengelompok dalam kelompok yang lain. Informasi kedekatan genetik pohon induk pinggir bawah dengan kelompok anakan di semua plot pengamatan menunjukkan bahwa banyak pohon induk yang berbunga di sub plot pinggir bawah (5 pohon induk yang berbunga) mampu menyerbuki semua pohon berbunga di berbagai sub plot sehingga mempunyai potensi sebaran serbuk sari yang lebih luas dibandingkan plot yang mempunyai jumlah pohon berbunga yang sedikit seperti tiga sub-plot lainnya yaitu tengah bawah, pinggir atas dan pinggir atas jarang. Dominansi serbuk sari dalam suatu proses penyerbukan di plot dengan jumlah pohon induk berbunga yang lebih banyak juga diamati di hutan alam *Pinus radiata* (Robledo-Arnuncio dkk. 2004).

IV. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah bunga berbeda secara nyata di lokasi sub plot, tajuk, arah mata angin, dan interaksi antara lokasi dan arah mata angin. Hal ini bisa disebabkan oleh faktor lingkungan yang mendukung proses pembungaan seperti cahaya matahari, unsur hara dan fitohormon. Selain itu terbentuknya buah tidak hanya ditentukan oleh jumlah bunga saja namun juga efektivitas polinator.

Nilai keragaman genetik (*h*) kelompok

anakan lebih tinggi dibandingkan kelompok pohon induk menunjukkan bahwa karakteristik sistem perkawinan di tipe hutan tanaman seperti Gunung Kidul mendekati sistem perkawinan random. Namun demikian, tingginya nilai *linkage disequilibrium (L-D)* pada kelompok anakan menunjukkan indikasi kawin kerabat karena hanya beberapa pohon saja yang menghasilkan bunga. Rendahnya nilai jarak genetik (*Da*) antar kelompok anakan dibandingkan kelompok indukannya menunjukkan sebaran serbuk sari (*gene flow*) yang luas di lokasi tersebut. Selain itu, mengelompoknya pohon induk pinggir bawah dengan semua kelompok anakan menunjukkan bahwa plot dengan jumlah pohon berbunga terbanyak, memberi peluang yang lebih tinggi untuk menyebarkan serbuk sari dan mendominasi proses penyerbukan.

Penelitian ini menunjukkan bahwa materi genetik (benih/anakan) yang digunakan untuk pembangunan plot konservasi maupun uji pemuliaan harus diperoleh dari musim berbunga yang berlimpah, karena pada musim tersebut kemungkinan terjadinya perkawinan acak/random lebih besar sehingga kemungkinan mendapatkan benih dengan keragaman tinggi akan lebih tinggi. Selain itu, untuk mendapatkan benih berkualitas dalam jumlah cukup/memadai pada uji pemuliaan, famili yang ada di populasi pemuliaan harus mempunyai tingkat sinkronisasi pembungaan yang tinggi antar individu pohon.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Subagyo, penanggung jawab lapangan di hutan penelitian Watusipat, Gunung Kidul yang telah banyak membantu dalam kegiatan pengamatan pembungaan/ pemuahan dan pengumpulan materi genetik. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Ibu Wahyuni Sari dan Bapak Y. Triyanta, teknisi di Laboratorium Genetika Molekuler Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, yang telah banyak membantu baik mengumpulkan materi genetik di lapangan maupun kegiatan penelitian di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2004. Sekilas hutan penelitian: Watusipat Playen Gunung Kidul. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan. Yogyakarta. 11 hal.
- Burczyk, J., Chalupka, W. 1997. Flowering and cone production variability and its effect on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Annual Science Forest* 54: 129-144
- Bustomi, S., Rostiwati, T., Sudradjat, R., Leksono, B., Kosasih, A.S., Anggraeni, I., Syamsuwida, D., Lisnawati, Y., Mile, Y., Djaenudin, D., Mahfudz, dan Rachman, E. 2008. Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) sumber energi biofuel yang potensial. Priyono, N.S. and Widyaningtyas, N. (eds.). Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta. 62 p.
- Burczyk, J., and Prat, D. 1997. Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco: the effects of spatial structure and flowering characteristics. *Heredity* 79: 638-647
- Chaix, G., Gerber, S., Razafimaharo, V., Vigneron, P., Verhaegen, D., Hamon, S. (2003) Gene flow estimates with microsatellites in a Malagasy seed orchard of *Eucalyptus grandis*. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 705-712
- Dow, B.D. and Ashley, M.V. (1998) High levels of gene flow in bur Oak revealed by paternity analysis using microatellites. *The Journal of Heredity* 89 (1): 62-70
- El-Kassaby, Y.A., Fashler, A.M.K., Sziklai, O. (1984) Reproductive phenology and its impact on

- genetically improve seed production in a Douglass-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 33 (4-5): 120-125
- El-Kassaby, Y.A., Ritland, K., Fashler, A.M.K., Devitt, W.J.B. (1988) The role of reproductive phenology upon the mating system of a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 37 (2): 76-82
- Moriguchi, Y., Taira, H., Tani, N., Tsumura, Y. (2004) Variation of paternal contribution in a seed orchard of *Cryptomeria japonica* determined using microsatellite markers. *Canadian Journal of Forest Research* 34: 1683-1690
- Nei, M., Tajima, F., Tateno, Y. (1983). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J Mol Evol.* 19: 153-170
- Robledo-Arnuncio, J.J. Alia, R., Gil, L. (2004) Increased selfing and correlated paternity in a small population of a predominantly outcrossing conifer, *Pinus sylvestris*. *Molecular Ecology* 13: 2567-2577
- Takezaki N., Nei, M., Tamura, K. (2010) POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows interface. *Molecular Biology Evolution* 27(4):747-752
- Yeh, F.C., R.C. Yang., T.B.J. Boyle, Z.H. Ye. and J.X. Mao. 1999. POPGENE 3.2. The user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center. University of Alberta. Edmonton.

