

DEPRESI SILANG DALAM BIJI DAN SEMAI *Melaleuca alternifolia* *Inbreeding depression in seed and seedling of *Melaleuca alternifolia**

Liliana Baskorowati

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta
email: liliana.baskorowati@gmail.com

Tanggal diterima: 16 November 2016, Tanggal direvisi: 18 November 2016, Disetujui terbit: 14 Agustus 2017

ABSTRACT

Tea tree (Melaleuca alternifolia) is known as an essential oil producer. This species is commercially important as a source of essential oil especially in Australia. To improve its oil quality, research on artificial pollination between plus trees were carried out. The information about self-incompatibility and inbreeding depression due to self-pollination should be ascertained to support the pollination success. This study was aimed at examining the self-incompatibility of tea tree by conducting controlled self-pollination and cross-pollination. Controlled cross and self-pollination were carried out at a seedling seed orchard of tea tree, using four mother trees as experimental samples. Natural self-pollination was undertaken by bagging unopened flowers, without emasculation and counting the number of capsule set. Open pollination was used as a control treatment, of which the number of unopened flowers and the number of capsule set were counted. Observations revealed that no capsule was found from controlled self pollination (with the index self-incompatibility = 0), even though natural self-pollination produced low number of capsules (with the index self-incompatibility = 0.24). Therefore, it can be assumed that high level of self-incompatibility was took place in tea tree. Inbreeding depression also existed in this species, revealed by the decreased number of capsul set, lower seed germination rate of self-pollinated seeds than cross pollinated seeds. The slower growth of self-pollinated seedlings than cross pollinated seedlings in the nursery also indicated that inbreeding depression occurred.

Keywords: *tea tree, self-pollination, self-incompatibility, germination rate, seedling growth*

ABSTRAK

Pohon *Melaleuca alternifolia* atau *tea tree*, dikenal sebagai penghasil minyak atsiri. Spesies ini secara komersial sangat penting sebagai sumber penghasil minyak atsiri di Australia. Untuk meningkatkan kualitas minyaknya, penelitian dengan melakukan penyerbukan buatan antara pohon plus harus dilakukan. Informasi mengenai ketidakcocokan menyerbuk sendiri dan depresi silang dalam sebaiknya diketahui untuk menunjang keberhasilan penyerbukan. Penelitian ini ditujukan untuk mempelajari ketidakcocokan menyerbuk sendiri serta depresi silang dalam yang mungkin terjadi dengan melakukan persilangan terkendali baik penyerbukan sendiri maupun penyerbukan silang. Persilangan terkendali dilakukan pada empat pohon contoh; untuk penyerbukan sendiri secara alami dilakukan dengan membungkus kuncup-kuncup bunga yang belum membuka tanpa melakukan emaskulasi dan melakukan perhitungan jumlah kapsul yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada satupun kapsul yang terbentuk dari perlakuan penyerbukan sendiri terkendali (karena indeks ketidakcocokan menyerbuk sendiri = 0) meskipun kemampuan penyerbukan sendiri secara alami pada beberapa famili dapat terjadi dengan tingkat yang sangat rendah (indeks ketidakcocokan menyerbuk sendiri = 0,24). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ketidakcocokan menyerbuk sendiri terjadi dengan tingkat yang sangat tinggi. Depresi silang dalam juga terjadi yang diperlihatkan oleh rendahnya kapsul yang terbentuk, rendahnya kemampuan berkecambah biji hasil penyerbukan sendiri dibandingkan dengan penyerbukan silang terkendali. Pertumbuhan yang lambat pada semai hasil penyerbukan sendiri dibandingkan dengan penyerbukan silang terkendali mendukung bukti terjadinya depresi silang dalam pada spesies ini.

Kata kunci: *tea tree, ketidakcocokan berkawin sendiri, penyerbukan sendiri, kemampuan berkecambah, pertumbuhan semai*

I. PENDAHULUAN

Ketidakcocokan penyerbukan sendiri (*self-incompatible*) adalah ketidakmampuan tanaman hermaprodit menyerbuki/berkawin sendiri atau kerabat untuk menghasilkan benih

yang bagus (Agrawal, 1998; Barret, 1998). Hal ini merupakan mekanisme utama untuk mencegah terjadinya penyerbukan sendiri pada tanaman berbunga (Barret, 1998; Sedgley & Griffin, 1989; de Nettancourt, 2011; Franklin - Tong & Franklin, 2003; Takayama & Isogai,

2005), dan sebagai kendali hasil penyerbukan sendiri dengan adanya kegagalan pembuahan pada tingkat pra-zigotik atau pasca-zigotik (Sedgley & Griffin, 1989). Umumnya, ketidakcocokan penyerbukan sendiri disebabkan oleh kegagalan serbuk sari berkecambah pada kepala putik (*stigma*), atau kegagalan tabung serbuk sari menembus stigma dan tumbuh ke bawah tabung stilus. Richards (1997) dan Bawa (1980) mengemukakan bahwa pada spesies yang cocok menyerbuk sendiri, sistem pembibitan dengan pemisahan spasial gender jantan dan betina dapat dikembangkan untuk mengurangi kegagalan berkecambahnya serbuk sari pada stigma akibat tersumbatnya stigma oleh serbuk sari dari bunga atau pohon yang sama.

Tingkat ketidakcocokan berkawin sendiri beragam antara Myrtaceae. Misalnya, Potts dan Savva (1988) menemukan kemandulan dalam *Eucalyptus morrisbyi* tanpa hasil biji setelah penyerbukan sendiri. Sedgley dan Smith (1989) melaporkan bahwa *E. woodwardii* menunjukkan ketidakcocokan penyerbukan sendiri dengan berkurangnya biji yang terbentuk dibandingkan dengan penyerbukan silang; ini juga terjadi pada *E. grandis* (Hodgson, 1976). Sedgley dan Smith (1989) menyimpulkan bahwa berkurangnya biji yang terbentuk hasil penyerbukan sendiri pada *E. woodwardii* karena kurang masuknya *ovule* oleh tabung serbuk sari yang merupakan sebuah mekanisme pasca-zigotik. Griffin, Moran, dan Fripp (1987) maupun Ellis dan Sedgley (1992) menjelaskan bahwa mekanisme pasca-zigotik juga terjadi pada beberapa spesies misalnya *E. regnans*, *E. spathulata*, *E. cladocalyx* dan *E. leptophylla*. Pound, Wallwork, Potts, dan Sedgley (2002) melaporkan bahwa pada *E. globulus* ssp. *globulus* lebih dari 99% tidak cocok menyerbuk sendiri, yang menunjukkan bahwa mekanisme yang sangat kuat berperan untuk mencegah terbentuknya benih dari penyerbukan sendiri.

Kajian rinci menurunnya pertumbuhan karena perkawinan sendiri telah dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan hasil

perkawinan sendiri (dalam satu pohon), perkawinan dengan kerabat dekat dan perkawinan silang pada berbagai spesies yaitu *E. grandis* (Hodgson, 1976), *E. gunnii* (Potts, Potts, & Cauvin, 1987), *E. nitens* (Tibbits, 1988) dan *E. regnans* (Eldridge & Griffin, 1983; Griffin & Cotterill, 1988). Semua kajian ini menegaskan bahwa penyerbukan sendiri menghasilkan biji lebih sedikit, perkecambahan benih berkurang (viabilitas rendah) dan pertumbuhan bibit dan pohon-pohon muda lebih lambat jika dibandingkan dengan hasil persilangan. Temuan ini menunjukkan bahwa depresi silang dalam pada tanaman merupakan sumber potensial berkurangnya produktivitas.

Depresi silang dalam sangat umum terjadi pada spesies tumbuhan yang mempunyai sistem perkawinan penyerbukan silang, sedangkan pada tumbuhan yang umumnya berkawin sendiri tidak akan menunjukkan depresi silang dalam karena homozygous pada hampir semua lokus (Finkeldey & Hattermer, 2007). Keturunan hasil silang dalam tumbuhan dengan penyerbukan silang menunjukkan depresi yang kuat pada nilai *fitness*. Pada spesies eucalyptus, pengaruh dari silang dalam bermacam-macam sebagai contoh penurunan jumlah terbentuknya biji (Griffin et al., 1987; Hodgson, 1976; Potts & Savva, 1988; Pryor, 1976; Sedgley, Hand, Smith, & Griffin, 1989; Sedgley & Smith, 1989; Tibbits, 1988), menurunnya persentase perkecambahan (Eldridge, 1978), meningkatnya frekuensi pertumbuhan yang abnormal (Hodgson, 1976; Potts et al., 1987), pertumbuhan tanaman di lapangan yang tertekan (Hodgson, 1976; Van Wyk, 1977; Eldridge & Griffin, 1983; Potts et al., 1987; Griffin & Cotterill, 1988), serta menyebabkan penurunan kemampuan pembibitan dan kemampuan hidup di lapangan (Eldridge & Griffin, 1983; Potts et al., 1987). Pada spesies dipterokarpa, depresi silang dalam dapat terjadi pada setiap tahap pertumbuhan termasuk pembentukan biji, perkecambahan biji, pertumbuhan tingkat semai sampai pada tahapan pertumbuhan di lapangan (Tsumura, 2011).

Pengetahuan tentang tingkat dan mekanisme ketidakcocokan berkawin sendiri serta depresi silang dalam sangat penting dalam penentuan strategi pemuliaan dan kegiatan pemuliaan. Penyerbukan sendiri dapat mengakibatkan depresi silang dalam, umumnya dengan menurunnya kemampuan hidup pada keturunannya (Charlesworth & Charlesworth, 1987; Charlesworth & Willis, 2009; Hardner & Potts, 1995). Lebih lanjut disebutkan bahwa biji hasil perkawinan sendiri menyebabkan berkurangnya jumlah biji yang bagus, tidak mampu berkecambah, bibit cacat atau kekurangan klorofil, serta akan mengalami hambatan dalam pertumbuhan (Franklin, 1970). Pada populasi alam eucalyptus, kawin kerabat masih umum terjadi, baik melalui kawin sendiri atau kawin dengan kerabat dekat (Eldridge, Davidson, Harwood, & Van Wyk, 1993).

Ada dua metode untuk menentukan kemampuan berkawin sendiri pada tanaman yaitu: (1) dengan melakukan penyerbukan terkendali atau melakukan penyerbukan sendiri dan penyerbukan silang, kemudian menunggu benih sampai siap panen untuk dibandingkan hasilnya serta membuat perbandingan dari tingkat perkecambahan dan pertumbuhan bibit dari masing-masing penyerbukan (Pound et al., 2002); dan (2) dengan melakukan penyerbukan terkendali yaitu melakukan penyerbukan sendiri dan penyerbukan silang, kemudian mengidentifikasi pertumbuhan tabung polen di putik (Tibbits, 1988; Pound, Patterson, Wallwork, Potts, & Sedgley, 2003). Metode pertama digunakan dalam penelitian ini untuk menyelidiki mekanisme ketidakcocokan berkawin sendiri pada tanaman ini.

Melaleuca alternifolia yang berbunga setiap tahun memiliki sistem perkawinan silang, meskipun perkawinan kerabat juga sedikit ditemukan (Butcher, Bell, & Moran, 1992; Rossetto, Slade, Baverstock, Henry, & Lee, 1999; Doran & Moran, 2002). Informasi tingkat dan mekanisme ketidakcocokan berkawin sendiri adalah penting untuk menentukan strategi terbaik pengembangan tingkat lanjut

jenis ini. Meskipun penelitian terdahulu sudah pernah dilakukan untuk mengetahui sistem perkawinan pada *M. alternifolia* (Butcher et al., 1992; Rossetto et al., 1999; Doran & Moran, 2002; Baskorowati, Moncur, Cunningham, Doran, & Kanowski, 2010) namun informasi mengenai sistem perkawinan pada spesies ini masih terbatas, sedangkan mekanisme ketidakcocokan berkawin sendiri belum diketahui, seperti dampak depresi silang dalam dari penyerbukan sendiri pada biji, viabilitas benih dan pertumbuhan semai. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat ketidakcocokan berkawin sendiri serta dampak depresi silang dalam dari penyerbukan sendiri terhadap pembentukan biji dan pada perkecambahan benihnya.

II. METODE PENELITIAN

A. Rancangan penelitian

Penelitian dilakukan pada puncak musim pembungaan dengan menggunakan sistem perkawinan terkendali buatan baik penyerbukan silang maupun sendiri. Penelitian dilakukan di kebun benih *M. alternifolia* di Institusi Pertanian Wollongbar, New South Wales pada periode pembungaan tahun 2007. Empat pohon induk dipilih yaitu pohon nomer T1, T2, T3 dan T4. Pemilihan pohon induk yang digunakan sebagai pohon uji didasarkan pada ketersediaan bunga yang melimpah sehingga dapat digunakan sebagai pejantan (untuk dikumpulkan serbuk sarinya) maupun sebagai betina. Dua cabang yang mempunyai setidaknya 50 bunga per cabang, dengan tunas vegetatif yang sehat, dipilih secara acak dari masing-masing famili sebagai pohon uji untuk perkawinan terkendali. Metode penyerbukan terkendali yang digunakan mengacu pada Baskorowati (2006) dengan melakukan beberapa tahapan kegiatan yaitu pembastaran, pemasangan kantong penyerbukan, penyerbukan dan pemanenan buliran biji.

B. Cara kerja

1. Penggumpulan serbuk sari

Serbuk sari sebagai tetua jantan dikumpulkan satu minggu sebelum penyerbukan terkendali, dikeringkan di dalam desikator atau *deep freezer*, dan disimpan dalam freezer dengan suhu -18°C . Serbuk sari untuk penyerbukan sendiri dikumpulkan dari nomer pohon yang sama sebagai pohon betina. Metode untuk koleksi serbuk sari, ekstraksi dan pengujian perkecambahan yang seperti yang dijelaskan oleh Baskorowati (2006).

2. Penyerbukan

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa tipe penyerbukan yaitu:

- Penyerbukan silang terkendali (*controlled cross pollination*); dilakukan dengan cara melakukan emaskulasi pada bunga-bunga yang akan diserbuki. Emaskulasi dilakukan dengan membuang serbuk sari pada minimal 50 bunga per tangkainya.
- Penyerbukan sendiri terkendali (*controlled self pollination*); penyerbukan terkendali dengan menggunakan serbuk sari yang berasal dari pohon yang sama.
- Penyerbukan sendiri alam (*nature self pollination*); memilih beberapa tangkai bunga pada cabang yang berbeda; jika pada satu *tandan* terdapat bunga yang sudah mekar maka bunga yang mekar dibuang terlebih dahulu; menghitung kuncup-kuncup bunga yang belum membuka tanpa melakukan pembastaran dan membungkus dengan kantong penyerbukan. Pelepasan kantong penyerbukan dilakukan 2 minggu sesudahnya dan melakukan perhitungan jumlah bunga yang terserbuki.
- Penyerbukan terbuka (*opened pollination*); dilakukan dengan cara

memilih beberapa tangkai bunga, membuang bunga-bunga yang sudah mekar dan menyisakan kuncup-kuncup bunga, dihitung jumlahnya, dicatat dalam label dan dibiarkan terbuka sampai kapsul siap panen.

3. Pengunduhan kapsul

Kapsul dipanen kurang lebih 16 bulan setelah penyerbukan dilakukan dikarenakan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan kapsul sampai siap panen adalah 16 bulan. Kapsul dikeringkan di laboratorium selama kurang lebih dua bulan untuk memisahkan benih dan sekam.

4. Pengecambahan biji

Karena ukuran biji yang sangat kecil dan tidak mungkin memisahkan biji dengan sekam, maka pengecambahan benih dilakukan dengan menimbang 0,01 gram biji beserta sekam yang disemaikan menggunakan cawan petri untuk setiap contoh ujinya. Pengecambahan dilakukan dalam almari perkecambahan (*germination cabinet*) dengan suhu 25°C selama 42 hari. Hal ini dikarenakan biji mulai berkecambah dari hari ke 3 setelah penaburan dan berakhir pada hari ke 42.

5. Pertumbuhan semai

Benih hasil berbagai tipe penyerbukan yang berhasil dikecambahkan, kemudian disapih dan disemaikan di persemaian untuk pengamatan depresi silang dalam. Pertumbuhan tinggi semai hasil penyerbukan diamati pada saat umur semai 2, 4 dan 5 bulan di persemaian. Dalam penelitian ini pengamatan hanya dilakukan pada semai hasil penyerbukan silang terkendali; penyerbukan terbuka dan penyerbukan sendiri alami.

C. Analisis data

Analisis varians satu arah digunakan untuk mengetahui pengaruh penyerbukan, dengan kapsul yang terbentuk digunakan

sebagai variabel respon dan tipe penyerbukan terkendali digunakan sebagai perlakuan. Persentase buliran biji terbentuk ditransformasi ke dalam akar kuadrat untuk mendapatkan angka yang terdistribusi normal.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persen jadi kapsul

Pada perlakuan penyerbukan sendiri secara alami, karena penyerbukan tidak dilakukan dengan emaskulasi pada bunga, hanya dengan mengantongi bunga-bunga yang belum mekar dan membiarkan terjadinya penyerbukan secara alami menunjukkan ada dua famili yang menghasilkan kapsul hasil perkawinan sendiri yaitu T1 dan T3, sedangkan dua famili lainnya tidak menghasilkan kapsul (Tabel 1). Hal tersebut menyebabkan dilakukan penelitian ulang dengan melakukan penyerbukan sendiri terkendali pada T1 dan T3 pada musim berbunga berikutnya, sedangkan sebagai kontrol dilakukan pengamatan pada bunga-bunga dengan penyerbukan terbuka, dengan jumlah bunga sebelum mekar dihitung dibiarkan tanpa perlakuan, sehingga diharapkan penyerbukan alam baik oleh serangga ataupun angin terjadi pada pohon ini dan menghasilkan kapsul.

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 1 serta persentase jadi kapsul yang disajikan pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa penyerbukan sendiri terkendali (*controlled self pollination*) tidak mampu menghasilkan kapsul, sedangkan penyerbukan sendiri secara alami (*natural self pollination*) masih mampu menghasilkan kapsul meskipun dengan persentase terbentuknya kapsul yang lebih rendah dibandingkan dengan penyerbukan silang terkendali dan penyerbukan terbuka. Meskipun demikian, penyerbukan sendiri alami masih menghasilkan kapsul dalam jumlah yang sedikit. Hal ini mungkin disebabkan oleh kontaminasi serbuksari dari bunga lainnya dalam satu pohon, atau terdapat kecocokan berkawin sendiri antar bunga dalam satu tandan

yang sangat rendah. Hasil ini menunjukkan bahwa metode tersebut tidak dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh perkawinan sendiri, dikarenakan bunga jenis ini tersusun dalam malai dengan pertumbuhan yang *acropetal* sehingga dimungkinkan kuncup bunga sebelum mekar sudah terkontaminasi serbuk lainnya yang sudah mekar terlebih dahulu (Baskorowati, Moncur, Doran, & Kanowski, 2010). Young, Broadhurst, dan Thrall (2012) menyatakan keterbatasan penyerbukan pada penyerbukan sendiri akan menyebabkan hilangnya beberapa alel S yang berpotensi mengurangi kemampuan reproduksi sebuah individu serta viabilitas dalam populasi tersebut. Penelitian pada spesies *ariocarpus* juga memperlihatkan bahwa terbentuknya buah (*fruit set*) antara penyerbukan alami serta penyerbukan silang terkendali lebih sukses dibandingkan dengan penyerbukan sendiri (Martínez-Peralta, Márquez-Guzmán, & Mandujano, 2014).

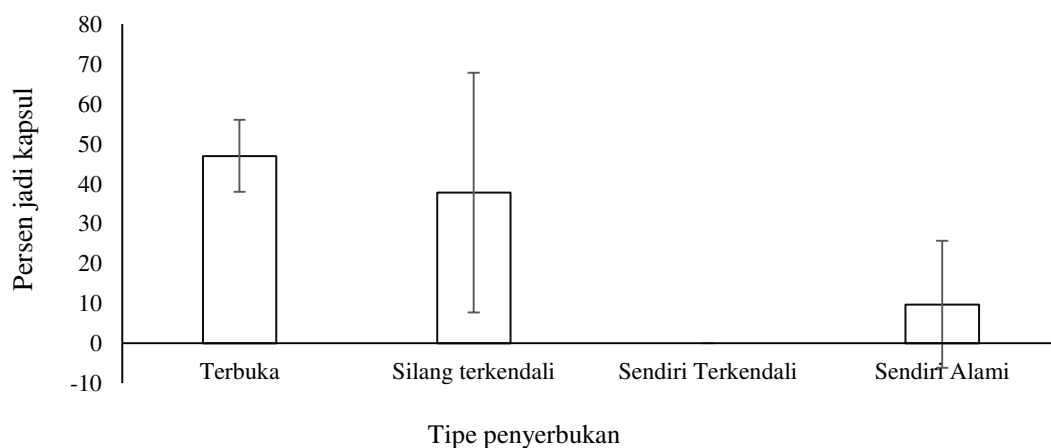
Ketidaccocokan berkawin sendiri merupakan sistem pewarisan yang sudah umum terjadi dalam tanaman, hal tersebut memungkinkan tanaman hermaphrodit untuk menghindari terjadinya penyerbukan dan pembuahan dengan kerabat dekat (Gervais, Awad, Roze, Castric, & Billiard, 2014). Kapsul yang terbentuk dari penyerbukan buatan sendiri terkendali maupun silang terkendali dapat digunakan untuk menduga indeks ketidaccocokan berkawin sendiri (*Index of Self Incompatibility/ISI*) yang merupakan rasio terbentuknya buliran biji kedua tipe penyerbukan tersebut (Dafni, 1992; Zapata & Arroyo, 1978). Hasil analisis varians menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan penyerbukan terhadap persen jadi kapsul pada jenis ini ($P=0,014$). Gambar 1 memperlihatkan perbedaan yang nyata antar tipe penyerbukan dalam menghasilkan kapsul. Dari gambar tersebut diketahui bahwa penyerbukan sendiri terkendali tidak menghasilkan kapsul sama sekali sedangkan jumlah kapsul tertinggi diperoleh dari tipe penyerbukan terbuka. Hasil penelitian

ini memperlihatkan bahwa mekanisme ketidakcocokan penyerbukan sendiri terdapat pada jenis ini. Penelitian ini menemukan bahwa antar individu tanaman menunjukkan ketidakcocokan berkawin sendiri yang berbeda-beda. Penyerbukan sendiri buatan dengan

emaskulasi pada beberapa famili menunjukkan ketidakmampuan menyerbuk sendiri pada jenis ini, sedangkan penyerbukan sendiri secara alami tanpa emaskulasi pada beberapa famili menghasilkan buliran biji dengan persentase rendah yaitu 18%; dengan nilai $ISI = 0,24$.

Tabel 1. Jumlah bunga yang diserbuki, jumlah dan persen jadi kapsul

Tipe penyerbukan	Jumlah bunga diserbuki	Jumlah kapsul terbentuk	% jadi kapsul
Penyerbukan Sendiri Alami (<i>natural self-pollination</i>)			
T1 x T1	350	117	33,42
T2 x T2	250	0	0
T3 x T3	180	10	5,56
T4 x T4	250	0	0
Penyerbukan Sendiri Terkendali (<i>controlled self-pollination</i>)			
T1 x T1	100	0	0
T3 x T3	100	0	0
Penyerbukan Silang Terkendali (<i>controlled cross-pollination</i>)			
T1 x T2	102	70	68,63
T1 x T3	230	10	43,47
T1 x T4	84	67	79,76
T2 x T3	69	6	8,87
T2 x T4	55	5	9,09
T3 x T4	60	3	20,00
Penyerbukan Terbuka (<i>open pollination</i>)			
T1	275	102	37,09
T3	250	137	54,80
T4	300	147	49,00



Gambar 1. Rerata persen jadi kapsul dari berbagai tipe penyerbukan dan standard error

Suatu spesies dikategorikan mampu berkawin sendiri ketika $ISI \geq 1$, sebagian besar mampu berkawin sendiri dengan $ISI \geq 0,2 < 1$,

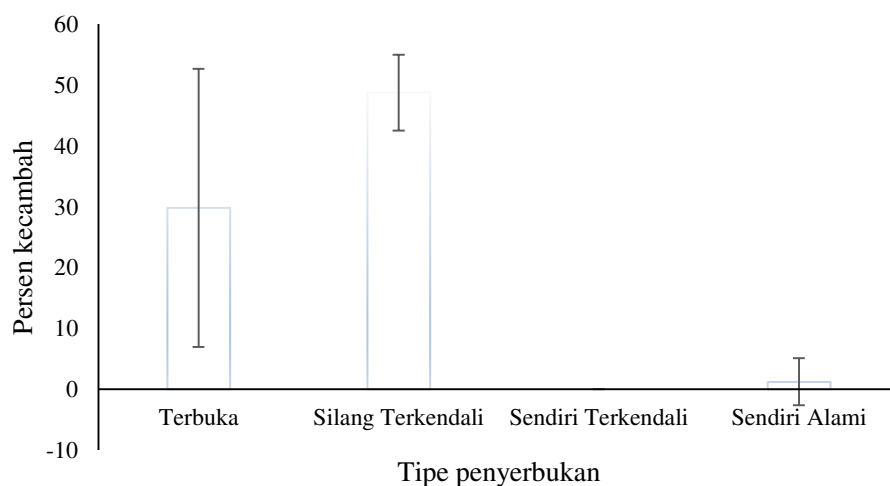
sebagian kecil mampu berkawin sendiri dengan nilai $ISI > 0 < 0,2$ dan tidak mampu berkawin sendiri saat $ISI = 0$ (Zapata & Arroyo, 1978).

Hasil penelitian ini diketahui bahwa pada *M. alternifolia* yang mempunyai nilai ISI = 0,24 termasuk dalam kelompok sebagian kecil mampu berkawin sendiri. Penelitian sebelumnya menyatakan kawin kerabat terjadi pada *M. alternifolia* (Butcher et al., 1992; Rossetto et al., 1999; Doran & Moran, 2002; Baskorowati, et al., 2010). Doran dan Moran (2002) menggunakan metode molekuler, menemukan bahwa tingkat berkawin sendiri jenis ini dengan penyerbukan tanpa emaskulasi beragam dari 5-28%. Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya, yang menemukan tingkat penyerbukan silang *M. altenifolia* berkisar 86- 93% (Butcher et al., 1992; Rossetto et al., 1999). Ketidacocokan berkawin sendiri pada spesies ini sedikit berbeda dengan hasil yang dilaporkan dalam spesies *Melaleuca* di daerah tropis yaitu *M. cajuputi* subsp *cajuputi*, dimana ditemukan hanya satu dari delapan pohon sampel menunjukkan ketidacocokan berkawin sendiri, dengan indeks ISI = 0,05 (Kartikawati, 2005). Berdasarkan klasifikasi dari Zapata dan Arroyo (1978) nilai ISI untuk *M. cajuputi* subsp *cajuputi* termasuk dalam kelompok sebagian kecil mampu berkawin sendiri. Ketidacocokan

berkawin sendiri dilaporkan terjadi secara luas pada genus *Myrtaceae*. Sebagai contoh, *E. morrisbyi* memiliki sistem yang sama sekali tidak dapat berkawin sendiri (Potts & Savva, 1988); *E. regnans* dan *E. globulus* menunjukkan sebagian tidak dapat berkawin sendiri, dengan beberapa individu yang mampu menghasilkan biji hasil penyerbukan sendiri meskipun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan penyerbukan silang (Griffin et al., 1987; Ellis & Sedgley, 1992).

B. Perkecambahan biji hasil penyerbukan

Pengamatan terhadap kemampuan berkecambah biji dilakukan untuk melihat kualitas benih hasil penyerbukan. Gambar 2 memperlihatkan bahwa biji hasil perkawinan silang terkendali mempunyai jumlah kecambah yang lebih besar dibandingkan dengan tipe penyerbukan yang lain, meskipun demikian rerata persen kecambah dari hasil penyerbukan terbuka masih mempunyai persentase lebih tinggi dibandingkan dengan penyerbukan sendiri terkendali dan alami. Hal tersebut membuktikan bahwa depresi silang dalam terjadi dalam proses perkecambahan biji.



Gambar 2. Rerata kecambah benih per 0,01 gram dari berbagai tipe penyerbukan dan standard error

Hasil analisis varians memperlihatkan terdapat perbedaan yang tidak nyata pada jumlah biji yang berkecambah di antara empat tipe penyerbukan ($P = 0,063$). Seperti terlihat pada Gambar 2, bahwa rerata perkecambahan

benih yang tertinggi dihasilkan dari biji hasil penyerbukan silang terkendali dibandingkan dengan penyerbukan terbuka, meskipun persen terbentuknya biji pada penyerbukan terbuka awalnya menunjukkan jumlah yang lebih tinggi

dibandingkan penyerbukan terkendali (Gambar 1). Hal ini diasumsikan bahwa di dalam benih-benih hasil penyerbukan terbuka mungkin terkandung benih hasil perkawinan sendiri atau perkawinan dengan kerabat dekat yang akhirnya akan menyebabkan terjadinya penurunan kualitas hasil perkawinan silang antara kerabat dekat. Menurut Hedrick dan Garcia-Dorado (2016), perkawinan antar kerabat akan menyebabkan depresi silang dalam atau pengurangan kebugaran (*fitness*) dan hal ini merupakan sebuah fenomena yang umum yang dipengaruhi oleh mutasi, seleksi dan pergeseran genetik.

Meskipun depresi silang dalam merupakan hal yang belum sepenuhnya diketahui (Damgaard & Loeschcke, 1994), depresi silang dalam pada hasil penyerbukan ini dimungkinkan merupakan depresi silang dalam tindak lambat (*late acting inbreeding depression*) yang disebabkan oleh efek di sedikit lokus gen yang pada umumnya akan nampak atau berdampak pada kematian awal, yang dalam hal ini diekspresikan dengan tidak berkecambahnya biji (Barrett & Harder, 1996; Husband & Schemske, 1996). Depresi silang

dalam tindak lambat sudah banyak ditemukan pada beberapa famili Myrtaceae. Sebagai contoh pada *E. globulus* ssp. *globulus* terlihat penurunan perkecambahan (Potts et al., 1987; Hardner & Potts, 1995). Stift et al. (2013) menyatakan bahwa biji hasil penyerbukan sendiri mempunyai *fitness* yang lebih rendah dibandingkan dengan biji hasil penyerbukan silang yang umumnya diperlihatkan dengan tingkat perkecambahan yang lebih rendah dan kemampuan hidup yang rendah. Lebih lanjut dikatakan bahwa biji hasil penyerbukan sendiri juga mengalami waktu yang lebih lama untuk berkecambah.

C. Pertumbuhan semai hasil penyerbukan

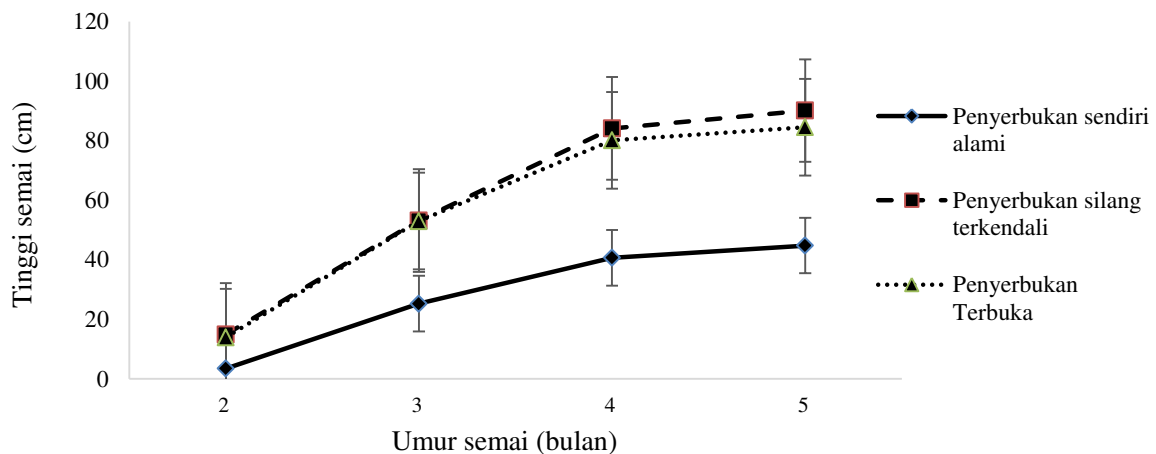
Hasil pengamatan pertumbuhan semai dilakukan dengan pengukuran tinggi semai mulai umur dua sampai lima bulan. Perbedaan yang sangat nyata diperlihatkan dari pertumbuhan tinggi semai antar tiga tipe penyerbukan dalam setiap umur yang diamati. Hasil analisis varians (Tabel 2) memperlihatkan bahwa tipe penyerbukan berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan.

Tabel 2. Hasil analisis varians pertumbuhan tinggi semai umur 2, 3, 4 dan 5 bulan dari berbagai tipe penyerbukan

	Umur (bulan)			
	2	3	4	5
Derajat bebas	2	2	2	2
Jumlah Kuadrat	1274,16	7792,71	21470,3	22251,5
Nilai P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Gambar 3 memperlihatkan bahwa pertumbuhan tinggi semai mulai dari umur 2, 3, 4 dan 5 bulan mengalami kecenderungan yang selalu meningkat dengan semai yang berasal dari penyerbukan terkendali dan penyerbukan terbuka menduduki pertumbuhan tinggi yang lebih cepat dibandingkan dengan semai hasil penyerbukan sendiri secara alami. Terlihat jelas semai hasil penyerbukan sendiri mempunyai

keterlambatan dalam pertumbuhan tinggi yang berarti mempunyai kemampuan tumbuh (*fitness*) yang rendah karena dampak depresi silang dalam. Hasil ini mendukung hasil sebelumnya (Gambar 2) dan dapat diasumsikan bahwa dalam spesies *tea tree* depresi silang dalam yang terjadi adalah depresi silang dalam tindak lambat (*late acting*).



Gambar 3. Rerata pertumbuhan tinggi semai dari berbagai tipe penyerbukan dan standard error

Meskipun gen yang mendasari terjadinya depresi silang dalam tidak sepenuhnya dipahami (Damgaard & Loeschcke, 1994), namun besar kemungkinan terjadinya depresi silang dalam tindak lambat lebih besar karena pengaruh kecil banyak lokus gen, bukan karena pengaruh besar pada beberapa lokus yang umumnya disebut dengan kematian tingkat awal (Barrett & Harder, 1996). Dalam kegiatan pemuliaan, depresi silang dalam tindak lambat banyak terjadi pada genus *Myrtaceae*; sebagai contoh terjadinya penurunan kemampuan hidup semai umur delapan bulan setelah penanaman pada *E. globulus*, sedangkan pada jenis *E. gunnii* kemampuan hidup serta tinggi semai hasil perkawinan sendiri mengalami penurunan yang sangat tajam setelah umur satu tahun dibandingkan dengan semai hasil perkawinan silang (Potts et al., 1987; Hardner & Potts, 1995).

IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa mekanisme ketidakcocokan penyerbukan sendiri terjadi dalam jenis *M. alternifolia*, dengan arah yang berbeda-beda antar individu tanaman. Hal ini dibuktikan dengan tidak terbentuknya kapsul pada penyerbukan sendiri terkendali ($ISI = 0$), meskipun penyerbukan sendiri secara alami mampu menghasilkan kapsul dengan nilai rendah ($ISI = 0,24$).

Lebih lanjut, depresi silang dalam tipe tindak lambat (*late acting*) ditemukan dalam jenis ini, karena benih-benih hasil perkawinan terbuka mempunyai viabilitas benih (kemampuan benih berkecambah) yang lebih rendah dibandingkan dengan benih hasil perkawinan silang. Viabilitas benih akan berpengaruh pada kemampuan untuk menghasilkan keturunan, hal ini umumnya digunakan sebagai tolok ukur terjadinya depresi silang dalam pada tanaman yang menyerbuk silang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari proyek yang dikerjakan oleh *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) – Rural Industry Research and Development Corporation (RIRDC)* yang berjudul *Melaleuca breeding program for improving oil quality*. Terima kasih penulis tujukan kepada John Doran, Mike Moncur, Garry Baker dan Paul Warburton atas bantuannya dalam penyusunan paper ini.

DAFTAR PUSTAKA

Agrawal, R. (1998). *Fundamentals of Plant Breeding and Hybrid Seed Production*. Enfield, New Hampshire: Science Publishers Inc.

- Barret, S. C. H. (1998). The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science*, 3(9), 335–341. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01299-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01299-0)
- Barrett, S. C. H., & Harder, L. D. (1996). Ecology and evolution of plant mating. *Trends in Ecology and Evolution*, 11, 73–79.
- Baskorowati, L. (2006). Controlled pollination methods for *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel. *ACIAR Technical Report*, (63), 1–9.
- Baskorowati, L., Moncur, M. W., Cunningham, S. A., Doran, J. C., & Kanowski, P. J. (2010). Reproductive biology of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) 2. Incompatibility and pollen transfer in relation to the breeding system. *Australian Journal of Botany*, 58(5), 384–391. <https://doi.org/10.1071/BT10036>
- Baskorowati, L., Moncur, M. W., Doran, J. C., & Kanowski, P. J. (2010). Reproductive biology of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) 1. Floral biology. *Australian Journal of Botany*, 58(5), 373–383. <https://doi.org/10.1071/BT10035>
- Bawa, K. S. (1980). Evolution of Dioecy in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11(1), 15–39. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.11.110180.000311>
- Butcher, P. A., Bell, J. C., & Moran, G. F. (1992). Patterns of genetic diversity and nature of the breeding system in *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*, 40(3), 365–375. <https://doi.org/10.1071/BT9920365>
- Charlesworth, D., & Charlesworth, B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.001321>
- Charlesworth, D., & Willis, J. H. (2009). The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics*. <https://doi.org/10.1038/nrg2664>
- Dafni, A. (1992). *Pollination Ecology: A Practical Approach*. Oxford: Oirl Press at Oxford University Press. <https://doi.org/10.2307/2807163>
- Damgaard, C., & Loeschcke, V. (1994). Inbreeding depression and dominance-suppression competition after inbreeding in rapeseed (*Brassica napus*). *Theoretical and Applied Genetics*, 88(3–4), 321–3. <https://doi.org/10.1007/BF00223639>
- de Nettancourt, D. (2011). *Incompatibility and Incongruity in Wild and Cultivated Plants* (2nd ed.). Springer.
- Doran, J. C., & Moran, G. F. (2002). *Development of DNA markers for breeding of tea tree*.
- Eldridge, K. G. (1978). Genetic improvement of eucalyptus. *Silvae Genetica*, 27, 205–209.
- Eldridge, K. G., Davidson, J., Harwood, C., & Van Wyk, G. (1993). *Eucalypt Domestication and Breeding*. Oxford: Oxford University Press.
- Eldridge, K. G., & Griffin, A. R. (1983). Selfing effects in *Eucalyptus regnans*. *Silvae Genetica*, 32(5–6), 216–221.
- Ellis, M. F., & Sedgley, M. (1992). Floral morphology and breeding system of three species of *Eucalyptus*, section *Bisectaria* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*, 40(3), 249–262. <https://doi.org/10.1071/BT9920249>
- Finkeldey, R., & Hattermer, H. H. (2007). *Tropical Forest Genetics*. Springer.
- Franklin, E. C. (1970). *Survey of mutant forms and inbreeding depression in species of the family Pinaceae*.
- Franklin -Tong, N. V. E., & Franklin, F. C. H. (2003). Gametophytic self-incompatibility inhibits pollen tube growth using different mechanisms. *Trends in Plant Science*, 8(12), 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.10.008>
- Gervais, C., Awad, D. A., Roze, D., Castric, V., & Billiard, S. (2014). Genetic architecture of inbreeding depression and the maintenance of gametophytic self-incompatibility. *Evolution*, 68(11), 3317–3324. <https://doi.org/10.1111/evo.12495>
- Griffin, A. R., & Cotterill, P. P. (1988). Genetic variation in growth of outcrossed, selfed and open-pollinated progenies of *Eucalyptus regnans* and some implications for breeding strategy. *Silvae-Genetica*.
- Griffin, A. R., Moran, G. F., & Fripp, Y. J. (1987). Preferential outcrossing in *Eucalyptus regnans* F. Muell. *Australian Journal of Botany*, 35(4), 465–475. <https://doi.org/10.1071/BT9870465>
- Hardner, C. M., & Potts, B. M. (1995). Inbreeding depression and changes in variation after selfing in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*. *Silvae Genet.*, 44, 46–54.
- Hedrick, P. W., & Garcia-Dorado, A. (2016). Understanding Inbreeding Depression, Purging, and Genetic Rescue. *Trends in Ecology and Evolution*.

- <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.09.005>
- Hodgson, L. M. (1976). Some aspects of flowering and reproductive behaviour in *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. *South African Forestry Journal*, 97, 18–28.
- Husband, B. C., & Schemske, D. W. (1996). Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution*, 50(1), 54–70. <https://doi.org/10.2307/2410780>
- Kartikawati, N. K. (2005). Tingkat inkompatibilitas bersilang sendiri pada tanaman kayu putih. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 2, 141–147.
- Martínez-Peralta, C., Márquez-Guzmán, J., & Mandujano, M. C. (2014). How common is self-incompatibility across species of the herkogamous genus *ariocarpus*? *American Journal of Botany*, 101(3), 530–538. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400022>
- Potts, B. M., Potts, W. C., & Cauvin, B. (1987). Inbreeding and interspecific hybridisation in *Eucalyptus gunnii*. *Silvae Genetica*, 36(5–6), 194–198.
- Potts, B. M., & Savva, M. (1988). Self-incompatibility in *Eucalyptus*. In R. B. Knox, M. B. Singh, & L. F. Troiani (Eds.), *Pollination '88* (pp. 165–175). Melbourne, Australia: University of Melbourne.
- Pound, L. M., Patterson, B., Wallwork, M. A. B., Potts, B. M., & Sedgley, M. (2003). Pollen competition does not affect the success of self-pollination in *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*, 51(2), 189–195. <https://doi.org/10.1071/BT02082>
- Pound, L. M., Wallwork, M. A. B., Potts, B. M., & Sedgley, M. (2002). Self-incompatibility in *Eucalyptus globulus* ssp. *Globulus* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*, 50(3), 365–372. <https://doi.org/10.1071/BT01076>
- Pryor, L. D. (1976). *The Biology of Eucalypts*. London: Edward Arnold.
- Richards, A. J. (1997). *Plant breeding systems* (2nd ed.). Cambridge: Chapman & Hall.
- Rossetto, M., Slade, R. W., Baverstock, P. R., Henry, R. J., & Lee, L. S. (1999). Microsatellite variation and assessment of genetic structure in tea tree (*Melaleuca alternifolia* - Myrtaceae). *Molecular Ecology*, 8(4). <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1999.00622.x>
- Sedgley, M., & Griffin, A. R. (1989). *Sexual Reproduction of Tree Crops. Sexual Reproduction of Tree Crops*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-634470-7.50012-X>
- Sedgley, M., Hand, F. C., Smith, R. M., & Griffin, A. R. (1989). Pollen tube growth and early seed development in *Eucalyptus regnans* F. Muell. (myrtaceae) in relation to ovule structure and preferential outcrossing. *Australian Journal of Botany*, 37(5), 397–411. <https://doi.org/10.1071/BT9890397>
- Sedgley, M., & Smith, R. M. (1989). Pistil receptivity and pollen tubes growth in relation to the breeding system of *Eucalyptus woodwardii* (Symphyomyrtus: Myrtaceae). *Annals of Botany*, 64(1), 21–31.
- Stift, M., Hunter, B. D., Shaw, B., Adam, A., Hoebe, P. N., & Mable, B. K. (2013). Inbreeding depression in self-incompatible North-American *Arabidopsis lyrata*: Disentangling genomic and S-locus-specific genetic load. *Heredity*, 110(1), 19–28. <https://doi.org/10.1038/hdy.2012.49>
- Takayama, S., & Isogai, A. (2005). Self-incompatibility in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 467–489. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144249>
- Tibbits, W. N. (1988). Germination and morphology of progeny from controlled pollinations of *Eucalyptus nitens* (Deane & Maiden) Maiden. *Australian Journal of Botany*, 36(6), 677–691. <https://doi.org/10.1071/BT9880677>
- Tsumura, Y. (2011). *Gene flow, mating systems and inbreeding depression in natural populations of tropical trees. In Managing Future of Southeast Asia's Valuable Tropical Rain Forest*. Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2175-3_3
- Van Wyk, G. (1977). Pollen handling, controlled pollination and grafting of *Eucalyptus grandis*. *South African Forestry Journal*, 101, 47–53.
- Young, A. G., Broadhurst, L. M., & Thrall, P. H. (2012). Non-additive effects of pollen limitation and self-incompatibility reduce plant reproductive success and population viability. *Annals of Botany*, 109(3), 643–653. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr290>
- Zapata, T. R., & Arroyo, M. T. K. (1978). Plant Reproductive Ecology of a Secondary Deciduous Tropical Forest in Venezuela. *Biotropica*. <https://doi.org/10.2307/2387907>