

# KERAGAMAN GENETIK MINDI (*Melia azedarach* L.) PADA HUTAN RAKYAT DI JAWA BARAT DENGAN PENANDA MIKROSATELLIT

*Genetic Diversity of Mindi (Melia azedarach L.) in Community Forests West Java Assessed  
by Microsatellite Markers*

**Laswi Irmayanti, Iskandar Z. Siregar dan Prijanto Pamoengkas**

*Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan, IPB*

## ABSTRACT

*Mindi (Melia azedarach L.) is mostly found in community forests of West Java. One of the factors that affect productivity of mindi plantation is high quality seed that is not easily available. Seed sources of mindi should be established based on the status of genetic variation, preferably the one with high genetic variation. However, information on the status of genetic variation is always lacking. The research objective was to estimate genetic variation within and between populations of mindi in West Java community forests based on microsatellites. Six mindi populations were selected in the following villages: Nagrak (Bogor), Babakan Rema (Kuningan), Padasari (Sumedang), Legok Huni (Wanayasa), Sukakarya (Bogor) and Gambung (Bandung). The results showed that average number of alleles was 2.750, PLP (percentage of polymorphic loci) was 91.67%, and the genetic diversity within populations ( $H_e$ ) was 0.366. The highest genetic diversity was found in Padasari ( $H_e = 0.454$ ), and the lowest one was in Babakan Rema ( $H_e = 0.269$ ). The genetic difference between populations ( $F_{st}$ ) was 0.3030. Cluster analysis showed three groupings in which the first and second cluster consisted of Nagrak and Padasari, as well as Babakan Rema, Gambung and Sukakarya, respectively. On the other hand Legok Huni was separated alone. The findings provided information on the moderate status of genetic diversity that may be considered during the selection and establishment of seed sources.*

**Key words :** *community forests, genetic diversity microsatellite, mindi (Melia azedarach L.)*

## PENDAHULUAN

Mindi (*Melia azedarach* L.) merupakan salah satu jenis alternatif pengganti kayu berkualitas. Saat ini kayu berkualitas tinggi sudah mulai sulit ditemukan dan berharga mahal karena permintaan pasar yang semakin meningkat (Syamsuwida *et al.* 2012). Pada industri kerajinan meubel di Jepara kayu mindi digunakan sebagai salah satu pengganti kayu jati ketika pasokannya berkurang. Selain kayunya, daun, akar, kulit, dan bunga mindi dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan dan pestisida alami (Karyono & Hariatno 2001). Pramono (2012) melaporkan bahwa mindi merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki prospek bagus untuk dikembangkan di hutan rakyat. Mindi mampu beradaptasi pada perbedaan kondisi lingkungan tumbuh yang luas (Pramono *et al.* 2012). Hutan rakyat mindi merupakan salah satu tipe hutan rakyat yang berkembang cukup baik khususnya di Jawa Barat (Bramasto 2011). Salah satu faktor yang mempengaruhi produktivitas hutan adalah penggunaan benih yang berkualitas. Namun, benih berkualitas masih sulit didapatkan karena keterbatasan jumlah sumber benih.

Salah satu cara membangun sumber benih adalah membangun hutan atau memanfaatkan hutan yang sudah ada. Saat ini keberadaan hutan rakyat dapat berfungsi sebagai alternatif pilihan sumber benih. Asal-usul sumber benih merupakan salah satu penentu

kualitas benih yang diharapkan mampu menghasilkan bibit yang berkualitas pula. Akan tetapi, informasi tentang kualitas sumber benih di hutan rakyat saat ini masih kurang. Pengembangan hutan rakyat dengan jenis mindi, perlu ditunjang dengan penyediaan benih (*seed procurement*) yang bermutu tinggi, baik mutu fisik, fisiologi maupun genetik (Yulianti *et al.* 2011). Pada umumnya benih yang digunakan untuk hutan rakyat belum memperhatikan mutu genetik.

Mutu genetik merupakan penampilan benih murni dari spesies tertentu yang menunjukkan identitas keragaman genetik dari tanaman induknya (Sutopo 2011). Penggolongan keragaman genetik ada 2, yaitu dalam populasi dan antar populasi. Keragaman dalam populasi menggambarkan perbedaan gen yang terkandung dalam individu suatu populasi dan berhubungan erat dengan kemampuan beradaptasi (Finkeldey 2005). Sedangkan keragaman antar populasi menggambarkan beberapa parameter genetik, yaitu jarak genetik, pembagian variasi genetik ( $F_{st}$ ), dan pengelompokan (klaster) antar populasi.

Sumber benih hendaknya dibangun dengan mutu setinggi mungkin dan keragaman genetik setinggi mungkin (Roshetko *et al.* 2004). Mutu genetik perlu diperhatikan karena menyangkut daya adaptasi dengan lingkungan tempat tumbuh. Semakin tinggi keragaman genetiknya semakin besar peluang tanaman untuk beradaptasi dengan lingkungannya. Keragaman genetik yang rendah pada suatu populasi akan menyebabkan

*inbreeding* (perkawinan sedarah). *Inbreeding* yang terjadi terus-menerus akan menyebabkan kepunahan (Hamilton 2009).

Keragaman genetik sumber benih dapat dideteksi dengan beberapa metode antara lain dengan penggunaan marka DNA, misalnya RAPD dan mikrosatelit. Keunggulan dari teknik analisis menggunakan marka RAPD diantaranya: (1) kuantitas DNA yang dibutuhkan sedikit, (2) hemat biaya, (3) mudah dipelajari, dan (4) primer yang diperlukan sudah banyak dikomersialisasikan. Namun teknik RAPD mempunyai beberapa kelemahan antara lain: (1) sangat sensitif terhadap variasi konsentrasi DNA, dan (2) memerlukan konsentrasi primer serta kondisi siklus suhu yang optimal pada saat pengujian (Azrai 2005). Kelebihan dari teknik mikrosatelit yaitu bersifat polimorfik (Varshney *et al.* 2007). Perez *et al.* (2005) melaporkan mikrosatelit merupakan penanda genetik yang sangat baik untuk studi keragaman genetik dalam berbagai tanaman.

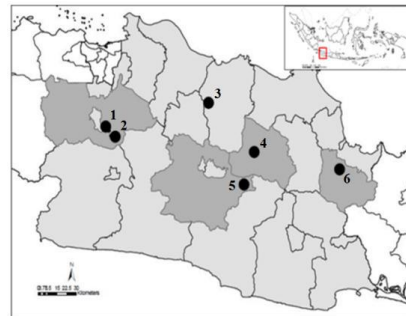
Keragaman genetik memiliki besaran berkisar 0-1. Semakin mendekati 0 berarti keragaman genetik dikatakan rendah. Menurut Fahmi (2011), penggunaan penanda RAPD dan mikrosatelit akan menghasilkan nilai rentang keragaman genetik yang berbeda, yaitu penggunaan RAPD mempunyai nilai yang lebih rendah dibandingkan mikrosatelit. Keragaman genetik dengan RAPD dikatakan rendah jika kurang dari 0,1, sedang 0,1-0,2, dan tinggi diatas 0,2. Yulianti *et al.* (2011) melaporkan bahwa rata-rata keragaman genetik pohon induk mindi di enam lokasi Jawa Barat (Nagrak-Bogor, Babakan Rema-Kuningan, Padasari-Sumedang, Legok Huni-Purwakarta, Sukakarya-Bogor, dan Gambung-Bandung) dengan teknik RAPD sebesar 0,1712 dikategori keragaman genetik sedang. Azrai (2005) melaporkan bahwa RAPD memiliki kelemahan tingkat reproduksi pola markah dari laboratorium ke laboratorium yang rendah, dan merupakan penanda dominan. Penanda dominan merupakan penanda yang tidak mampu membedakan individu heterozigot dan homozigot.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan status keragaman genetik pada hutan rakyat mindi sebagai sumber benih sesuai lokasi dan sampel penelitian Yulianti *et al.* (2011) menggunakan penanda mikrosatelit. Mikrosatelit memiliki kelebihan tingkat reproduksi yang tinggi, dan merupakan penanda kodominan (Rajora & Rahman 2001; Weising *et al.* 2005) yang mampu membedakan individu heterozigot dan homozigot. Hal ini akan membantu dalam pengembangan sumber benih hutan rakyat, khususnya sebagai alat bantu seleksi (*MAS-Marker Assised Selection*), *QTL (Quantitative Trait Loci)*, dan penandaan gen (*Qualitative Gene Tagging*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menduga keragaman genetik di dalam dan antar populasi mindi di hutan rakyat Jawa Barat yang dapat dikembangkan menjadi sumber benih dengan penanda mikrosatelit.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli 2013-Agustus 2014. Pengambilan sampel penelitian berupa daun dilaksanakan pada bulan juli 2013 di enam hutan rakyat di Jawa Barat, yaitu: 1) Nagrak (Bogor), 2) Sukakarya (Bogor), 3) Legok Huni (Purwakarta), 4) Padasari (Sumedang), 5) Gambung (Bandung), dan 6) Babakan Rema (Kuningan) seperti disajikan pada Gambar 1. Pemilihan lokasi penelitian berdasarkan zona sebaran populasi mindi (*Melia azedarach L.*) di Jawa Barat (Pramono *et al.* 2012) dan penelitian Yulianti *et al.* (2011). Kegiatan ekstraksi DNA, elektroforesis, dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dimulai bulan September 2013 dan berakhir bulan Juli 2014. Analisis data keragaman genetik dilaksanakan pada Agustus 2014. Kegiatan ekstraksi DNA sampai analisis data dilaksanakan di Laboratorium Genetik, Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan IPB.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel penelitian, 1) Nagrak, 2) Sukakarya, 3) Legok Huni, 4) Padasari, 5) Gambung, 6) Babakan Rema

### Alat dan Bahan

**Bahan tanaman.** Sampel berupa daun tanaman mindi (*Melia azedarach L.*) yang berasal dari enam lokasi hutan rakyat mindi di Jawa Barat dari lima kabupaten (Gambar 1). Pada masing-masing lokasi diambil sampel dari 20 pohon. Pengambilan sampel sebanyak 20 diasumsikan sudah mewakili setiap lokasi penelitian seperti dilaporkan oleh Boonton *et al.* (2008) dan Goetze *et al.* (2013).

**Alat dan Bahan.** Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas peralatan dan bahan yang umum digunakan untuk: 1) ekstraksi DNA, 2) elektroforesis, dan 3) PCR. Daftar alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Daftar alat dan bahan penelitian

No	Jenis Kegiatan	Alat	Bahan
1	Ekstraksi DNA	<i>tube</i> ukuran 1.5 ml, mortar, pestel, mikropipet, <i>tips</i> , rak tube, <i>vortex</i> , mesin sentrifugasi, <i>waterbath</i> , desikator.	daun mindi, kit DNA, <i>buffer ekstrak</i> , PVP 2%, <i>chloroform</i> , isopropanol, NaCl, etanol 95%, <i>buffer TE</i> , DNA <i>Plan Mini Kit</i>
2	Elektroforesis	cetakan <i>gel</i> agarose, <i>erlenmeyer</i> , <i>UV transilluminator</i> , cetakan <i>gel polyakrilamide</i> , kamera	Agarose, <i>polyakrilamide</i> , <i>buffer TBE 10x</i> , <i>buffer TAE 1x</i> , <i>blue juice 10x</i> , EtBr, DNA <i>ladder</i>
3	PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> )	<i>tube</i> ukuran 0,2 ml, mesin PCR <i>AB Applied Biosystem Veriti™ Thermal Cycler</i>	DNA, primer-primer mikrosatelit, <i>green go taq master mix</i> , nukleas free water

Tabel 2 Komposisi bahan untuk reaksi PCR Mikrosatelit

No.	Nama Bahan	Sampel Reaksi
1	H <sub>2</sub> O	2.5 µl
2	<i>Green Go Taq Master Mix</i>	7.5 µl
3	Primer F dan R	1.5 µl
4	DNA encer	2 µl

Tabel 3 Primer mikrosatelit mimba untuk amplifikasi silang mindi (Boonton *et al.* 2008)

No	Nama Primer	Urutan basa DNA (5' to 3')	Panjang Fragmen (bp)	Suhu <i>anealing</i> (°C)
1	Ai11	5'-GCATCAGTCAGCCATAGTGC-3' 5'-TTGAAAAATCCTGGCGAGTG-3'	175–219	55
2	Ai13	5'-CCACAAACAAATGGGAAACC-3' 5'-CCCTTATTACAAAAGAAGAGGGGAAG-3'	158–188	55
3	Ai14	5'-GTCCACGCAAACAGAGACAC-3' 5'-TTGGCTTGGCTTTCTCTTTC-3'	224–232	54
4	Ai34	5'-ATTTGTGTGTGCGTGCTAGG-3' 5'-CGAGGAAGTACTGACTCCTGAA-3'	146–168	55

### Prosedur Kerja

**Sampling.** Daun mindi pada tiap lokasi diambil secara acak pada pohon-pohon yang mempunyai fenotipa baik untuk dijadikan sebagai pohon induk seperti disarankan oleh Mulawarman *et al.* (2002). Sampel daun diambil dari 20 pohon (diameter pohon ≥ 20 cm) pada tiap lokasi dengan jarak rata-rata 5 m. Pada masing-masing pohon diambil sampel 1 daun dengan cara memanjat. Daun segar yang diambil kemudian dimasukkan dalam plastik klip. Plastik klip yang berisi daun dimasukkan dalam *ice box* yang berisi *dry ice*. Penyimpanan sampel selama di lapangan dengan *dry ice* bertujuan agar daun tetap segar sampai di Laboratorium.

**Ekstraksi DNA.** Ekstraksi DNA dari daun dilakukan dengan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) (Weising *et al.* 2005 dan Aritonang *et al.* 2007) yang telah dimodifikasi. Untuk mendapatkan DNA dengan kualitas yang lebih tinggi, ekstraksi dilakukan dengan metode kit (protokol DNA *Plan Mini Kit*) dari Qiagen ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)) dengan nomor katalog 6235.

**Uji Kualitas DNA.** Langkah pertama pada uji kualitas DNA yaitu menyiapkan *gel agarose* 1% (0.33 g *agarose* dalam 33 ml *buffer TAE*). Untuk proses elektroforesis, ditambahkan *buffer TE* 50 µl pada pellet

DNA lalu disentrifugasi dengan kecepatan 10 000 rpm selama 10 menit. Pellet DNA diambil sebanyak 3 µl dan ditambahkan 2 µl BJ (*Blue Juice*). Campuran pellet DNA dan BJ dimasukkan ke *gel agarose*, dan dielektroforesis selama 45 menit. Hasil elektroforesis direndam dalam larutan EtBr (*Etidium Bromida*) selama 15 menit dan difoto pada *UV transilluminator* model TFX-20.LM (Aritonang *et al.* 2007).

**Mikrosatelit.** DNA hasil ekstraksi diencerkan 100 kali menggunakan aquabides. Perbandingan antara DNA dan aquabides yaitu 99 µl aquabides dan 1 µl DNA. Reaksi PCR mikrosatelit dilakukan dengan mesin *AB Applied Biosystem Veriti™ Thermal Cycler* ([www.appliedbiosystem.com](http://www.appliedbiosystem.com)). Komposisi bahan untuk reaksi PCR mikrosatelit disajikan pada Tabel 2. Primer mikrosatelit untuk jenis mindi belum ada, sehingga dalam penelitian ini menggunakan primer dari jenis lain yang satu famili dengan mindi, yaitu mimba (*Azadirachta indica*) yang mengacu pada Boonton *et al.* (2008). Primer mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3. Amplifikasi silang primer mikrosatelit mimba ke mindi dalam penelitian ini mengacu pada Abaloso *et al.* (2009), Costa *et al.* (2013), Lemes *et al.* (2011), Thode *et al.* (2013), Wang *et al.* (2013), dan Wee *et al.* (2013).

Tabel 4 Komposisi pembuatan gel poliakrilamid

Bahan	Komposisi
Akrlamid	5,7 gram
Bisakrilamid	0,3 gram
TBE (1x)	10 ml
TEMED	50 µl
APS	500 µl
Aquades	60 ml

Tabel 5 Bahan pewarnaan gel akrilamid dan lama perendaman

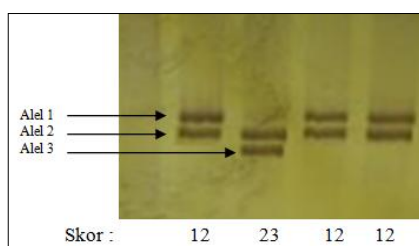
Bak	Bahan larutan pewarna	Lama perendaman gel
1	Aquades 450 ml Acetic acid (0,5%) 25 µl Etanol 50 ml	10-15 menit
2	Aquades 500 ml	5 menit
3	Aquades 500 ml Silbernitrat 0,5 gram Formaldehde 0,6 ml	10-20 menit, setelah bak 3, bilas ke bak 2 selama 10 detik
4	Aquades 500 ml NaOH 7,5 gram Formaldehde 1 ml	Sampai mulcul pita DNA

Elektroforesis mikrosatelit menggunakan gel vertikal poliakrilamid (Wang *et al.* 2009), dengan komposisi gel seperti pada Tabel 4. Akrlamid, bisakrilamid, TBE (1x), dan aquades dicampur dalam tabung erlemeyer dan dikocok selama 15 menit, kemudian pada menit ke 10 dimasukkan temed. Pada menit ke 14 dimasukkan APS. Pada menit ke 15, larutan dalam tabung erlenmeyer dimasukkan dalam pasangan kaca polikrimaid, kemudian ditunggu sampai larutan memadat menjadi gel.

Kegiatan elektroforesis dilakukan pada tegangan listrik 350 V, arus 40 mA, dan daya 80 W selama 75 menit dengan buffer running TBE 1x. Pewarnaan gel dilakukan dengan pewarnaan *silver nitrate* (Benbouza *et al.* 2006; Creste *et al.* 2001). Pewarnaan ini terdiri atas empat bak perendaman. Secara berurutan bak satu sampai empat tertera pada Tabel 5. Setelah pewarnaan selesai dilakukan dokumentasi gel.

### Analisis Data

**Keragaman dalam Populasi.** Dokumentasi DNA hasil PCR mikrosatelit dianalisis dengan melakukan skoring pola pita yang muncul (Gambar 2). Hasil interpretasi foto kemudian dianalisis menggunakan *software* POPGENE 32 versi 1.31 (Yeh & Yang 1999) dan NTSys versi 2.0 (Rohlf 2008). Hasil dari *software* POPGENE menampilkan beberapa parameter untuk mengetahui keragaman dalam suatu populasi, yaitu nilai PLP (*Percentase Locus Polymorphic*), Na (*Observed number of alleles*), Ne (*Effective number of alleles*), dan He (*Expected Heterozity*).



Gambar 2 Cara skoring DNA mikrosatelit

**Keragaman antar Populasi.** Data jarak genetik yang dihasilkan dari POPGENE digunakan untuk analisis gerombol pada metode UPGMA (*unweighted pair group with arithmetic average*) dalam NTSys versi 2.0 yang menghasilkan dendrogram hubungan kekerabatan (Hartati 2007). Populasi dalam satu klaster menunjukkan kekerabatan yang dekat. Untuk analisis PCoA (*Principal Coordinates*) digunakan *software* GenAlex Ver 6.5 (Blyton & Nicola 2006). Analisis struktur perbedaan antar populasi digunakan *software structure* versi 2.3.3 (Dillon *et al.* 2013; Evanno *et al.* 2005; Pritchard *et al.* 2010; Purba 2012).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keragaman Genetik dalam Populasi

Peubah yang digunakan untuk mencirikan variasi genetik dalam populasi yaitu Persentase Locus Polimorfik (PLP), rata-rata jumlah alel per lokus (A/L), dan variasi genetik (He) (Finkeldey 2005). Hasil penelitian ini didapatkan PLP sebesar 91.67%. Hal ini menunjukkan bahwa primer (lokus) mikrosatelit yang digunakan bersifat polimorfik, yaitu sekurang-kurangnya ada dua varian alel yang berbeda yang mampu membedakan antar individu. Rata-rata jumlah alel per lokus sebesar 2.750, dan rata-rata keragaman genetik (He) sebesar 0.366. Nilai keragaman genetik tersebut dikategorikan pada keragaman sedang. Keragaman genetik berkisar 0-1 (Weising *et al.* 2005), semakin mendekati 1 maka keragaman suatu populasi dikatakan tinggi, dan sebaliknya semakin mendekati 0 keragamannya rendah. Rambey (2011) melaporkan bahwa populasi mindi di Garut yang mempunyai He sebesar 0.373 dikategorikan keragaman sedang. Nilai peubah keragaman genetik dalam populasi mindi disajikan pada Tabel 6.

Nilai keragaman genetik berkategori sedang juga dinyatakan oleh Yulianti *et al.* (2011) yang menggunakan populasi mindi dari enam populasi, yaitu berlokasi sama dengan penelitian ini (Nagrak, Padasari, Babakan Rema, Legok Huni, Sukakarya, dan Gambung). Yulianti *et al.* (2012) melaporkan rata-rata keragaman genetik dari enam populasi tersebut dengan teknik analisis RAPD, yaitu sebesar 0.1712, dengan keragaman paling rendah adalah populasi Babakan Rema (Kuningan) dan paling tinggi Padasari (Sumedang).

Hasil penelitian ini didapatkan bahwa dari 6 populasi yang diamati, keragaman genetik tertinggi yaitu pada populasi Padasari (Sumedang) (He=0.454), dan terendah pada Babakan Rema (Kuningan) (He=0.269). Tinggi rendahnya keragaman dalam populasi dapat dipengaruhi oleh pola sebaran tanaman, khususnya di hutan rakyat yang umumnya tanaman tersebar dengan jumlah yang terbatas (Hamid *et al.* 2008). Populasi mindi di Babakan Rema merupakan areal yang berdekatan dengan perkebunan teh, sehingga diduga tegakan mindi di lahan masyarakat berasal dari area perkebunan yang hanya dikelola satu pengelola (Yulianti 2011). Oleh karena itu keragaman genetik mindi di Babakan Rema tergolong rendah.

Populasi mindi di Padasari tersebar pada berbagai tipe dan pemilik lahan dengan sejarah penanaman yang bervariasi, dan cenderung menghasilkan musim buah yang bervariasi, serta diduga variasi genetiknya lebih tinggi (Prmono 2012). Selain itu, Prmono (2012) juga melaporkan bahwa musim buah populasi mindi di Babakan Rema tergolong serentak. Musim buah yang serentak ini diduga karena populasi Babakan Rema mempunyai keragaman genetik yang rendah.

### Keragaman Genetik antar Populasi

Peubah yang digunakan untuk mencirikan variasi genetik antar populasi menurut Finkeldey (2005) yaitu pembagian variasi genetik ( $F_{st}$  atau  $G_{st}$ ), jarak genetik, dan analisis klaster/kelompok. Perbedaan genetik dari

dua atau lebih populasi pada umumnya dianalisis dengan sebuah matrik dimana elemen-elemennya berupa jarak genetik dan pasangan kombinasi dari masing-masing populasi (Finkeldey 2005). Jarak genetik mengukur perbedaan struktur genetik antar populasi pada suatu lokus gen tertentu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jarak genetik terjauh adalah populasi Nagrak dan Legok Huni, sedangkan jarak genetik terdekat adalah Nagrak dan Padasari. Sehingga Populasi Nagrak dan Legok Huni mempunyai kekerabatan yang jauh, sedangkan Populasi Nagrak dan Padasari mempunyai kekerabatan yang dekat. Jarak genetik antar populasi mindi di hutan rakyat Jawa Barat disajikan pada Tabel 7.

Tabel 6 Nilai peubah keragaman genetik dalam populasi mindi di hutan rakyat Jawa Barat

No	Populasi*	N	$N_a$	$N_e$	PLP (%)	$H_e$
1	Nagrak	20	2.750	1.754	100	0.401
2	Babakan Rema	20	1.750	1.513	75	0.269
3	Padasari	20	2.000	1.815	100	0.454
4	Legok Huni	20	2.500	1.757	100	0.352
5	Sukakarya	20	2.000	1.799	75	0.396
6	Gambung	20	2.500	1.572	100	0.325
Rata-rata			2.750	1.754	91.67	0.366

\* urutan lokasi berdasarkan ketinggian (rendah ke tinggi), N: jumlah individu,  $N_a$ : jumlah alel yang teramati,  $N_e$ : jumlah alel efektif,  $H_e$ : heterozigositas/keragaman genetik, PLP: Persentase Lokus Polimorfik

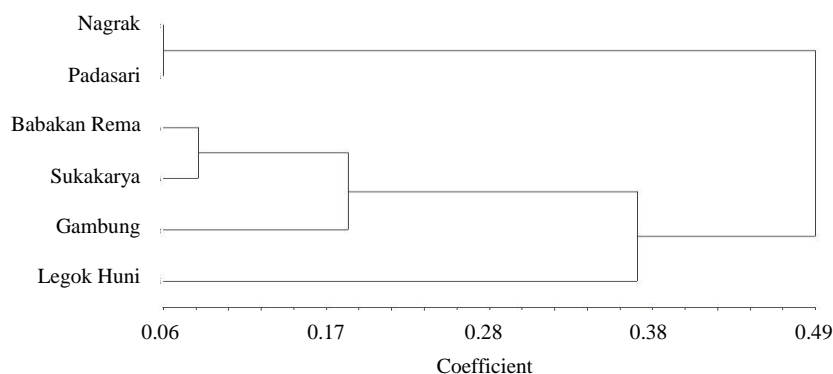
Tabel 7 Jarak genetik populasi mindi di hutan rakyat Jawa Barat

Populasi	Nagrak	Babakan Rema	Padasari	Legok Huni	Sukakarya	Gambung
Nagrak	0.000					
Babakan Rema	0.776	0.000				
Padasari	0.061	0.389	0.000			
Legok Huni	0.829	0.334	0.562	0.000		
Sukakarya	0.404	0.084	0.165	0.301	0.000	
Gambung	0.543	0.131	0.269	0.488	0.235	0.000

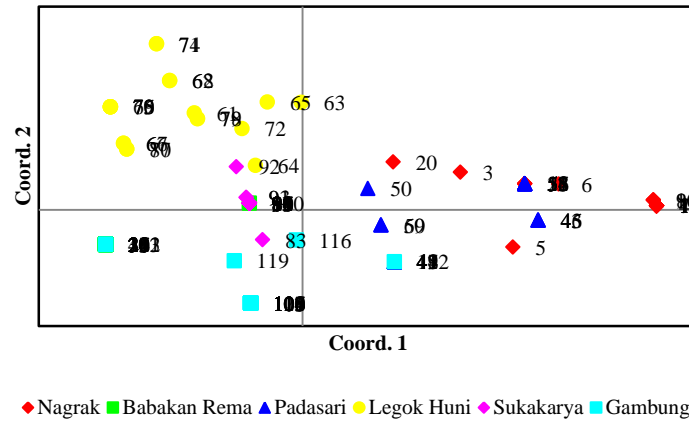
Tabel 8 Nilai indeks fiksasi setiap lokus

Locus	N	$F_{is}$	$F_{it}$	$F_{st}$
Ai_11	120	-0.952	-0.752	0.102
Ai_13	120	-0.480	0.132	0.414
Ai_34	120	-0.498	0.341	0.560
Ai_4	120	-0.601	-0.384	0.135
Rata-rata		-0.633	-0.166	0.303

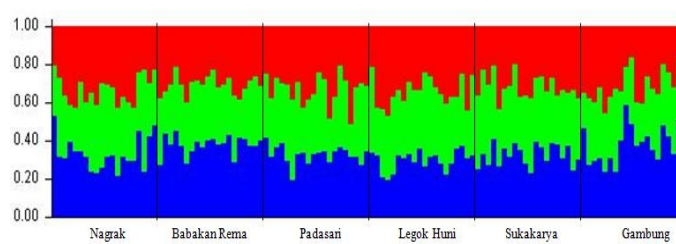
Keterangan: N (jumlah sampel),  $F_{is}$  (indeks fiksasi),  $F_{it}$  (indeks fiksasi total populasi),  $F_{st}$  (nilai perbedaan genetik antar populasi)



Gambar 3 Dendrogram mindi (*Melia azedarach* L.) di hutan rakyat Jawa Barat berdasarkan analisis NTSYS



Gambar 4 PCoA mindi (*Melia azedarach* L.) di hutan rakyat Jawa Barat



Gambar 5 Tampilan struktur populasi mindi (*Melia azedarach* L.)

Yulianti (2011) melaporan bahwa mindi di Gambung, Sukakarya dan Legok Huni merupakan bagian atau berdekatan dengan perkebunan teh yang ada di daerah tersebut, sehingga kemungkinan sumber bibit mindi yang ada di lahan masyarakat berawal dari area perkebunan (satu sumber). Oleh karena itu jarak genetik dari populasi-populasi tersebut cukup dekat. Berbeda dengan populasi Nagrak dan Padasari, dimana di daerah tersebut tidak terdapat perkebunan, sehingga mempunyai struktur genetik yang cukup berbeda dengan populasi lainnya.

Salah satu faktor yang mempengaruhi keragaman genetik adalah sistem perkawinan. Efek dari perkawinan yang tidak acak pada frekuensi genotipe dapat diukur dengan membandingkan frekuensi heterozigositas harapan Hardy-Weinberg, yang diasumsikan kawin acak, dengan frekuensi heterozigositas yang diamati dalam suatu populasi. Besaran tersebut disebut indeks fiksasi ( $F_{is}$ ) (Hamilton 2009). Hasil penelitian didapatkan nilai  $F_{is}$  pada semua lokus bernilai negatif dengan rata-rata -0.6328. Hal ini menunjukkan bahwa lokus gen secara keseluruhan tidak menunjukkan kelebihan homosigot. Perbedaan genetik antar populasi dievaluasi dengan menghitung nilai  $F_{st}$  (Filkeldey 2005). Rata-rata nilai perbedaan genetik antar populasi ( $F_{st}$ ) didapatkan 0.303. Nilai ini menunjukkan bahwa secara keseluruhan perbedaan genetik antar populasi mindi sebesar 30%. Hasil nilai indeks fiksasi setiap lokus disajikan pada Tabel 8.

Berdasarkan tampilan struktur populasi hampir semua populasi mempunyai struktur yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa *gen pool* semua populasi mindi dalam penelitian berasal dari satu sumber. Tampilan struktur populasi mindi disajikan pada Gambar 5.

### Potensi Sumber Benih Mindi di Hutan Rakyat Jawa Barat

Sumber benih merupakan areal atau tempat dimana koleksi benih dilakukan. Perbedaan genetik antar sumber benih akan berpengaruh terhadap keberhasilan dalam pembangunan hutan (Na'iem 2011). Menurut Santoso (2011), salah satu permasalahan dalam penanaman adalah sumber benih dengan kualitas genetik tinggi yang masih sangat sedikit.

Hasil analisis genetik menunjukkan tingkat keragaman genetik yang ada di dalam maupun antar populasi dapat mengindikasikan bagaimana sumberdaya genetik tanaman mindi hutan rakyat di daerah Jawa Barat. Berdasarkan hasil penelitian, keragaman genetik populasi mindi rata-rata adalah 0.366. Hal ini menunjukkan keragaman genetik tanaman mindi di hutan rakyat tergolong sedang. Roshetko *et al.* (2004), melaporkan bahwa sumber benih hendaknya dibangun dengan mutu setinggi mungkin dan keragaman genetik setinggi mungkin. Berdasarkan hasil penelitian, mindi di Nagrak, Padasari, Legok Huni, Sukakarya, dan Gambung dalam penelitian ini masih dapat direkomendasikan sebagai sumber benih. Pembangunan hutan rakyat sebaiknya juga memperhatikan kekerabatan antar populasi. Populasi yang berkekerabatan dekat hendaknya tidak ditanam berdekatan, misalnya populasi Nagrak dan Padasari. Hal ini dimaksudkan untuk mengurangi kemungkinan *inbreeding*. Berbeda halnya dengan populasi Nagrak dan Legok Huni yang mempunyai kekerabatan jauh, sumber benih dari kedua populasi tersebut dapat ditanam secara berdekatan.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Keragaman genetik dalam populasi ( $H_e$ ) mindi hutan rakyat di Jawa Barat dengan penanda mikrosatelit sebesar 0.366, tergolong sedang; dengan keragaman genetik tertinggi adalah populasi Padasari (nama kabupaten) ( $H_e = 0.454$ ) dan terendah adalah Babakan Rema (nama kabupaten) ( $H_e = 0.269$ ). Berdasarkan nilai jarak genetik, analisis gerombol (dendogram), dan PCoA menunjukkan ada 3 pengelompokan populasi mindi. Klaster pertama terdiri atas Nagrak dan Padasari, klaster ke dua Babakan Rema, Gambung dan Sukakarya, serta klaster ke tiga hanya populasi Legok Huni. Jarak genetik terjauh adalah populasi Nagrak dan Babakan Rema, sedangkan jarak genetik terdekat adalah Nagrak dan Padasari. Sehingga Nagrak dan Babakan Rema mempunyai kekerabatan yang jauh, sedangkan Nagrak dan Padasari mempunyai kekerabatan yang dekat. Nilai perbedaan genetik antar populasi ( $F_{st}$ ) didapatkan 0.303. Nilai ini menunjukkan bahwa secara keseluruhan perbedaan genetik antar populasi sebesar 30%.

Berdasarkan hasil penelitian, mindi di Nagrak, Padasari, Legok Huni, Sukakarya, dan Gambung dalam penelitian ini masih dapat direkomendasikan sebagai sumber benih. Dalam pembangunan hutan hendaknya sumber benih dari populasi yang berkekerabatan dekat tidak ditanam berdekatan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan Beasiswa Unggulan Dikti kepada peneliti tahun anggaran 2012-2014 (lampiran surat Dikti No.2460/E4.4/2012).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abasolo MA, Fernando ES, Borromeo TH, Hautea DM. 2009. Cross-species amplification of shoreamicrosatellite DNA markers in *Parashorea malaanonan* (dipterocarpaceae). *Philippine J of Science*. 138(1):23-28.
- Aritonang KV, Siregar IZ, Yunanto T. 2007. *Manual Analisis Genetik Tanaman Hutan di Laboratorium Silvikultur Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor*. Bogor (ID): Fakultas Kehutanan IPB.
- Benbouza H, Jacquemin JM, Baudoin JP, Mergeai G. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10(2):77-81.
- Blyton MDJ, Nicola SF. 2006. *A Comprehensive Guide to: GenAlEx 6.5*. Australia (AU): Australian National University.
- Boonton C, Pandey M, Chaangtragon S. 2008. Isolation and characterization of microsatellite markers in Indian neem (*Azadirachta indica* var. *indica* A. Juss) and cross-amplification in Thai neem (*A. indica* var. *siamensis* Valenton). *J ConservGenet*. doi:10.1007/s10592-008-9610-5.
- Bramasto RGA. 2011. Hubungan faktor tempat tumbuh dengan produksi buah mindi (*Melia azedarach* Linn.) di Hutan Rakyat Jawa Barat [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Costa BF, Rodrigues LA, Ruas LA, Vieira BG, Conson ARO, Ruas PM. 2013. Characterization of nine microsatellite loci for the tree species *Parapiptadenia rigida* (Fabaceae-Mimosoideae) and their transferability. *Genetics and Molecular Research*. 11(3):2338-2342.
- Creste S, Neto AT, Figueira A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter*. 19:299-306.
- Dillon NL, Ian SEB, Wright CL, Hucks L, Innes DJ, Dietzgen RG. 2013. Genetic diversity of the Australian National Mango Genebank. *J Scientia Horticulturae*. 150:213-226.
- Evanno G, Regnaud S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14:2611-2620.
- Fahmi ZI. 2011. *Pemanfaatan Teknologi DNA Molekuler dalam Identifikasi dan Verifikasi Varietas Tanaman Perkebunan*. Surabaya (ID): Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan.
- Finkeldey R. 2005. Pengantar Genetika Hutan Tropis. Djahmuri E, Siregar IZ, Siregar UJ, Kertadikara AW, penerjemah. Bogor (ID): Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. Terjemahan dari: *An Introduction to Tropical Forest Genetic*.
- Goetze M, Louzada RB, Wanderley MGL, Souza LM, Bered F, Silva CP. 2013. Development of microsatellite marker for genetic diversity analysis of *Aechmea caudate* (Bromeliaceae) and cross-species amplification in other bromeliads. *J Biochemical Systematics and Ecology*. 48:194-198.
- Hamid AH, Ab-Shukor NA, Senin AL. 2008. Morphometric and genetic variation of six seed sources of *Azadirachta excelsa* (Jack). *J of Biological Science*. 8:702-712.
- Hamilton MB. 2009. *Population Genetics*. United State (US): Wiley-Blackwell.
- Hartati D, Rimbawanto A, Taryono, Sulistyaningsih, Widyatmoko. 2007. Pendugaan keragaman genetik di dalam dan antar provenan pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) menggunakan penanda RAPD. *J Pemuliaan Tanaman Hutan*. 2:89-98.
- Karyono, Hariatno. 2001. Peluang dan tantangan pemasaran kayu mindi (*Melia azedarach* L.): studi kasus di Bogor Jawa Barat. *J Sosial Ekonomi*. 2(2):77-86.
- Lemes MR, Esashika T, Gaoue OG. 2011. Microsatellite for mahagonies: twelve new loci for *Swietenia macrophylla* and its high transferability to *Khaya senegalensis*. *American J of Botani*. 5:207-209. doi:10.3732/ajb.1100074.
- Mulawarman, Roshetko JM, Sasongko SM, Irianto D. 2002. *Pengelolaan Benih Pohon, Sumber Benih, Pengumpulan dan Penanganan Benih: Pedoman Lapangan untuk Petugas Lapangan dan Petani*. Bogor (ID): International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF).

- Na'iem M. 2011. Aspek ilmiah pembangunan sumber benih untuk mendukung kebijakan penanaman satu milyar pohon. Di dalam: Rimbawanto A, Leksono B, Widyatmoko AYPBC, editor. *Peran Sumber Benih Unggul dalam Mendukung Keberhasilan Penanaman Satu Milyar Pohon. Seminar Nasional Pembangunan Sumber Benih*; 2011 Jun 30; Yogyakarta, Indonesia. Yogyakarta (ID): Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
- Perez RS, Ruiz D, Dicenta F, Egea J, Gomez PM. 2005. Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: molecular characterization, protection, and genetic relationships. *J Scientia Horticulturae*. 103:305–315.
- Pramono AA. 2012. Karakteristik musim buah mindi (*Melia Azedarach*) di hutan rakyat di Jawa Barat. *Info Benih*. 16(2):63-70.
- Pramono AA, Danu, Rohandi. 2012. Zona sebaran populasi mindi (*Melia azedarach* Lin.) di Jawa Barat dan potensi tegakannya untuk sumber benih. *Info Benih*. 16(2):55-62.
- Pritchard JK, Wena X, Falushb D. 2010. *Documentation for structure software: Version 2.3*. United States of America (US): University of Oxford.
- Purba MP. 2012. Genetic structure and variation of five *Shorea leprosula* natural populations based on microsatellite marker [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Rajora OP, Rahman MH. 2001. Microsatellite DNA Marker and Their Usefulness in Poplar, and Conservation of Microsatellite DNA loci in Salicaceae. Di dalam: Muller SD, Schubert R, Editor. *Genetic Response of Forest Systems to Changing Environmental Conditions*. Netherlands (NL): Kluwer Academic Publishers.
- Rambey R. 2011. Pengetahuan lokal sistem agroforestri mindi (*Melia azedarach* L.) (Studi Kasus di Desa Selaawi, Kecamatan Talegong, Kabupaten Garut, Propinsi Jawa Barat) [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Rohlf FJ. 2008. *Numerical Taxonomy and Analysis System (NTSYSpc) Version 2.0*. New York (US): University of New York.
- Roshetko JM, Mulawarman, Iriantono D. 2004. Kebun benih untuk petani dan LSM-mengapa dan bagaimana?. Di dalam: Iriantono D, Farobi I, Harum F, Ariyanto D, Editor. *Benih untuk Rakyat. Suplemen Gedeha*. 14:2-6.
- Santoso H. 2011. Kebijakan sumber benih dan potensi kebutuhan benih untuk mendukung penanaman satu milyar pohon. Di dalam: Rimbawanto A, Leksono B, Widyatmoko AYPBC, editor. *Peran Sumber Benih Unggul dalam Mendukung Keberhasilan Penanaman Satu Milyar Pohon. Seminar Nasional Pembangunan Sumber Benih*; 2011 Jun 30; Yogyakarta, Indonesia. Yogyakarta (ID): Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan.
- Sutopo L. 2012. *Teknologi Benih*. Jakarta (ID): Rajawali Pers.
- Syamsuwida D, Palupi ER, Siregar IZ, Indrawan A. 2012. Flower initiation, morphology, and developmental stages of flowering-fruiting of mindi (*Melia azedarach* L.). *JMHT*. 18(1):10–17. doi: 10.7226/jtfm.18.1.10.
- Thode VA, Backes A, Mader G, Kriedt R, Bonnato SL, Freitas LB. 2013. Development of microsatellites for *Verbenoxylum reitzii* (Verbenaceae), a tree endemic to the Brazilian Atlantic Forest. *Applications in Plant Sciences*. 1(8):1-3. doi:10.3732/apps.1300005.
- Varshney RJ, Chabane K, Hendre PS, Aggarwal RK, Graner A. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *J Plant Science*. 173:638–649
- Wang X, Rinehart TA, Wadl PA, Spiers JM, Hadziabdic D, Windham MT, Trigiano RN. 2009. A new electrophoresis technique to separate microsatellite alleles. *African J of Biotechnology*. 8(11):2432-2436.
- Wang HW, Duan JM, Zhang P, Cheng YG, Wu JW, Wang GZ. 2013. Microsatellite markers in *Paulownia kawakamii* (Scrophulariaceae) and cross-amplification in other *paulownia* species. *Genet. Mol. Res.* 12 (3): 3750-3754. doi: http://dx.doi.org/10.4238/2013.
- Wee AKS, Takayamaka K, Kajita T, Webb EL. 2013. Microsatellite loci for *Avicennia alba* (acanthaceae), *Sonneratia alba* (lythraceae) and *Rhizophora mucronata* (rhizophoraceae). *J of Tropical Forest Science*. 25(1):131-136.
- Weising K, Nybon H, Wolff K, Kahl G. 2005. *DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications*. Amerika Serikat (US): CRC Press Taylor & Francis Group.
- Yeh FC, Yang R. 1999. *POPGENE Version 1.31 : User Guide Centre for International Forestry Research*. Alberta (US): University of Alberta.
- Yulianti. 2011. Strategi pengembangan sumber benih mindi (*Melia azedarach* L.) pada hutan rakyat di Provinsi Jawa Barat [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yulianti, Siregar IZ, Wijayanto N, Darma IGKT, Syamsuwida D. 2011. Genetic variation of *Melia azedarach* in community forests of West Java assessed by RAPD. *J Biodiversitas*. 12(2):64-69.