**PENDUGAAN KERAGAMAN GENETIK DI DALAM DAN ANTAR PROVENAN
PULAI (*ALSTONIA SCHOLARIS* (L.) R. Br.) MENGGUNAKAN PENANDA RAPD**

*Estimation of Genetic Diversity Within and Among Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.)
Provenance Revealed by RAPD Marker*

**Dwi Hartati¹, Anto Rimbawanto², Taryono¹,
Endang Sulistyaningsih¹ dan AYPBC Widyatmoko²**

¹Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

²Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan

ABSTRACT

*Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) is species of high economic value and has been under intensive utilization. Conservation effort and breeding strategies should be carried out to prevent its extinction. The study of genetic diversity using RAPD marker can asses polymorphism through banding patterns from amplified DNA. The aims of this research are to estimate genetic diversity within and among pulai populations, investigate distribution of genetic diversity, and genetic relationship between pulai provenance. Leaf samples were taken from eighteen pulai provenances in Indonesia, namely Lubuk Linggau, Pendopo, Benakat, Banten, Bantul, Gunungkidul, Bali, Purworejo, Perawang, Mataram, Sumbawa, Kupang, Timor Tengah Selatan, Agam, Solok, Gowa, Makassar, and Kendari. Genetic diversity was analyzed using 23 primers and produced 114 polymorphic loci. Results showed that the distribution of genetic diversity within provenance was higher than that of among provenance. Cluster analysis revealed that the eighteen provenances was split into two major groups. The first group consisted of provenance of Lubuk Linggau, Banten and Pendopo. The second group comprised of provenance of Benakat, Perawang, Agam, Solok, Bali, Kendari, Bantul, Purworejo, Gunungkidul, Mataram, Sumbawa, Gowa, Makassar, Kupang, and Timor Tengah Selatan. In general, the genetic relationships among eighteen provenances do not show the relation between genetic diversity and geographic distribution of pulai povenance.*

Key Words : *Alstonia scholaris* (L.) R. Br., cluster analysis, genetic diversity, RAPD

ABSTRAK

Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) merupakan jenis pohon hutan yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Eksploitasi secara terus menerus mendorong dilakukannya upaya konservasi dan pemuliaan untuk mencegah kepunahan. Studi keragaman genetik menggunakan penanda RAPD dapat mendeteksi keragaman (polimorfisme) melalui pola pita hasil amplifikasi DNA. Tujuan penelitian

ini untuk mengetahui besarnya keragaman genetik di dalam, antar populasi, dan keragaman pada seluruh populasi pulau, serta mengetahui pola sebaran keragaman genetik populasi dan hubungan kekerabatan antar provenan. Sampel daun diambil dari 18 provenan pulau di Indonesia yaitu Lubuk Linggau, Pendopo, Benakat, Banten, Bantul, Gunungkidul, Bali, Purworejo, Perawang, Mataram, Sumbawa, Kupang, Timor Tengah Selatan, Agam, Solok, Gowa, Makassar dan Kendari. Dengan menggunakan 23 primer dihasilkan 114 lokus pita polimorfik. Hasil analisis menunjukkan bahwa keragaman dalam provenan lebih besar daripada keragaman antar provenan. Dendogram analisis gerombol dengan membagi 18 provenan pulau menjadi 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari 3 provenan yaitu Lubuk Linggau, Banten dan Pendopo. Kelompok kedua terdiri dari Benakat, Perawang, Agam, Solok, Bali, Kendari, Bantul, Purworejo, Gunungkidul, Mataram, Sumbawa, Gowa, Makassar, Kupang, dan Timor Tengah Selatan. Secara umum hubungan kekerabatan dari 18 provenan pulau tidak memperlihatkan hubungan dengan distribusi geografis populasi tersebut.

Kata Kunci : *Alstonia scholaris* (L.) R. Br., dendogram, keragaman genetik, RAPD

I. PENDAHULUAN

Pohon pulau (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) merupakan salah satu jenis pohon yang dapat dijumpai di hutan hujan tropika basah dan mempunyai penyebaran yang cukup luas. Disamping itu, pohon pulau terdapat pula di dalam hutan-hutan sekunder dan tempat-tempat dengan tingkat keterbukaan tinggi seperti lahan bekas tambang.

Berdasarkan data statistik Departemen Kehutanan, perdagangan kayu di Indonesia tercatat bahwa nilai ekspor kayu pulau pada tahun 2001 - 2004 terus meningkat mencapai 598 kg dengan nilai US \$ 8.470 pada tahun 2001 dan terus meningkat menjadi 3.640 kg dengan nilai US \$ 10.400 pada tahun 2004. Kayu pulau banyak digunakan dalam kerajinan topeng untuk komoditi domestik maupun ekspor. Eksploitasi secara terus menerus tanpa diimbangi dengan penanaman dan pengembangan tanaman akan

menyebabkan potensi tegakan pulau di alam akan terus terdegradasi dan pada akhirnya akan punah. Bertolak dari permasalahan tersebut pengembangan tanaman tahunan pulau perlu dilakukan. Salah satu upaya yang terus dilakukan untuk meningkatkan potensi hasil adalah pemuliaan tanaman.

Kemajuan di bidang molekuler yaitu ditemukannya jenis-jenis penanda baru yang potensial dan dapat membantu pemuliaan tanaman, misalnya penanda DNA mendorong pemulia untuk melakukan analisis keragaman dengan marka molekuler. Penanda molekuler yang banyak digunakan dalam kegiatan analisis keragaman genetik, salah satunya adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (Welsh and McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990). RAPD adalah penanda berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan menggunakan 10 basa primer acak.

Dalam penelitian ini RAPD digunakan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik di dalam provenan dan antar provenan serta mengetahui distribusi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar provenan tanaman pulau.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan Penelitian

Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 18 provenan yaitu populasi Agam, Solok, Perawang, Lubuk Linggau, Pendopo, Benakat, Banten, Bantul, Gunungkidul, Bali, Mataram, Sumbawa, Kupang, Timor Tengah Selatan, Gowa, Makassar, Kendari dan Purworejo. Masing-masing populasi diwakili 6 pohon.

B. Metode Penelitian

1. Ekstraksi DNA dan Prosedur RAPD

Sampel diekstraksi dengan *mini beater* dalam *buffer* ekstraksi yang terdiri dari psd H₂O, 1 M Tris pH 9.0, 5 M NaCl, 0.5 M EDTA, 10% CTAB, β -Mercapthoetanol. Selanjutnya hasil ekstraksi dipisahkan dengan rotator dengan kloroform:isoamil alkohol (24 : 1) sehingga terbentuk supernatan. Supernatan kemudian di sentrifugasi dalam sodium asetat (NaOAc) dan isopropanol untuk mengendapkan DNA dari larutannya. Endapan pellet DNA dicuci dengan sentrifugasi dalam ethanol 70%. Pellet DNA kemudian dilarutkan dalam psd H₂O.

Purifikasi DNA dilakukan dengan kit purifikasi DNA (*Gene Clean III Kit*). Hasil purifikasi dikuantifikasi dan di dilusi sampai

konsentrasi 400 ng sesuai dengan kebutuhan PCR. Reaksi PCR dijalankan dengan mesin thermal cycler GeneAmp PCR System 9700 *Applied Biosystems* dengan total 10 μ l. Bahan reaksi PCR (PCR mix) terdiri dari psd H₂O, 10x *Stoffel Buffer*, dNTP, MgCl₂, AmpliTaq DNA polymerase, primer dari Proligo, dan 2 ng sample DNA. Primer yang digunakan sebanyak 23 primer oligonukleotida Proligo. Proses amplifikasi PCR dijalankan terdiri dari tahap pemanasan awal (94°C, 3 detik); tahap inkubasi (95°C, 60 detik); tahap 45 siklus yang masing-masing siklus terdiri dari denaturasi (95°C, 30 detik), penempelan (37°C, 27 detik) dan pemanjangan (72°C, 90 detik); dan pemanjangan akhir 72°C, 7 menit).

Hasil PCR kemudian dielektroforesis pada konsentrasi agarose 1,5%, konsentrasi ethidium 0,005% (pada buffer) dan 0,00625% (pada agar), larutan 1x TBE buffer dan dialirkan pada tegangan listrik 121 volt selama 3 - 4 jam. Hasil elektroforesis difoto menggunakan BIO-RAD Gel Doc™ EQ.

2. Analisis Data

Data yang diperoleh berdasarkan hasil *scoring* pita amplifikasi dengan klasifikasi "1" bila terdapat pita hasil amplifikasi, dan "0" bila tidak terdapat pita hasil amplifikasi. POPGEN 1.32 digunakan untuk menghitung distribusi keragaman genetik dan jarak genetik berdasarkan frekuensi asumsi *Hardy-Weinberg* (HW). Jarak genetik digunakan untuk analisis gerombol menggunakan metode UPGMA (*unweighted pair-group with arithmetic average*) yang menghasilkan dendrogram hubungan kekerabatan, sedangkan AMOVA (*Analysis of Molecular Variance*) menghitung signifikansi dan distribusi

keragaman antar populasi dan dalam populasi yang membentuk struktur populasi.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Seleksi Primer

Kriteria primer yang dapat digunakan untuk analisis RAPD adalah primer yang dapat menghasilkan pita-pita polimorfik, pita-pita yang dihasilkan jelas, reproduksibilitas baik, hasil amplifikasi pita DNA relatif stabil dan mudah dibaca. Dari 90 macam primer, dihasilkan 23

primer yang memenuhi kriteria dan dapat digunakan untuk analisis RAPD yang disajikan pada Tabel 1.

Keseluruhan primer yang terseleksi menunjukkan kandungan basa G+C antara 60% - 70% sehingga primer-primer ini cukup baik digunakan untuk PCR-RAPD. Ketidakhadiran pita amplifikasi pada beberapa primer diduga karena urutan basa nukleotida dari primer-primer tersebut bukan merupakan komplemen dari basa nukleotida pada cetakan DNA. Hal ini

Tabel 1. Primer yang digunakan untuk analisis RAPD

No.	Primer	Sekuens (5'-3')	Kandungan G+C (%)	Lokus
1	PLB-10	CTGCTGGGAC	70%	350, 400, 500, 600, 700, 900
2	PLB-11	GTAGACCCGT	60%	400, 450, 500
3	PLB-17	AGGGAACGAG	60%	400, 440, 500
4	PLC-14	TGCGTGCTTG	60%	450, 500, 600
5	PLC-20	ACTTCGCCAC	60%	350, 490, 500, 600, 800
6	PLD-01	ACCGCGAAGG	70%	400, 450, 500, 700
7	PLD-03	GTCGCCGTCA	70%	300, 400, 450, 500, 700
8	PLD-05	TGAGCGGACA	60%	290, 300, 350, 450, 550
9	PLD-08	GTGTGCCCCA	70%	280, 300, 380, 550, 600, 610, 700, 800
10	PLD-11	AGCGCCATTG	60%	300, 450, 500, 600
11	PLG-02	GGCACTGAGG	70%	320, 590
12	PLG-08	TCACGTCCAC	60%	500, 550, 600, 800, 890
13	PLG-17	ACGACCGACA	60%	400, 500, 600
14	PLG-18	GGCTCATGTG	60%	350, 450, 490, 500, 600
15	PLR-01	TGCGGGTCCT	70%	450, 480, 500, 750
16	PLR-08	CCCGTTGCCT	70%	400, 450, 480, 500, 550, 600, 610
17	PLR-13	GGACGACAAG	60%	300, 400, 450, 500, 530, 600, 700
18	PLR-15	GGACAACGAG	60%	400, 500, 600, 800
19	PLW-04	CAGAAGCGGA	60%	280, 300, 400, 500, 590, 600, 700, 800, 850, 950, 1000
20	PLW-08	GACTGCCTCT	60%	400, 410, 500, 700
21	PLW-11	CTGATGCGTG	60%	300, 400, 480, 500, 600, 700
22	PLW-12	TGGGCAGAAG	60%	350, 500, 600, 700, 800
23	PLW-19	CAAAGCGCTC	60%	250, 400, 500, 700, 600

menyebabkan primer-primer tersebut tidak mampu mengamplifikasi fragmen DNA. Ketidakjelasan hasil visualisasi dari setiap DNA amplifikasi diduga disebabkan oleh jumlah fragmen DNA yang diamplifikasi sangat sedikit. Semakin banyak suatu fragmen DNA yang diamplifikasi, maka hasil visualisasi pita DNA akan terlihat jelas. Salah satu syarat utama terjadinya amplifikasi DNA dengan satu jenis primer adalah apabila primer tersebut mempunyai urutan basa nukleotida yang merupakan komplemen dari kedua untai cetak DNA pada posisi yang berlawanan.

B. Keragaman Hasil RAPD

Hasil analisis RAPD terhadap beberapa provenan pulau yaitu dari populasi Agam, Solok,

Perawang, Lubuk Linggau, Pendopo, Benakat, Banten, Bantul, Gunungkidul, Purworejo, Bali, Mataram, Sumbawa, Kupang, Timor Tengah Selatan, Gowa, Makassar dan Kendari dengan menggunakan 23 primer menghasilkan 114 pita polimorfik (95%) dari 120 pita yang dapat diamati. Pita yang dihasilkan dari setiap primer berkisar antara 2 sampai 11 pita DNA yang disajikan pada Tabel 2.

Tingginya persentase jumlah pita polimorfik dibandingkan dengan pita monomorfik dan tidak terdapatnya pita yang spesifik pada satu populasi menunjukkan bahwa pulau adalah jenis pohon yang mempunyai frekuensi *outcrossing* dan *gene flow* yang besar.

Tabel 2. Persentase jumlah pita polimorfik DNA

No.	Primer	Sekuens (5'-3')	Jumlah pita polimorfik	Jumlah pita monomorfik	Total
1	PLB-10	CTGCTGGGAC	6	0	6
2	PLB-11	GTAGACCCGT	3	0	3
3	PLB-17	AGGGAACGAG	3	1	4
4	PLC-14	TGCGTGCTTG	3	0	3
5	PLC-20	ACTTCGCCAC	5	0	5
6	PLD-01	ACCGCGAAGG	4	1	5
7	PLD-03	GTCGCCGTCA	5	0	5
8	PLD-05	TGAGCGGACA	5	0	5
9	PLD-08	GTGTGCCCCA	8	2	10
10	PLD-11	AGCGCCATTG	4	0	4
11	PLG-02	GGCACTGAGG	2	2	4
12	PLG-08	TCACGTCCAC	5	0	5
13	PLG-17	ACGACCGACA	3	0	3
14	PLG-18	GGCTCATGTG	5	0	5
15	PLR-01	TGCGGGTCCT	4	0	4
16	PLR-08	CCC GTTGCCT	7	0	7
17	PLR-13	GGACGACAAG	7	0	7
18	PLR-15	GGACAACGAG	4	0	4
19	PLW-04	CAGAAGCGGA	11	0	11
20	PLW-08	GACTGCCTCT	4	0	4
21	PLW-11	CTGATGCGTG	6	0	6
22	PLW-12	TGGGCAGAAG	5	0	5
23	PLW-19	CAAAGCGCTC	5	0	5
Total			114	6	120
Persentase			95%	5%	100%

C. Keragaman Genetik Di Dalam dan Antar Provenan Pulau

Analisis keragaman menunjukkan keragaman genetik pulau berkisar dari 0.1370 - 0.2254 dengan keragaman genetik terbesar terdapat pada populasi Lubuk Linggau yaitu 0,2254, diikuti dengan populasi Bantul sebesar 0,2226 dan nilai keragaman terendah terdapat pada populasi Makassar yaitu sebesar 0,1370 (Tabel 3). Hasil perhitungan nilai h (keragaman genetik) dengan menganggap 18 populasi merupakan satu populasi (*Multi-population Descriptive Statistics*) menunjukkan nilai h yang lebih tinggi daripada nilai keragaman pada setiap populasi yaitu 0,2465. Hal ini dikarenakan *Multi-population Descriptive Statistics* menghitung keragaman total yang terdapat dalam 18 provenan. Keragaman genetik dari 18 provenan pulau adalah $0,190 \pm 0,028$, nilai ini mendekati nilai rata-rata keragaman genetik baik untuk kelompok jenis tropis maupun jenis genetik konifer, yaitu 0.211 dan 0.207 (Hamrick, 1989). Besarnya keragaman genetik antar provenan diperoleh dari rerata jarak genetik antar populasi (Tabel 3) yaitu sebesar $0,079 \pm 0,039$.

Untuk mengetahui pola penyebaran atau distribusi keragaman genetik di dalam dan antar populasi, dilakukan analisis AMOVA. Berdasarkan analisis tersebut, variasi total menunjukkan besarnya distribusi keragaman genetik di dalam populasi sebesar 85% sedangkan 15% keragaman terletak di antara populasi yang disajikan pada Tabel 4.

Nilai distribusi keragaman genetik dalam populasi pulau lebih besar (85%) daripada nilai keragaman genetik antar populasinya (15%). Kecenderungan pola distribusi yang sama juga

ditunjukkan pula dari beberapa hasil penelitian pada populasi *outcrossing* seperti *Shorea leprosula* (Rimbawanto dan Suharyanto, 2005). Hal ini sesuai dengan pendapat Hamrick (1989) yang mengatakan bahwa tanaman berkayu yang berkawin silang (*outcrossing*) mempunyai variabilitas yang besar. Selain itu spesies yang sebarannya lebih luas dengan populasi yang besar dan berdekatan, mempunyai produktivitas tinggi dan variabilitas genetik yang besar dalam populasi dibandingkan antar populasi.

Selain itu, keragaman genetik dalam populasi pulau lebih tinggi daripada keragaman genetik antar populasinya, diduga karena populasi pulau tersebut telah tumbuh alami sebagai bagian dari habitat hutan yang besar, dimana terjadi proses adaptasi dengan lingkungannya dan adanya perkawinan-perkawinan antar individu dalam satu populasi tersebut, serta tidak adanya interaksi dengan populasi lain. Proses evolusi dan adaptasi populasi pulau pada lingkungan spesifik yang merupakan habitatnya akan menyebabkan masing-masing populasi mengembangkan karakter dan ciri spesifik secara morfologis dan genetik yang berbeda dengan populasi lainnya. Letak geografis masing-masing populasi pulau dipisahkan oleh bentang alam seperti gunung, sungai, danau atau padang rumput turut membantu proses diferensiasi populasi. Keragaman antar populasi pulau yang rendah juga dapat disebabkan oleh proses *gene flow*. Aktivitas *gene flow* dapat berasal dari individu pohon sendiri seperti sistem perkawinan, morfologi organ reproduksi, bahan perbanyakan (seperti biji), dan lingkungan seperti bentang alam dan kondisi habitat (Lowe *et al.*, 2004).

Tabel 3. Nilai keragaman genetik dalam populasi (diagonal) dan antar populasi (bawah diagonal) pulau berdasarkan Nei's Gene Diversity (1973) dan Nei's Original Measures of Genetics Distance (1972)

Pop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0,2254																	
2	0,0629	0,1844																
3	0,074	0,0673	0,1779															
4	0,0387	0,0589	0,0756	0,1903														
5	0,124	0,1373	0,0675	0,1031	0,2226													
6	0,122	0,1591	0,0672	0,1107	0,0401	0,1952												
7	0,1256	0,1341	0,0319	0,1209	0,0622	0,0616	0,1479											
8	0,0541	0,0666	0,0249	0,07	0,0828	0,0899	0,0428	0,2056										
9	0,1387	0,1626	0,097	0,1148	0,0484	0,0395	0,0985	0,1162	0,1971									
10	0,121	0,1331	0,0534	0,1193	0,0419	0,036	0,0486	0,0735	0,0452	0,2058								
11	0,1494	0,1743	0,071	0,1382	0,0603	0,0336	0,0564	0,0965	0,0567	0,0304	0,1613							
12	0,1777	0,1931	0,127	0,1758	0,0786	0,0743	0,1054	0,138	0,0621	0,0537	0,0757	0,2135						
13	0,1343	0,1598	0,0798	0,1483	0,0621	0,0636	0,071	0,0931	0,0701	0,0464	0,0474	0,0454	0,2150					
14	0,0746	0,0957	0,0266	0,0742	0,0707	0,0636	0,0394	0,0342	0,0853	0,0609	0,0685	0,1253	0,0841	0,1915				
15	0,0691	0,0899	0,0281	0,0711	0,0601	0,0712	0,0426	0,033	0,0917	0,0674	0,0833	0,1203	0,0748	0,0217	0,2203			
16	0,1605	0,1903	0,0771	0,1566	0,0564	0,037	0,0647	0,1026	0,0508	0,0422	0,0469	0,084	0,0729	0,0777	0,0825	0,1628		
17	0,1313	0,159	0,0593	0,1163	0,0526	0,0339	0,0563	0,0851	0,051	0,0396	0,0427	0,0897	0,0759	0,06	0,0702	0,0306	0,1370	
18	0,1151	0,1406	0,0425	0,1156	0,0554	0,0409	0,0298	0,0534	0,0705	0,0398	0,0446	0,0876	0,0517	0,0377	0,0437	0,0373	0,033	0,1408

Keterangan:

Provenan 1	: Lubuk Linggau	Provenan 7	: Bali	Provenan 13	: Timor Tengah Selatan
Provenan 2	: Pendopo	Provenan 8	: Perawang	Provenan 14	: Agam
Provenan 3	: Benakat	Provenan 9	: Purworejo	Provenan 15	: Solok
Provenan 4	: Bantem	Provenan 10	: Mataram	Provenan 16	: Gowa Selatan
Provenan 5	: Bantul	Provenan 11	: Sumbawa	Provenan 17	: Makasar
Provenan 6	: Gunungkidul	Provenan 12	: Kupang	Provenan 18	: Kendari

Tabel 4. Hasil Analisis Varians Molekuler (AMOVA)

Sumber variasi	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat rerata	Komponen varians	Variasi total (%)	Probabilitas
Antar populasi	17	563,333	33,137	2,835	15	
Dalam populasi	90	1451,667	16,130	16,130	85	<0,001
Total	107	2014,997				

D. Hubungan Kekerabatan Antar Provenan Pulau

Nilai jarak genetik antar populasi digunakan dalam analisis gerombol menggunakan metode UPGMA untuk pengelompokan provenan pulau disajikan dalam bentuk dendrogram hubungan kekerabatan. Jarak genetik antar populasi yang terjauh adalah antara populasi Kupang dan Pendopo yaitu 0,1931 sedangkan jarak genetik terdekat adalah pada populasi Agam dan Solok. Hasil dendrogram yang disajikan pada Gambar 1 menunjukkan hubungan kekerabatan antara 18 provenan pulau terbagi dalam dua kelompok besar.

Kelompok pertama terdiri dari 3 provenan yaitu Lubuk Linggau, Banten dan Pendopo. Kelompok kedua terdiri dari 15 provenan lainnya yaitu Benakat, Perawang, Agam, Solok, Bali, Kendari, Bantul, Purworejo, Gunungkidul, Mataram, Sumbawa, Gowa, Makassar, Kupang, dan Timor Tengah Selatan.

Kelompok pertama terbagi menjadi 2 kelompok kecil (sub kelompok) yaitu populasi dari Lubuk Linggau, Banten dan Pendopo, sedangkan kelompok kedua terbagi menjadi 5 sub kelompok. Sub kelompok pertama terdiri dari populasi Benakat, Perawang, Agam, Solok; sub kelompok kedua terdiri dari populasi Bali dan Kendari; sub kelompok ketiga terdiri dari

populasi Bantul dan Purworejo; sub kelompok keempat terdiri dari populasi Gunungkidul, Mataram, Sumbawa, Gowa, Makassar; sub kelompok kelima terdiri dari populasi Kupang dan Timor Tengah Selatan.

Berdasarkan hasil dendrogram, secara garis besar pengelompokan tidak berhubungan dengan posisi geografisnya. Artinya pengelompokan tidak menunjukkan bahwa semakin dekat jarak geografis suatu populasi maka jarak genetik antar populasi tersebut semakin dekat, akan tetapi populasi-populasi yang berdekatan mempunyai kecenderungan untuk membentuk satu sub kelompok, misalnya pada populasi Mataram - Sumbawa dan Gowa - Makassar berada dalam satu sub kluster. Artinya populasi yang berasal dari satu wilayah memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Namun demikian, terdapat beberapa populasi yang menunjukkan kecenderungan yang berbeda. Populasi Banten mempunyai hubungan kekerabatan lebih dekat dengan populasi Lubuk Linggau dan Pendopo berasal dari Sumatera Selatan, sedangkan populasi Benakat yang juga berasal dari daerah Sumatera Selatan memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat dengan populasi yang berasal dari Perawang, Sumatera Barat (Agam dan Solok), Bali, dan Kendari. Hubungan kekerabatan populasi Bantul lebih dekat dengan

Purworejo dibandingkan dengan populasi Gunungkidul yang berasal dari wilayah yang sama yaitu DIY, sedangkan populasi Gunungkidul memiliki hubungan kekerabatan lebih dekat dengan populasi pulau yang berasal dari Mataram dan Sumbawa. Kecenderungan pengelompokan seperti ini juga ditunjukkan pada hasil penelitian tanaman *outcrossing* lain yaitu *Santalum album* (Rimbawanto dkk., 2006). Hal ini dapat

disebabkan karena penanda RAPD yang digunakan memperlihatkan variasi DNA baik pada *coding* maupun *noncoding regions*. Selain itu, sifat RAPD yang *unreproducible* sehingga untuk mendapatkan pengelompokan provenan yang akurat diperlukan analisis DNA menggunakan jumlah primer yang lebih banyak.

Gambar 1. Dendrogram hubungan kekerabatan antara 18 provenan pulau

IV. KESIMPULAN

1. Keragaman genetik dalam populasi sebesar $0,190 \pm 0,028$, keragaman genetik antar populasi sebesar $0,079 \pm 0,039$ sedangkan keragaman seluruh populasi sebesar 0,2465. Hal ini menunjukkan bahwa distribusi keragaman genetik dalam provenan pulau lebih besar (85%) dibandingkan keragaman genetik antar provenan (15%).
2. Berdasarkan hubungan kekerabatannya 18 populasi pulau terbagi menjadi 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari 3 populasi yaitu populasi Lubuk Linggau, Banten dan Pendopo. Kelompok kedua terdiri dari populasi Benakat, Perawang, Agam, Solok, Bali, Kendari, Bantul, Purworejo, Gunungkidul, Mataram, Sumbawa, Gowa, Makassar, Kupang dan Timor Tengah Selatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada seluruh Peneliti dan Teknisi di laboratorium Genetika Molekuler pada Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, yang telah memberikan fasilitas dan membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Hamrick, J.L., 1989. Isozyme and the analysis of genetic structure in plant population. In : E.D Soltis and Soltis, P.S (Eds.). *Isozyme in Plant Biology*. Dioscorides Press. Oregon.pp. 87-105.
- Lowe A., S. Harris, and P. Ashton, 2004. *Ecological Genetics: Design, Analysis, and Application*. Blackwell Publishing. United Kingdom.
- Rimbawanto, A. dan Suharyanto, 2005. Keragaman genetik populasi *Shorea leprosula* Miq. dan implifikasinya untuk program konservasi genetik. Dalam : Hardiyanto E.B (ed). *Prosiding Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas Hutan - Peran Konservasi Sumber Daya Genetik, Pemuliaan dan Silvikultur dalam Mendukung Rehabilitasi Hutan*. Fakultas Kehutanan UGM dan International Tropical Timber Organization. Yogyakarta.
- Rimbawanto, A., AYPBC Widyatmoko, dan P. Sulistyowati, 2006. Distribusi keragaman genetik populasi *Santalum album* berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman* 3(3): 178 - 179.
- Welsh, J. And Mc Clelland, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18: 7213 - 7218.
- William. J.G.K., A.R Kubelic, K.J. Livak, J. A. Rafalski and S.V. Tingey, 1990. DNA polymorphic amplified by arbitrary primer are useful as genetic marker. *Nucl. Acid. Res* (18): 6531 - 6539.