

# Sebaran Struktur Genetik Populasi *Salvia japonica* Thunb. (Labiatae) di Kebun Raya Universitas Osaka City, Kisaichi, Osaka Prefektur, Jepang

## Spatial genetic structure of *Salvia japonica* Thunb. population (Labiatae) in Botanical Garden of Osaka City University, Kisaichi, Osaka Prefecture, Japan

SUDARMONO\*

Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor 16002

Diterima: 26 Maret 2005. Disetujui: 1 Juli 2005.

### ABSTRACT

*Salvia japonica* Thunb. (Japan: *Aki-no-Tamurasou*) was a perennial herb, protandry insect-pollinated, and self-incompatible with water-flow dispersed seed. We used allozyme loci to know genetic structure of a *S. japonica* population. We examined spatial autocorrelation of individuals within five distance class with Moran's *I* statistics. The area of observation was in plot 5x5 m<sup>2</sup> in Botanical Garden of Osaka City University, Kisaichi, Katano, Osaka Prefecture. The 8 loci examined were polymorphic, namely *Aat-1*, *Aat-2*, *Pgi*, *Mnr*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Idh*, and *6-Pgd*. Low levels of genetic diversity were found for 29 individuals. Ninety-two percent cases for all of distance class were similar and only 8% (8 of 105 cases) were significant differences. This result indicated that the spatial genetic distributions in all of distance classes were all similar and no spatial autocorrelation of genotypes. Only in distance class 2 had one significantly positive cases (0.15) in *Pgm-1*, indicating that spatial genetic structure in the study population was weak at most. In the other word that spatial pattern of the individuals within *S. japonica* population was random. Overall of the result was indicating that genotype among individuals of *S. japonica* changed distantly and tended to isolation in distance by seed dispersed.

© 2005 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** *Salvia japonica*, spatial autocorrelation, Botanical Garden of Osaka City University, random, isolation, seed.

### PENDAHULUAN

*Salvia japonica* Thunb. (Labiatae) merupakan satu-satunya spesies pada marga *Salvia* yang penyebarannya paling luas di Jepang, Korea, dan Cina (Nakai, 1950). Hasil penelitian tentang struktur genetik pada berbagai populasi di Jepang menunjukkan adanya hubungan yang nyata antara jarak genetik dengan jarak geografi (Sudarmono, 2003). Kondisi geografi merupakan faktor yang paling besar peranannya dalam variasi genetik (32%), diikuti mekanisme kehidupan (25%), serta sistem perkawinan dan penyebaran biji ( $\pm 17\%$ ) (Hamrick dan Godt, 1990).

Menurut Grant (1981) isolasi geografi merupakan salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya pembentukan spesies baru. Pengaruh faktor demografi suatu wilayah seperti adanya perbukitan, sungai, pemukiman, dan hutan erat kaitannya dengan proses penyerbukan. Faktor penyerbuk atau polinator memegang peranan penting khususnya pada tanaman yang perkawinannya terjadi dengan bantuan serangga. Pada penelitian pendahuluan ternyata lebah jenis *Thyreus japonicus* (Apidae), *Ceratina*

*flavipes* (Apidae), dan *Apis indica japonica* (Apidae) merupakan penyerbuk yang dominan (Sudarmono, 2003, pengamatan pribadi). Hasil dari percobaan persilangan antar perlakuan buatan dan secara alami oleh penyerbuk menunjukkan bahwa *S. japonica* termasuk bunga dengan tipe kawin silang dan penyerbukan alami menghasilkan jumlah biji yang lebih sedikit daripada penyerbukan tangan, sebagai indikasi bahwa penyerbuk memegang peranan penting di alam (Sudarmono dan Okada, 2003). Perkawinan silang menyebabkan hasil anakan populasi *S. japonica* yang tumbuh dari biji memiliki keragaman genetik tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara mendalam struktur genetik sebaran individu dalam populasi yang mempunyai keragaman genetik paling tinggi di antara populasi *S. japonica* (Labiatae) di Jepang dengan menggunakan statistik autokorelasi sebaran Indeks Moran (*spatial autocorrelation Moran's I*). Penelitian ini diawali dengan penelitian terhadap 64 populasi *S. japonica* dan 10 populasi dari 8 spesies *Salvia* lainnya sebagai spesies *out group*, yakni: *S. nipponica* Miq., *S. glabrescense* Makino, *S. pygmaea* Matsum., *S. isensis* Nakai ex Hara, *S. lutescens* (Koidz.) Koidz., *S. plebeia* R.Br., *S. hayataana* Hayata, dan *S. arisanensis* Hayata. Selanjutnya pada populasi yang paling tinggi keragamannya dibuat plot di dalamnya yang disesuaikan dengan ukuran populasi dan jarak individu tumbuhan. Akhirnya pada populasi tersebut dianalisis kondisi struktur genetik antar individu dalam populasi tersebut berdasarkan kelas jarak tertentu.

#### \* Alamat korespondensi:

<sup>1</sup> Jl. Ir. H. Juanda No. 13, Bogor 16002, Jawa Barat, Indonesia

Tel. & Fax.: +62-251-322187

<sup>2</sup> Botanical Garden of Osaka City University, Kisaichi, Osaka Prefektur

576-0004, Jepang.

Tel. & Fax. +81-72-891-7199

e-mail: s\_darmono@yahoo.com

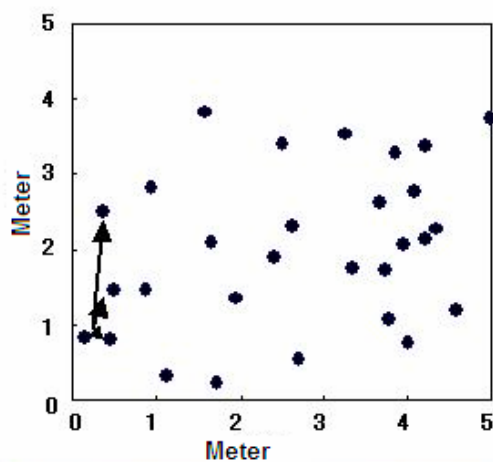
## BAHAN DAN METODE

Total sampel 2043 individu yang terdiri dari 1785 individu *Salvia japonica* (64 populasi), 45 individu *S. nipponica* (2 populasi), 24 individu *S. glabrescense* (1 populasi), 35 individu *S. pygmaea* (1 populasi), 37 individu

*S. isensis* (1 populasi), 47 individu *S. lutescense* (2 populasi), 10 individu *S. plebeia* (1 populasi), yang merupakan tumbuhan dari Jepang sedangkan 2 populasi dari Taiwan yaitu *S. hayatana* (36 individu) dan *S. arisanensis* (24 individu). Daftar lokasi sampel beserta habitatnya dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Nama spesies, nomor populasi, lokasi dan jumlah individu yang diperiksa (N) pada *Salvia* di Jepang dan Taiwan. Nama tanaman dalam bahasa Jepang tertulis dalam kurung.

Spesies	Pop. No.	Lokasi Populasi	N	Habitat
<i>S. japonica</i> (Aki-no-Tamurasou)	1.	Kisaichi, Katano, Osaka Prefektur	57	teduh, liat berpasir
	2.	Taman Nasipadaal Hoshida, Osaka Pref.	46	tepi saluran air, tempat berpasir
	3.	Himuro-dai, Hirakata, Osaka Pref.	39	tepi saluran air, tempat berpasir
	4.	Tsuburpadaara Pref.	42	pematang sawah
	5.	Sakura, Ouda-chpadaara Pref.	27	tepi saluran air, lereng berrumput
	6.	Hatano, Oyodo-cho, Yoshino-gun, Nara Pref.	38	tempat berpasir berlumut
	7.	Washiyama, Seki-cho, Mie Pref.	10	lembab dan pematang sawah
	8.	Shimagahara-mura, Mie Pref.	35	aliran air dan sisi jalan
	9.	Ueno, Mie Pref.	25	semak, lembab
	10.	Oyamada-mura, Mie Pref.	22	tepi hutan, aliran air dan tepi sawah
	11.	Iwagami, Aoyama-cho, Mie Pref.	26	tepi saluran air, lereng berrumput berlumut
	12.	Funa-cho, Toba, Mie Pref.	30	sisi jalan, liat berpasir
	13.	Ise, Mie Pref.	41	tepi saluran air, tempat berpasir
	14.	Asakuma, Kinshinshi, Mie Pref.	19	teduh tempat, tepi sungai
	15.	Asakuma Mt., Ise, Mie Pref.	22	tempat berpasir, liat atau sebagian batu kapur
	16.	Isobe-cho, Mie Pref.	37	tepi saluran air
	17.	Nachi Katsuura-cho, Wakayama Pref.	22	teduh tempat, sebagian batu kapur
	18.	Pulau Ooshima, Wakayama Pref.	15	tempat berpasir, tempat terbuka
	19.	Kasagi-cho, Kyoto Pref.	28	lereng berrumput
	20.	Wazuka-cho, Kyoto Pref.	23	pematang sawah
	21.	Hiyoshi, Kyoto Pref.	45	tepi saluran air
	22.	Ukyoku, Umegahata-cho, Kyoto Pref.	37	tepi sungai, tempat berpasir
	23.	Nougami, Keihoku, Kyoto Pref.	36	tepi saluran air, tempat berpasir
	24.	Kyoutanabe, Kyoto Pref.	49	aliran air dan pematang sawah
	25.	Ritto, Shiga Pref.	45	tepi hutdanan pematang sawah
	26.	Shigaraki-cho, Shiga Pref.	16	tepi saluran air, tempat berpasir
	27.	Koonan-cho, Shiga Pref.	21	tepi hutan pinus, aliran air dan sisi jalan
	28.	Tsuchiyama-cho, Shiga Pref.	34	tepi hutan, lembab
	29.	Hiezan Mt., Shiga Pref.	29	tempat berpasir, teduh
	30.	Sakauchi-mura, Kawakami, Gifu Pref.	42	tepi saluran air, tempat berpasir
	31.	Oodaira, Hamakita, Shizuoka Pref.	19	tempat berpasir
	32.	Mt. Hooraiji, Hooraiji-cho, Aichi Pref.	25	liat atau sebagian batu kapur
	33.	Shinjo, Aichi Pref.	14	tepi sawah, lembab
	34.	Asama Mt., Kanagawa Pref.	19	liat atau sebagian batu kapur
	35.	Yamazaki-cho, Hyogo Pref.	27	tepi saluran air
	36.	Kaibara-cho, Hyogo Pref.	16	tepi saluran air, tempat berpasir
	37.	Ichinomiya-cho, Hyogo Pref.	9	aliran air dan sisi jalan
	38.	Chikusa-cho, Hyogo Pref.	42	aliran air dan sisi jalan
	39.	Oohara-cho, Okayama Pref.	19	endapan sungai
	40.	Kanba, Maniwa-gun, Okayama Pref.	33	lereng berrumput, sisi jalan
	41.	Katsuyama-gun, Okayama Pref.	29	sisi jalan
	42.	Yatsuka-mura, Maniwa-gun, Okayama Pref.	24	jalan tepi saluran air
	43.	Hiruzen, Kawakami-mura, Okayama Pref.	11	tepi saluran air
	44.	Chizu-cho, Tottataui Pref.	42	tepi saluran air dan lereng berrumput berlumut
	45.	Shiraichi, Higashi Hiroshima, Hiroshima Pref.	14	tepi saluran air, tempat berpasir
	46.	Meise-gun, Kamiyama-cho, Tokushima Pref.	24	sawah dan tepi saluran air
	47.	Tokushima, Tokushima Pref.	18	tempat berpasir, lembab
	48.	Yamashiro-cho, Tokushima Pref.	40	tepi hutan, teduh area
	49.	Opadao, Yamashiro-cho, Tokushima Pref.	31	tepi sungai dan tempat berpasir
	50.	Uma-gun, Ehime Pref.	23	tepi sawah dan lereng berrumput
	51.	Uwa-cho, Ehime Pref.	23	jalan tepi saluran air
	52.	Oozu, Ehime Pref.	22	tepi hutdanan lereng berrumput berlumut
	53.	Kochi, Kochi Pref.	15	jalan tepi saluran air
	54.	Susaki, Kochi Pref.	22	tepi saluran air
	55.	Ogata-cho, Kochi Pref.	5	teduh dan tempat berpasir
	56.	Kadogawa-cho, Miyazaki Pref.	40	tepi saluran air, tempat berpasir
	57.	Hyuuga, Miyazaki Pref.	14	sisi jalan, lereng berrumput berlumut
	58.	Aoidake-mura, Miyazaki Pref.	36	tepi saluran air, sisi jalan
	59.	Mimata-cho, Miyazaki Pref.	25	tepi perkebunan pinus dan sawah
	60.	Yasuhisha-gun, Nishi Myakpadaoju-cho, Miyazaki Pref.	16	sisi jalan tepi hutan
	61.	Kitamata-mura, Kagoshima Pref.	69	tepi sawah, lembab
	62.	Takarabe-cho, Kagoshima Pref.	30	sisi jalan, lereng berrumput berlumut
	63.	Mochibaru-gun, Kagoshima Pref.	10	tepi hutdanan sawah
	64.	P. Amami (Amami oshima), Kagoshima Pref.	21	liat atau sebagian batu kapur
		subtotal	1785	
<i>S. nipponica</i> (KibanaAkigiri)	65.	Pulau Kinkasan, Oshika-cho, Miyagi Pref.	23	liat atau sebagian batu kapur
	66.	Chizu-cho, Tottori Pref.	22	tepi saluran air, tempat berpasir
		subtotal	45	
<i>S. glabrescense</i> (Akigiri)	67.	Miyazu, Kyoto Pref.	24	sisi jalan, lembab dan teduh tempat
<i>S. pygmaea</i> (Hime-Tamurasou)	68.	Sungai Sumiyoh, P. Amami, Kagoshima Pref.	35	endapan sungai
<i>S. isensis</i> (Shimaji-Tamurasou)	69.	Gunung Asakuma, Mie Pref.	37	liat atau sebagian batu kapur
<i>S. lutescens</i> (Natsuno-Tamurasou)	70.	Shinjo, Aichi Pref.	7	liat berpasir dan tanah berrumput
	71.	G. Yazu, Hisai, Mie Pref.	40	liat berpasir, lembab dan teduh tempat
		subtotal	47	
<i>S. plebeia</i> (Mizokoju)	72.	Kizu, Tatara, Kyotanabe, Kyoto Pref.	10	tanah berrumput pada endapan sungai
<i>S. hayatana</i> (Yanbaru-Tamurasou)	73.	Wu shinpi, Wu-yen Chiao, Taiwan	36	
<i>S. arisanensis</i> (Arisan-Tamurasou)	74.	G. Ho-huan Shan, Taiwan	24	
		Jumlah total	2043	



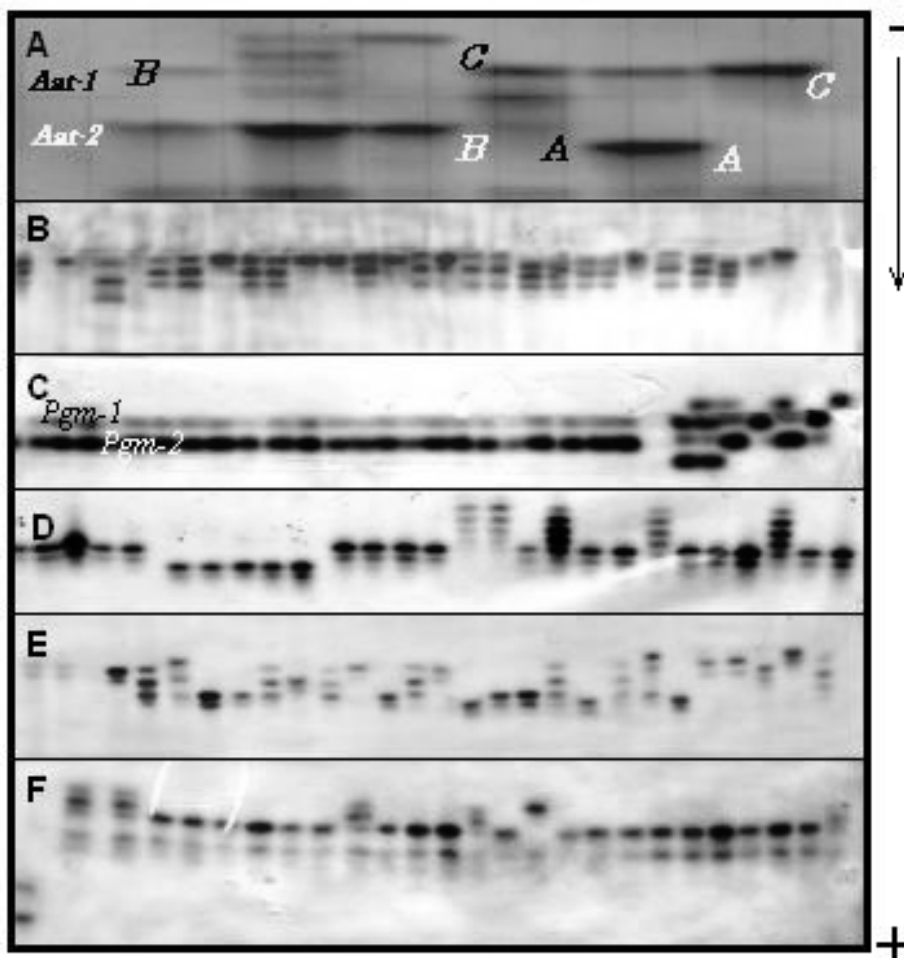
**Gambar 1.** Lokasi sebaran 29 individu *S. japonica* dan tanda panah menunjukkan intermediet jarak kelas.

Satu daun setiap individu disimpan pada suhu  $-4^{\circ}\text{C}$  hingga ekstraksi protein. Pada proses ekstraksi, daun dilarutkan dengan 0,1 M Tris-HCl pH 7,5, 0,1% 2-mercaptoethanol, 0,001 M EDTA (tetrasodium salt) lalu

diserap dengan kertas filter (Whatman No. 3) (Sudarmono, 2003). Elektroforesis dilakukan secara vertikal (Shiraishi, 1988) menggunakan 7,5% gel poliakrilamid untuk sistem enzim Aat (aspartate aminotransferase), Est (esterase), Gdh (glutamate dehydrogenase), Me (malic enzyme), dan Rbc (ribulose-bisphosphate carboxylase), sedangkan elektroforesis secara horisontal (Soltis *et al.*, 1983) menggunakan 12% gel pati dilakukan untuk sistem enzim Pgi (phosphoglucosomerase), Pgm (phosphoglucumutase), Mnr (menadione reductase), Idh (isocitrate dehydrogenase), 6-Pgd (6-phosphoglucapadaate dehydrogenase), dan Mdh (malate dehydrogenase). Resep pewarnaan dicuplik dari Soltis *et al.* (1983) serta Wendel dan Weeden (1989) dengan beberapa modifikasi (Sudarmono, 2003). Sebanyak 19 loci muncul untuk *S. japonica* dari 11 sistem enzim tersebut. Loci dirancang berturutan dengan mengikuti arah pergerakan arus listrik elektrofotometer (4,5 jam, 300 volt) dari negatif (anoda) ke positif (katoda). Rancangan untuk loci adalah apabila terdapat pola pita (*band*) yang berbeda ketebalan, warna atau pola horisontalnya, secara berturut-turut dengan angka 1, 2 dan seterusnya, sedangkan untuk alel dirancang berturutan sesuai gerakan anoda dengan huruf a, b, c dan seterusnya.

Variasi genetik populasi dihitung dan analisis data semua kelas jarak dihitung dengan program komputer POPGEN ver. 1.31 (Yeh *et al.*, 1999) untuk menentukan parameter: persentase polimorfik loci ( $P\%$ ), rata-rata jumlah alel per lokus ( $A$ ), rata-rata jumlah alel efektif ( $A_e$ ), rata-rata heterozigot yang diamati ( $H_o$ ) dan diharapkan  $H_e$  (observed and expected heterozygote), rata-rata homozigot yang diamati ( $h_o$ ) dan diharapkan  $h_e$  (observed and expected homozygote), juga indeks fiksasi  $F_{IS}$ . Program komputer FSTAT (Goudet, 2000) digunakan untuk menganalisis keragaman genetik ( $G_{ST}$ ). Variasi genetik pada tingkat populasi (74 populasi) dihitung dan pada populasi dengan keragaman genetik ( $P\%$ ,  $A$ ,  $A_e$ ,  $H_o$ ,  $H_e$ ) yang paling tinggi dianalisis struktur genetiknya dengan menggunakan Analisis Autokorelasi Sebaran.

Di dalam populasi dengan keragaman genetik yang paling tinggi dibuat plot. Selanjutnya daun sampel dikumpulkan dari individu dalam plot berukuran  $5 \times 5 \text{ m}^2$ , pada populasi yang tertinggi keragaman genetiknya tersebut (Gambar 1). Pada areal ini *S. japonica* tumbuh dominan di antara rerumputan jenis bambu-bambuan pendek dengan kondisi sekitarnya hamparan terbuka. Vegetasi pada lokasi tersebut belum pernah terbakar dan tidak ada bukti bahwa mereka ditanam dengan sengaja. Tindakan disturbansi



**Gambar 2.** A. Tingginya heterozigositas pada dimerik sistem enzim AATt populasi *S. japonica* di Kisaichi. Alel hitam (AA, AB, BB) sebagai lokus Aat-1 dan alel putih (AA, BB, CC, BC) sebagai lokus Aat-2. B. Enzim PGI. C. Enzim PGM (lokus Pgm-1 dan Pgm-2). D. Enzim MNR. E. Enzim 6-PGD. F. Enzim IDH. Tanda panah sebagai pergerakan enzim dari arus negatif ke positif.

**Tabel 2.** Rata-rata variasi alozim pada tingkat populasi dan spesies pada *Salvia* dan perbandingan pada kategori yang berbeda pada taksa tumbuhan menurut Hamrick dan Godt (1990). N= jumlah individu; SE= standard error.

Spesies	No. Pop.	N	Indeks Keragaman Genetik				
			P%	A	Ae	Ho	He
S. japonica	1	57	43,75	1,50	1,26	0,210	0,151
	2	46	25	1,25	1,19	0,128	0,098
	3	39	0	1,00	1,00	0	0
	4	42	37,5	1,38	1,22	0,168	0,127
	5	27	18,75	1,19	1,12	0,109	0,070
	6	38	25	1,25	1,18	0,112	0,102
	7	10	25	1,25	1,25	0,25	0,132
	8	35	18,75	1,19	1,19	0,188	0,095
	9	25	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	10	22	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	11	26	12,5	1,13	1,12	0,111	0,062
	12	30	12,5	1,13	1,04	0,038	0,032
	13	41	31,25	1,31	1,13	0,124	0,086
	14	19	0	1,00	1,00	0	0
	15	22	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	16	37	0	1,00	1,00	0	0
	17	22	6,25	1,06	1,03	0,021	0,084
	18	15	25	1,25	1,19	0,192	0,101
	19	28	18,75	1,19	1,15	0,143	0,079
	20	23	18,75	1,19	1,18	0,125	0,093
	21	45	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	22	37	18,75	1,19	1,13	0,086	0,071
	23	36	0	1,00	1,00	0	0
	24	49	6,25	1,06	1,01	0,004	0,006
	25	45	0	1,00	1,00	0	0
	26	16	25	1,25	1,16	0,090	0,100
	27	21	12,5	1,13	1,08	0,080	0,048
	28	34	6,25	1,06	1,05	0,011	0,028
	29	29	6,25	1,13	1,04	0,019	0,026
	30	42	12,5	1,13	1,06	0,054	0,043
	31	19	12,5	1,13	1,13	0,125	0,064
	32	25	12,5	1,13	1,12	0,110	0,062
	33	14	12,5	1,13	1,13	0,125	0,065
	34	19	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	35	27	12,5	1,13	1,09	0,028	0,054
	36	16	12,5	1,13	1,13	0,125	0,065
	37	9	6,25	1,06	1,04	0,035	0,027
	38	42	12,5	1,13	1,13	0,125	0,063
	39	19	12,5	1,13	1,07	0,066	0,035
	40	33	12,5	1,13	1,12	0,104	0,063
	41	29	12,5	1,13	1,07	0,065	0,034
	42	24	0	1,00	1,00	0	0
	43	11	0	1,00	1,00	0	0
	44	42	12,5	1,13	1,13	0,125	0,063
	45	14	12,5	1,13	1,07	0,063	0,041
	46	24	12,5	1,13	1,13	0,125	0,064
	47	18	18,75	1,19	1,16	0,090	0,086
	48	40	18,75	1,19	1,19	0,188	0,095
	49	31	25	1,25	1,15	0,077	0,089
	50	23	25	1,25	1,25	0,250	0,128
	51	23	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	52	22	12,5	1,13	1,09	0,089	0,054
	53	15	25	1,25	1,25	0,250	0,129
	54	22	25	1,25	1,23	0,224	0,123
	55	5	25	1,25	1,25	0,250	0,139
	56	40	31,25	1,31	1,29	0,267	0,152
	57	14	31,25	1,31	1,29	0,281	0,154
	58	36	25	1,25	1,25	0,250	0,127
	59	25	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	60	16	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	61	69	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
	62	30	12,5	1,13	1,13	0,125	0,064
	63	10	18,75	1,19	1,19	0,188	0,099
	64	21	12,5	1,13	1,13	0,125	0,064
Rata-rata pada tingkat spesies			75	2,56	1,48	0,100	0,245
S. nipponica	65	23	12,5	1,13	1,13	0,125	0,064
	66	22	18,75	1,19	1,17	0,161	0,090
Rata-rata pada tingkat spesies			25	1,25	1,22	0,144	0,118
S. glabrescense	67	24	6,25	1,06	1,03	0,029	0,023
S. pygmaea	68	35	6,25	1,06	1,03	0	0,020
S. isensis	69	37	0	1,00	1,00	0	0
S. lutescens	70	7	12,5	1,13	1,13	0,125	0,067
	71	40	18,75	1,19	1,15	0,148	0,083
Rata-rata pada tingkat spesies			25	1,25	1,16	0,145	0,088
S. plebeia	72	10	6,25	1,06	1,06	0,063	0,033
S. hayatana	73	36	18,75	1,19	1,19	0,188	0,095
S. arisanensis	74	24	6,25	1,06	1,06	0,063	0,032
Rata-rata total (SE)			13,93(1,11)	1,14(0,01)	1,11(0,01)	0,103(0,009)	0,063(0,005)
Batasan geografi; tersebar luas			43,0 (2,0)	1,72 (0,04)	1,23 (0,02)	-	0,159 (0,007)
Batasan geografi; regional			36,4 (2,0)	1,55 (0,04)	1,16 (0,02)	-	0,118 (0,007)
Sistem penyerbukan; perkawinan oleh binatang			35,9 (1,8)	1,54 (0,03)	1,17 (0,01)	-	0,124 (0,008)
Semusim umur panjang; herbaceous			39,3 (16,2)	1,44 (0,20)	1,14 (0,05)	-	0,084 (0,028)

Keterangan: \*Pp, persentase loci polimorfik; A, rata-rata jumlah alel per lokus; Ae, rata-rata jumlah alel per loci polimorfik; Ho, heterozigosity yang diamati; He, heterozigosity yang diharapkan.

antropogenik yang dilakukan hanya berupa pemangkasan. Individu-individu *S. japonica* diklasifikasikan dalam 5 kelas jarak sebagai berikut 0-1 meter, 1-2 m, 2-3 m, 3-4 m, 4-5 m sebagai kelas jarak 1, 2, 3, 4 dan 5 berturut-turut (Takahashi, 2003). Distribusi sebaran alozim polimorfik dianalisis terpisah dengan menggunakan Indeks Moran untuk setiap kelas jarak (Sokal dan Oden, 1978).

Genotip untuk masing-masing alel dikonversi dengan nilai 0,0 (alel *aa*), 0,5 (alel *ab*) atau 1,0 (alel *bb*), dan seterusnya. Hanya satu alel diperoleh pada loci dialel sebab alel kedua menyumbangkan info identik. Setiap pasangan yang mungkin pada individu dipertimbangkan sebagai suatu 'join' antara 2 individu. Batas atas dan bawah untuk kelas jarak (intermediat) untuk masing-masing kelas hasilnya sama dengan jumlah pasangan ('join'). Statistik Indeks Moran dihitung untuk masing-masing 5 kelas jarak dengan rumus (Sokal dan Oden, 1978):

$$S_0 = \frac{N \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N w_{ij} Z_i Z_j}{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N w_{ij}, i \neq j}$$

N: jumlah individu dalam populasi;  $W_{ij}$ : unsur matrik yang berhubungan atau bobot misalnya  $W_{ij} = 1$  jika pasangan pada individu *i* dan *j* adalah pada kelas jarak 1.  $Z_i = X_i - \bar{X}$ ,  $Z_j = X_j - \bar{X}$ ; variasi  $X_i$  dan  $X_j$  adalah nilai genotip untuk individu *i* dan *j* berturut-turut.  $\bar{x}$  adalah rata-rata nilai genotip untuk semua individu dan  $S_0$  adalah jumlah bobot. Nilai positif nyata pada  $I_k$  menunjukkan bahwa pasangan individu yang terpisah oleh jarak pada kelas jarak *k* mempunyai hubungan alel yang sama daripada peluang umumnya yang diharapkan. Nilai negatif nyata menunjukkan individu mempunyai hubungan alel yang berbeda daripada umumnya. Seluruh korelogram antar individu pada kelas jarak diuji menggunakan uji kriteria Bonferroni. Semua hitungan analisis statistik ditampilkan menggunakan PSWinD versi 1.1.1. (Takahashi, 2003).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 74 populasi yang diteliti (Tabel 2), diketahui bahwa keragaman genetik paling rendah

ditemukan pada 7 populasi *S. japonica* (populasi no. 3, 14, 16, 23, 25, 42 dan 43) dan 1 populasi *S. isensis* (populasi no. 69). Keragaman genetik paling tinggi terdapat pada populasi no. 1 yaitu di Kisaichi (Kebun Raya Universitas Osaka City). Tingginya keragaman genetik didasarkan pada kategori menurut Hamrick dan Godt (1990). Pada Tabel 2 empat baris terakhir dengan jelas ditunjukkan bahwa populasi no. 1 pada *S. japonica* memiliki keragaman genetik paling tinggi yaitu persentase polimorfik loci ( $P = 44\%$ ), rata-rata jumlah alel per lokus ( $A = 1,5$ , rata-rata jumlah alel efektif ( $A_e = 1,3$ , rata-rata heterozigot yang diamati ( $H_o = 0,2$  dan diharapkan  $H_e = 0,15$  ini lebih tinggi dari populasi dengan sebaran yang luas (regional) atau lebih tinggi dari populasi tumbuhan yang penyerbukannya dilakukan oleh hewan atau lebih tinggi dari populasi tumbuhan herba semusim.

Gambar 2 memperlihatkan, enzim *Aat-1* dan *Aat-2* memiliki alel AA, AB, BB sebagai lokus *Aat-1* dan alel AA, BB, CC, BC sebagai lokus *Aat-2*. Ternyata dari 19 loci yang muncul hanya 8 loci (lihat Gambar 2) yang polimorfik (*Aat-1*, *Aat-2*, *Pgi*, *Mnr*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Idh*, dan *6-Pgd*), lainnya monomorfik kecuali yang *Est* sebenarnya polimorfik namun tidak digunakan karena adanya tumpang tindih pada setiap loci. Delapan loci yang ada memiliki 21 alel yaitu; *Aat-1* (3 alel), *Aat-2* (3 alel), *Pgi* (2 alel), *Pgm-1* (3 alel), *Pgm-2* (3 alel), *Mnr* (2 alel), *Idh* (3 alel), dan *6-Pgd* (3 alel). Di luar perhitungan kelas jarak, keragaman genetik 29 individu adalah rendah (Tabel 3), mengingat jumlah alel rata-rata (0,38) jauh dari rata-rata jumlah alel efektif (1,5); begitu juga dengan rata-rata heterozigositas yang diamati (0,17) dibandingkan yang diharapkan (0,31), indikasinya homozigositas lebih besar (0,69). Keragaman genetik rendah (0,32) karena kurang dari 0,5 dan rata-rata indeks fiksasi positif (0,382) menunjukkan bahwa *inbreeding* atau perkawinan sendiri lebih dominan.

Uji statistik autokorelasi sebaran kelas jarak (Tabel 4), 92% (97 koefisien dari 105 koefisien) untuk semua kelas jarak adalah sama, hanya 8% atau 8 koefisien yang nyata berbeda. Hasil ini menunjukkan bahwa distribusi genetik pada semua kelas jarak adalah sama atau tidak ada autokorelasi sebaran genotip. Dari masing-masing kelas jarak dengan 21 alel, pada kelas jarak 1, 2 dan 3 yang berbedanya hanya 1 koefisien (5%), pada kelas jarak 4 terdapat 2 koefisien (9,5%), dan pada kelas jarak 5 terdapat 3 koefisien (14%). Hanya kelas jarak 2 yang mempunyai 1 koefisien positif berbeda nyata (0,15), yakni pada alel *Pgm-1c* (Tabel 4 dan Gambar 3). Gambar 3 menunjukkan bahwa rata-rata koefisien dari semua alel yang mempunyai nilai positif hanya pada kelas jarak 2, lainnya negatif. Hal ini menunjukkan bahwa struktur genetik sebaran pada populasi yang diteliti pada umumnya lemah, pola sebaran individu-individu bersifat acak.

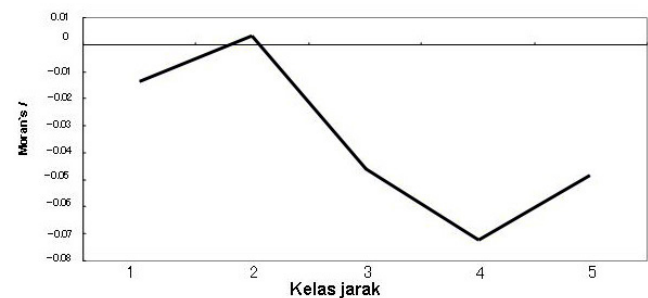
**Tabel 3.** Ringkasan keragaman genetik pada 8 loci polimorfik populasi *S. japonica* (no. 1) di Kebun Raya Universitas Osaka City, Kisaichi. SE= standard error.

Parameter	
Jumlah sampel	29
% loci polimorfik	100
Rata-rata jumlah alel (SE)	0,38 (0,079)
Rata-rata jumlah alel efektif (SE)	1,5 (0,116)
Rata-rata heterozigot yang diamati (SE)	0,17 (0,014)
Rata-rata heterozygot yang diharapkan (SE)	0,31 (0,025)
Rata-rata homozigot yang diamati (SE)	0,83 (0,026)
Rata-rata homozigot yang diharapkan (SE)	0,69 (0,047)
Keragaman genetik; $G_{ST}$ (SE)	0,32 (0,049)
Rata-rata indeks fiksasi; $F_{IS}$ (SE)	0,382 (0,076)

**Tabel 4.** Statistik autokorelasi sebaran Moran's  $I$  pada masing-masing alozim dan kelas jarak 29 individu dalam plot populasi no. 1.

Alel	Kelas jarak (intermediet, meter)					Fis	Frek, alel
	1 (0,61)	2 (1,54)	3 (2,21)	4 (2,98)	5 (4,52)		
<i>Aat-1</i> <sup>a</sup>	-0,02	-0,08	-0,04	-0,14	0,1	1	0,143
<i>Aat-1</i> <sup>b</sup>	-0,01	-0,01	-0,07	-0,02	-0,07	0,836	0,679
<i>Aat-1</i> <sup>c</sup>	-0,049	-0,09	-0,03	-0,01	0,002	0,757	0,179
<i>Aat-2</i> <sup>a</sup>	-0,092*	-0,028	-0,028	-0,028	-0,0021	-0,018	0,018
<i>Aat-2</i> <sup>b</sup>	-0,12	0,08	-0,14	-0,1	0,1	0,073	0,839
<i>Aat-2</i> <sup>c</sup>	-0,01	0,08	-0,21*	-0,05	0,02	0,125	0,143
<i>Pgi</i> <sup>a</sup>	0,03	-0,03	0,07	-0,11	-0,14	0,462	0,071
<i>Pgi</i> <sup>b</sup>	0,085	-0,069	0,002	0,09	-0,28**	0,462	0,929
<i>Pgm-1</i> <sup>a</sup>	-0,13	-0,04	0,13	-0,08	-0,06	-0,057	0,054
<i>Pgm-1</i> <sup>b</sup>	-0,12	0,2	-0,02	-0,01	-0,23*	0,603	0,839
<i>Pgm-1</i> <sup>c</sup>	-0,14	0,15*	-0,09	-0,05	-0,05	0,627	0,107
<i>Pgm-2</i> <sup>a</sup>	0,06	-0,06	-0,02	-0,06	-0,1	0,648	0,054
<i>Pgm-2</i> <sup>b</sup>	0,12	0,07	-0,02	-0,06	-0,29**	0,510	0,875
<i>Pgm-2</i> <sup>c</sup>	-0,12	0,09	-0,08	-0,005	-0,05	-0,077	0,071
<i>Mnr</i> <sup>a</sup>	-0,035	-0,02	0,07	-0,13	-0,06	0,125	0,014
<i>Mnr</i> <sup>b</sup>	-0,04	-0,04	-0,02	-0,1	0,03	0,125	0,875
<i>Idh</i> <sup>a</sup>	-0,07	0,07	-0,07	-0,03	-0,09	-0,143	0,125
<i>Idh</i> <sup>b</sup>	0,08	-0,16	-0,16	-0,02	0,08	0,533	0,643
<i>Idh</i> <sup>c</sup>	0,15	-0,05	-0,2	-0,18	0,1	0,900	0,232
<i>6-Pgd</i> <sup>a</sup>	0,045	0,01	-0,05	-0,22*	0,04	0,270	0,821
<i>6-Pgd</i> <sup>b</sup>	0,1	-0,01	0,01	-0,21*	-0,07	0,270	0,179
<b>Rata-rata</b>	<b>-0,014</b>	<b>0,003</b>	<b>-0,046</b>	<b>-0,073</b>	<b>-0,049</b>	<b>0,382</b>	<b>0,376</b>
<b>SE</b>	<b>0,020</b>	<b>0,019</b>	<b>0,018</b>	<b>0,016</b>	<b>0,025</b>	<b>0,076</b>	<b>0,079</b>

Keterangan: SE= standard error,  $F_{IS}$ : indeks fiksasi. Berbedanya pada level 5%, \*\*berbeda nyata pada level 1%.



**Gambar 3.** Korelogram pada statistik autokorelasi Moran's  $I$ , sebagai fungsi jarak 29 individu untuk rata-rata genotip alozim.

Pada tingkat populasi, populasi No. 1 (Kisaichi) memiliki keragaman genetik paling tinggi dengan jumlah individu yang diperiksa sebanyak 57 individu; untuk lebih meyakinkan maka 29 individu di dalamnya dengan variasi jarak yang berbeda-beda diperiksa struktur genetiknya. Hal ini didasarkan pada penelitian Van Treuren dan Ouborg. (1993), yang menyatakan bahwa keragaman genetik pada tumbuhan semusim dan langka *Salvia pratensis* dipengaruhi oleh ukuran populasi dan depresi *inbreeding*. Tumbuhan tersebut mempunyai ukuran populasi yang menyempit dan terjadi tekanan *inbreeding*, sehingga menyebabkan cepatnya laju tingkat kepunahan. Sebaliknya semakin luas ukuran populasi dan semakin tingginya perkawinan silang antar individu maka variasi genetik akan meningkat seperti pada populasi *S. japonica* di Kisaichi.

Analisis keragaman genetik untuk spesies yang sebarannya luas pada tingkat populasi (Tabel 2) yaitu persentase polimorfik loci 43%, rata-rata jumlah alel 1,72, rata-rata jumlah alel efektif 1,23 dan rata-rata heterozigositas yang diharapkan 0,159, maka heterozigositas yang diharapkan ( $H_e$ ) pada populasi *S. japonica* (0,31) lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa heterozigositas sangat berperan dalam proses pembentukan struktur genetik. Setiap populasi mempunyai struktur genetik yang berbeda-beda. Menurut Chung *et al.*

(2000), pembentukan struktur genetik pada *Neolitsea sericea* di Korea bagian selatan terjadi karena adanya faktor reproduktif (serbuk sari) dan komponen penyebar biji (burung). Menurut Dewey dan Heywood (1988) struktur genetik sebaran pada *Psychotria nervosa* hampir tidak ada, hal ini menunjukkan rendahnya keragaman genetik dan arus gen sehingga habitatnya perlu segera dilindungi. Populasi *S. japonica*, antar individu pada kelas jarak terdekat (1,54 m) umumnya homogen (korelasinya positif) (Gambar 3) artinya genotipnya seragam. Hal ini kemungkinan karena perkembangbiakannya terjadi melalui bagian vegetatif, mengingat *S. japonica* dapat diperbanyak melalui stek; kemungkinan tumbuh dari bekas pemangkasan (pembersihan rutin). Sedangkan pertumbuhan melalui biji lebih banyak menghadapi kendala terutama iklim dan serangan pemakan biji.

Tumbuhan *S. japonica* tersebar cukup luas di beberapa tempat di Jepang bagian barat, sehingga dengan mudah dapat ditemukan terutama pada lokasi yang teduh, lembab dan dengan media pasir atau drainase lancar (Tabel 1). Begitu pula populasi yang ada dalam Kebun Raya Universitas Osaka City, Kisaichi, Osaka Prefektur, Jepang yang arealnya berbukit-bukit. Apabila turun hujan maka areal yang cekung menjadi tempat penampungan biji-bijian termasuk biji *S. japonica*, sehingga ada kemungkinan biji-bijian dari berbagai individu di beberapa lokasi terkumpul dalam cekungan tadi, lalu tumbuh dan berkembang selama bertahun-tahun membentuk koloni (*clon*) yang memiliki variasi genetik akibat proses perkawinan silang antar koloni. Hal ini juga ditemukan pada setiap populasi yang tersebar di beberapa lokasi di Jepang bagian barat dengan kumpulan individu terpisah jauh antar populasi.

Menurut Epperson dan Alvarez-Buylla (1997), derajat dan tipe korelasi antara anakan biji pada *Cecropia obtusifolia* tergantung pada (i) pemisahan antara saudara seinduk (*sibs*) dan kemudian pada genotip induk (heterozigot vs. homozigot); dan (ii) peluang kontak antara genotip tumbuhan dari biji pada pemisahan yang sama. Seiring dengan perjalanan waktu maka terjadi proses isolasi geografi pada populasi *S. japonica* di kebun raya tersebut (Sudarmono, 2003). Menurut Grant (1981) hal ini merupakan salah satu mekanisme evolusi yang memungkinkan terbentuknya spesies baru (*speciation*).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian pada 29 individu *S. japonica* menunjukkan adanya struktur genetik, tetapi sangat kecil dan sebarannya acak. Sebaran autokorelasinya juga negatif, yakni semakin menjauh individunya semakin berbeda genotipnya. Hal ini terjadi karena individu yang tumbuh pada jarak berdekatan perkembangbiakannya terjadi secara vegetatif, sedangkan individu yang berjauhan perkembangbiakannya secara generatif (biji) serta memungkinkan terjadinya perkawinan silang. Pada studi lebih lanjut disarankan untuk

memperbanyak sampel dengan variasi jarak yang semakin jauh dan plot penelitian yang diperluas.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian dibiayai oleh Kementerian Pendidikan, Ilmu Pengetahuan dan Kebudayaan Jepang (Monbusho). Ucapan terima kasih ditujukan kepada Prof. Hiroshi Okada sebagai pembimbing akademis penulis di Universitas Kota Osaka, Jepang. Juga kepada Mashahiro Yamada atas kritiknya untuk perbaikan penelitian ini, dan Aoki Kyoko atas informasinya tentang perangkat lunak PSAwinD versi 1.1.1.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chung, M.G., E.R. Chung, G.S. Oh, and B.K. Epperson. 2000. Spatial genetic structure in a *Naultsea sericea* population (Lauraceae). *Heredity* 85: 490-497.
- Dewey, S.E., and J.S. Heywood. 1988. Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. *Evolution* 42 (4): 834-838.
- Epperson, B.K. and E.R. Alvarez-Buylla. 1997. Limited seed dispersal and genetic structure in life stages of *Cecropia obtusifolia*. *Evolution* 51 (1): 275-282.
- Goudet, J. 2000. *FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixatipada Indices (Version 2,9,1)*. Lausanne: Universite de Lausanne, Switzerland.
- Grant, V. 1981. *Plant Speciation*. New York: Columbia University Press.
- Hamrick J.L. and J.W.M. Godt. 1990. Allozyme diversity in plant species. In Brown, A.H.D., M.T. Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir (eds.). *Plant Population Genetics, Breeding and Genetics Resources*, Sunderland, Mass.: Sinauer.
- Nakai, G. 1950. *Salvia japonica* and *S. lutescens*. *Acta Phytotaxia and Geobotany* [in Japanese] 14 (2): 63-66.
- Shiraishi, S. 1988. Inheritance of isozyme variations in Japanese black pine, *Pinus thunbergii* Parl. *Silvae Geneticae* 37: 93-100.
- Slatkin M., and N.H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- Sokal, R.R. and N.L. Oden. 1978. Spatial autocorrelation in biology. I. Methodology. *Biological Journal of the Linnaean Society* 10: 199-249.
- Soltis, D.E., C.H. Haufler, D.C. Darrow, and G.J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *American Fern Journal* 73: 9-26.
- Sudarmono. 2003. Genetic variations of *Salvia japonica* Thunb. (Labiatae) populations in Botanical Garden of Osaka City University and Its region. *Proceeding of the 12<sup>th</sup> Indonesian Scientific Meeting in Japan*, Sigma Hall, Osaka University, Osaka, Japan, 6-7 September 2003.
- Sudarmono and H. Okada, 2003. Observation of floral and pollination system-case study in *Salvia japonica* Thunb. (Labiatae). *Proceeding of the 12<sup>th</sup> Indonesian Scientific Meeting in Japan*, Sigma Hall, Osaka University, Osaka, Japan, 6-7 September 2003.
- Takahashi, M. 2003. PSAwinD version 1.1.1.: A Program for Calculating Spatial Indices. *Journal of Heredity* 94: 267-270.
- Van Treuren and Ouborg. 1993. The effects of population size and plant density on outcrossing rates in locally endangered *Salvia pratensis*. *Evolution* 47 (4): 1094-1104.
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden, 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes, In Soltis, D.E. and P.S. Soltis, (eds.). *Isozyme in Plant Biology*, Portland: Dioscorides Press.
- Yeh, F.C., R. Yang, and T. Boyle, 1999. *POPGENE version .31; Microsoft window-based freeware for Population Genetic Analysis*, Alberta: Alberta University and Center for International Forestry Research, U.S.A.