

KERAGAMAN GENETIK TETUA DAN ANAKAN DARI KEBUN BENIH SEMAI *Acacia mangium* GRUP D (AM004) DI SUMATERA SELATAN, INDONESIA

(Genetic Diversity of the Parental and Offspring of Acacia mangium Seedling of Seed Orchard Group D (AM004) in South Sumatera, Indonesia)

Vivi Yuskianti

Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Jl. Palagan Tentara Pelajar Km 15
Purwobinangun, Pakem, Sleman, DI Yogyakarta 55582, Indonesia
Telp: 0274-895954/0858-6869-2221, Fax: 0274-896080
Email: vivi_yuskianti@yahoo.com

Diterima 22 Oktober 2013; revisi terakhir 21 Maret 2014; disetujui 8 April 2014

ABSTRAK

Informasi keragaman genetik dari satu generasi ke generasi selanjutnya merupakan faktor penting untuk pengelolaan dan konservasi genetik kebun benih. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi tingkat keragaman genetik tetua sebagai generasi pertama (F_1) dan anaknya (F_2) dari kebun benih *Acacia mangium* yang ada di kebun benih semai Grup D (AM004) di Sumatera Selatan. Analisis dilakukan terhadap 251 tetua dan \pm 200 biji dari 10 pohon induk. Analisis menggunakan 12 penanda mikrosatelit menunjukkan bahwa rata-rata jumlah alel yang terdeteksi (A) dari semua tetua dan anaknya adalah 8,23 dan 7,08. Secara umum, tingkat keragaman genetik tetua dan anakan tidak berbeda ($H_e=0.609$ untuk tetua dan $H_e=0.606$ untuk anakan). Penelitian ini mendeteksi keberadaan alel baru pada anakan. Kondisi ini menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi serbuk sari dari luar kebun benih.

Kata kunci: Keragaman genetik, kebun benih semai Sumatera Selatan, tetua, anakan, penanda mikrosatelit

ABSTRACT

Information on genetic diversity from one generation to its next generation is an important factor for management and conservation in a seed orchard. The purpose of this study was to evaluate the level of genetic diversity of parental as the first generation (F_1) and offspring (F_2) of *Acacia mangium* in the *A. mangium* seed orchard Group D (AM004) in South Sumatera. Analysis was conducted on 251 parental trees and \pm 200 seeds from 10 mother trees. Analysis using 12 microsatellite markers showed that mean number of detected allele (A) for all the parents and offspring was 8.23 and 7.08, respectively. In general, the level of genetic diversity in parental and its offspring was not different ($H_e=0.609$ for parental and $H_e=0.606$ for offspring). The presence of new alleles that was detected from offspring indicated the possibility of pollen contamination from outside the seed orchard.

Keywords: Genetic diversity, South Sumatera seedling seed orchard, parental, offspring, microsatellite markers

I. PENDAHULUAN

Kebun benih merupakan tempat untuk produksi berlimpah benih pohon-pohon yang unggul sesuai dengan karakter yang diinginkan (Millar *et al.*, 2008). Penelitian mengenai kebun benih antara lain mengenai keuntungan genetik (*genetic gains*) pada kebun benih generasi pertama (Weng *et al.*, 2008), analisis tetua (Hansen and Kjaer, 2006), kontaminasi serbuk sari dan sistem perkawinan (Slavov *et al.*, 2005; Kaya *et al.*, 2006) telah dilakukan. Untuk *Acacia mangium*, penelitian mengenai metode penyerbukan buatan (Griffin *et al.*, 2010), pengaruh dari pemangkasan (Beadle *et al.*,

2007), penyakit busuk akar (Irianto *et al.*, 2006; Eyles *et al.*, 2008), sistem perkawinan (Yuskianti and Isoda, 2013) dan keragaman genetik (Yuskianti dan Isoda, 2012; Nurtjahjaningsih, 2013) juga telah dilakukan.

Informasi keragaman genetik/variasi genetik dari satu generasi ke generasi berikutnya merupakan hal penting dalam pengelolaan dan konservasi genetik kebun benih. Keragaman genetik pada tingkat species, populasi, individu dan gen merupakan dasar dari evolusi dan adaptasi species terhadap perubahan lingkungan, termasuk perubahan iklim (Souvannavong, 2010). Pada kebun benih,

kegiatan seleksi yang berulang dari generasi ke generasi juga berpotensi mengurangi keragaman genetik dari waktu ke waktu, sehingga monitoring keragaman genetik juga menjadi semakin penting (Jones *et al.*, 2006).

Berbagai penanda DNA telah digunakan untuk melihat tingkat keragaman genetik yang ada di kebun benih. Penanda ISSR (Chezhian *et al.*, 2010), kombinasi antara RAPD dan ISSR (Josiah *et al.*, 2008), RAPD dan mikrosatelit (Shiran *et al.*, 2007), serta mikrosatelit (Butcher *et al.*, 2004; Zelener *et al.*, 2005; Jones *et al.*, 2006; Nurtjaningsih *et al.*, 2007; Millar *et al.*, 2008) telah digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik di kebun benih. Penanda mikrosatelit umumnya digunakan karena penanda ini sangat polimorfik, bersifat co-dominan, netral dan dapat diamplifikasi dengan sejumlah kecil DNA (Millar *et al.*, 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat keragaman genetik tetua yang merupakan generasi pertama (F_1) dan anaknya sebagai generasi kedua (F_2) dari kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) di Sumatera Selatan. Dua belas primer dari penanda mikrosatelit digunakan dalam penelitian ini. Berbagai parameter genetik seperti jumlah alel ($A = \text{number of detected allele}$), nilai *observed heterozygosity* (H_o) dan *expected heterozygosity* (H_e) dan juga tingkat fiksasi indeks ($F_{is} = \text{Fixation index}$) digunakan untuk mengetahui perubahan tingkat keragaman genetik pada tetua dan anakan di kebun benih ini.

II. METODE PENELITIAN

A. Lokasi Penelitian

Area penelitian adalah kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) yang berlokasi di Kecamatan Talang Ubi, Kabupaten Muara Enim, Provinsi Sumatera Selatan. Kebun benih yang ditanam sejak tahun 1994 seluas 0,96 hektar ini berada pada posisi 4^0 lintang selatan dan 104^0 bujur timur dengan ketinggian 80 m dpl. Tipe iklim A (Schmidt dan Ferguson), curah hujan rata-rata 2781,23 mm/tahun dengan suhu berkisar 24-33°C disertai dengan kecepatan angin yang rendah dan tipe tanah *acrisols*. Jarak tanam yang digunakan adalah 4 x 2 m, menggunakan rancangan RCBD (*Randomized Complete Block Design*) dengan 4 pohon/plot, 63 famili dan 8 ulangan (Kurinobu *et al.*, 1994).

B. Koleksi Sampel

Berdasarkan jumlah individu hasil seleksi dan adanya kematian pohon akibat bencana alam seperti angin kencang, penyakit dan lain-lain, terdapat 251 pohon tetua yang merupakan generasi pertama (F_1) di kebun benih *A. mangium* di Sumatera Selatan. Tiga lembar daun dari setiap pohon dikoleksi daunnya dan dimasukkan ke dalam amplop yang sudah diberi *silica gel* untuk mencegah terjadinya pembusukan. Daun yang dikoleksi merupakan daun yang bebas hama penyakit dan dapat berasal dari bagian tajuk manapun di pohon target. Sedangkan, materi genetik anakan yang merupakan generasi kedua (F_2) dari kebun benih ini berasal dari 10 pohon induk betina (*mother tree*) yang dipilih secara acak mewakili berbagai area di kebun benih. Dari setiap induk betina yang terpilih kemudian dikoleksi ± 20 biji, dengan total ± 200 biji dari 10 pohon induk betina sebagai sampel anakan.

C. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA untuk daun dan biji dilakukan menggunakan modifikasi metode CTAB (Shiraishi dan Watanabe, 1995). Prosedur ekstraksi berbeda untuk kedua sampel. Untuk daun, sebanyak 100 mg daun dipotong dan ditumbuk menggunakan mortar dengan tambahan nitrogen cair. Daun yang sudah halus kemudian dimasukkan ke dalam 2,0 ml *tube* dan ditambahkan 1 ml *extraction buffer* ((100 mM Tris-HCl pH 9.0, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB, 0.5% β -mercaptoethanol). Sedangkan untuk biji, dilakukan perebusan biji dalam air selama 10 menit, kemudian pelepasan kulit luar biji secara manual. Biji tersebut kemudian di letakkan ke dalam 1,5 ml *microtube* dan ditambahkan 0,6 ml *extraction buffer* (100 mM Tris-HCl pH 9.0, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB, 0.5% β -mercaptoethanol) untuk kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Selanjutnya biji akan di haluskan menggunakan *pellet pestle*.

Larutan daun ataupun biji dengan *extraction buffer* tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. Kemudian chloroform digunakan untuk dua kali pencucian larutan DNA. Pemadatan DNA menggunakan sodium acetate and isopropanol. *Pellet* DNA didapatkan dengan cara mensentrifusinya pada kecepatan 15.000 rpm. *Pellet* DNA kemudian dicuci menggunakan 70% etanol. Untuk

melarutkan pellet DNA tersebut, digunakan air distilasi.

D. Analisis Mikrosatelit

Dua belas primer mikrosatelit (Butcher *et al.*, 2000) digunakan untuk menganalisis daun dan biji tersebut. Analisis PCR dilakukan menggunakan 10 µl reaksi PCR yang mengandung 1x PCR buffer (disediakan bersama dengan *AmpliTaq Gold* DNA polymerase, PE Applied Biosystems), 1.5 to 3.0 mM MgCl₂, 0 atau 1 % formamide (Tabel 1), 200 µM tiap dNTP, 0.5 µM tiap primer, 0.5 unit *AmpliTaq Gold* DNA polymerase (PE Applied Biosystems), dan

25 ng templat DNA. Amplifikasi dilakukan menggunakan GeneAmp PCR System 9700 (PE Applied Biosystems) pada suhu 94°C selama 10 menit, 35 siklus pada suhu 94°C selama 30 detik, 50-60°C selama 30 detik, 72°C selama 60 detik, dan dilanjutkan selama 1 menit pada suhu 72°C. *Touch down* PCR (Don *et al.*, 1991) digunakan untuk analisis PCR. Suhu *annealing* pada awal siklus adalah 65°C dan akan menurun 1°C/siklus selama 9 siklus selanjutnya. Setelah 10 siklus awal, suhu *annealing* akan tetap pada suhu 55°C. Produk PCR kemudian di elektroforesis menggunakan ABI 310 Genetic Analyzer (PE Applied System).

Tabel 1. Sekuens primer dan optimum konsentrasi MgCl₂ dari 12 mikrosatelit lokus

Table 1. Primer sequences and optimum MgCl₂ concentration of 12 microsatellite markers used in this study

Penanda (Markers)	Sekuens primer (5'-3') (Sequence primer (5'-3'))	Konsentrasi MgCl ₂ (MgCl ₂ concentration)
Am014	GTA CTA ACG TTG CTA TAT GAG AAA GG CTG GTT GTT CGC TTA TAT GG	2,5 mM
Am041	TAG GCT AAT GGT CAT ATT CCT AG AGA GAT AGG GGT ACA CAC TAA AAA AC	3,0 mM + 1% formamide
Am136	CCC ATT GCC GTT TCT TTG GCA TTT CCC TTG GAA CAG TC	3,0 mM + 1% formamide
Am326	GGA CCA AAC TTA TGC AAC ACC GCA TCA ATG TAC TAA ACC ATT TCC	2,5 mM
Am341	CCA TTC GAG CAT CCT AAG AG CGT ATG GCT GAG CTA CTT AAT CA	1,5 mM
Am387	TGA TAC AAG GGA AGA CAG AGT GG CCA ACT CAA AAC CTG ACA ACG	1,5 mM
Am429	CCT TCT TCT CTC ATC TAC CAA ACC CCC ACA TCA TCA CTC ACA ACT	1,5 mM
Am435	ACC CTT TAT TTC TCA CAC GGA ACA GAA GAA GAT GCA AAG AAG G	2,5 mM
Am436	ATG GAT CTT GTC CTT ATC TTG A GGG CCA ATT TGA GTT TGG AA	2,5 mM
Am460	CAC TAA TTG CTC ACA CAT TCC A ATT CAT AGC CTC TCC CTT CAG	1,5 mM
Am465	TGG GTA TCA CTT CCA CCA TT AGG CTG CTT CTT TGT GCA GG	3,0 mM + 1% formamide
Am503	GTA TGA GTT CCA GTC CTA CCA TCA CAG TCC GGT TTT TGC TGT CA	1,5 mM

E. Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan FSTAT software versi 2.9.3.2 (Goudet, 2001). Parameter keragaman genetik seperti jumlah alel (A =number of detected allele), allelic richness, observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), Fixation index (F_{is}), dan linkage disequilibrium ($L-D$). Pengaruh nyata adanya simpangan dari Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) seperti pada F_{is} dan $L-D$ dites menggunakan randomisasi dan permutasi.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Keragaman Genetik Penanda Mikrosatelit

Analisis terhadap jumlah alel yang terdeteksi pada tetua dan anakan di kebun benih semai *A. mangium* grup D (AM004) di Sumatera Selatan menunjukkan bahwa rata-rata jumlah alel tetua lebih banyak dibandingkan anakan ($A=8,250$ untuk tetua dan $A=7,083$ untuk anakan) (Tabel 2). Rendahnya jumlah alel di anakan

dibandingkan tetua kemungkinan karena metode pengambilan materi genetik untuk anakan bersifat acak dan sampling sehingga ada kemungkinan tidak semua alel yang ada di anakan dapat terdeteksi. Walaupun demikian, hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan

penelitian sebelumnya menggunakan populasi *A. mangium* di alam ($A=6,16$) dan kebun benih ($A=6,95$) (Butcher *et al.*, 2004).

Tabel 2. Keragaman genetik 12 penanda mikrosatelit
Table 2. Genetic diversity of 12 microsatellite markers

Penanda (Marker)	A		Allelic Richness		H_o		H_e		F_{is}	
	Tetua (Parental)	Anakan (Offspring)	Tetua (Parental)	Anakan (Offspring)	Tetua (Parental)	Anakan (Offspring)	Tetua (Parental)	Anakan (Offspring)	Tetua (Parental)	Anakan (Offspring)
Am014	18	13	15.263	12.184	0,599	0,593	0,699	0,632	0,143*	0,061
Am041	14	14	13.091	13.813	0,698	0,671	0,781	0,815	0,106*	0,177*
Am136	7	7	6.858	6.993	0,571	0,668	0,677	0,664	0,156*	-0,006
Am326	10	9	9.609	8.668	0,465	0,445	0,547	0,420	0,149*	-0,060
Am341	4	2	3.491	2.000	0,417	0,390	0,465	0,457	0,104	0,146
Am387	10	9	9.327	8.732	0,529	0,655	0,612	0,644	0,136*	-0,017
Am429	10	8	8.945	7.769	0,575	0,680	0,667	0,661	0,138*	-0,029
Am435	6	5	5.610	4.819	0,559	0,639	0,561	0,657	0,004	0,028
Am436	3	4	3.000	3.999	0,406	0,448	0,489	0,491	0,170	0,087
Am460	6	5	5.985	5.000	0,468	0,593	0,718	0,703	0,348*	0,156*
Am465	6	4	5.492	4.000	0,482	0,552	0,533	0,532	0,096	-0,038
Am503	5	5	5.000	5.000	0,447	0,745	0,556	0,601	0,196*	-0,239
Rerata	8,250	7,083	7.639	6.914	0,518	0,590	0,609	0,606	0,146*	0,022

Keterangan :

A= Jumlah alel yang terdeteksi
 H_o = Nilai heterosigot yang diamati
 H_e = Nilai heterosigot yang diharapkan
 F_{is} = Fiksasi indeks
L-D= Ketidakseimbangan Pertautan
*= Berbeda nyata F_{is} pada level $P<0,05$ pada 24000 randomisasi

Remarks :

A= Number of detected alleles
 H_o = Observed heterozygosity
 H_e = Expected heterozygot
 F_{is} = Fixation index
L-D= Linkage disequilibrium
*= Significance F_{is} at $P<0,05$ level based on 24000 randomizations

Keragaman genetik tetua dan anakan yang ada di kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) Sumatera Selatan relatif sama ($H_e=0.609$ di tetua dan $H_e=0.606$ di anakan) (Tabel 2). Angka ini lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata angka keragaman genetik tetua yang ada di kebun benih *A. mangium* (AM009) Wonogiri (Yuskianti dan Isoda, 2012; Nurtjahjansih, 2013). Hal ini kemungkinan karena kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) Sumatera Selatan hanya berasal dari provenan Australia sedangkan kebun benih *A. mangium* (AM009) Wonogiri menggunakan campuran provenan Papua New Guinea dan Australia. Penelitian Butcher *et al.*, (2004) juga menunjukkan bahwa secara umum, kebun benih yang menggunakan populasi dari bagian Selatan Australia mempunyai setengah nilai *allelic richness* dan

30% kurang beragam dibandingkan dengan kebun benih yang menggunakan sumber benih dari Papua New Guinea.

B. Keragaman Genetik Tetua dan Anakan

Dengan banyaknya individu pohon yang ada di provenan Claudie River (N=161) ternyata tidak berarti provenan ini ($H_e=0,586$) akan mempunyai angka keragaman genetik yang tinggi dibandingkan dengan provenan lain. Tetapi banyaknya jumlah individu per provenan ini tampaknya berpengaruh terhadap tingginya jumlah alel di Claudie River ($A=6,250$) dibandingkan provenan lain (Tabel 3). Terdapat simpangan dari keseimbangan Hardy-Weinberg pada provenan Claudie River yang ditunjukkan dengan signifikansi F_{is} dan L-D (Tabel 3) yang mengindikasikan kemungkinan *inbreeding* di provenan ini.

Tabel 3. Keragaman genetik tetua di kebun benih semai *A. mangium* grup D (AM004) di Sumatera Selatan (N=251)

Table 3. Genetic diversity of parental in the *A. mangium* seedling seed orchard Group D (AM004) in South Sumatera (N=251)

Provenan	N	A	A ₍₇₎	H _o	H _e	F _{is}	L-D
Claudie River	161	6,250	3.376	0,523	0,586	0,107*	3
Pascoe River	47	5.917	3.662	0,555	0,583	0,048	0
Cassowary	33	5	3.565	0,503	0,602	0,164*	0
Subanjeriji	10	3.917	3.627	0,284	0,531	0,465*	0
Rerata (Mean)		5.271	3.557	0.466	0.576	0.196	0.75

Keterangan :

A= Jumlah alel yang terdeteksi
H_o= Nilai heterosigot yang diamati
H_e= Nilai heterosigot yang diharapkan
F_{is}= Fiksasi indeks
L-D= Ketidakseimbangan Pertautan
*= Berbeda nyata F_{is} pada level P<0,05 pada 24000 randomisasi
Berbeda nyata L-D pada level P<0,05 pada 26400 permutasi

Remarks :

A= Number of detected alleles
H_o= Observed heterozygosity
H_e= Expected heterozygot
F_{is}= Fixation index
L-D= Linkage disequilibrium
*= Significance F_{is} at P<0,05 level based on 24000 randomizations
Significance L-D at P<0,05 level based on 26400 permutations

Jumlah alel yang dihasilkan pada biji dari sepuluh pohon induk relatif sama yaitu 3-4 alel (Tabel 4). Sedangkan keragaman genetik anakan menunjukkan variasi dari 0.488 pada induk betina nomor 3 sampai dengan 0,610 pada induk betina nomor 4, dengan rata-rata angka

keragaman genetik adalah 0.529 (Tabel 4). Tidak ditemukan adanya signifikansi F_{is} dan L-D pada sepuluh pohon induk (Tabel 4), mengindikasikan kemungkinan perkawinan *outcrossing* di kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) Sumatera Selatan.

Tabel 4. Keragaman genetik anakan yang berasal dari 10 pohon induk di kebun benih semai Akasia mangium grup D (AM004) Sumatera selatan

Table 4. Genetic diversity of the offspring collected from 10 mother trees in the *Acacia mangium* seedling seed orchard Group D (AM004) in South Sumatera

Pohon Induk (Moher tree)	N	A	A ₍₉₎	H _o	H _e	F _{is}	L-D
Pohon induk-1	19	3,917	3.292	0,537	0,492	-0,091	0
Pohon induk-2	19	3,583	3.111	0,579	0,510	-0,136	0
Pohon induk-3	19	4,5	3.496	0,551	0,488	-0,130	0
Pohon induk-4	19	4,417	3.636	0,786	0,610	-0,288	0
Pohon induk-5	20	4,25	3.522	0,605	0,545	-0,109	0
Pohon induk-6	19	4	3.388	0,595	0,550	-0,081	0
Pohon induk-7	19	3,75	3.118	0,540	0,522	-0,034	0
Pohon induk-8	19	4	3.410	0,536	0,493	-0,087	0
Pohon induk-9	19	4,167	3.501	0,557	0,519	-0,074	0
Pohon induk-10	20	3,417	3.038	0,622	0,562	-0,108	0
Rerata (Mean)		4	3.351	0,591	0,529	-0,114	0

Keterangan :

A= Jumlah alel yang terdeteksi
H_o= Nilai heterosigot yang diamati
H_e= Nilai heterosigot yang diharapkan
F_{is}= Fiksasi indeks
L-D= Ketidakseimbangan Pertautan

Remarks :

A= Number of detected alleles
H_o= Observed heterozygosity
H_e= Expected heterozygot
F_{is}= Fixation index
L-D= Linkage disequilibrium

Kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) di Sumatera Selatan merupakan bagian dari strategi pemuliaan *A. mangium* di Indonesia. Ada

dua kebun benih yang dikembangkan untuk menguji provenan dari Australia yaitu kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) di Sumatera

Selatan dan Grup C (AM006) di Kalimantan Selatan. Provenan dari Australia merupakan target dari strategi pemuliaan, tetapi karena di lokasi penanaman AM004 Sumatera Selatan terdapat provenan Subanjeriji (N=10) yang menjadi ras lahan dari kebun benih ini, maka provenan Subanjeriji menjadi pembanding dengan provenan introduksi dari Australia. Oleh karena itu, provenan Subanjeriji ini hanya bertujuan sebagai genetik tes dan tidak dimasukkan dalam tujuan pemuliaan spesies ini selanjutnya.

C. Perbedaan Genetik Tetua dan Anakan

Perbedaan genetik (*genetic differentiation*) antar populasi (F_{ST}) menunjukkan bahwa anakan mempunyai rata-rata $F_{ST}=0,1240$ (95% dengan interval kepercayaan, 0,112-0,163) sedangkan tetua mempunyai $F_{ST}=0,0806$ (95% dengan interval kepercayaan, 0,055-0,089) (Data tidak ditampilkan). Kondisi ini menunjukkan bahwa pertukaran genetik yang terjadi di populasi anakan lebih baik dibandingkan tetua. Sistem perkawinan *outcrossing* (ditandai dengan tidak signifikannya F_{is} dan $L-D$ di Tabel 4) yang banyak

terjadi di anakan tampaknya mendorong terjadinya pertukaran genetik yang relatif seimbang. Sedangkan di tetua karena provenan yang digunakan didominasi provenan Claudie River, maka perbedaan genetik antar tetua juga kemungkinan menjadi lebih kecil.

D. Frekuensi Alel

Keberadaan alel dengan frekuensi yang besar (*common allele*) dan alel dengan frekuensi yang rendah (alel langka/*rare allele*) (Tabel 5) berpengaruh terhadap sifat/karakter pohon yang ada di kebun benih ini. Penelitian pada manusia menunjukkan bahwa alel-alel peka penyakit (*disease-susceptibility alleles*) pada frekuensi intermediet berperan pada beberapa penyakit umum manusia, walaupun studi lain juga mengidentifikasi *rare deleterious polymorphisms* mempengaruhi variasi sifat kuantitatif (Mitchell-Olds *et al.*, 2007). Penurunan tersebut lebih besar pada jumlah alel dan lokus polimorfik dibandingkan dengan heterozigos harapan (*expected heterozygosity*) (Leimu *et al.*, 2006).

Tabel 5. Frekuensi alel tetua dan anakan di kebun benih semai Akasia mangium grup D (AM004) Sumatera Selatan

Table 5. Frequency alleles of parental and their offspring in the *Acacia mangium* seedling seed orchard group D (AM004) in South Sumatera

Alel	Am014		Alel	Am041		Alel	Am136		Alel	Am326	
	T (247)	A (182)		T (248)	A (164)		T (247)	A (190)		T (234)	A (182)
1.	0.002	0.000	1.	0.002	0.000	1.	0.004	0.008	1.	0.013	0.011
2.	0.002	0.005	2.	0.117	0.168	2.	0.016	0.013	2.	0.073	0.060
3.	0.000	0.003	3.	0.109	0.155	3.	0.018	0.024	3.	0.637	0.747
4.	0.134	0.157	4.	0.010	0.003	4.	0.492	0.516	4.	0.015	0.025
5.	0.022	0.003	5.	0.065	0.195	5.	0.233	0.211	5.	0.004	0.005
6.	0.014	0.005	6.	0.004	0.006	6.	0.117	0.108	6.	0.006	0.003
7.	0.498	0.571	7.	0.087	0.082	7.	0.119	0.121	7.	0.203	0.135
8.	0.004	0.000	8.	0.419	0.299				8.	0.004	0.003
9.	0.000	0.003	9.	0.020	0.009				9.	0.041	0.011
10.	0.004	0.000	10.	0.002	0.003				10.	0.004	0.000
11.	0.002	0.000	11.	0.030	0.003						
12.	0.154	0.096	12.	0.060	0.030						
13.	0.004	0.003	13.	0.030	0.021						
14.	0.006	0.000	14.	0.000	0.009						
15.	0.018	0.027	15.	0.044	0.015						
16.	0.105	0.088									
17.	0.002	0.000									
18.	0.024	0.036									
19.	0.000	0.003									
20.	0.002	0.000									
21.	0.002	0.000									

Tabel 5. Lanjutan
Table 5. Continued

Alel	Am341		Alel	Am387		Alel	Am429		Alel	Am435	
	T (245)	A (192)		T (248)	A (191)		T (247)	A (191)		T (245)	A (188)
1.	0.004	0.000	1.	0.022	0.016	1.	0.004	0.000	1.	0.008	0.003
2.	0.351	0.352	2.	0.004	0.005	2.	0.002	0.000	2.	0.092	0.138
3.	0.643	0.648	3.	0.304	0.332	3.	0.002	0.003	3.	0.624	0.516
4.	0.002	0.000	4.	0.026	0.055	4.	0.128	0.196	4.	0.182	0.191
			5.	0.042	0.050	5.	0.018	0.021	5.	0.092	0.152
			6.	0.044	0.045	6.	0.447	0.505	6.	0.002	0.000
			7.	0.540	0.490	7.	0.008	0.042			
			8.	0.010	0.003	8.	0.047	0.018			
			9.	0.004	0.000	9.	0.340	0.209			
			10.	0.000	0.005	10.	0.004	0.005			
			11.	0.002	0.000						

Alel	Am436		Alel	Am460		Alel	Am465		Alel	Am503	
	T (202)	A (174)		T (237)	A (192)		T (241)	A (154)		T (248)	A (192)
1.	0.047	0.057	1.	0.008	0.000	1.	0.004	0.000	1.	0.024	0.036
2.	0.644	0.655	2.	0.188	0.154	2.	0.008	0.003	2.	0.030	0.031
3.	0.309	0.279	3.	0.255	0.258	3.	0.019	0.036	3.	0.365	0.484
4.	0.000	0.009	4.	0.059	0.065	4.	0.463	0.539	4.	0.556	0.401
			5.	0.072	0.078	5.	0.504	0.422	5.	0.024	0.047
			6.	0.418	0.445	6.	0.002	0.000			

Keterangan :

T= Tetua

A= Anakan

Angka didalam kurung menunjukkan jumlah sampel yang dianalisis

Huruf tebal merupakan tetua

Remarks :

T= Parental

A= Offspring

Number in the bracket means number of analyzed samples

Bold letter means parental

Jarak isolasi antar kebun benih *A. mangium* sebesar ±100-200 m tampaknya perlu dievaluasi kembali. Hal ini ditunjukkan dengan adanya alel baru di anakan yang tidak ditemukan di tetua (Contoh di primer Am014, Am041, Am387 dan Am436) (Tabel 5). Hal ini mengindikasikan kemungkinan terjadinya kontaminasi serbuk sari dari luar kebun benih. Kondisi ini perlu penanganan serius karena kontaminasi dari luar area kebun benih dapat menimbulkan penurunan keragaman genetik dan juga penurunan keuntungan genetik (*genetic gains*). Millar *et al.*, (2008) menunjukkan terjadinya 14% kontaminasi genetik pada anakan *A. saligna* subsp. *saligna* dan angka itu bervariasi antar induk betina. Sementara Nurtjahjaningsih *et al.*, (2007) juga menunjukkan keberadaan alel baru di anakan yang mengindikasikan adanya aliran gen dari blok lain di kebun benih ataupun dari luar kebun benih di kebun benih *P. merkusii* di Jember, Jawa Timur, Indonesia.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Rata-rata keragaman genetik tetua dan anakan di kebun benih *A. mangium* Grup D (AM004) di Sumatera Selatan relatif sama ($H_e=0.609$ di tetua dan $H_e=0.606$ di anakan). Sistem perkawinan di kebun benih ini kemungkinan besar *outcrossing* yang ditunjukkan oleh tidak adanya simpangan dari keseimbangan Hardy-Weinberg (tidak adanya signifikansi F_{IS} dan $L-D$ dianakan), sedangkan tetua karena mempunyai jumlah individu antar provenan yang tidak seimbang maka ada beberapa provenan yang menunjukkan kecenderungan untuk *inbreeding*. Jarak isolasi antar kebun benih tampaknya perlu dievaluasi kembali karena data frekuensi alel mengindikasikan kemungkinan adanya kontaminasi serbuk sari dari luar area penelitian. Hal tersebut ditunjukkan dengan ditemukannya alel baru di anakan yang tidak ada di populasi tetua.

B. Saran

Perlu penelitian lanjutan mengenai jarak isolasi antar kebun benih untuk mengurangi adanya kontaminasi serbuk sari dari luar kebun benih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Keiya Isoda untuk bimbingan dan petunjuk penelitian, Dr. I.L.G. Nurtjahjaningsih untuk analisis data dan juga teman-teman di Laboratorium Genetika Molekuler Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Yogyakarta untuk bantuannya dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Beadle, C., K. Barry, E. Hardiyanto, R. Irianto, Junarto, C. Mohammed and A. Rimbawanto. (2007). Effect of pruning *Acacia mangium* on growth, form and heart rot. *Forest Ecology and Management*, 238 (1-3), 261-267.
- Butcher, P.A., S. Decroocq, Y. Gray and G.F. Moran. (2000). Development, inheritance and cross-species amplification of microsatellite markers from *Acacia mangium*. *Theor Appl Genet*, 101, 1282-1290.
- Butcher, P.A., C. Harwood and T.H. Quang. (2004). Studies of mating systems in seed-stands suggest possible causes of variable outcrossing rates in natural populations of *Acacia mangium*. *Forest Genetics*, 11, (3-4), 303-309.
- Chezhan, P., R. Yasodha, M. Ghosh. (2010). Genetic diversity analysis in a seed orchard of *Eucalyptus tereticornis*. *New Forests*, 40(1), 85-99.
- Don, R.H., P.T. Cox, B.J. Wainwright, K. Baker and J.S. Mattick. (1991). 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research*, 19, 4008.
- Eyles, A., C. Beadle, K. Barry, A. Francis, M. Glen and C. Mohammed. (2008). Management of fungal root-rot pathogens in tropical *Acacia mangium* plantations. *Forest pathology*, 38(5), 332-355.
- Griffin, A.R., T.D. Vuong, J.L. Harbard, C.Y. Wong, C. Brooker and R.E. Vaillancourt. (2010). Improving controlled pollination methodology for breeding *Acacia mangium* willd. *New Forests*, 40, 131-142.
- Hansen, O.K. dan E.D. Kjaer. (2006). Paternity analysis with microsatellites in a Danish *Abies nordmanniana* clonal seed orchard reveals dysfunctions. *Canadian Journal of Forest Research*, 36 (4):1054-1058.
- Irianto, R.S.B., K. Barry, N. Hidayati, S. Ito, A. Fiani, A. Rimbawanto and C. Mohammed. (2006). Incidence and spatial analysis of root rot of *Acacia mangium* in Indonesia. *Journal of Tropical Forest Science*, 18 (3):157-165.
- Jones, T.H., D.A. Steane, R.C. Jones, D. Pilbeam, R.E. Vaillancourt and B.M. Potts. (2006). Effects of domestication on genetic diversity in *Eucalyptus globulus*. *Forest Ecology and Management* 234 (1-3), 78-84.
- Josiah, C.C., D.O. George, O.M. Eleazar and W.F. Nyamu. (2008). Genetic diversity in Kenyan populations of *Acacia senegal* (L.) Willd revealed by combined RAPD and ISSR markers. *African Journal of Biotechnology*, 17 (14), 2333-2340.
- Kaya, N., K. Isik and W.T. Adams. (2006). Mating system and pollen contamination in a *Pinus brutia* seed orchard. *New Forests*, 31 (3), 409-416.
- Kurinobu, S., A. Nirsatmanto and M. Susanto. (1994). General information of seed source establishment of *Acacia mangium* in South Sumatera (Fiscal year 1993/1994). Forest Tree Improvement Project, FTIP-No. 23. Japan International Cooperation Agency (JICA) dan Agency for Forestry Research and Development, Ministry of Forestry in Indonesia.
- Leimu, R., P. Mutikainen, J. Koricheva, and M. Fischer. (2006). Essay Review: How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation?. *Journal of Ecology* 94, 942-952.
- Mitchell-Olds, T., J.H. Willis, and D.B. Goldstein. 2007. Which evolutionary processes influence natural genetic variation for phenotypic traits?. *Nature Reviews, Genetics Volume*, 8, 845-856.
- Millar, M.A., M. Byrne, I. Nuberg, and M. Sedgley. (2008). High outcrossing and random pollen dispersal in a planted stand of *Acacia saligna* subsp. *saligna* revealed by paternity analysis using microsatellites. *Tree Genet Genomes* 4, 367-377.
- Nurtjahjaningsih, I.L.G., Y. Saito, Y. Tsuda and Y. Ide. (2007). Genetic diversity of parental and offspring populations in a *Pinus merkusii* seedling seed orchard detected by microsatellite markers. *Bulletin of the Tokyo University Forests* 118:1-14.
- Nurtjahjaningsih, I.L.G. (2013). Identifikasi tetua unggul di kebun benih *Acacia mangium*. Dalam: *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Hutan: Bioteknologi Hutan untuk Produktivitas dan Konservasi Sumber Daya Hutan, 9 Oktober 2012 di Yogyakarta*. Rimbawanto, A., B. Leksono and AYPBC Widyatmoko (eds). Hlm. 91-118, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta.
- Shiraishi, S, and A. Watanabe. (1995). Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora*

- SIEB. EtZUCC. and *P. thunbergii* PARL. Based on the polymorphism in *rbcl*. Gene. *Journal of Japanese Forest Science*, 77, 429-436.
- Shiran, B., N. Amirbakhtiar, S. Kiani, Sh. Mohammadi, B.E. Sayed-Tabatabaei and H. Moradi. (2007). Molecular characterization and genetic relationship among almond cultivars assessed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae* 111(3), 280-292.
- Slavov, G.T., G.T. Howe and W.T. Adams. (2005). Pollen contamination and mating patterns in a Douglas-fir seed orchard as measured by simple sequence repeat markers. *Canadian Journal of Forest Research*, 35(7), 1592-1603.
- Souvannavong, O. (2010). The state of the world's forest genetic resources. Dalam: *International Symposium on Forest Genetic Resources-Conservation and sustainable utilization towards climate change mitigation and adaptation*. Sim, H.C., L.T Hong and R.Jalonen (eds). Hlm. 9. FRIM, APAFRI and Biodiversity International.
- Weng, Y.H., K. Tosh, G. Adam, M.S. Fullarton, C. Norfolk dan Y.S. Park. (2008). Realized genetic gains observed in a first generation seedling seed orchard for jack pine in New Brunswick, Canada. *New Forests*, 36(3), 285-298.
- Yuskianti, V. and K. Isoda. (2012). Genetic diversity of *Acacia mangium* seed orchard in Wonogiri Indonesia using microsatellite markers. *HAYATI Journal of Biosciences* 19(3), 141-144.
- Yuskianti, V. And K. Isoda. (2013). Detection of pollen flow in the seedling seed orchard of *Acacia mangium* using DNA marker. *Journal of Forestry Research*, 10(1):31-41.
- Zelener, N., S.N. Marcucci Poltri, N. Bartoloni, C.R. Lopez and H.E. Hopp. (2005). Selection strategy for a seedling seed orchard design based on trait selection index and genomic analysis by molecular markers: a case study for *Eucalyptus dunnii*. *Tree Physiology*, 25, 1457-1467.

