

**KERAGAMAN GENETIK SEMAI TIMOHO (*Kleinhovia hospita* Linn.)
BERDASARKAN PENANDA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHISM DNA
(RAPD)**

*Genetic diversity of timoho (*Kleinhovia hospita* Linn.) seedling based on random amplified polymorphism DNA (RAPD) markers*

I.L.G. Nurtjahjaningsih¹, L.Hakim¹, Y.V. Utomo², A. Rimbawanto¹, AYPBC. Widyatmoko¹,
I. Prihatini¹, M. Qiptiyah¹, P. Sulistyawati¹ dan Wahyunisari¹

^{1,2}Kontributor Utama, ¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar km 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta, Indonesia
email penulis korespondensi : iluh_nc@yahoo.com

²Universitas Kristen Duta Wacana

Jl. Dr. Wahidin Sudirohusodo No.5-25, Kotabaru, Gondokusuman, Yogyakarta, Indonesia

Tanggal diterima : 08 Oktober 2021, Tanggal direvisi : 14 Oktober 2021, Disetujui terbit : 07 Desember 2021

ABSTRACT

*Timoho (*Kleinhovia hospita* Linn.) has high economic value for medicine and construction. However, information on genetic diversity and conservation genetic has been limited by the lack of genetic data. This study aimed to assess genetic diversity of timoho seedling using RAPD markers. Leaf samples of seedlings were collected from a nursery at CFBTI in Yogyakarta; the seedlings originated from plantation in Gunungkidul (GK) and arboretum in Faculty of Forestry, GMU (FK). Seven out of 22 screened RAPD markers were stable in amplification and consisted of 61 polymorphic loci; then these markers were used to analyse genetic diversity and population structure of 48 seedlings from GK and FK. The genetic diversity and structure parameters were calculated by GenAlex software. A moderate level of genetic diversity (mean $uHE=0,326$) and great genetic distance between the two populations ($DA=0.119$) were found in this species. PCoA analysis showed that the 48 individuals were divided into two clusters according to their originated population. Appropriate conservation strategies were proposed to protect genetic diversity of this species.*

Keywords: conservation genetics, genetic diversity, RAPD markers, timoho

ABSTRAK

Timoho (*Kleinhovia hospita* Linn.) mempunyai nilai ekonomi tinggi untuk obat dan bangunan. Namun demikian informasi keragaman genetik dan genetik konservasi terbatas karena kekurangan data genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik semai timoho menggunakan penanda RAPD. Sampel daun dari bibit di persemaian Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan di Yogyakarta; bibit tersebut berasal dari hutan tanaman di Gunungkidul (GK) dan arboretum di Fakultas Kehutanan UGM (FK). Tujuh dari 22 penanda RAPD yang discreen bersifat stabil dan terdiri dari 61 lokus polimorfik. Kemudian penanda tersebut digunakan untuk analisis keragaman genetik dan struktur populasi 48 bibit asal GK dan FK. Parameter keragaman dan struktur genetik dihitung menggunakan software GenAlex. Jenis ini mempunyai keragaman genetik dengan nilai sedang (rata-rata $uHE = 0,326$) dan jarak genetik antar populasi yang tinggi ($DA = 0,119$). Analisis PCoA menunjukkan 48 individu terbagi menjadi dua kluster sesuai dengan populasi asal. Strategi konservasi diajukan untuk melindungi keragaman genetik jenis ini.

Kata kunci: genetik konservasi, keragaman genetik, penanda RAPD, timoho

I. PENDAHULUAN

Timoho (*Kleinhovia hospita* Linn.), famili Malvaceae, bernilai ekonomi tinggi terutama untuk tanaman obat. Ekstrak daun timoho mengandung beberapa jenis asam lemak yang dapat digunakan sebagai sumber energi; selain itu, dari ekstrak daunnya juga memiliki

aktifitas anti bakteri gram positif maupun negatif (Dey, Roy, & Sinhababu, 2017). Daunnya juga bisa digunakan untuk membersihkan mata dan pengharum rambut. Kambium jenis ini mengandung kumarin (jenis scopoletin) yang berguna untuk obat antihipertensi, antiinflamansi, antialergi dan penghambat

sintesa prostaglandin (Soekanto, Noor, Dini, Rudiyanasyah, & Garson, 2008). Kayu jenis ini digunakan sebagai kayu energi, gagang pisau, bahkan bangunan rumah (Latiff, 2020) dan rangka keris (KEHATI, 2017).

Timoho memiliki sebaran alami yang luas di daerah tropis dan sub-tropis yaitu di Asia Tenggara, Papua New Guinea, Australia (Queensland), Southwestern Pasific (Fiji, French Polynesia) (National Parks, 2021). Habitatnya di dataran rendah atau sepanjang aliran sungai. Jenis ini tidak menggugurkan daunnya / hijau sepanjang tahun, tinggi pohon mencapai 20 meter. Bunga bersifat hermaphrodit (*bisexual flowers*); membentuk malai dengan lebar 8-10 mm dan berwarna merah muda. Penyerbukannya dibantu oleh serangga. Buah berwarna coklat, berbentuk kapsul berselaput, membulat dan merekah pada rongga berisi 1-2 biji berwarna (KEHATI, 2017)..

Keragaman genetik merupakan salah satu komponen penting dalam menyusun strategi konservasi dan pemuliaan pohon. Dinamika perubahan tingkat keragaman genetik di suatu populasi disebabkan karena terjadinya perubahan pola aliran gen (*gene flow*) sehingga terjadi perubahan struktur/susunan alel dan berdampak pada kasus depresi kawin sendiri, kawin kerabatan dan penurunan ukuran populasi efektif (*bottleneck*) (Imai et al., 2021). Perubahan *gene flow* terjadi seiring dengan perubahan *landscape*, sistem biologis, tipe populasi, aktivitas polinator dan karakter penyebaran biji.

Timoho merupakan salah satu jenis yang dilestarikan di Yogyakarta. Bahkan nama jenis ini diabadikan sebagai nama jalan di propinsi tersebut. Namun saat ini, keberadaan timoho sudah semakin sulit ditemukan karena banyak dimanfaatkan dan alih fungsi lahan. Kondisi populasi banyak terfragmentasi sehingga membentuk populasi kecil (*patch*). Banyak hutan tanaman timoho dibangun tanpa informasi genetik sehingga kehilangan identitas genetik. Informasi peta sebaran timoho di Yogyakarta untuk mendukung upaya konservasi genetik

masih terbatas. Untuk menyusun strategi konservasi sumber daya genetik diperlukan informasi keragaman genetik di dalam dan antar populasi (Stojnic et al., 2019). Keragaman genetik populasi berpengaruh pada kesehatan individu maupun kemampuan adaptasi suatu populasi terhadap perubahan lingkungan biotik maupun abiotik. Studi keragaman genetik timoho belum pernah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik timoho pada tingkat semai menggunakan penanda RAPD. Nilai keragaman genetik pada tingkat semai, dapat menggambarkan kondisi sistem perkawinan pohon induknya. Selain itu, bibit timoho yang digunakan pada penelitian ini akan ditanam di plot konservasi sehingga perlu dipastikan karakter keragaman genetiknya.

II. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

A. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan selama kurang lebih 1 bulan mulai bulan Agustus hingga September 2021. Sampel daun timoho diambil dari persemaian Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan (B2P2BPTH), Yogyakarta. Bibit timoho tersebut berasal dari tegakan di Gunungkidul (7.96668°S 110.602561°E) dan arboretum Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada (7.771215°S, 110.377521°E).

Tegakan timoho di Gunungkidul ; dan di arboretum FK UGM hanya ada tiga pohon. Jarak antar pohon berjauhan sekitar 200 m. Pada saat pengunduhan buah, semua pohon di Gunungkidul sedang berbuah, sedangkan di FK UGM hanya ada 1 pohon yang berbuah.

B. Bahan dan alat penelitian

1. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain berupa silika gel, bahan kimia untuk ekstraksi DNA, untuk proses PCR dan elektroforesis. Selanjutnya bahan-bahan yang diperlukan sudah

dijelaskan di (Nurtjahjaningsih, Sukartiningsih, Saranti, Sulistyawati, & Rimbawanto, 2017).

2. Alat

Alat yang digunakan berupa timbangan analitik, mesin ekstraksi DNA, mesin PCR dan elektroforesis. Selanjutnya alat-alat yang digunakan sudah dijelaskan secara detil pada penelitian sebelumnya (Nurtjahjaningsih et al., 2017).

C. Metode pengamatan

Materi genetik yang digunakan pada penelitian ini berupa daun dari bibit di persemaian BBPPBPTH. *Screening* penanda RAPD menggunakan 8 sampel daun dari individu yang berbeda, sedangkan untuk analisis keragaman genetik menggunakan 48 sampel; 19 berasal dari Fakultas Kehutanan UGM (FK) dan 29 berasal dari Gunungkidul (GK). Selanjutnya sejumlah semai dari FK dan GK tersebut, pada penelitian ini disebut sebagai populasi semai FK dan populasi semai GK.

Proses lisis dinding sel dilakukan dengan cara menimbang sampel daun timoho seberat 100 mg; daun dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan mesin penghalus daun (mini beadbeater 8 -Biospec Products). Proses ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode CTAB (Shiraishi & Watanabe, 1995). Proses pemurnian DNA dilakukan dengan menambahkan NaOAc (Natrium Acetat). Proses ini sering dilakukan beberapa kali untuk menghasilkan template DNA yang bersih dari sisa-sisa lemak dan protein. Jumlah dan kualitas DNA diukur menggunakan alat NanoVue (GE Healthcare).

Proses PCR menggunakan AmpliTaq Stoffel fragment kit (Applied Biosystem), dilakukan pada mesin thermocycler 9700 (Applied Biosystem) menggunakan protokol PCR RAPD (Nurtjahjaningsih et al., 2017). Proses elektroforesis fragment DNA menggunakan mesin elektroforesis (OWL) dan visualisasi fragment DNA menggunakan mesin

gel documentation dan *software* Quantity One (Bio Rad) .

Penanda RAPD pada timoho diperoleh dengan cara *menscreening* 22 primer RAPD (Tabel 1). Pemilihan primer berdasarkan kedekatan secara taksonomi dengan jenis lain dalam genus. Sekuen 10 basa dari primer RAPD akan menempel secara acak pada untai DNA timoho. Amplifikasi fragment DNA menghasilkan beberapa kemungkinan yaitu tidak teramplifikasi, teramplifikasi monomorfik atau polimorfik. Proses *screening* ini mencari primer yang menghasilkan lokus polimorfik. Tujuh dari 22 primer RAPD menghasilkan lokus polimorfik yang terdiri dari 61 alel (Tabel 1). Selanjutnya 7 primer RAPD tersebut digunakan untuk analisis keragaman genetik.

D. Rancangan

Proses *screening* primer RAPD menggunakan 8 sampel DNA timoho dan 22 primer (set A, G U dan Y). Total sampel yang digunakan berjumlah $8 \times 22 = 176$. Analisis keragaman genetik menggunakan 48 sampel DNA timoho dan 7 primer hasil *screening* (set G, U dan Y). Total sampel yang digunakan berjumlah $48 \times 7 = 336$.

E. Analisis data

Proses *screening* primer / analisis keragaman alel diamati berdasarkan ada tidaknya band (pita) pada visualisasi gel hasil elektroforesis. Visualisasi hasil elektroforesis menggunakan *software* Quantity One (Bio Rad). Parameter keragaman genetik didalam populasi yang digunakan adalah alel frekuensi, alel private, alel yang sering dijumpai (*common alleles*) dan nilai *unbiased expected heterozygosity* (uHE); sedangkan keragaman genetik antar populasi menggunakan parameter jarak genetik (Da) dan analisis prinsip koordinat (PCoA). Keragaman genetik di dalam dan antar populasi dianalisis menggunakan *software* GenAlex versi 6.5 (Peakall & Smouse, 2006).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Screening penanda RAPD pada timoho

Tujuh dari 22 primer RAPD yang *discreening*, teramplifikasi stabil dan bersifat

polimorfik (Tabel 1). Jumlah lokus polimorfik per primer berkisar 6 (OPG-09) hingga 13 (OPU-15). Total lokus yang bersifat polimorfik berjumlah 61 lokus. Ukuran lokus polimorfik antara 350 bp (OPG-05) hingga 1400 bp (OPG-09).

Tabel 1. Nama dan sekuen 22 primer RAPD yang *discreening* pada sampel DNA timoho, karakter amplifikasi, jumlah dan ukuran lokus polimorfik

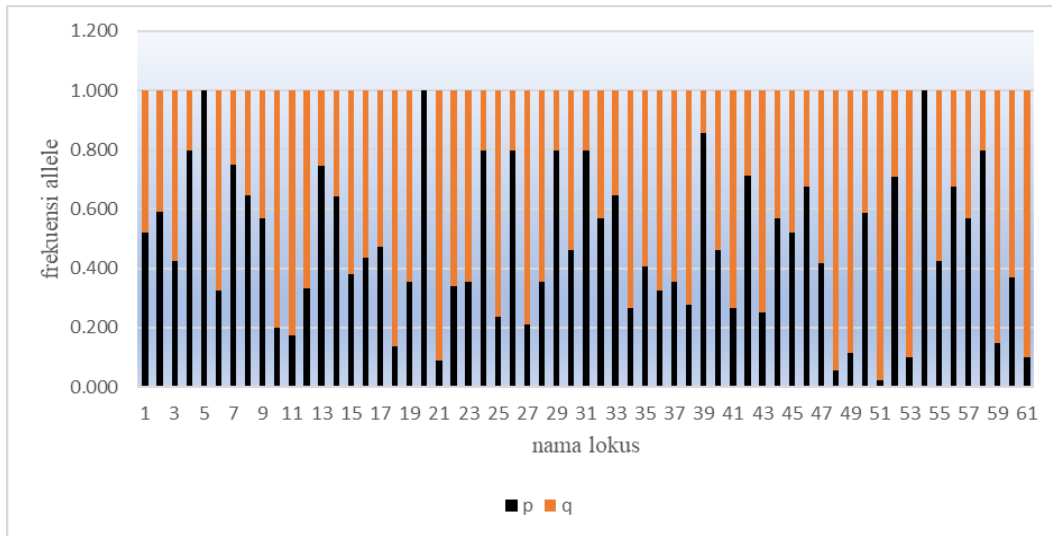
| Nama primer | Sekuen 5'-3' | Karakter amplifikasi | Jumlah lokus polimorfik | Ukuran lokus polimorfik (bp) |
|-------------|--------------|----------------------|-------------------------|--|
| OPA-11 | CAATCGCCGT | Tidak stabil | - | - |
| OPA-12 | TCGGCGATAG | Tidak stabil | - | - |
| OPG-02 | GGCACTGAGG | Monomorfik | - | - |
| OPG-05 | CTGAGACGGA | Polimorfik | 9 | 350, 400, 450, 500, 550, 600, 700, 800, 900 |
| OPG-06 | GTGCCTAACC | Polimorfik | 9 | 350, 400, 450, 500, 600, 650, 700, 800, 900 |
| OPG-07 | GAACCTGCGG | Tidak stabil | - | - |
| OPG-08 | TCACGTCCAC | Tidak stabil | - | - |
| OPG-09 | CTGACGTCAC | Polimorfik | 6 | 650, 700, 850, 950, 1100, 1400 |
| OPG-10 | AGGGCCGTCT | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPG-11 | TGCCCCGTCGT | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPU-05 | TTGGCGGCCT | Polimorfik | 9 | 400, 500, 600, 750, 800, 850, 1000, 1100, 1300 |
| OPU-06 | ACCTTTGCGG | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPU-08 | GGCGAAGGTT | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPU-09 | CCACATCGGT | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPU-14 | TGGGTCCCTC | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPU-15 | ACGGGCCAGT | Polimorfik | 13 | 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1200, 1400 |
| OPY-02 | CATCGCCGCA | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPY-04 | GGCTGCAATG | Tidak teramplifikasi | - | - |
| OPY-07 | AGAGCCGTCA | Polimorfik | 8 | 450, 500, 550, 600, 650, 700, 800, 900, |
| OPY-11 | AGACGATGGG | Polimorfik | 7 | 550, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 |
| OPY-15 | AGTCGCCCTT | Monomorfik | - | - |
| OPY-20 | AGCCGTGGAA | Tidak teramplifikasi | - | - |

Gambar 1 menunjukkan nilai alel frekuensi dari 61 lokus. Berdasarkan nilai frekuensi alel, terdapat 57 lokus yang sering dijumpai (*common alleles*, frekuensi > 5%; selain lokus OPG5550, OPG9700, OPY7650 dan OPY7900), satu lokus yang jarang dijumpai (*rare allele*, frekuensi < 5%; lokus OPY7650)

dan tiga alel monomorfik (Gambar 1; lokus OPG5550, OPG9700 dan OPY7900).

Nilai keragaman genetik (uHE) pada 61 lokus berkisar antara 0,043 (lokus: OPY7650) hingga 0,504 (lokus:OPU151200 dengan nilai rata-rata uHE = 0,375 (Gambar 2); hampir semua lokus mempunyai nilai uHE > 0,10

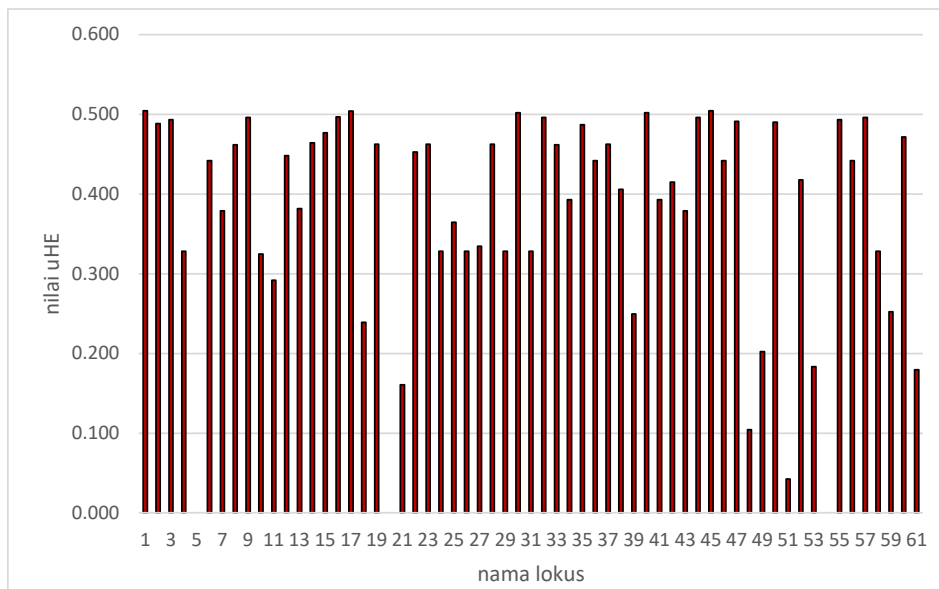
kecuali lokus OPY7650 dan 3 lokus OPY7900). Oleh karena itu persentase lokus monomorfik (lokus OPG5550, OPG9700 dan polimorfik termasuk tinggi (95%).



Gambar 1. Frekuensi alel 61 lokus penanda RAPD menggunakan 48 sampel DNA timoho

Keterangan: p: Frekuensi alel ke-1, q: Frekuensi alel ke-2; No. 1-61: Nama lokus

| | | | | | | |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| 1: OPG5350 | 2: OPG5400 | 3: OPG5450 | 4: OPG5500 | 5: OPG5550 | 6: OPG5600 | 7: OPG5700 |
| 8: OPG5800 | 9: OPG5900 | 10: OPG6350 | 11: OPG6400 | 12: OPG6450 | 13: OPG6500 | 14: OPG6600 |
| 15: OPG6650 | 16: OPG6700 | 17: OPG6800 | 18: OPG6900 | 19: OPG9650 | 20: OPG9700 | 21: OPG9850 |
| 22: OPG9950 | 23: OPG91100 | 24: OPG91400 | 25: OPU5400 | 26: OPU5500 | 27: OPU5600 | 28: OPU5750 |
| 29: OPU5800 | 30: OPU5850 | 31: OPU51000 | 32: OPU51100 | 33: OPU51300 | 34: OPU15500 | 35: OPU15550 |
| 36: OPU15600 | 37: OPU15650 | 38: OPU15700 | 39: OPU15750 | 40: OPU15800 | 41: OPU15850 | 42: OPU15900 |
| 43: OPU15950 | 44: OPU151000 | 45: OPU151200 | 46: OPU151400 | 47: OPY7450 | 48: OPY7500 | 49: OPY7550 |
| 50: OPY7600 | 51: OPY7650 | 52: OPY7700 | 53: OPY7800 | 54: OPY7900 | 55: OPY11550 | 56: OPY11600 |
| 57: OPY11700 | 58: OPY11800 | 59: OPY11900 | 60: OPY111000 | 61: OPY111100 | | |



Gambar 2. Nilai keragaman genetik (uHE) per lokus yang digunakan pada analisis genetik timoho

2. Keragaman genetik timoho di dalam dan antar populasi semai

Nilai uHE populasi semai GK lebih tinggi dibandingkan populasi semai FK (Tabel 2). Populasi semai GK mempunyai dua alel

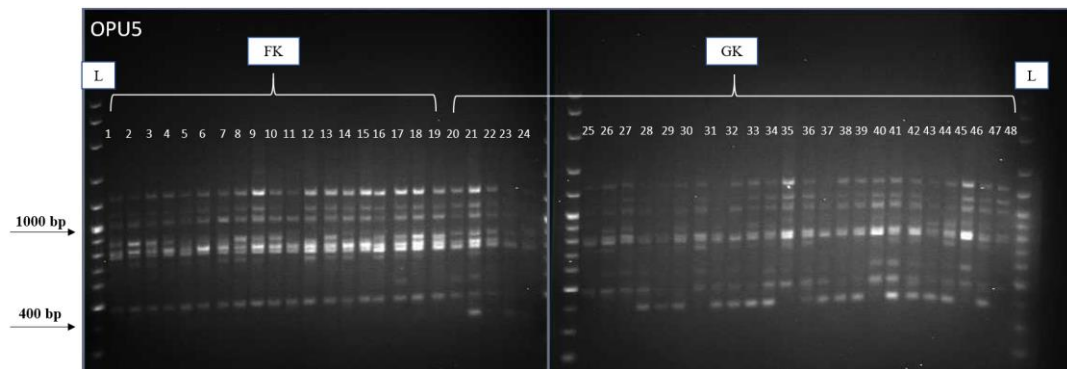
privat yaitu primer OPU5 pada ukuran 400 bp (Gambar 3) dan OPU15 pada ukuran 850 bp; sedangkan populasi semai FK hanya mempunyai 1 alel privat yaitu primer OPY11 pada ukuran 1100bp. Persentase lokus

polimorfik (%P) yang ditemukan di populasi semai FK, masing-masing 88,52 dan 77,05. semai GK lebih tinggi dibandingkan populasi

Tabel 2. Nama populasi jumlah sampel dan parameter keragaman genetik populasi semai timoho

| Nama populasi semai | N | Alel privat | | | uHE | %P |
|---------------------|----|-------------|-------------|-------------------|-------|-------|
| | | Jumlah | Nama primer | Ukuran lokus (bp) | | |
| FK | 19 | 1 | OPY11 | 1100 | 0,474 | 77,05 |
| GK | 29 | 2 | OPU5 | 400 | 0,690 | 88,52 |
| | | | OPU15 | 850 | | |
| Total / Rata-rata | 48 | 3 | | | 0,326 | 82,79 |

Keterangan: FK: Fakultas Kehutanan, UGM, GK: Gunungkidul, N: Jumlah sampel yang digunakan dalam analisis, uHE: *unbiased expected heterozygosity*, %P: persentase lokus polimorfik

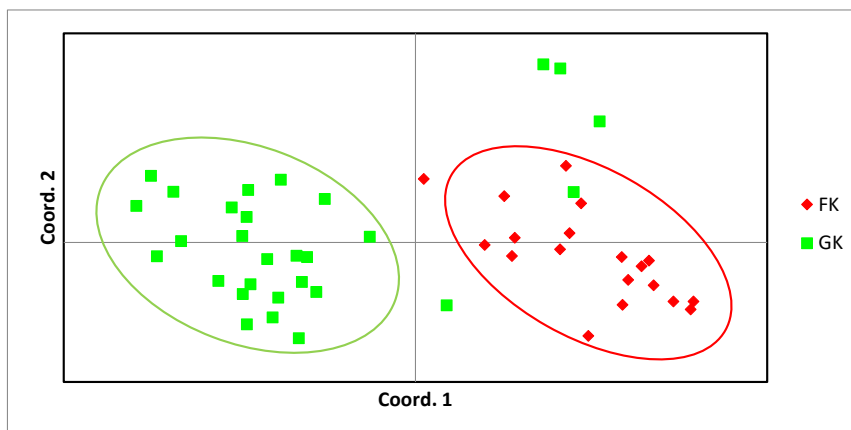


Gambar 3. Performa alel privat yang hanya ditemukan pada populasi GK, ditunjukkan oleh primer OPU5 pada ukuran 400 bp

Keterangan: L: marka 100bp

Analisis keragaman genetik antar populasi semai ditunjukkan dengan parameter jarak genetik dan analisis PCoA. Nilai jarak genetik antar populasi semai GK dan FK termasuk besar ($D_a=0,119$); menunjukkan perbedaan genetik populasi GK dan FK cukup besar. Analisis PCoA menunjukkan bahwa nilai persentase variasi pada koordinat 1 (17,7 %)

lebih tinggi dibandingkan koordinat 2 (13,5) sehingga analisis dibaca dari koordinat 1 (Gambar 4). Individu-individu GK cenderung mengelompok satu dengan yang lain dalam populasi GK, demikian juga dengan individu-individu FK mengelompok dalam populasi FK (Gambar 4).



Gambar 4. Analisis prinsip koordinat (PCoA) 48 sampel timoho asal Gunungkidul (GK) dan Fakultas Kehutanan (FK)

B. Pembahasan

1. Screening penanda RAPD pada timoho

Studi keragaman genetik menggunakan penanda RAPD sudah banyak dilakukan. Pada penelitian ini, keberhasilan *screening* primer RAPD pada timoho cukup besar (7 dari 22 ~ 30%). Keberhasilan *screening* primer akan besar apabila dekat secara taksonomi, misalnya pada jenis-jenis pada genus yang sama (Nurtjahjaningsih, Haryanti, Widyatmoko, Indrioko, & Rimbawanto, 2015; Nurtjahjaningsih et al., 2017; Rath, Rajaseger, Goh, & Kumar, 1998). Keberhasilan *screening* juga besar pada sampel DNA yang mempunyai kualitas DNA yang baik (rasio 1,8 -2,0 pada 260 nm/ 280 nm). Sebaliknya rasio DNA di luar kisaran tersebut sering tidak teramplifikasi pada proses PCR. Untuk mengatasi kualitas DNA yang kurang baik, dilakukan pengulangan pemurnian DNA (proses presipitasi). Keberhasilan *screening* juga dipengaruhi oleh kualitas primer yang digunakan; primer dengan penyimpanan yang kurang baik menyebabkan kerusakan pada susunan basa primer. Region pada susunan basa primer juga berpengaruh terhadap keberhasilan *screening*; set primer A, G, Y menunjukkan region yang dimiliki pada banyak spesies (*conserved regions*) (Nurtjahjaningsih et al., 2015).

Berdasarkan perhitungan frekuensi alel, terdapat > 90% berupa *common allele*; hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar allele tersegresi secara acak (Nurtjahjaningsih, Saito, Tsuda, & Ide, 2007). Selain itu, nilai rata-rata uHE cukup tinggi (rata-rata uHE= 0,375) dengan tingkat polimorfik lokus cukup tinggi (%polimorfik=95%) menunjukkan primer yang digunakan memiliki polimorfisme tinggi. Berdasarkan karakter primer RAPD tersebut di atas, menunjukkan bahwa primer tersebut dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik.

2. Keragaman genetik timoho

Rata-rata nilai keragaman genetik timoho

termasuk sedang (uHE = 0,326) apabila dibandingkan jenis lain yang penyerbukannya juga dibantu oleh serangga seperti jenis-jenis berikut ini; nilainya sebanding dengan nyamplung (uHE= 0,1471-0,3750) (Nurtjahjaningsih, Sulistyawati, Widyatmoko, & Rimbawanto, 2012), kayu kuku (uHE=0,361) (Nurtjahjaningsih, Widyatmoko, & Rimbawanto, 2019) dan gaharu (*A. malaccensis* uHE=0,133-0,328) (Nurtjahjaningsih, Widyatmoko, Haryanto, Yuliah, & Hadiyan, 2020).

Semua parameter keragaman genetik menunjukkan populasi semai GK (uHE=0,351) mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan populasi semai FK (uHE= 0,302). Hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah pohon berbuah di GK lebih banyak dibandingkan di FK. Sistem penyerbukan timoho dibantu serangga, yang merupakan penyerbuk yang cukup efektif (Nurtjahjaningsih et al., 2012).

Penelitian ini juga menunjukkan tiga alel privat yang mencirikan suatu populasi lokus OPY111100 (FK) dan lokus OPU5400, OPU15850 (GK). Tidak ada informasi mengenai asal usul pohon induk yang ada di kedua lokasi. Namun demikian, adanya alel privat menunjukkan ciri khas genetik populasi semai GK dan FK dan dapat menjadi sumber variasi genetik apabila pada kondisi sistem perkawinan yang ideal (Hartl and Clark, 1997). Alel privat juga menjadi salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan genetik antar populasi.

Analisis PCoA menunjukkan individu timoho mengelompok sesuai asal populasi. Analisis ini didukung dengan nilai jarak genetik yang tinggi antara populasi GK dan FK (Da=0,119) menurut klasifikasi Hartl and Clark (1997). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada aliran gen yang terjadi antara populasi tersebut, baik secara alami maupun disengaja karena campur tangan manusia.

3. Implikasi untuk strategi konservasi timoho

Informasi keragaman genetik di dalam dan antar populasi yang diperoleh pada penelitian ini diimplementasikan untuk menyusun strategi konservasi timoho. Adanya alel privat dan tingginya nilai jarak genetik menunjukkan bahwa penanda RAPD yang digunakan mampu membedakan populasi semai GK dan FK. Pada penelitian ini, keragaman genetik populasi semai GK dan FK menunjukkan nilai keragaman yang berbeda. Semai tersebut berasal dari tegakan dengan kondisi sistem reproduksi yang berbeda. Namun keterbatasan penanda DNA yang digunakan belum bisa mengungkap kualitas biji yang dihasilkan, misalnya biji dari hasil kawin kerabat (*inbreeding*) atau *selfing*. Meskipun demikian, untuk menghindari penyimpangan-penyimpangan genetik karena keterbatasan jumlah pohon induk dalam suatu populasi, maka, pertanaman timoho harus memenuhi syarat jumlah individu pohon sehingga keragaman genetik bisa dipertahankan. Hasil simulasi perhitungan nilai keragaman genetik antara pohon induk dan biji yang dihasilkan di hutan tanaman nyamplung, menunjukkan bahwa pohon induk berjumlah 15 pohon mampu mempertahankan keragaman genetik bahkan lebih tinggi di tingkat anakan tergantung sistem reproduksinya (Nurtjahjaningsih et al. 2012). Peran sistem reproduksi lebih penting dibandingkan dengan jumlah pohon dewasa dalam menghasilkan keturunannya juga dilaporkan pada kebun benih semai *P. merkusii* (Nurtjahjaningsih et al. 2007).

Adanya alel privat menunjukkan dua populasi semai tersebut berbeda secara genetik; hal ini didukung oleh nilai jarak genetik yang tinggi. Oleh karena itu, untuk menyusun strategi konservasi, disarankan untuk tidak mencampur populasi semai GK dan FK pada satu areal pertanaman karena dikhawatirkan akan terjadi kontaminasi genetik antar populasi. Keberadaan alel privat juga harus menjadi prioritas dalam

kegiatan konservasi genetik karena alel ini menyimpan informasi mekanisme evolusi sejak jaman lampau (Stojnic et al. 2019). Namun sebaliknya pada strategi pemuliaan, alel privat seperti yang dimiliki oleh populasi semai GK maupun FK berpotensi untuk memperluas keragaman genetik.

IV. KESIMPULAN

Tujuh penanda RAPD yang *discreening* pada DNA timoho bersifat stabil, polimorfik dan bersegregasi secara acak sehingga dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik populasi timoho. Keragaman genetik timoho memiliki nilai sedang dan sesuai dengan jenis lain yang memiliki sistem penyerbukan yang dibantu oleh serangga. Adanya alel privat dapat mengindikasikan suatu populasi dan menjadi komponen penting dalam menyusun strategi konservasi maupun pemuliaan. Nilai jarak genetik yang cukup tinggi dan terbentuknya dua klaster antara individu dari GK dan FK menunjukkan bahwa tidak ada *gene flow* antara dua populasi tersebut, baik secara alami maupun campur tangan manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA KLHK tahun anggaran 2019. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala BBPPBPTH yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dey, M. C., Roy, R. N., & Sinhababu, A. (2017). Fatty acid composition and antibacterial activity of the leaf oil of *Kleinhovia hospita* Linn. *International Journal of ChemTech Research*, 10(3), 378–384.
- Hartl, D.L. and Clark, A.G. (1997). Principles of population genetics 3rd ed. Sinauer Association, Inc. U.S.A. 542p
- Imai, R., Tsuda, Y., Ebihara, A., Matsumoto, S., Tezuka, A., Nagano, A. J., & Watano, Y. (2021). Mating system evolution and genetic structure of diploid sexual populations of *Cyrtomium falcatum* in Japan. *Scientific Reports*, 11, 3124-1-12.

- KEHATI. (2017). Keanekaragaman Hayati Daerah Istimewa Yogyakarta. Retrieved September 30, 2021, from <http://kehati.jogjaprovo.go.id/detailpost/timoho>
- Latiff, A. (2020). *Kleinhovia hospital* L. (PROSEA). Retrieved September 30, 2021, from [https://uses.plantnet-project.org/en/Kleinhovia_hospital_\(PROSEA\)](https://uses.plantnet-project.org/en/Kleinhovia_hospital_(PROSEA))
- National Parks. (2021). Flora & Fauna Web. Retrieved from <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/2/9/2981>
- Nurtjahjaningsih, I., Haryanti, T., Widyatmoko, A., Indrioko, S., & Rimbawanto, A. (2015). Keragaman genetik populasi *Calophyllum inophyllum* menggunakan penanda RAPD (Random Amplification Polymorphism DNA). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 9(2), 91–102.
- Nurtjahjaningsih, I., Saito, Y., Tsuda, Y., & Ide, Y. (2007). Genetic diversity of parental and offspring populations in a *Pinus merkusii* seedling seed orchard detected by microsatellite markers. *Bulletin Tokyo University Forest*, 118, 1–14.
- Nurtjahjaningsih, I., Sukartiningsih, Saranti, A., Sulistyawati, P., & Rimbawanto, A. (2017). Kekerabatan genetik anakan alam ulin (*Eusideroxylon zwageri* TEIJSM. & BINN.) menggunakan penanda Random Amplified Polymorphism DNA. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11(1), 25–32. <https://doi.org/10.20886/jpth.2017.11.1.25-32>
- Nurtjahjaningsih, I., Sulistyawati, P., Widyatmoko, A., & Rimbawanto, A. (2012). Karakteristik pembungaan dan sistem perkawinan nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) pada hutan tanaman di Watusipat, Gunung Kidul. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(2), 65–80.
- Nurtjahjaningsih, I., Widyatmoko, A., Haryjanto, L., Yuliah, & Hadiyan, Y. (2020). Genetic diversity of *Aquilaria malaccensis* from Western Bangka and its implication for manage seed stands. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 14(2), 121 – 128.
- Nurtjahjaningsih, I., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., & Rimbawanto, A. (2019). Keragaman genetik populasi kayu kuku (*Pericopsis mooniana* (Thwaites) Thwaites) di hutan Lamedai berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 13(1), 25–32.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GenAlex 6: Genetic analysis in excel, Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295.
- Rath, P., Rajaseger, G., Goh, C. J., & Kumar, P. P. (1998). Phylogenetic analysis of dipterocarps using random amplified polymorphic DNA markers. *Annals of Botany*, 82, 61–65.
- Shiraishi, S., & Watanabe, A. (1995). Identifikasi of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb et Zucc and *P. thumbergii* Parl based on the polymorphism in rbct gene. *Journal of Japanese Forestry Society*, 77, 429–436.
- Soekanto, N. H., Noor, A., Dini, I., Rudiyanisya, & Garson, M. (2008). Coumarin and steroid compound from stem bark of *Kleinhovia hospital* Linn. In *The International Seminar on Chemistry* (pp. 231–234). Jatinangor.
- Stojnic, S., Avramidou, E., Fussi, B., Westergren, M., Orlovic, S., Matovic, B., ... Konnert, M. (2019). Assessment of genetic diversity and population genetic structure of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karsten) at its Southern lineage in Europe. Implications for conservation of forest genetic resources. *Forests*, 10(258), 1–25.

