

**Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan**

Vol. 5 No. 3, November 2011

## DAFTAR ISI

1. **VARIASI GENETIK *Pinus merkusii* MENGGUNAKAN PENANDA MIKROSATELIT KLOROPLAS**  
*Genetic variation of Pinus merkusii as revealed by chloroplast microsatellite*  
**I.L.G. Nurtjahjningsih, AYPBC. Widyatmoko dan Anto Rimbawanto** ..... **119-128**
2. **VARIASI KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT KARAT TUMOR PADA SENGON TINGKAT SEMAI**  
*Variation of Resistance to Gall Rust Disease of Falcataria moluccana Seedlings*  
**Liliana Baskorowati dan Siti Husna Nurrohmah** ..... **129-138**
3. **KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN KEKERABATAN PADA TIGA JENIS *Aquilaria* MENGGUNAKAN PENANDA RAPD**  
*Genetic Diversity And Genetic Relationship of Three Aquilaria Species Using RAPD Markers*  
**AYPBC Widyatmoko, Elsih Dian Ariningsih dan Aniek Prasetyaningsih** ..... **139-148**
4. **MIKROPROPAGASI RAMIN (*Gonystilus bancanus* (Miq.) Kurz) DARI EKSPLAN BATANG SATU BUKU SECARA *IN VITRO***  
*Micropropagation of ramin (Gonystilus bancanus (Miq.) Kurz) from single node stem explant through in vitro*  
**Yelnititis dan T.E Komar** ..... **149-157**
5. **PENGARUH ASAL POPULASI DAN KOMPOSISI MEDIA TERHADAP KEBERHASILAN STEK PUCUK PULAI DARAT (*Alstonia angustiloba* Miq.)**  
*The effect of population sources and media composition toward shoot cutting growth of A. angustiloba Miq.)*  
**Mashudi** ..... **159-168**



Kata kunci bersumber dari artikel. Lembar abstrak ini boleh dicopy tanpa ijin dan biaya

UDC(OXDCE) 630\*165

I.L.G. Nurtjahjaningsih, AYPBC. Widyatmoko dan Anto Rimbawanto (Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan)

VARIASI GENETIK *Pinus merkusii* MENGGUNAKAN PENANDA MIKROSATELIT KLOOROPLAS (*Schleicheria oleosa* Merr.)

J. Pemuliaan Tanaman Hutan Vol. 5 No. 3, 2011 p. 119 - 128.

*Haplotype* didalam dan antar populasi *Pinus merkusii* dievaluasi menggunakan 2 primer kloroplas universal, untuk mengetahui variasi garis tetua jantan pada jenis ini. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi mikrosatelit kloroplas pada *Pinus merkusii*. Menggunakan dua penanda mikrosatelit kloroplas universal, 18 variasi *haplotype* kloroplas ditemukan di antara 730 individu dari 10 populasi di Jawa. *Haplotype* yang hanya muncul pada satu populasi saja (*privat haplotype*) ditemukan pada populasi di Jawa bagian timur. Jumlah *haplotype* yang terdeteksi (Na) didalam populasi berkisar antara 5 sampai 14. Variasi *haplotype* (*h*) relatif tinggi, berkisar antara 0,727 dan 0,858. Jarak genetik Nei antar populasi sangat rendah ( $D_a=0,030$ ). Analisa sidik ragam molekuler (AMOVA) menunjukkan bahwa variasi genetik berasal dari variasi didalam populasi, namun nilainya tidak signifikan. Dari penelitian disimpulkan bahwa *haplotype* privat yang ditemukan di Jawa bagian timur menunjukkan bahwa daerah ini mempunyai koleksi genetik yang paling lengkap (*gene pool*) *P. merkusii*. *Haplotype* yang ditemukan ini merupakan informasi yang penting untuk menyusun strategi konservasi sumberdaya genetik maupun pemuliaan *P. merkusii*.

Kata Kunci : *Pinus merkusii*, variasi genetik, mikrosatelit kloroplas

UDC(OXDCE) 630\*443

Liliana Baskorowati dan Siti Husna Nurrohmah (Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan)

VARIASI KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT KARAT TUMOR PADA SENGON TINGKAT SEMAI

J. Pemuliaan Tanaman Hutan Vol. 5 No. 3, 2011 p. 129 - 138.

Penyakit yang sangat serius menyerang tanaman sengon (*Falcataria moluccana*) adalah karat tumor (*gall rust*). Penyakit karat tumor ini disebabkan oleh jamur *Uromygladium tepperianum* (Sacc.) McAlp. Penyakit ini mengakibatkan penurunan produktivitas kayu karena kematian dan patah batang (setelah tumor mengelilingi batang), penurunan harga pasar dan menghambat pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sumber benih (provenan) sengon yang toleran terhadap penyakit karat tumor pada tingkat persemaian. Lima sumber benih yang digunakan dalam studi ini yaitu, dari provenan Papua (Elaigama Hubikosi dan Siba Hubikosi) dan dari ras lahan Jawa (Candirotto, Kediri dan Wonosobo). Inokulasi jamur karat dilakukan dengan menggunakan suspensi spora karat tumor yang masih segar, pada saat umur semai 2 minggu. Selanjutnya tinggi dan skoring gejala serangan untuk mengetahui luas serangan dan intensitas serangan diamati setiap seminggu sekali. Hasil penelitian menunjukkan terdapat variasi pada pertumbuhan tinggi, luas serangan dan intensitas serangan antar semai dari beberapa provenan uji. Semai yg berasal dari Papua mempunyai pertumbuhan tinggi antara 6,5 -12,2 cm, sedangkan dari Jawa berkisar 6,5-8,2 cm. Provenan dari Wamena menunjukkan lebih toleran terhadap serangan jamur karat tumor dengan luas serangan dan intensitas serangan sebesar 0%, dibandingkan dengan provenan dari Jawa yang mempunyai luas serangan berkisar 86-94% dan intensitas serangan 53-60%.

Kata Kunci : Sengon, karat tumor, intensitas serangan, luas serangan

UDC(OXDCF) 630\*165

AYPBC Widyatmoko<sup>1</sup>, Elsih Dian Ariningsih<sup>2</sup> & Aniek Prasetyaningsih<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan; <sup>2</sup>Fakultas Biologi Universitas Kristen Duta Wacana)

#### KERAGAMAN GENETIK DAN HUBUNGAN KEKERABATAN PADA TIGA JENIS *Aquilaria* MENGGUNAKAN PENANDA RAPD

J. Pemuliaan Tanaman Hutan Vol. 5 No. 3, 2011 p. 139 - 148.

Gaharu merupakan salah satu komoditi hasil hutan bukan kayu (HHBK) yang dihasilkan oleh jenis-jenis *Aquilaria* spp dan bernilai ekonomi tinggi. Jenis ini telah mengalami eksploitasi yang intensif sehingga keberadaannya di alam cukup mengkhawatirkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keragaman genetik di dalam dan antar populasi serta untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar populasi 3 jenis *Aquilaria* (yaitu *A. malaccensis*, *A. beccariana* dan *A. microcarpa*) dalam rangka membantu penyusunan strategi konservasi genetik jenis-jenis tersebut. Sampel daun dikumpulkan dari 7 populasi dan dianalisis menggunakan 26 primer RAPD. Total 84 lokus polimorfik dihasilkan dari 26 primer tersebut dengan total pita yang teramplifikasi berukuran antara 220-950 pb. Rata-rata keragaman genetik dalam populasi sebesar 0,225, sedangkan keragaman antar populasi adalah 0,284. Keragaman genetik di dalam populasi tertinggi terdapat pada populasi *A. malaccensis* Muara Bungo (Jambi), sedangkan nilai keragaman terendah terdapat pada populasi *A. malaccensis* asal Berau. Jarak genetik antar populasi, tertinggi adalah 0,494 yaitu antara populasi *A. microcarpa* (Samboja) dengan populasi *A. beccariana* (Berau). Sebaliknya jarak genetik terendah adalah 0,017, antara populasi *A. microcarpa* (Berau) dengan *A. malaccensis* (Berau). Berdasarkan hasil analisis hubungan kekerabatan, 7 populasi terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama terdiri dari populasi *A. malaccensis* dari Jambi ditambah *A. beccariana*, sedangkan kelompok kedua terdiri dari populasi *A. malaccensis* dan *A. microcarpa* yang berasal dari Kalimantan.

Kata Kunci: *Aquilaria* spp., keragaman genetik, RAPD, hubungan kekerabatan



UDC(OXDCF) 630\*232.328

Yelnititis<sup>1</sup> dan T.E Komar<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan; <sup>2</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam)

MIKROPROPAGASI RAMIN (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) DARI EKSPLAN BATANG SATU BUKU SECARA *IN VITRO*

J. Pemuliaan Tanaman Hutan Vol. 5 No. 3, 2011 p. 149 - 157.

Ramin (*Gonystylus* spp.) merupakan salah satu genus penghasil kayu yang banyak diminati untuk diperdagangkan. Tanaman ini tumbuh di daerah hutan rawa gambut. Terdapat lebih dari 20 jenis yang termasuk ke dalam genus ini dan *Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) merupakan jenis yang paling banyak dieksploitasi. Sejak tahun 2004 jenis ini sudah dimasukkan ke dalam APPENDIX II CITES. Perbanyak tanaman ramin dapat dilakukan secara generatif dengan menggunakan biji namun benihnya sulit ditemukan. Perbanyak tanaman secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Bio- teknologi Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta dari bulan April-Desember 2008. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah batang satu buku. Media dasar Murashige dan Skoog (MS) digunakan sebagai media tumbuh. Perlakuan yang diberikan adalah penggunaan BA, kinetin dan thidiazuron dengan konsentrasi (0,5- 3,0 mg/l). Pengamatan dilakukan terhadap waktu induksi tunas, jumlah tunas, tinggi tunas dan penampakan biakan secara visual. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas dapat diinduksi dari eksplan batang satu buku. Penggunaan thidiazuron 2,0 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk induksi tunas. Rata-rata induksi tunas terjadi 5,1 hari setelah dikulturkan dan paling cepat dibandingkan dengan perlakuan lain. Penggunaan BA 0,5 mg/l merupakan perlakuan paling baik terhadap tinggi dan penampakan visual tunas. Rata-rata tinggi tunas dari perlakuan ini adalah 0,7 cm. Penggunaan BA 0,5 mg/l pada modifikasi media MS lebih baik terhadap pemanjangan tunas dibandingkan dengan penggunaan medium MS.

Kata Kunci: Ramin, thidiazuron, hutan rawa gambut, batang nodus tunggal

UDC(OXDCF) 630\*231.321

Mashudi (Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan)

PENGARUH ASAL POPULASI DAN KOMPOSISI MEDIA TERHADAP KEBERHASILAN STEK PUCUK PULAI DARAT (*Alstonia angustiloba* Miq.)

J. Pemuliaan Tanaman Hutan Vol. 5 No. 3, 2011 p. 159 - 168.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh asal populasi dan komposisi media terhadap pertumbuhan stek pucuk pulai darat dari dua umur trubusan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor, yaitu: asal populasi (Banten, Pendopo, Lubuk Linggau dan Solok) dan komposisi media (pasir, serbuk sabut kelapa, arang sekam, pasir : arang sekam (4:1) dan pasir : serbuk sabut kelapa (4:1)). Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi perlakuan asal populasi dengan komposisi media tumbuh pengaruhnya tidak signifikan terhadap parameter pengamatan. Populasi Lubuk Linggau menghasilkan persen berakar (31,19%) terbaik pada materi trubusan umur 3 bulan dan populasi Pendopo menghasilkan persen berakar (65,52%), jumlah akar (5,50 buah) dan panjang akar (2,79 cm) terbaik pada materi trubusan umur 5 bulan. Media pasir : serbuk sabut kelapa (4:1) menghasilkan jumlah akar (4,14 buah) dan panjang akar (2,41 cm) terbaik pada materi trubusan umur 3 bulan. Media pasir menghasilkan persen berakar (70,42%), jumlah akar (5,27 buah) dan panjang akar (2,82 cm) terbaik pada materi trubusan umur 5 bulan. Persen berakar, jumlah akar dan panjang akar stek dari materi trubusan umur 5 bulan lebih bagus dari materi trubusan umur 3 bulan.

Kata Kunci: Asal populasi, komposisi media, stek pucuk, pulai darat



**VARIASI GENETIK *Pinus merkusii* MENGGUNAKAN PENANDA  
MIKROSATELIT KLOROPLAS**

*Genetic variation of Pinus merkusii as revealed by chloroplast microsatellite*

**I.L.G. Nurtjahjaningsih, AYPBC. Widyatmoko dan Anto Rimbawanto**

BBalai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan

Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582

Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

Naskah masuk : 15 Agustus 2011 ; Naskah diterima : 7 Nopember 2011

**ABSTRACT**

*Using two chloroplast universal primers, haplotypic within and among populations of Pinus merkusii had been evaluated, in order to access paternal variation of this species. The aim of this study was to investigate variation of chloroplast microsatellite in P. merkusii. Using two universal chloroplast microsatellites, a total of 18 chloroplast haplotypes were found among 730 individuals surveyed in 10 populations in Java. Private haplotypes mostly found at eastern Java populations. The number of detected haplotypes (Na) within populations ranged between 5 and 14. Variation of haplotypes (h) was relatively high; it ranged between 0.727 and 0.858. Nei's genetic distance among population was very low ( $D_a = 0.030$ ). Moreover, analysis of molecular variance (AMOVA) showed genetic variation originated from within population but the value was insignificant. It was concluded that private haplotypes found in eastern Java might show gene pool of P. merkusii in Java. These detected haplotypes are of important information for genetic resource conservation and breeding strategy of P. merkusii.*

**Key Words :** *Pinus merkusii, genetic variation, chloroplast microsatellite*

**ABSTRAK**

*Haplotype* didalam dan antar populasi *Pinus merkusii* dievaluasi menggunakan 2 primer kloroplas universal, untuk mengetahui variasi garis tetua jantan pada jenis ini. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi mikrosatelit kloroplas pada *Pinus merkusii*. Menggunakan dua penanda mikrosatelit kloroplas universal, 18 variasi *haplotype* kloroplas ditemukan di antara 730 individu dari 10 populasi di Jawa. *Haplotype* yang hanya muncul pada satu populasi saja (*privat haplotype*) ditemukan pada populasi di Jawa bagian timur. Jumlah *haplotype* yang terdeteksi ( $N_a$ ) didalam populasi berkisar antara 5 sampai 14. Variasi *haplotype* ( $h$ ) relatif tinggi, berkisar antara 0,727 dan 0,858. Jarak genetik Nei antar populasi sangat rendah ( $D_a=0,030$ ). Analisa sidik ragam molekuler (AMOVA) menunjukkan bahwa variasi genetik berasal dari variasi didalam populasi, namun nilainya tidak signifikan. Dari penelitian disimpulkan bahwa *haplotype* privat yang ditemukan di Jawa bagian timur menunjukkan bahwa daerah ini mempunyai koleksi genetik yang paling lengkap (*gene pool*) *P. merkusii*. *Haplotype* yang ditemukan ini merupakan informasi yang penting untuk menyusun strategi konservasi sumberdaya genetik maupun pemuliaan *P. merkusii*.

**Kata Kunci :** *Pinus merkusii, variasi genetik, mikrosatelit kloroplas*

## I. PENDAHULUAN

*Pinus merkusii* tersebar secara alami di Indonesia, tepatnya di Pulau Sumatera yaitu Aceh, Tapanuli dan Gunung Kerinci (Cooling, 1968). Populasi *P. merkusii* di Aceh merupakan populasi yang paling luas dibandingkan populasi Tapanuli maupun populasi Gunung Kerinci. Bahkan populasi Gunung Kerinci merupakan populasi yang kecil dan terfragmentasi sehingga mempunyai keragaman yang sangat rendah (Siregar dan Hattermer, 2004). Berdasarkan luasan dan topografi tersebut maka tegakan *P. merkusii* yang berada di luar sebaran alaminya diduga berasal dari populasi Aceh (Siregar dan Hattermer, 2004; Nurtjahjaningsih, 2009).

*P. merkusii* yang tersebar di Pulau Jawa merupakan hutan tanaman yang diperkenalkan dan ditanam sejak waktu yang lama sehingga sudah bisa disebut sebagai ras lahan. Strategi pemuliaan *P. merkusii* telah dilakukan sejak tahun 1970-an untuk menyediakan bibit berkualitas, dengan dibangunnya Kebun Benih Semai (KBS) Uji Keturunan di Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur (Soeseno, 1988) dengan materi genetik berasal dari hutan tanaman yang tersebar di Jawa. Analisis DNA menggunakan penanda mikrosatelit nukleus menunjukkan bahwa hutan tanaman *P. merkusii* di Jawa dan hutan alam di Aceh mempunyai hubungan kekerabatan yang sangat dekat secara genetik ( $F_{ST} = 0,003$ ; Nurtjahjaningsih, 2009). Selain itu, antar pohon plus yang ada di KBS Jember mempunyai kedekatan yang tinggi ( $F_{ST}=0,008$ ; Nurtjahjaningsih dkk., 2007). Dengan demikian hampir bisa dipastikan bahwa hutan tanaman maupun KBS *P. merkusii* di Jawa mempunyai jarak genetik yang sempit.

Penanda mikrosatelit kloroplas mempunyai *polymorphism* yang cukup tinggi sehingga melengkapi penanda DNA untuk analisis genetik populasi (Vendramin dkk, 1999). Mikrosatelit kloroplas adalah bagian dari DNA pada kloroplas yang memiliki perulangan sekuens basa nitrogen yang pendek, dan dapat digunakan sebagai penanda *haplotype* untuk mengidentifikasi gen yang diwariskan tetua betina (*maternal inheritance*) pada jenis daun lebar, atau gen yang diwariskan tetua jantan (*paternal inheritance*) pada jenis konifer (Heuertz dkk., 2004). Mikrosatelit kloroplas tidak mengalami rekombinasi dan mempunyai tingkat mutasi gen yang rendah sehingga susunan *haplotype*-nya cenderung tidak berubah dari generasi dulu sampai generasi mendatang (Heuertz dkk., 2004). Proses pembentukan gen (*genealogical process*) sangat bervariasi antar gen, dipengaruhi oleh peristiwa demografi seperti perluasan populasi, *bottleneck*, migrasi dan hilangnya garis keturunan (Knowles dan Maddison, 2002), sehingga gen tunggal kloroplas bisa merekam peristiwa besar yang terjadi dalam sejarah suatu jenis. Analisis mikrosatelit kloroplas dapat diaplikasikan untuk melihat distribusi variasi genetik di populasi hutan alam baik pada jenis daun lebar (Heuertz dkk., 2004) maupun konifer (Vendramin dkk., 1999), menunjukkan dinamika proses reproduksi (Lian dkk., 2003), proses hibridisasi alam (Isoda dkk., 2000b), filogenetik (Petit dkk., 2002; Isoda dkk., 2000a) dan proses evolusi (Echt dkk., 1998). Selain itu, karena penyebaran serbuk sari pada jenis konifer dibantu oleh angin, maka analisis mikrosatelit kloroplas pada jenis ini mempunyai tingkat variasi yang rendah antar populasi (Petit dkk., 2002).

Penanda kloroplas Pt30204 dan Pt71936 merupakan penanda kloroplas universal yang dikembangkan dari template DNA *Pinus thunbergii* (Vendramin dkk., 1996). Dua penanda tersebut bisa teramplifikasikan dengan baik pada *Pinaceae* yang lain seperti *Pinus*, *Abies*, *Picea* dan *Cedrus* (Vendramin dkk., 1996). Karakterisasi dua penanda tersebut cukup baik untuk analisa keragaman genetik. Pada populasi *Abies alba* jumlah *haplotype* berkisar antara 5 sampai dengan 34 *haplotype* dengan nilai keragaman *haplotype* sebesar 0,42 sampai dengan 0,96 (Vendramin dkk., 1999).

Menggunakan penanda mikrosatelit nukleus, populasi *P. merkusii* di Pulau Jawa maupun Kebun Benih mempunyai kekerabatan yang tinggi antar populasi. Hal ini membuktikan bahwa adanya pola pewarisan variasi genetik melalui tetua jantan dan tetua betina yang berkerabat. Namun demikian dari informasi tersebut masih belum bisa menjelaskan apakah yang menyebabkan kekerabatan tinggi berasal dari gen tetua jantan atau betina. Penanda mikrosatelit kloroplas bisa digunakan untuk

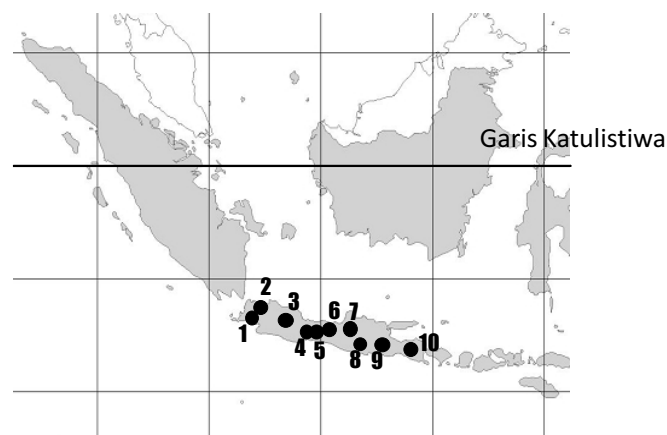
melacak variasi genetik tetua jantan dari generasi ke generasi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik mikrosatelit kloroplas populasi *P. merkusii* di Jawa. Dengan mengetahui level keragaman genetik tetua jantan *P. merkusii* di Jawa, akan sangat bermanfaat untuk menyusun strategi konservasi maupun pemuliaan untuk jenis tersebut.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Bahan Penelitian

Sampel daun sebanyak 730 pohon plus dikumpulkan dari Kebun Benih Semai (KBS) *P. merkusii* yang terletak di Jember, Jawa Timur, untuk tahun tanam 1979 dan 1980. Sampel-sampel tersebut dimasukkan dalam plastik klip yang sudah diisi dengan silica gel. Kemudian dipisah berdasarkan asal pohon plus. Pohon plus berasal dari 3 propinsi yaitu Jawa Barat meliputi Bandung Selatan (BS), Bandung Utara (BU), Majalengka (MJ); Jawa Tengah meliputi Pekalongan Barat (PB), Pekalongan Timur (PT),



Gambar 1. Lokasi pengumpulan materi genetik untuk pembangunan Kebun Benih yaitu (1) Bandung Selatan, (2) Bandung Utara, (3) Majalengka, (4) Pekalongan Barat, (5) Banyumas Timur, (6) Pekalongan Timur, (7) Surakarta, (8) Lawu DS, (9) Malang, (10) Jember

Banyumas Timur (BT), Surakarta (SR); serta Jawa Timur meliputi Lawu DS (LW), Jember (JM) dan Malang (MA). Selanjutnya 10 nama daerah asal tersebut digunakan untuk menunjukkan nama populasi. Sampel yang sudah dikeringkan menggunakan silica gel disimpan pada suhu ruang sampai dilakukan ekstraksi DNA.

## B. Metode Penelitian

DNA diekstraksi menggunakan metode *cetyltrimethyl ammonium bromide* (CTAB) (Zhou dkk., 1999) yang telah dimodifikasi dan menggunakan mesin otomatis ekstraksi isolasi DNA versi 1.4 A (PI-50  $\alpha$  Kurabo Industries, LTD).

Penelitian ini menggunakan dua penanda mikrosatelit kloroplas universal, yaitu Pt 30204 dan Pt 71936. Adapun sekuen basa 2 primer tersebut yang diujikan pada *Pinus thunbergii* (Vendramin dkk., 1996) disajikan pada Tabel 1.

Proses PCR (*Polymorphism Chain Reaction*) menggunakan mesin *thermal cycler* (Takara) dan Gene amp PCR system 9700 (Applied Biosystems), dalam larutan reaksi (5  $\mu$ L) yang terdiri atas 5 ng template DNA, 0,2  $\mu$ M masing-masing pasangan primer dan 1 x PCR Master Mix (Qiagen Multiplex) dengan konsentrasi akhir 3 mM MgCl<sub>2</sub>. Kondisi PCR meliputi; 15 menit pada suhu 95°C diikuti dengan 30 siklus selama 30 detik pada suhu 94°C, 1 menit 30 detik pada masing-masing spesifik suhu *annealing*, 1 menit

pada suhu 72°C dan sebuah step akhir pemanjangan 30 menit pada suhu 60°C. Amplifikasi hasil PCR dideteksi menggunakan ABI 3100 *genetic analyzer* (Applied Biosystems). Fragmen DNA dianalisa menggunakan *gene mapper* (Applied Biosystems).

## C. Analisa Data

Variasi *haplotype* dihitung berdasarkan data ukuran alel dua penanda mikrosatelit kloroplas. Variasi *haplotype* di dalam populasi diduga menggunakan frekuensi *haplotype*. *Haplotype* langka adalah *haplotype* dengan frekuensi kurang dari 0,01 (Buchi dkk., 2007). *Haplotype* privat adalah *haplotype* yang muncul hanya pada satu populasi saja. Jumlah *haplotype* yang terdeteksi (Na), dan keragaman *haplotype* (*h*) pada masing-masing populasi.

Variasi *haplotype* antar populasi dihitung menggunakan variabel jarak genetik (*Da*) menurut Nei, dkk (1983), sedangkan signifikansi perbedaan variasi *haplotype* diuji menggunakan analisa sidik ragam molekuler (AMOVA).

Variasi *haplotype* di dalam maupun antar populasi serta AMOVA dianalisa menggunakan program komputer GENEALX versi 6.0 (Peakall dan Smouse, 2006).

Tabel 1. Sekuen basa 2 primer mikrosatelit kloroplas universal yang digunakan pada penelitian ini

Nama Primer		Sekuense basa (5'3')	Tm (°C)	Ukuran allele	Jumlah ulangan
Pt30204	F	TCATAGC GGAAGATCCTCTTT	58,0	140-145	(A) <sub>12</sub> (G) <sub>10</sub>
	R	CGGATTGATCCTAACCATAACC	58,3		
Pt71936	F	TTCATTGGAAATACACTAGCCC	58,1	146-148	(T) <sub>16</sub>
	R	AAAACCGTACATGAGATTCCC	57,9		

Tabel 2. Jumlah dan frekuensi *haplotype* kloroplas dideteksi menggunakan 2 penanda mikrosatelit kloroplas pada 10 populasi *P. merkusii* di Jawa

Kode Haplo-type	Haplo-type	Populasi									
		BS	BU	MJ	BT	PB	PT	SR	JM	LW	MA
N		47	45	22	19	177	56	45	147	120	50
H1	143/154	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>0,008</u>	0,000
H2	143/160	0,043	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,007</b>	0,000	0,000
H3	143/161	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,006</b>	0,018	0,022	0,014	<b>0,008</b>	0,038
H4	143/162	0,170	0,267	0,227	0,211	0,254	0,250	0,222	0,224	0,367	0,115
H5	143/163	0,213	0,267	0,182	0,263	0,243	0,232	0,222	0,218	0,200	0,269
H6	143/164	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>0,038</u>
H7	143/165	0,021	0,044	0,000	0,000	<b>0,006</b>	0,000	0,000	<b>0,007</b>	0,000	0,038
H8	143/166	0,106	0,022	0,000	0,211	0,040	0,071	0,111	0,088	0,033	0,038
H9	144/154	0,000	0,000	0,045	0,000	0,011	0,000	0,044	0,027	0,000	0,000
H10	144/157	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,014	0,000	0,000
H11	144/161	0,085	0,000	0,000	0,053	0,011	0,000	0,067	0,034	<b>0,008</b>	0,058
H12	144/162	0,106	0,178	0,409	0,053	0,175	0,179	0,111	0,190	0,167	0,135
H13	144/163	0,213	0,133	0,136	0,105	0,254	0,232	0,089	0,156	0,208	0,135
H14	144/164	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>0,022</u>	0,000	0,000	0,000
H15	145/158	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,044	<b>0,007</b>	0,000	0,038
H16	147/154	0,043	0,067	0,000	0,105	0,000	0,018	0,022	0,000	0,000	0,096
H17	147/162	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,007</b>	0,000	0,000
H18	148/154	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<b>0,007</b>	0,000	0,000

Keterangan:

BS:Bandung Selatan, BU:Bandung Utara; MJ:Majalengka, BT:Banyumas Timur, PB:Pekalongan Barat, PT: Pekalongan Timur, SR:Surakarta, JM: Jember, LW: Lawu DS, MA:Malang  
N: Jumlah sampel, Angka digarisbawahi: *haplotype* privat, Angka ditebalkan: *haplotype* langka (frekuensi *haplotype* < 0,01, Buchi dkk. 2007)

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

##### 1. Variasi *haplotype* kloroplas di dalam populasi

Secara keseluruhan jumlah *haplotype* kloroplas pada 10 populasi *P. merkusii* yang ada di Jawa yang diuji dalam studi ini adalah 18 *haplotype* (Tabel 2). Baik *haplotype* langka maupun privat tidak ditemukan di populasi Bandung Selatan sampai dengan Banyumas Timur, Pekalongan Timur dan Kediri. *Haplotype* spesifik ini banyak ditemukan pada populasi di Jawa bagian timur. Bahkan pada populasi Jember mempunyai baik *haplotype* langka maupun privat.

Jumlah *haplotype* yang terdeteksi (Na) pada masing-masing populasi berkisar antara 5 (Majalengka) sampai dengan 14 (Jember) (Tabel 3). Variasi *haplotype* kloroplas (*h*) pada masing-masing populasi cukup tinggi berkisar antara 0,727 (Majalengka) sampai dengan 0,858 (Surakarta). Total variasi *haplotype* kloroplas populasi *P. merkusii* di Jawa adalah 0,806.

##### 2. Variasi *haplotype* kloroplas antar populasi

Tabel 4 menunjukkan bahwa jarak genetik antar populasi *P. merkusii* di Jawa sangat rendah.

Rata-rata jarak genetik 10 populasi adalah 0,030. Pengelompokan (*clustering*) antar populasi tidak memperlihatkan secara jelas hubungannya dengan jarak geografis. Sebagai contoh, jarak genetik antara Bandung Selatan dan daerah yang ada di Jawa Tengah maupun Jawa Timur bernilai nol. Hal ini menunjukkan kesamaan struktur genetik di antara populasi-populasi tersebut. Demikian pula pada populasi Jember yang menunjukkan tidak adanya perbedaan struktur genetik dengan populasi yang ada di daerah Jawa Barat maupun Jawa Tengah.

Hasil pada Tabel 4 didukung oleh analisis AMOVA yang menunjukkan bahwa variasi genetik hanya disebabkan oleh variasi genetik didalam populasi (100%) namun nilainya tidak signifikan (Tabel 5).

#### B. Pembahasan

Pada penelitian yang dilakukan di hutan alam *Abies alba* menggunakan penanda mikrosatelit kloroplas yang sama yaitu Pt 30204 dan Pt 71936, ditemukan sejumlah 90 *haplotype* (Vendramin dkk., 1999), sedangkan pada populasi alam *P. resinosa* terdapat 23 *haplotype* (Echt dkk., 1998). Pada penelitian ini sejumlah 18 *haplotype* dideteksi di hutan tanaman *P. merkusii* di Jawa.

Tabel 3. Variasi *haplotype* kloroplas di dalam populasi *Pinus merkusii* di Jawa

Populasi	N	Na	<i>h</i>
Bandung Selatan	47	9	0,847
Bandung Utara	45	8	0,801
Majalengka	22	5	0,727
Banyumas Timur	19	7	0,814
Pekalongan Barat	177	9	0,779
Pekalongan Timur	56	7	0,792
Surakarta	45	12	0,858
Jember	147	14	0,831
Lawu DS	120	8	0,753
Malang	52	11	0,858
Total/ Rata-rata	730	9 ± 0,84	0,806 ± 0,014

Keterangan: N: Jumlah sampel, Na: Jumlah *haplotype*, *h*: Keragaman *haplotype*



Tabel 4. Jarak genetik ( $D_a$  menurut Nei, 1983) antar populasi *Pinus merkusii* di Jawa menggunakan 2 penanda mikrosatelit kloroplas

BS	BU	MJ	BT	PB	PT	SR	JM	LW	MA	
0,000										BS
0,005	0,000									BU
0,179	0,037	0,000								MJ
0,000	0,000	0,329	0,000							BT
0,000	0,000	0,084	0,071	0,000						PB
0,000	0,000	0,052	0,002	0,000	0,000					PT
0,000	0,000	0,125	0,000	0,027	0,000	0,000				SR
0,000	0,000	0,031	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000			JM
0,051	0,000	0,101	0,090	0,012	0,000	0,024	0,024	0,000		LW
0,000	0,000	0,150	0,000	0,059	0,025	0,000	0,038	0,154	0,000	MA

Keterangan: BS:Bandung Selatan, BU:Bandung Utara; MJ:Majalengka, BT:Banyumas Timur, PB:Pekalongan Barat, PT: Pekalongan Timur, SR:Surakarta, JM: Jember, LW:Lawu DS, MA:Malang

Tabel 5. Analisa sidik ragam molekuler (AMOVA) *haplotype* mikrosatelit kloroplas 10 populasi *P. merkusii* di Jawa

Komponen variasi	db	SS	MS	(%) Total variasi	Variasi	P
Antar propinsi	2	11,615	5,807	0	-0,001	> 0,1
Antar populasi	7	73,870	10,553	0	-0,006	> 0,1
Didalam populasi	720	11.693,178	16,241	100	-0,006	> 0,1
Total	729	11.778,663		100		

Perbedaan jumlah *haplotype* tersebut disebabkan karena analisis *A. alba* menggunakan 17 populasi di hutan alam, analisis *P. resinosa* menggunakan 7 populasi hutan alam (Echt dkk., 1998), sedangkan pada penelitian ini menggunakan 10 populasi di hutan tanaman. Ukuran populasi efektif (*effective population size*) di hutan alam lebih besar dibandingkan untuk hutan tanaman.

Variasi *haplotype* kloroplas di dalam populasi *P. merkusii* di hutan tanaman di Jawa berkisar 0,727-0,858. Variasi *haplotype* kloroplas di hutan alam *A. alba* berkisar antara 0,470-0,960, sedangkan pada *P. resinosa* berkisar 0,134-0,920 (Echt dkk., 1998). Apabila dibandingkan dengan *A. alba* maupun *P. resinosa* variasi *haplotype* kloroplas *P. merkusii* di Jawa termasuk cukup tinggi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi *haplotype* privat lebih banyak ditemukan pada populasi *P. merkusii* di Jawa bagian timur dan tidak terdapat di daerah lain. *P. merkusii* diperkenalkan ke Pulau Jawa sejak waktu yang lama (Soeseno, 1988). Namun demikian, informasi ini tidak melaporkan daerah mana yang merupakan inisial penyebaran *P. merkusii* di Jawa. Selain itu, pada saat pengumpulan materi genetik untuk pembangunan kebun benih, materi genetik dikumpulkan berdasarkan *phenotype* pohon yang dikategorikan sebagai pohon plus tanpa informasi umur pohon maupun genetik (Soeseno, 1988). Berdasarkan karakter variasi genetik di atas, ada dugaan bahwa pada saat pertama kali *P. merkusii* diperkenalkan di Jawa adalah di Jawa bagian

timur; selanjutnya disebarakan ke seluruh Pulau Jawa. Namun demikian masih perlu lebih banyak informasi untuk bisa menetapkan sejarah penyebaran *P. merkusii* di Jawa. Penelitian ini melengkapi informasi mengenai struktur genetik *P. merkusii* di Jawa, dimana dapat diketahui bahwa populasi Jawa bagian timur mempunyai *haplotype* spesifik kloroplas.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jarak genetik antar populasi mempunyai nilai yang rendah ( $D_a = 0,030$ ), dibandingkan jarak genetik antar populasi hutan alam *Pinus resinosa* ( $D_a = 0,314$ ; Echt dkk., 1998) maupun hutan alam *A. abies* ( $D_a = 0,523$ ; Vendramin dkk., 1999). Nilai jarak genetik yang tinggi baik pada populasi *P. resinosa* maupun *A. abies* disebabkan oleh menurunnya ukuran populasi efektif atau terbatasnya jumlah serbuk sari maupun *gene flow* sehingga mengawali proses *bottleneck* (Echt dkk., 1998; Vendramin dkk., 1999). Sedangkan nilai jarak genetik yang rendah pada populasi *P. merkusii* mengindikasikan bahwa ukuran populasi efektif di hutan alam di Aceh pada saat benih dikoleksi untuk pembangunan hutan tanaman di Jawa, cukup luas.

Selain itu AMOVA menunjukkan variasi genetik berasal dari dalam populasi walaupun nilainya tidak signifikan. Hal ini memperkuat dugaan bahwa apabila materi genetik populasi Jawa berasal dari satu sumber benih dari hutan yang berkesinambungan seperti hutan alam di Aceh maka populasi *P. merkusii* di Jawa tidak berbeda secara genetik meskipun didalam populasi.

Informasi variasi genetik di dalam populasi maupun jarak genetik antar populasi *P. merkusii* di Jawa dan keberadaan *haplotype* privat akan

sangat bermanfaat untuk menyusun strategi konservasi maupun pemuliaan *P. merkusii* apabila melibatkan populasi di Jawa. Dengan terpusatnya variasi genetik di Jawa bagian timur dan rendahnya jarak genetik antar populasi, maka kegiatan konservasi maupun pemuliaan bisa hanya difokuskan pada materi genetik di Jawa bagian timur tersebut.

#### IV. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa *haplotype* kloroplas, yang menunjukkan kontribusi gamet tetua jantan, pada populasi *P. merkusii* di Jawa dikategorikan dalam level yang cukup tinggi dengan jarak genetik antar populasi sangat rendah. Variasi *haplotype* privat dideteksi hanya pada populasi-populasi di Jawa bagian timur. Identifikasi sumberdaya genetik untuk konservasi maupun untuk strategi pemuliaan, perlu mempertimbangkan informasi di atas.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Fakultas Kehutanan UGM dan Perum Perhutani yang telah memberikan ijin untuk melakukan penelitian di kebun benih *P. merkusii* di Jember. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Yuji Ide atas saran dan dukungannya. Demikian pula kepada Prof. Moh. Naiem, Dekan Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada dan Bapak Sadardjo, M.Sc., yang pada waktu itu menjabat sebagai Kepala Pusat Pengembangan Kehutanan (*Teak Center*) Perum Perhutani di Cepu atas ijin dan sumbang sarannya. Kepada Bapak Suka Harja dari KPH Garahan, Sempolan Jember atas

bantuannya selama penelitian diucapkan terima kasih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bucci, G., Gonzalez-Martinez, S.C., Le Provost, G., Plomion, C., Ribeiro, M.M. Sebastian, F., Alia, R. dan Vendramin, G.G. 2007. Range-wide phylogeography and gene zones in *Pinus pinaster* Ait. Revealed by chloroplast microsatellite markers. *Molecular Ecology* **16**: 2137-2153
- Cooling, E.N. 1968. *Fast growing timber tree of the lowland tropics*. No.4.CFI. *Pinus merkusii* Commonwealth Forestry Institute. Department of Forestry, University of Oxford. 169p.
- Echt, C.S., DeVerno, L.L., Anzidei, M. dan Vendramin, G.G. 1998. Chloroplast microsatellite reveal population genetic diversity in red pine, *Pinus resinosa* Ait. *Molecular Ecology* **7**:307-316
- Heuertz, M., Fineschi, S., Anzidei, M., Patrorelli, R., Salvini, D., Paule, L., N.Frascaria-Lacoste, N., Hardy, O.J., Vekemans, X. dan Vendramin, G.G. 2004. Chloroplast DNA variation and postglacial recolonization of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) in Europe. *Molecular Ecology* **13**: 3437-3452
- Isoda, K., Shiraishi, S. dan Kisanuki, H. 2000a. Classifying *Abies* species (Pinaceae) based on the sequence variation of a tandemly repeated array found in the chloroplast DNA trnL and trnF intergenic specer. *Silvae Genetica* **49 (3)**:161-165
- Isoda, K. Shiraishi, S., Watanabe, S. dan Kitamura, K. 2000b. Molecular evidence of natural hybridization between *Abies veitchii* and *A. homolepis* (Pinaceae) revealed by chloroplast, mitochondrial and nuclear DNA markers. *Molecular Ecology* **9**: 1965-1974
- Knowles, L.L. dan Maddison W.P. 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology* **12**: 293-298
- Lian, CL., Oishi, R., Miyashita, N., Nara, K., Nakaya, H., Wu, B., Zhou, Z. dan Hogetsu, T. 2003. Genetic structure and reproduction dynamics of *Salix reinii* during primary succession on Mount Fuji, as revealed by nuclear and chloroplast microsatellite analysis. *Molecular Ecology* **12**: 609-818
- Nei M., Tajima, F., Tatenno, Y. 1983 Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, **19**: 153-170
- Nurtjahjaningsih, I.L.G. 2009. Potensi populasi infusi genetik untuk memperluas variasi genetik kebun benih semai *Pinus merkusii* di Jember (Abstract in English). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* **3(2)**: 73-81
- Nurtjahjaningsih, I.L.G., Saito, Y., Tsuda, Y. dan Ide, Y. 2007. Genetic diversity of parental dan offspring populations in a *Pinus merkusii* seedling seed orchard detected by microsatellite markers. *Bulletin of the Tokyo University Forest, the Tokyo University Forests* **118**: 1-14
- Peakall, R., Smouse, P.E. 2006. Genalex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**: 288-295
- Petit, R.J., Csaik U.M., Bordacs, S., Burg, K., Coart E., Cottrell, J., Van Dam, B., Deans, J.D., Dumolin-Lapegue, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Gillies, A., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., Konig, A.O., Lowe, A.J., Madsen, S.F., Matyas G., Munro, R.C., Olalde, M., Pamonge, M.H., Pepescu, F., Slade, D., Tabbener, H., Turchini, D., de Vries, S. G.M., Ziegenhagen, B. dan Kremer, A. 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management* **156**: 5-26
- Siregar, I.Z. dan Hattemer, H.H. 2004. Patterns of genetic structure and variation of Merkus pine (*Pinus merkusii*) in Indonesia. *Journal of Tropical Forest Science* **16 (2)**: 160-172.

- Soeseno, O.H. 1988. *Genetic variation and improvement of Pinus merkusii Jungh. et de Vriese*. Dissertation. Gadjah Mada University. 266p.
- Vendramin, G.G. Degen, B., Petit, R.J. Anzidei, M., Madaghiele, A. dan Ziegenhagen, B. 1999. High level of variation at *Abies alba* chloroplast microsatellite loci in Europe. *Molecular Ecology* **8**: 1117-1126
- Vendramin, G.G., Lelli, L., Rossi, P., dan Morgante, M. 1996. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae. *Molecular Ecology Primer Note* **5**: 595-598
- Zhou Z., Miwa M. dan Hogetsu, T. 1999. Analysis of genetic structure of *Suillus grevillei* population in a *Larix kaempferi* stand by polymorphism of inter-simple sequence repeat (ISSR). *New Phytologist* **144**: 55-63.