HIBRIDISASI BUATAN *Melaleuca alternifolia* DENGAN JENIS TERDEKAT:

M. dissitiflora dan *M. linariifolia*

Artificial hybridisation of M. alternifolia with closely related species:

M. dissitiflora and M. linariifolia

Liliana Baskorowati

Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Yogyakarta

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

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

ABSTRACT

Melaleuca alternifolia (tea tree) is one of Australian species for oil production purpose. Breeding strategies to improve the oil quality has been established since 1998, amongs them is artificial hybridisation between *M. alternifolia* with its close relatives of *M. linariifolia* and *M. dissitiflora*. This study therefore aimed to produce hybrids of *M. alternifolia* x *M. linariifolia* and *M. alternifolia* x *M. dissitiflora*. These hybrids are expected to have oil with chemotypes meeting the standard requirements and to improve adaptability to drought environment. Two methods being used in this study were: conventional controlled pollination and one stop pollination. The results showed that both pollination methods successfully produce hybrid of *M. alternifolia* x *M. linariifolia*, but failed to produce hybrid of *M. alternifolia* x *M. dissitiflora*. The number of capsule produced from conventional controlled pollination was much higher than from one stop pollination. Hybrids seedlings at 3 months old showed intermediate morphological characteristics of the parental seedlings.

Key Words : Hybrid, artificial pollination, *M. alternifolia*, *M. linariifolia*, *M. dissitiflora*

ABSTRAK

Melaleuca alternifolia (tea tree) merupakan salah satu jenis tanaman penghasil minyak yang terdapat di Australia. Pemuliaan jenis ini sudah dilakukan sejak 1998, dan usaha untuk meningkatkan kualitas minyak terus dilakukan salah satunya dengan menghasilkan hibrid buatan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan hibrid buatan antara *M. alternifolia* x *M. linariifolia* dan *M. alternifolia* x *M. dissitiflora*, dimana tujuan akhirnya adalah mendapatkan hasil minyak dengan kandungan *chemotype* yang sesuai dengan standar dan dapat ditanam pada lahan kering. Dua metode digunakan untuk memproduksi hibrid buatan yaitu metode penyerbukan terkendali secara konvensional dan penyerbukan sederhana (*one stop pollination*). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hibridisasi antara *M. alternifolia* x *M. linariifolia* berhasil dengan baik tetapi persilangan antara *M. alternifolia* x

M. dissitiflora tidak menghasilkan. Metode penyerbukan terkendali secara konvensional menghasilkan kapsul yang lebih baik daripada metode penyerbukan sederhana (*one stop pollination*). Pertumbuhan semai hibrid umur 3 bulan menunjukkan ciri-ciri morfologi yang mewakili karakteristik antara kedua induknya.

Kata Kunci : Hibrid, perkawinan buatan, *M. alternifolia*, *M. linariifolia*, *M. dissitiflora*

I. PENDAHULUAN

Melaleuca alternifolia atau lebih dikenal dengan sebutan *tea tree* adalah salah satu jenis penghasil minyak *tea tree* yang mempunyai tempat tumbuh asli di Australia. Strategi pemuliaan pada jenis *M. alternifolia*, sudah ditetapkan dan dikerjakan dalam berbagai aspek seperti: mengetahui variasi pertumbuhan serta kualitas dan kuantitas minyak, mengestimasi parameter genetik, serta merubah kebun uji keturunan menjadi kebun benih semai untuk menyediakan benih-benih berkualitas bagi keperluan penanaman (Doran *et al.*, 2006).

Hibridisasi antar jenis pada genus *Melaleuca* sudah terdokumentasi dengan baik, tetapi masih terbatas pada hibridisasi antar kerabat dekat yang terjadi secara alam (*Australian National Herbarium Canberra Database*¹). Sebagai contoh hibridisasi alam antara *M. alternifolia* dan *M. Linariifolia* sudah diketemukan di dekat Port Macquarie, NSW, Australia (Butcher, 1994). Hibridisasi buatan juga sudah berhasil dilakukan antara *M. alternifolia* dan *M. linariifolia* oleh

Doran *et al.* (2002). Dari hibrid ini diketahui bahwa komposisi 1,8-cineole pada semai hibrid yang berumur 3 bulan, menunjukkan rata-rata diantara kedua induknya.

Perkawinan antar kerabat dekat (hibrid) antara *M. alternifolia* dengan jenis *M. linariifolia* dan *M. dissitiflora* sangat dinantikan hasilnya oleh pemulia *Melaleuca*. Ketiga jenis tersebut mempunyai *chemotypes* (kandungan kimia) yang kualitasnya lebih baik daripada standar yang ditetapkan oleh standar minyak *tea tree* Australia (Brophy 1999). *M. linariifolia* dan *M. dissitiflora* mempunyai kemampuan adaptasi terhadap keadaan lingkungan ekstrim seperti kekeringan yang lebih baik dibandingkan dengan *M. alternifolia* (Doran *et al.*, 2002), dengan demikian perkawinan antar jenis-jenis tersebut dengan *M. alternifolia* berpotensi memperluas areal penanaman di daerah-daerah kering dan tetap bisa memproduksi minyak *tea tree* yang kaya akan kandungan terpinen-4-ol. Strategi untuk mencapai tujuan tersebut adalah dengan menerapkan strategi yang sudah dilakukan oleh program hibrid yang lain seperti, hibrid *E. camaldulensis* x *E. globulus* yang diproduksi secara buatan untuk meningkatkan kualitas pulp,

1. Data diakses atas rujukan dari L. Craven, CSIRO Australian National Herbarium, Canberra, 22 Maret 2006.

untuk meningkatkan hasil panen, serta untuk meningkatkan toleransi terhadap tempat tumbuh yang berkadar garam (Meddings *et al.*, 2003). Contoh lain adalah hibrid antara *E. grandis* x *E. camaldulensis* yang akhirnya dapat ditanam di tempat yang ekstrim untuk meningkatkan produksi kayu di Afrika Utara (Denison and Kietzka, 1990).

Melaleuca linariifolia, pada umumnya kaya akan cineole dan terpinen-4-ol, kandungan yang tinggi tersebut tidak memenuhi *Standard Australian Industry* sebagai sumber penghasil minyak *tea tree* (Brophy and Doran, 1996). Perkawinan dengan jenis *M. alternifolia* yang mempunyai kandungan cineole rendah dan terpinen-4-ol yang memenuhi standar akan menghasilkan hibrid yang mempunyai cineole dan terpinen-4-ol memenuhi standar untuk produksi minyak *tea tree*. Lebih lanjut jenis ini (*M. linariifolia*) mempunyai tempat tumbuh dengan kondisi geografis yang lebih luas dari pada *M. alternifolia*, sehingga potensi adaptabilitas tempat tumbuhnya lebih baik.

Sedangkan *M. dissitiflora* dikenal dengan jenis tanaman yang kaya akan kandungan minyak terpinen-4-ol (60% dari total kandungan minyak yang ada) (Brophy, 1999), tetapi jenis ini mempunyai biomas yang sangat sedikit sehingga tidak memenuhi untuk tujuan industri (G. Davis², komunikasi pribadi. 6 November 2005). Hibridisasi dengan jenis yang mempunyai biomas yang tinggi seperti *M. alternifolia* diharapkan dapat memecahkan permasalahan tersebut. Disamping itu, *M. dissitiflora* tumbuh di daerah Australia Tengah yang dimungkinkan

mempunyai ketahanan terhadap kekeringan yang lebih baik dibandingkan dengan *M. alternifolia*.

Metode yang umum digunakan untuk mendapatkan keturunan yang baik dari pohon induk yang bergenotip baik adalah penyerbukan buatan. Metode untuk penyerbukan buatan *M. alternifolia* sudah dikembangkan oleh Baskorowati (2006). Dua metode perkawinan buatan akan digunakan dalam penelitian ini yaitu metode konvensional (Baskorowati, 2006) dan metode sederhana (*one-stop-pollination-OSP*). Metode OSP dikembangkan oleh Harbard *et al.* (1999, 2000) dan Williams *et al.* (1999a) pada jenis *E. globulus*. Kelebihan metode OSP antara lain adalah bahwa waktu yang diperlukan untuk melakukan polinasi hanyalah setengah dari waktu polinasi menggunakan metode konvensional dan menghasilkan jumlah biji yang sama dengan menggunakan metode konvensional (Harbard *et al.*, 1999; Williams *et al.*, 1999a).

Pada metode OSP, rangkaian kegiatan penyerbukan dilakukan dalam satu tahap (*one stop*) yaitu emaskulasi bunga yang sudah mekar, memotong kepala putik dengan silet untuk menstimulasi munculnya *exudate* atau cairan ekstraseluler, melakukan penyerbukan dan mengisolasi kepala putik dengan menggunakan pipet plastik.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah hibridisasi buatan antara *M. alternifolia* x *M. linariifolia* dan *M. alternifolia* x *M. dissitiflora* dapat diproduksi serta untuk mengetahui pertumbuhan dan morfologi dari hibrid yang dihasilkan dengan cara perkawinan buatan tersebut.

2. G. Davis. 6 November 2005. Pemilik *Tea Tree Industry*, West Wyalong NSW, Australia.

II. BAHAN DAN METODE

Penyerbukan buatan untuk mendapatkan hibrid buatan dilakukan di kebun benih generasi kedua *M. alternifolia* di West Wyalong, New South Wales, Australia serta pada tanaman industri *M. dissitiflora* yang ditanam pada November 2005 di West Wyalong New South Wales, Australia (Gambar 1). Habitat asli *M. dissitiflora* adalah dari daerah Alice Spring di Australia bagian tengah (Brophy and Doran, 1999).

Penyerbukan buatan dilakukan menggunakan individu-individu yang berasal dari 3 famili *M. alternifolia* yaitu nomer 24, 34, dan 54 sebagai induk betina. Induk jantan yaitu *M. dissitiflora*,

serbuk sari dikumpulkan dari 3 individu pohon yang terdapat pada tanaman industri di West Wyalong sedangkan serbuk sari *M. linariifolia* dikoleksi dari populasi alam di dekat daerah Tairo, Timur Tenggara Queensland (dikoleksi oleh P. Warburton, pegawai lapangan CSIRO Cooroy, QLD). Serbuk sari *M. linariifolia* yang dikoleksi berupa serbuk sari campuran yang dikumpulkan dari berbagai pohon induk.

Pengamatan pertumbuhan dan perubahan morfologi hibrid dilakukan di rumah kaca Australian National University, Canberra (Gambar 1) dan dilakukan mulai bulan Juni sampai bulan Desember 2006. Desain penyerbukan yang digunakan dalam studi ini disajikan dalam Tabel 1.

Gambar 1. Lokasi penelitian dan populasi alam dari jenis-jenis yang digunakan dalam penelitian

Tabel 1. Desain penyerbukan buatan *M. alternifolia* dengan *M. dissitiflora* dan *M. linariifolia*

INDUK BETINA <i>M. alternifolia</i>	INDUK JANTAN			
	<i>M. dissitiflora</i> (Alice Springs)	<i>M. linariifolia</i> (Tairo)	<i>M. linariifolia</i> (Bulahdelah)	<i>M. linariifolia</i> (Telegraph Point)
2005				
24	24 x <i>M. dis</i>	24 x <i>M. lin</i>	N/a	N/a
34	34 x <i>M. dis</i>	34 x <i>M. lin</i>	N/a	N/a
54	54 x <i>M. dis</i>	54 x <i>M. lin</i>	N/a	N/a
2003				
46	N/a	N/a	46 x <i>M. lin</i>	46 x <i>M. lin</i>
69	N/a	N/a	N/a	69 x <i>M. lin</i>

Metode penyerbukan terkendali secara konvensional menggunakan metode seperti yang dideskripsikan Baskorowati (2006). Sedangkan metode OSP yang digunakan seperti yang sudah dideskripsikan pada pendahuluan. Tetapi pada metode OSP, dalam penelitian ini pipet plastik tidak digunakan untuk mengisolasi putik, dikarenakan putik jenis *M. alternifolia* sangat kecil. Sehingga dalam penelitian ini kantong polinasi merek PBS 10-1 digunakan untuk mengisolasi putik, kegiatan membuka kantong juga harus dilakukan 2 minggu setelah penyerbukan.

Kapsul-kapsul hasil dari hibrid buatan dan pohon tetua dipanen pada April 2006 dan dilakukan ekstraksi benih. Biji hasil hibrid buatan dan tetua kemudian dikecambahkan dan ditanam pada September 2006. Semai ditanam di rumah kaca dengan cahaya alam (matahari) dan pada

suhu 22° - 32°C. Pengukuran parameter pertumbuhan semai serta perubahan morfologi semai diukur ketika semai mencapai umur 3 bulan.

Parameter yang diukur pada semai tersebut adalah: tinggi, diameter, lebar daun, panjang daun dan indek luas daun. Tinggi semai diukur menggunakan penggaris, basal diameter diukur menggunakan digital kaliper, panjang dan lebar daun diukur menggunakan penggaris sedangkan indek luas daun diukur menggunakan *leaf area meter* model LICOR LI-3000A. Semua parameter morfologi diukur pada *node (axil)* yang terletak pada 2 cm di atas kotiledon (Brooker 1968; Nicolle dan Whalen, 2006).

Desain eksperimen untuk percobaan semai hasil hibrid ini menggunakan delapan replikasi yang diacak berdasarkan desain baris-kolom seperti pada Tabel 2. Dikarenakan rendahnya biji

Tabel 2. Desain percobaan semai hasil hibrid dan tetuanya pada umur 3 bulan

		Kolom																
Baris		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	1	4	8	1	7	11	7	10	9	2	5	3	5	1	10	8	4	11
	2	11	9	2	8	3	10	4	7	6	1	1	2	9	8	10	11	5
	3	2	4	8	5	1	9	6	2	10	7	10	11	5	3	7	9	3
	4	7	5	9	6	10	5	1	8	3	3	9	4	2	11	4	7	1
	5	3	3	4	11	7	12	5	1	8	2	4	10	11	9	2	6	8

Catatan :	Nomer perlakuan	Hibrids dan tetua
	1	24 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i>
	2	24 <i>M. alternifolia</i> induk/tetua
	3	34 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. dissitiflora</i>
	4	34 <i>M. alternifolia</i> induk/tetua
	5	54 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. dissitiflora</i>
	6	54 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i>
	7	46 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i> (Bulahdelah)
	8	46 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i> (Telegraph Point)
	9	69 <i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i> (Telegraph Point)
	10	<i>M. linariifolia</i> (Bulahdelah) induk/tetua
	11	<i>M. linariifolia</i> (Telegraph Point) induk/tetua
	12	<i>M. dissitiflora</i> induk/tetua

yang berkecambah pada tetua *M. dissitiflora* maka hanya satu replikasi yang digunakan pada penelitian ini.

III. ANALISIS STATISTIK

Hasil pengukuran pertumbuhan dan pengukuran daun dianalisis menggunakan analisis varian dengan REML analisis di paket GenStat 8th edition. Model analisis varian yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + R_j(i) + C_k(i) + E_{ij}$$

Y_{ij} = adalah rata-rata hybrids atau tetua pada ulangan ke- i baris ke- j dan kolom ke- k

μ = adalah rata-rata umum

B_i = adalah pengaruh ulangan ke- i

$R_j(i)$ = adalah pengaruh baris ke- j dalam ulangan ke- i

$C_k(j)$ = adalah pengaruh baris ke- k dalam ulangan ke i

E_{ij} = adalah pengaruh sisa (residual)

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kapsul hasil hibridisasi

Tabel 3 menunjukkan rerata jumlah kapsul pada hibrid *M. alternifolia* x *M. linariifolia* dan *M. alternifolia* x *M. dissitiflora* dan juga kebalikannya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kapsul yang dihasilkan dari metode konvensional ternyata lebih banyak dibandingkan dengan kapsul yang dihasilkan dengan metode OSP. Hanya tiga kapsul yang berhasil diproduksi dari 931 bunga yang diserbuki dengan menggunakan metode OSP.

Metode OSP berhasil diterapkan dan memproduksi hibrid pada jenis *E. globulus* (Williams *et al.*, 1999a; Harbard *et al.*, 1999) dengan *E. grandis* dan *E. urophylla* (Assis *et al.*, 2005). Putik dari jenis-jenis *Eucalyptus* tersebut diatas lebih panjang dan lebih kuat dibandingkan dengan putik *M. alternifolia*, sehingga kecil kemungkinannya untuk rusak ketika dilakukan pemotongan atau pelukaan kepala putik seperti yang diterapkan pada metode OSP.

Rerata jumlah kapsul dari metode konvensional sangat bervariasi antara kombinasi persilangan yang dilakukan. Persilangan antara *M. alternifolia* x *M. linariifolia* menghasilkan lebih banyak kapsul dibandingkan dengan persilangan *M. alternifolia* x *M. dissitiflora*; sedangkan persilangan antara *M. dissitiflora* x *M. alternifolia* menghasilkan kapsul yang sangat rendah. Secara umum, rerata jumlah kapsul akan lebih tinggi ketika yang dijadikan tetua betina adalah *M. alternifolia* dibandingkan dengan *M. dissitiflora*.

Rendahnya jumlah kapsul yang dihasilkan oleh persilangan antara *M. dissitiflora* x *M. alternifolia* dalam penelitian ini disebabkan karena perbedaan panjang putik antara kedua jenis tersebut; dimana putik dari jenis *M. dissitiflora* dua kali lebih panjang daripada putik *M. alternifolia*. Panjang putik *M. alternifolia* adalah 4.31 ± 0.3 mm dan panjang putik *M. dissitiflora* adalah 7.56 ± 0.4 mm.

Secara umum didapatnya kapsul hibrid penyerbukan buatan ini memperlihatkan bahwa tidak ada hambatan untuk mendapatkan hibrid buatan antara jenis *M. alternifolia* dan jenis terdekat yaitu *M. linariifolia*. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa hibridisasi alam pada genus *Melaleuca* terbatas hanya pada jenis-jenis

Tabel 3. Efek dari dua metode pollinasi buatan pada rerata produksi kapsul beberapa kombinasi hibrid

Hybrid	Metode*	Jumlah ulangan	Rerata bunga yg diserbuki	Rerata kapsul yg dipanen	Persentase kapsul set (%)
<i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i>	CP	6	49.8±5	31.17±5.03	61±5.7
<i>M. alternifolia</i> x <i>M. dissitiflora</i>	CP	6	49.7±2.2	10±5	18.9±9
<i>M. dissitiflora</i> x <i>M. alternifolia</i>	CP	3	48.7 ±2.4	1±1	2.3±2.3
<i>M. alternifolia</i> x <i>M. linariifolia</i>	OSP	6	54.7±3.8	0	0
<i>M. alternifolia</i> x <i>M. dissitiflora</i>	OSP	6	50.5±2.7	0.5±0.5	0.9±0.9
<i>M. dissitiflora</i> x <i>M. alternifolia</i>	OSP	6	50±50	0	0

yang dekat dalam satu grup, dan hibridisasi alam antara *M. alternifolia* dan *M. linariifolia* sudah dibuktikan dengan pengecekan kloroplas menggunakan analisis DNA (Butcher *et al.*, 1995).

Sebaliknya, hibridisasi *M. alternifolia* x *M. dissitiflora* tidak dapat berlangsung karena panjangnya putik *M. dissitiflora* menyebabkan buluh serbuk sari *M. alternifolia* yang tumbuh di putik tidak dapat mencapai ovarium. Meskipun demikian, hibrid antara *M. alternifolia* x *M. dissitiflora* dapat dihasilkan jika jenis *M. alternifolia* yang dijadikan sebagai tetua betina. Seperti disebutkan diatas bahwa panjang putik *M. alternifolia* adalah 4,31±0,3 mm dan panjang putik *M. dissitiflora* adalah 7,56±0,4 mm.

Hambatan terjadinya hibridisasi buatan juga pernah dilaporkan pada hibrid *E. globulus* x *E. nitens* (Potts *et al.*, 1992). Dilaporkan bahwa serbuk sari dari *E. nitens* yang mempunyai putik pendek, gagal melakukan penetrasi pada ovul *E. globulus* yang mempunyai putik lebih panjang. Sebaliknya, serbuk sari *E. globulus* berhasil menuju ke ovarium *E. nitens* karena putik *E. nitens* lebih pendek sehingga jarak dari kepala putik sampai ovarium lebih dekat.

Menurut Potts dan Dungey (2004) dan Gore *et al.* (1990) terdapat dua hal yang menjadi

penghambat terjadinya hibridisasi antar subgenera. Pertama, adalah struktur dari penghambat yang unilateral, dimana serbuk sari *tube* (buluh serbuk sari) dari jenis pohon yang mempunyai putik kecil tidak mampu tumbuh dan menuju ke bagian bawah putik dari jenis pohon yang mempunyai putik besar, sehingga tidak terjadi pembuahan. Kedua adalah adanya hambatan secara fisik yang akan menghasilkan ketidaknormalan buluh serbuk sari.

B. Pertumbuhan semai

Hasil pengamatan semai-semi hibrid tidak ditemukan adanya semai yang pertumbuhannya tidak normal. Meskipun demikian, REML analisis memperlihatkan bahwa terjadi variasi yang signifikan pada pertumbuhan diameter batang dan tinggi antara semai hibrid dan semai tetua. Hasil analisis ini dapat dilihat dari Tabel 4 yang memperlihatkan bahwa hibrid *M. alternifolia* x *M. dissitiflora* mempunyai pertumbuhan antara pohon tetuanya, tetapi lebih dekat pada tetua dari *M. alternifolia*. Semai hibrid *M. alternifolia* x *M. linariifolia* yang berumur 3 bulan memperlihatkan pertumbuhan yang lebih baik daripada semai tetuanya.

Perbedaan yang sangat nyata juga diperlihatkan oleh semai hibrid dalam hal karakteristik morfologi seperti lebar daun dan indeks luas daun. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa semai hibrid mempunyai karakteristik morfologi pertengahan diantara tetua induknya (lihat Gambar 2). Meskipun demikian, perbedaan nyata juga diperlihatkan oleh parameter panjang daun antara hibrid dan tetua induknya.

Morfologi daun semai hibrid *M. alternifolia* x *M. linariifolia* memperlihatkan perbedaan yang

nyata dengan morfologi daun kedua induknya. Dalam parameter morfologi yang diukur, lebar daun dan luas daun hibrid ini mempunyai nilai yang berada diantara kedua induknya. Sebaliknya pada semai hibrid *M. alternifolia* x *M. dissitiflora* mempunyai nilai yang cenderung lebih kearah tetua *M. alternifolia* daripada ke tetua *M. dissitiflora*. Hal ini umum dijumpai pada *Eucalyptus* hibrids, dimana hibrid mempunyai kecenderungan mengikuti salah satu dari tetua induknya (Tibbits, 1988).

Tabel 4. Rerata diameter batang, tinggi, lebar daun, panjang daun dan transformasi log indeks luas daun pada axil yang terletak 20 cm diatas kotiledon dari semai hibrid dan tetua *M. alternifolia*, *M. dissitiflora* and *M. linariifolia* pada umur 3 bulan

	<i>M. dissitiflora</i>	<i>M. alt x M. diss</i>	<i>M. alternifolia</i>	<i>M. alt x M. lin</i>	<i>M. linariifolia</i>	se	χ (chi pr)
Diameter (mm)	2	5.5	5.4	6	5	0.5	<0.001
Tinggi (cm)	39	67	72	76	63	6.7	<0.001
Lebar daun (cm)	1	0.5	0.4	0.5	0.6	0.06	<0.001
Panjang daun (cm)	4.9	4.2	4	4.5	4.5	0.37	0.127
Luas daun (cm ²) (transformasi log)	2.8	1.5	1.4	1.5	1.9	0.29	<0.001

Gambar 2. Luas daun pada axil 20 cm diatas kotiledon pada semai hibrid *M. alternifolia* x *M. linariifolia* dibandingkan dengan semai tetua *M. alternifolia* dan *M. linariifolia* umur 3 bulan (skala 1:1)

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. John Doran yang telah memberikan arahan ketika penulis melakukan penelitian di lapangan maupun di persemaian. Terimakasih juga penulis tujukan kepada Prof. Peter Kanowski dan Mr. Mike Moncur yang memberikan masukan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Assis, T., Warburton, P. and Harwood, C., 2005. Artificially Induced Protogyny: An Advance in The Controlled Pollination of *Eucalyptus*. *Australian Forestry* **68**: 27 - 33.
- Baskorowati, L., 2006. *Controlled Pollination Methods for Melaleuca alternifolia (Maiden and Betce) Chell*. ACIAR Technical Report 63. ACIAR, Canberra.
- Broker, M. I. H., 1968. Phyllotaxis in *Eucalyptus socialis* F. Muell. and *E. oleosa* F. Muell. *Australian Journal of Botany* **16**: 455 - 468.
- Brophy, J. J., 1999. Potentially Commercial Melaleucas. In: *Tea Tree The Genus Melaleuca*, eds I. Southwell and R. Lowe. Harwood Academic Publishers, Australia, pp. 247 - 274.
- Butcher, P. A., Byrne, M. and Moran, G. F., 1995. Variation Within And Among The Chloroplast Genomes of *Melaleuca alternifolia* and *M. linariifolia* (Myrtaceae). *Plant Systematics and Evolution* **194**: 69 - 81.
- Denison, N. P. and Kietzka, J. E. (1990). The Use And Importance of Hybrid Intensive Forestry in South Africa. *South African Forestry Journal* **165**: 55 - 60.
- Doran, J. C., Baker, G. R. and Southwell, I. A., 2002. *Improving Australian Tea Tree Through Selection And Breeding (1996-2001)*. RIRDC Publication No, 07/017. RIRDC, Canberra.
- Doran, J. C., Baker, G. R., Williams, E. R. and Southwell, I. A., in press 2006. Realised Genetic Gains in Oil Yields After Nine Years of Breeding *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae), *Australian Journal of Experimental Agriculture*.
- Gore, P. L., Potts, B. M., Volker, P. W. and Megalos, J., 1990. Unilateral Cross Incompatibility in Eucalyptus: The Case of Hybridisation Between *E. globulus* and *E. nitens*. *Australian Journal of Botany* **38**: 383 - 394.
- Harbard, J. L., Griffin, A. R. and Espejo, J. E., 1999. Mass Controlled Pollination of *Eucalyptus globulus*: A Practical Reality. *Canadian Journal of Forestry Research* **29**: 1457 - 1463.
- Harbard, J. L., Griffin, A. R., Espejo, J. E., Centurino, C. and Russell, J., 2000. One-stop Pollination A New Technology Developed By Shell Forestry Technology Unit. In: *Hybrid Breeding and Genetic of Forest Trees*, eds H. S. Dungey., M. J. Dieters and N. G. Nikles. Proceedings of QFRI/CRC-SPF Symposium, Noosa, Queensland, Australia. Department of Primary Industries, Brisbane, Australia, pp. 430 - 434.
- Meddings, R. A., McComb, J. A., Calver, M. C., Thomas, S. R. and Mazane, R. A., 2003. *Eucalyptus camaldulensis* x *E. globulus* Hybrids. *Australian Journal of Botany* **51**: 319 - 331.

- Nicolle, D. and Whalen, M. A., 2006. A taxonomic revision and morphological variation within *Eucalyptus* series *Subulatae* subseries *Spirales* (Myrtaceae) of Southern Australia. *Australian Systematic Botany* **19**: 87 - 112.
- Potts, B. M. and Dungey, H. S., 2004. Interspecific hybridisation of *Eucalyptus*: key issues for breeders and genetics. *New Forest* **27**: 115 - 138.
- Tibbit, W.N., 1988. Germination and morphology of progeny from controlled of *Eucalyptus nitens* (Deane and Meiden). *Forestry* **62**: 111-126
- Williams, D. R., Potts, B. M. and Black, P. G., 1999a. Testing single visit pollination procedures for *Eucalyptus globulus* and *E. nitens*. *Australian Forestry* **62**: 346 - 352.