

**KERAGAMAN GENETIK POPULASI *Calophyllum inophyllum* MENGGUNAKAN  
PENANDA RAPD (RANDOM AMPLIFICATION POLYMORPHISM DNA)  
*Genetic diversity of Calophyllum inophyllum revealed by RAPD (Random Amplification  
Polymorphism DNA)***

I.L.G. Nurtjahjaningsih<sup>1)</sup>, Titin Haryanti<sup>2)</sup>, A.Y.P.B.C. Widyatmoko<sup>1)</sup>, Sapto Indrioko<sup>2)</sup>, dan Anto Rimbawanto<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta, Indonesia  
*e-mail: iluh\_nc@yahoo.com*

<sup>2)</sup> Fakultas Kehutanan, Universitas Gadjah Mada  
Jl. Agro No. 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

Tanggal diterima : 8 Mei 2015, Tanggal direvisi : 25 Mei 2015, Disetujui terbit : 31 Agustus 2015

**ABSTRACT**

*The aims of this study were to assess genetic diversity within populations and genetic relationship among populations of C. inophyllum. Leaf samples as template DNA were collected from 10 natural populations and 1 plantation. Five random amplified polymorphism DNA (RAPD) markers consisted 30 loci were conducted to genetic analysis. Results showed genetic diversity within populations were in low to moderate level (mean  $H_E=0.186$ ). There is no private allele in any populations. The analysis of molecular variance (AMOVA) showed that genetic differentiation among Islands was insignificant; but the differentiation was significant among populations and individual trees. Genetic distance among populations was in low to moderate level (mean  $Da=0.250$ ). Cluster analysis clearly divided the 11 populations into 2 clusters; cluster I consisted Selayar, Lombok, Gunung Kidul and Padang populations; cluster II consisted Way Kambas, Madura, Ketapang, Dompu, and Yapen populations. The genetic relationships did not associate with their geographical locations. In conclusion, genetic diversity and genetic relationship among populations of C. inophyllum was in moderate level.*

**Keywords:** *genetic diversity, Calophyllum inophyllum, RAPD markers, clusters analysis*

**ABSTRAK**

*Calophyllum inophyllum* atau nyamplung tersebar secara alami dan luas di hampir seluruh pantai di Indonesia. Keragaman genetik merupakan pertimbangan penting dalam mendukung keberhasilan strategi pemuliaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik di dalam populasi dan kedekatan genetik antar populasi nyamplung. Contoh daun digunakan sebagai cetakan DNA; dikumpulkan dari 10 populasi alam dan 1 populasi hutan tanaman. Lima penanda RAPD (*random amplified polymorphism DNA*) yang terdiri dari 30 lokus polimorfik digunakan untuk analisis genetik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman genetik di dalam populasi nyamplung termasuk dalam nilai rendah sampai sedang (rerata  $H_E=0,186$ ). Alel privat tidak ditemukan pada setiap populasi. Analisis AMOVA (*analysis of molecular variance*) menunjukkan perbedaan genetik antar pulau tidak memberikan nilai yang signifikan terhadap keragaman genetik; nilainya dipengaruhi oleh perbedaan antar populasi dan individu pohon. Jarak genetik antar populasi termasuk dalam nilai yang rendah sampai sedang (rerata  $Da=0,250$ ). Analisis klaster membagi 11 populasi menjadi dua klaster; klaster I terdiri dari populasi Selayar, Lombok, Gunung Kidul dan Padang, klaster II terdiri dari populasi Way Kambas, Madura, Ketapang, Dompu, dan Yapen. Kedekatan genetik antar populasi tidak berhubungan dengan kedekatan posisi geografi. Penelitian ini menyimpulkan bahwa keragaman genetik di dalam populasi dan kedekatan genetik antar populasi nyamplung termasuk dalam nilai sedang. Satuan seleksi dalam strategi pemuliaan harus mempertimbangkan keragaman genetik dalam tingkat populasi atau individu pohon.

**Kata kunci:** *keragaman genetik, Calophyllum inophyllum, penanda RAPD, analisis klaster*

## I. PENDAHULUAN

*Callophyllum inophyllum* atau nyamplung merupakan salah satu tanaman bernilai ekonomi tinggi untuk bahan bakar nabati (*biofuel*). Kajian tentang pemanfaatan nyamplung dari teknik silvikultur sampai dengan keuntungan ekonomi menyimpulkan bahwa nyamplung layak sebagai bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar fosil. Kelayakan bahan bakar berbasis nyamplung ditindak-lanjuti dengan adanya kerjasama antara Kementerian Kehutanan dan Kementerian ESDM untuk menyediakan demplot hutan tanaman industri *biofuel* serta program desa mandiri energi berbasis nyamplung di Kabupaten Kebumen, Purworejo dan Banyuwangi (Kuswanto dkk., tidak dipublikasikan).

Nyamplung tumbuh secara alami di sepanjang pantai di Indonesia; potensi hutan nyamplung tersebar secara luas dari pulau Sumatera sampai dengan Papua dan sudah dibudidayakan masyarakat dalam kurun waktu lama (Anonim, 2008). Nyamplung cenderung memiliki pembungaan yang serempak antar individu (Nurtjahjaningsih dkk., 2012). Penyerbukan pada nyamplung dibantu oleh serangga seperti kumbang, kupu-kupu dan lebah (Nurtjahjaningsih dkk., 2012); penyebaran biji nyamplung secara gravitasi sehingga biji nyamplung banyak ditemukan di bawah tegakan nyamplung (Priyanto, 2013). Biji

nyamplung juga mudah disebarkan oleh gelombang laut. Kelelawar juga dianggap berperan dalam menyebarkan biji nyamplung terutama di dataran tinggi (Mahfudz, komunikasi pribadi).

Pada umumnya, tanaman pantai mempunyai nilai keragaman genetik yang rendah di dalam dan antar populasi (Giang dkk., 2006). Rendahnya keragaman genetik di dalam populasi disebabkan oleh terbatasnya individu yang ada sehingga meningkatkan laju silang dalam dan kawin kerabat (Giang dkk., 2006; Islam dkk., 2004). Biji yang disebarkan oleh gelombang laut, menyebabkan tanaman pantai memiliki sebaran geografis yang luas, hal ini menyebabkan rendahnya keragaman genetik antar populasi (Munthali dkk., 2013). Selain itu, aktifitas manusia dalam budidaya tanaman dengan mencampur daerah asal merupakan penyebab rendahnya keragaman genetik antar populasi (Tsuda dkk., 2009).

Untuk mendukung pembangunan hutan tanaman melalui penyediaan bibit berkualitas dalam kuantitas yang memadai, strategi pemuliaan nyamplung sudah diinisiasi dengan ditetapkannya uji provenan atau ras lahan pada tahun 2010 (Leksono dkk., 2010). Uji provenan bertujuan untuk melihat kemampuan beradaptasi tanaman yang berasal dari berbagai sumber asal benih pada suatu lokasi dimana jenis tersebut akan

dikembangkan; pada dasarnya uji ini bertujuan untuk mengurangi jumlah provenan menjadi sejumlah provenan yang telah teruji sesuai dengan produk yang diinginkan pada tempat tertentu. Uji provenan tersebut melibatkan 6 provenan (seedlot) yaitu Banyuwangi, Gunung Kidul, Purworejo, Cilacap, Ciamis dan Pandeglang. Masing-masing provenan menggunakan 25 tanaman (*tree plot*) dan diulang dalam 6 blok yang dibangun pada 2 lokasi yaitu Kulon Progo dan Ciamis.

Seleksi pohon secara intensif berdasarkan sifat phenotipik/morfologi merupakan salah satu kegiatan utama dalam sebuah strategi pemuliaan, disamping harus tetap mempertahankan keragaman genetik pada tingkat tertentu. Oleh karena itu, pemilihan populasi/provenan yang terlibat dalam pembangunan uji provenan merupakan faktor penting untuk keberhasilan dan ketepatan strategi pemuliaan. Beberapa faktor menyebabkan nilai keragaman genetik di dalam populasi berbeda satu dengan yang lain, diantaranya adalah tipe, habitat dan sifat hutan; sedangkan keragaman genetik antar populasi bergantung pada proses evolusi, adaptasi dan aliran gen. Penyimpangan genetik pada populasi yang berukuran kecil/terdegradasi dapat meningkatkan laju *selfing* (Aldrich dan Hamrick, 1998), mempengaruhi sistem perkawinan dan membatasi sebaran serbuk sari sehingga

mempengaruhi produksi dan kesehatan benih, nilai keragaman genetik dan kelestarian populasi (Allnutt dkk., 1999; Llorens dkk., 2012). Sebaran biji nyamplung oleh gelombang laut menyebabkan tanaman membentuk populasi dengan jumlah individu yang relatif sedikit. Selain itu, konversi hutan nyamplung menjadi lahan pertanian atau perumahan penduduk, pemanfaatan kayu nyamplung menyebabkan hutan terfragmentasi. Dengan mempertimbangkan sifat sebaran alami, adanya indikasi populasi yang terfragmentasi, serta materi genetik untuk pembangunan uji provenan nyamplung yang berasal dari seluruh sebaran alam maupun hutan tanaman, maka mengidentifikasi keragaman genetik populasi nyamplung menggunakan penanda DNA perlu dilakukan untuk menetapkan strategi pemuliaan dengan lebih efisiensi.

*Random amplified polymorphic DNA* (RAPD) adalah salah satu penanda DNA menggunakan satu primer yang terdiri dari 10 basa. Penanda ini bersifat dominan sehingga hanya mampu menelusuri alel *homozygote* resesif atau *homozygote* dominan. Penanda ini mudah untuk teramplifikasi dan mampu mendeteksi beberapa lokus polimorfik. Oleh karena itu, penanda RAPD sering digunakan untuk menduga nilai keragaman genetik populasi dan mengidentifikasi suatu jenis. Meskipun bersifat dominan, penanda ini dapat

digunakan untuk menduga laju silang luar pada suatu jenis, misalnya *Eucalyptus urophylla* (Gaiotto dkk., 1997).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai keragaman genetik nyamplung dan kedekatan genetik antar populasi nyamplung. Informasi ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam menyusun strategi pemuliaan tanaman nyamplung selanjutnya.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Waktu penelitian

Pengumpulan materi genetik berupa daun dari beberapa populasi dilakukan mulai tahun 2010 sampai dengan 2012, sedangkan analisis keragaman genetik dilakukan pada tahun 2012 di Laboratorium Genetika Molekuler, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan.

### B. Lokasi pengambilan sampel

Sampel daun dikumpulkan dari 10 hutan alam, yaitu Padang (Sumatera Barat), Way Kambas (Lampung), Madura, Lombok Tengah (NTB), Lombok Timur (NTB), Dompu (NTB), Ketapang (Kalimantan Barat), Selayar Gunung (Sulawesi Selatan), Selayar Pantai (Sulawesi Selatan), Yapen (Papua Barat) dan 1 hutan tanaman yaitu Gunung Kidul (DIY) (Gambar 1). Jenis, habitat dan sifat hutan, serta jumlah sampel daun yang digunakan dalam penelitian ini

beragam (Tabel 2). Sebagian besar populasi tersebut terletak di pantai, kecuali Selayar Gunung dan Gunung Kidul, yang terletak di pegunungan/dataran tinggi. Sifat tumbuh tanaman nyamplung pada masing-masing populasi dapat dikategorikan tumbuh mengelompok secara alami sehingga membentuk kumpulan individu dengan jumlah sedikit (3-5 pohon), terfragmentasi atau menyambung (Tabel 2). Sampel daun per individu pohon dimasukkan dalam kantong kertas (amplop). Amplop tersebut dimasukkan dalam kantong plastik yang sudah diisi silika gel. Untuk mempermudah penanganan sampel di laboratorium, satu kantong plastik berisi sampel daun dari populasi yang sama. Sampel-sampel tersebut disimpan di laboratorium pada suhu ruang sampai dilakukan ekstraksi DNA.

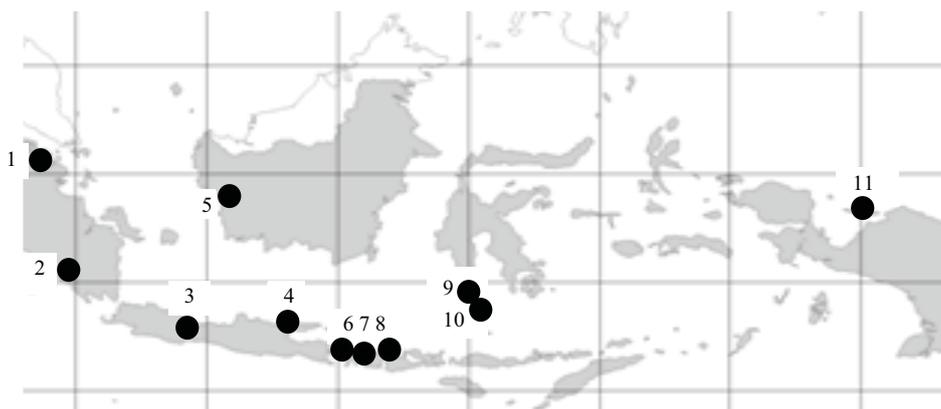
### C. Analisis DNA menggunakan penanda RAPD

Analisis keragaman genetik dilakukan menggunakan penanda RAPD yang merupakan analisis DNA berdasarkan proses PCR (*polymerase chain reaction*). Proses PCR memerlukan larutan dan kondisi mesin thermal cycler yang sesuai untuk terjadinya penempelan urutan basa primer RAPD pada urutan basa DNA contoh. Larutan PCR terdiri dari 10 $\mu$ L yang merupakan campuran dari 10 x *buffer stoffel*, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, 0,05Unit *AmpliTaq stoffel polymerase*,

10µM primer RAPD dan 10 ng/µL *template* DNA. Kondisi PCR terdiri dari denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 45 siklus yang terdiri dari denaturasi (94°C selama 1,5 menit), penempelan primer (37°C selama 30 detik) dan pemanjangan untai DNA (70°C selama 30°C), kemudian pemantapan pada suhu 70°C selama 5 menit. Proses PCR dilakukan menggunakan mesin *thermal cycler* GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystem).

digunakan dalam penelitian ini yaitu set OPQ13, OPQ14; OPQ16; OPQ17 dan OPY14. Pemilihan primer RAPD yang cocok terhadap urutan DNA nyamplung sudah pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya (Nurtjahjaningsih, data tidak dipublikasikan). Urutan basa oligonukleotida 5 primer RAPD dan jumlah lokus polimorfik pada nyamplung disajikan pada Tabel 1; sedangkan contoh penanda RAPD yang bersifat polimorfik ditunjukkan pada Gambar 2.

Lima primer RAPD yang menghasilkan lokus polimorfik dan

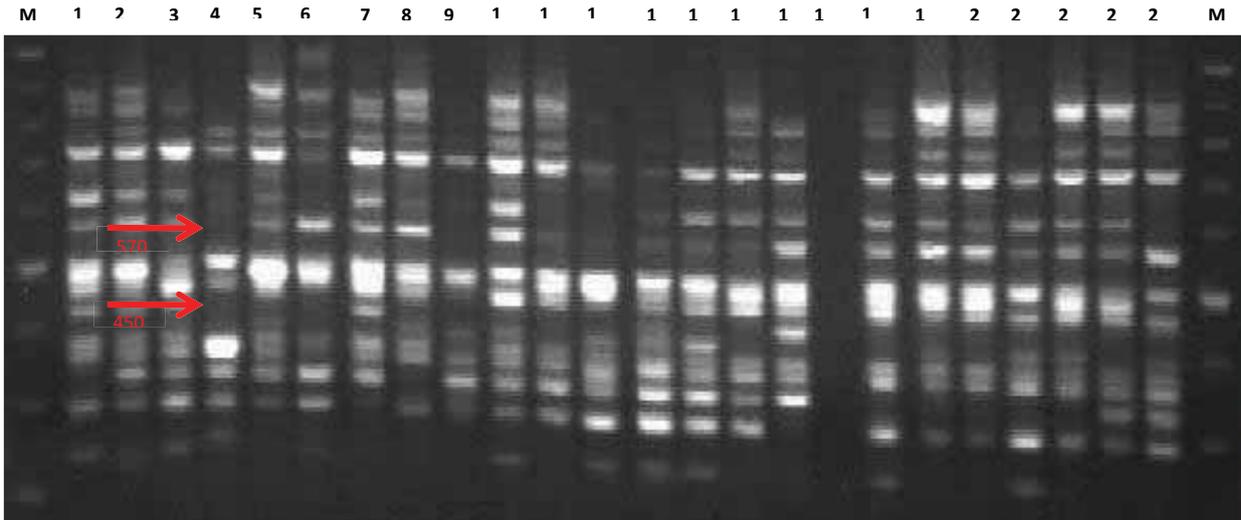


Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel daun nyamplung dari populasi hutan alam dan hutan tanaman

**Keterangan:** 1). Padang, 2). Way Kambas, 3). Gunung Kidul, 4). Madura, 5). Ketapang, 6). Lombok Tengah, 7). Lombok Timur, 8). Dompu, 9). Selayar Gunung, 10). Selayar Pantai, 11). Yapen

Tabel 1. Primer RAPD dan jumlah lokus polimorfik pada nyamplung

No.	Primer	Urutan basa (5'-3')	Jumlah lokus polimorfik	Ukuran lokus (bp)
1	OPQ-13	GGAGTGGACA	5	320, 350, 380, 400, 650
2.	OPQ-14	GGACGCTTCA	4	450, 500, 550, 650
3.	OPQ-16	AGTGCAGCCA	6	220, 280, 500,550,650, 700
4.	OPQ-17	GAAGCCCTTG	9	300, 400, 450, 570, 610, 660, 700, 800, 900
5.	OPY-14	GGTCGATCTG	6	370, 500, 580, 650, 750, 800
		Jumlah	30	



Gambar 2. Contoh primer RAPD (OPQ17) bersifat polymorfik pada nyamplung

#### D. Analisis data

Parameter keragaman genetik di dalam populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai keragaman genetik ( $H_E$ ) dan alel yang dimiliki oleh populasi tertentu (alel privat); dianalisis menggunakan program komputer GenAEx ver. 6.5 (Peakall dan Smouse, 2012). Jarak genetik antar populasi dianalisis menggunakan program komputer GenAEx ver. 6.5. Analisis kluster dilakukan untuk mengetahui kedekatan genetik antar populasi berdasarkan data jarak genetik ( $D_a$ ) menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic*); tingkat kepercayaan diuji dengan 1,000 kali pengulangan (bootstrap); dianalisis menggunakan program komputer POPTREEW (Takezaki dkk., 2014). Analisis AMOVA (*Analysis of molecular variant*) dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan wilayah (dalam hal ini

pulau), populasi dan individu terhadap perbedaan genetik; dianalisis menggunakan program komputer GenAEx 6.5.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

##### 1. Keragaman genetik di dalam populasi

Nilai  $H_E$  berkisar antara rendah ( $H_E = 0,071$ ; populasi Lombok Tengah) sampai dengan sedang ( $H_E=0,243$ ; populasi Selayar Gunung). Rata-rata nilai  $H_E$  11 populasi nyamplung termasuk dalam kategori sedang ( $H_E=0,186$ ) (Tabel 2). Alel privat tidak dijumpai pada masing-masing populasi.

##### 2. Jarak genetik dan hubungan kekerabatan antar populasi

Jarak genetik antar populasi bernilai sangat rendah sampai tinggi; berkisar antara 0,001 sampai dengan 0,734, dengan rerata 0,250 (Tabel 3).

Tabel 2. Nama populasi, wilayah, jenis/habitat/sifat hutan dan nilai keragaman genetik di dalam 11 populasi nyamplung menggunakan 5 penanda RAPD

Populasi	Wilayah	Jenis/habitat/sifat hutan	N	Nilai $H_E$ (SE)
Padang	Sumatera	Hutan alam, pantai, mengelompok dengan individu berjumlah sedikit	4	0,156 (0,033)
Way Kambas	Sumatera	Hutan alam, pantai, menyambung	12	0,232 (0,041)
Gunung Kidul	Jawa	Hutan tanaman, gunung, meyambung	5	0,188 (0,035)
Madura	Madura	Hutan alam, pantai, menyambung	12	0,199 (0,039)
Ketapang	Kalimantan	Hutan alam, pantai, menyambung	12	0,223 (0,040)
Lombok Tengah	NTB	Hutan alam, pantai, terfragmentasi	5	0,071 (0,030)
Lombok Timur	NTB	Hutan alam, pantai, mengelompok dengan individu berjumlah sedikit	4	0,160 (0,038)
Dompu	NTB	Hutan alam, pantai, menyambung	12	0,214 (0,041)
Selayar Gunung	Sulawesi	Hutan alam, gunung, menyambung	5	0,243 (0,042)
Selayar Pantai	Sulawesi	Hutan alam, pantai, mengelompok dengan individu berjumlah sedikit	4	0,130 (0,038)
Yapen	Papua Barat	Hutan alam, pantai, menyambung	12	0,230 (0,041)
Jumlah/Rerata			88	0,186 (0,012)

Keterangan:

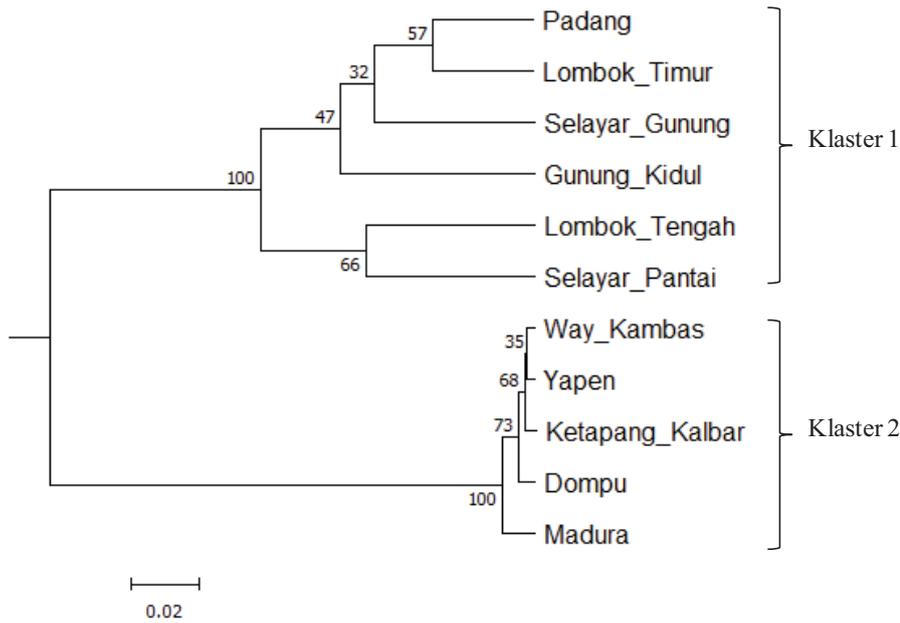
N: jumlah sampel,  $H_E$ : nilai keragaman genetik harapan, SE: standar error

Tabel 3. Jarak genetik antar populasi

Padang	Way kambas	Gn Kidul	Madura	Ketapang	Lombok Tengah	Lombok Timur	Dompu	Selayar Gunung	Selayar Pantai	Yapen	
0,000										Padang	
0,193	0,000									Way kambas	
0,079	0,181	0,000								Gn Kidul	
0,253	0,014	0,251	0,000							Madura	
0,223	0,002	0,217	0,017	0,000						Ketapang	
0,220	0,639	0,292	0,734	0,666	0,000					Lombok Tengah	
0,051	0,344	0,103	0,409	0,395	0,172	0,000				Lombok Timur	
0,174	0,006	0,187	0,022	0,011	0,591	0,315	0,000			Dompu	
0,080	0,301	0,186	0,381	0,303	0,119	0,118	0,287	0,000		Selayar Gunung	
0,179	0,553	0,274	0,608	0,578	0,101	0,184	0,550	0,131	0,000	Selayar Pantai	
0,171	0,001	0,169	0,031	0,003	0,595	0,315	0,009	0,268	0,514	0,000	Yapen

Analisis kluster menggambarkan hubungan kedekatan genetik antar 11 populasi nyamplung (Gambar 3). Analisis ini membagi secara tegas 11 populasi menjadi dua kluster/kelompok; kluster I terdiri dari populasi Padang, Lombok Timur, Selayar Gunung, Gunung Kidul, Lombok Tengah dan Selayar Pantai; kluster II terdiri dari populasi Way Kambas, Yapen, Ketapang, Dompu dan Madura.

Analisis molekuler varian (AMOVA) menunjukkan sumber ragam yang berpengaruh pada nilai keragaman genetik (Tabel 4). Hasil AMOVA memperkuat hasil analisis dendrogram bahwa nilai keragaman genetik tidak dipengaruhi oleh perbedaan pulau ( $P$ -value > 0,05), tetapi dipengaruhi oleh perbedaan populasi dan individu pohon ( $P$ -value = 0,001).



Gambar 3. Hubungan kekerabatan secara genetik 11 populasi nyamplung berdasarkan 30 lokus polimorfik RAPD

**Keterangan:**

angka diantara 2 populasi menunjukkan nilai bootstrap, semakin besar nilai bootstrap semakin tinggi nilai kepercayaan pembagian dua populasi tersebut

Tabel 4. Analisis AMOVA menunjukkan pengaruh sumber ragam terhadap nilai keragaman genetik populasi nyamplung

Sumber ragam	df	SS	Varian (%)
Antar pulau	5	149,885ns	0
Antar populasi dalam pulau	5	239,482**	65
Individu pohon dalam populasi	77	301,917**	35
Total	87	691,284	100

Keterangan : \*\* berbeda nyata pada taraf uji 1%,  
ns tidak berbeda nyata

**B. Pembahasan**

**1. Keragaman genetik di dalam populasi**

Hasil analisis DNA menggunakan penanda RAPD menunjukkan bahwa nilai keragaman genetik 11 populasi nyamplung termasuk dalam kisaran nilai rendah sampai sedang ( $H_E=0,071-0,243$ ; rerata  $H_E=0,186$ ) apabila dibandingkan dengan jenis

pohon pada umumnya ( $H_E =0,148$ ) (Hamrick dkk., 1992); konifer terancam punah *Fitzroya cupressoides* mempunyai  $H_E$  sebesar 0,343-0,636 (Allnutt dkk., 1999; Dering dan Chybicki, 2012); *Argania spinosa* ( $PIC=0,350-0,960$ ) (Mojourhat dkk., 2008); tanaman yang sudah terdomestikasi *Brassica napus* ( $H_E =0,207$ ) (Yuan dkk., 2004). Nilai

keragaman genetik rendah pada umumnya ditemui pada jenis tanaman pantai, seperti mangrove. Analisis menggunakan penanda mikrosatelit dengan polimorfisme yang lebih tinggi dibandingkan dengan penanda RAPD menunjukkan bahwa kisaran nilai keragaman genetik species mangrove termasuk dalam kategori nilai yang rendah ( $H_E=0,244-0,773$ ) (Giang dkk., 2006).

Banyak faktor yang berpengaruh terhadap nilai keragaman genetik. Penyerbukan pada nyamplung dibantu oleh serangga. Penyebaran serbuk sari oleh serangga biasanya tidak terlalu jauh, dalam kisaran 5-30 meter, dengan frekuensi waktu penyerbukan yang sering, sehingga kemungkinan membawa serbuk sari dari pohon yang sama (Barluenga dkk., 2011). Jenis hutan menyambung seperti populasi Way Kambas, Madura, Ketapang, Dompu dan Yapen, memiliki nilai keragaman genetik yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis hutan yang terfragmentasi seperti populasi Padang dan Lombok. Aliran gen pada hutan menyambung bersifat tidak terbatas sehingga dapat mengurangi penyimpangan genetik, seperti tingginya silang dalam dan kawin kerabat (Barluenga dkk., 2011; Islam dkk., 2004). Tanaman pantai mudah terganggu oleh kondisi alam (seperti terpaan angin, gelombang laut dan keasaman air laut) dan aktivitas manusia (seperti pemanfaatan kayu dan konversi lahan) menyebabkan

populasi yang semula menyambung berubah menjadi populasi yang tercerai berai dengan jumlah individu pohon yang sedikit. Tekanan gangguan tersebut dapat dikurangi pada habitat pengunungan seperti populasi Selayar Gunung dan Gunung Kidul. Besarnya ukuran efektif populasi pada populasi menyambung, menyebabkan tingginya nilai keragaman genetik oak (*Quercus robur* dan *Q. petraea*) (Dering dan Chybicki, 2012). Sebaliknya, penyim-pangan genetik selalu terjadi pada populasi dengan ukuran efektif kecil dan bercerai-berai (Dering dan Chybicki, 2012). Sebagai contoh, rendahnya ukuran efektif populasi menyebabkan tidak ditemukannya baik pancang maupun anakan di hutan savanna *Shorea globulifera* (Aldrich dan Hamrick, 1998).

## 2. Kedekatan genetik antar populasi

Analisis AMOVA menunjukkan perbedaan genetik tidak dipengaruhi oleh perbedaan wilayah (pulau) melainkan disebabkan oleh perbedaan populasi dan individu. Rendahnya perbedaan genetik antar pulau menunjukkan pencampuran genetik antar pulau sehingga menyebabkan kemiripan struktur genetik. Populasi Way Kambas, Madura, Dompu, Ketapang dan Yapen memiliki jarak genetik yang sangat rendah (rerata  $D_a=0,008$ ), meskipun letak populasi tersebut berjauhan secara geografis. Hubungan kedekatan genetik

diperjelas dengan hasil analisis klaster. Analisis klaster membagi 11 populasi nyamplung menjadi dua klaster (Gambar 3.). Pola pengelompokan tidak berhubungan dengan kedekatan posisi geografis. Kedekatan secara genetik antar populasi sering dikaitkan dengan kedekatan secara geografis (Sreekanth dkk., 2012), walaupun hal ini tidak selalu terjadi pada studi genetik populasi (Tsuda dan Ide, 2005). Kemiripan struktur gen antar populasi dengan jarak geografis yang berjauhan, disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya oleh persamaan asal-usul (*ancestry refugia*) (Tsuda dkk., 2009). Penyatuan daratan pada masa es (*glacial*) juga menjadi salah satu penyebab pencampuran *refugia*. Selain itu, aktifitas manusia dipandang cukup berperan dalam proses pencampuran *refugia* melalui materi vegetatif maupun generatif, mencampur asal materi genetik dari berbagai wilayah dalam kurun waktu yang lama (Tsuda dkk., 2009).

#### IV. KESIMPULAN

Menggunakan penanda DNA jenis RAPD, nilai keragaman genetik populasi nyamplung termasuk dalam nilai sedang. Perbedaan keragaman genetik bukan disebabkan oleh perbedaan pulau melainkan disebabkan oleh perbedaan populasi. Sebelas populasi dikelompokkan menjadi dua klaster; klaster I terdiri dari

populasi Padang, Lombok, Selayar dan Gunungkidul; klaster II terdiri dari populasi Way Kambas, Madura, Dompu, Ketapang dan Yapen. Klaster I memiliki jarak genetik yang sedang, sedangkan klaster II memiliki jarak genetik yang sangat kecil. Penge-lompokan tersebut tidak berhubungan dengan kedekatan letak geografis.

Pemanfaatan hasil penelitian terhadap strategi pemuliaan nyamplung. Penelitian analisis keragaman genetik terhadap 11 populasi nyamplung yang tersebar di hampir seluruh sebaran alam nyamplung di Indonesia ini secara garis besar memberikan informasi bahwa nilai keragaman genetik dipengaruhi oleh tipe, habitat dan sifat hutan nyamplung sehingga untuk mendapatkan populasi dengan keragaman genetik tinggi disarankan memilih populasi yang mempunyai ukuran populasi efektif tinggi, yang terindikasi dengan populasi menyambung; dalam hal ini adalah populasi Selayar Gunung dan Way Kambas. Letak geografis tidak menentukan kedekatan secara genetik. Oleh karena itu, pemilihan populasi disarankan tidak berdasarkan letak geo-grafis. Pengelompokan 11 populasi menjadi 6 wilayah (pulau) tidak memberikan per-bedaan yang nyata terhadap keragaman genetik. Informasi ini dapat dijadikan pertimbangan dalam menentukan provenan; bahwa penentuan

provenan tidak disarankan berdasarkan perbedaan pulau melainkan berdasarkan perbedaan populasi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Bapak Dr. Budi Leksono dan tim yang telah menyediakan sampel daun nyamplung dari seluruh populasi di Indonesia. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Bapak Y. Triyanta dan Ibu Wahyuni Sari yang telah banyak membantu kegiatan penelitian DNA di Laboratorium Genetika Molekuler.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aldrich, P. R., & Hamrick, J. L. (1998). Reports: Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science*, 281, 103-105.
- Allnutt, T. R., Newton, A. C., Lara, A., Premoli, A., Armesto, J. J., Vergara, S. R., & Gardner, M. (1999). Genetic Variation in *Fitzroya cupressoides* (alerce), a threatened South American conifer. *Molecular Ecology*, 8, 975-987.
- Anonim. (2008). *Nyamplung (Calophyllum inophyllum L.) sumber energi biofuel yang potensial*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Barluenga, M., Austerlitz, F., Elzinga, J. A., Teixeira, S., Goudet, J., & Bernasconi, G. (2011). Fine-scale spatial genetic structure and gene dispersal in *Silene latifolia*. *Heredity*, 106, 13-24.
- Dering, M., & Chybicki, I. (2012). Assessment of genetic diversity in two-species oak seed stands and their progeny populations. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 27, 2-9.
- Gaiotto, F. A., Bramucci, M., & Grattapagli, D. (1997). Estimation of outcrossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* with dominant RAPD and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.*, 95, 842-849.
- Giang, L. H., Geada, G. L., Hong, P. N., Tuan, M. S., Lien, N. T. H., Ikeda, S., & Harada, K. (2006). Genetic variation of two mangrove species in *Kandelia* (Rhizophoraceae) in Vietnam and surrounding area revealed by microsatellite markers. *Int. J. Plant Sci.*, 167(2), 291-298.
- Hamrick, J. L., Godt, M. J. W., & Sherman-Broyless, S. L. (1992). Factor influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forest*, 6, 95-124.
- Islam, M. S., Lian, C., Kameyama, N., Wus, B., & Hogetsu, T. (2004). Primer Note: Development of microsatellite markers in *Rhizophora stylosa* using a dual-suppression-polymerase chain reaction technique. *Molecular Ecology Notes*, 4, 110-112.
- Kuswantoro, D. P., Rostiwati, T., & Effendi, R. (tidak dipublikasikan). *Pengembangan hutan rakyat agroforestri nyamplung sebagai sumber bahan baku biofuel*.
- Leksono, B., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., Pudjiono, S., Rahman, E., & Putri, K. P. (2010). *Pemuliaan nyamplung (Calophyllum inophyllum L.) untuk bahan baku biofuel*. Laporan Penelitian Program Insentif Ristek Tahun Anggaran 2010.
- Llorens, T. M., Byrne, M., Yates, C. J., Nistelberger, H. M., & Coates, D. J. (2012). Evaluating the influence of different aspects of habitat fragmentation on mating patterns and pollen dispersal in the bird-pollinated *Banksia sphaerocarpa* var. *caesia*. *Molecular Ecology*, 21, 314-328.
- Mojourhat, K., Jabbar, Y., Hafidi, A., & Martinez-Gomez, P. (2008). Molecular characterization and genetic relationships among most common identified morphotypes of critically endangered rare Moroccan species *Argania spinosa* (Sapotaceae) using RAPD and SSR markers. *Ann. For. Sci.*, 65(805), p801-805.
- Munthali, C. R. Y., Chirwa, P. W., Changadeya, W. J., & Akinnifesi, F. K. (2013). Genetic differentiation and diversity of *Adansonia digitata* L. (baobab) in Malawi using microsatellite markers. *Agroforest Syst.*, 87, 117-130.
- Nurtjahjaningsih, I. L. G., Sulistyawati, P., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., & Rimbawanto, A. (2012). Karakterisasi pembungaan dan sistem perkawinan nyamplung (*Calophyllum inophyllum*)

- pada hutan tanaman di Watusipat, Gunung Kidul. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(2), 65-78.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research -an update. *Bioinformatics Applications Note*, 28(19), 2537-2539.
- Priyanto, A. (2013). Eksplorasi nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) di sebaran alam Kalimantan Barat (Ketapang) untuk program pemuliaan pohon. *Informasi Teknis*, 11(2), 69-78.
- Sreekanth, P. M., Balasundaran, M., Nazeem, P. A., & Suma, T. B. (2012). Genetic diversity of nine natural *Tectona grandis* L.f. populations of the Western Ghats in Southern India. *Conserv. Genet.*, 13, 1409-1419.
- Takezaki, N., Nei, M., & Tamura, K. (2014). POPTREEW: Web version of POPTREE for constructing population trees from allele frequency data dan computing some other quantities. *Molecular Biology Evolution*, 31(6), 1622-1624.
- Tsuda, Y., & Ide, Y. (2005). Wide-range analysis of genetic structure of *Betula maximowicziana*, a long-lived pioneer tree species and noble hardwood in the cool temperate zone of Japan. *Molecular Ecology*, 14, 3929-3941.
- Tsuda, Y., Kimura, M., Kato, S., Katsuki, T., Mukai, Y., & Tsumura, Y. (2009). Genetic structure of *Cerasus jamasakura*, a Japanese flowering cherry, revealed by nuclear SSRs: implications for conservation. *J. Plant Res.*, 122, 367-375.
- Yuan, M., Zhou, Y., & Liu, D. (2004). Genetic diversity among populations and breeding lines from recurrent selection in *Brassica napus* as revealed by RAPD markers. *Plant Breeding*, 123, 9-12.