

## Pendugaan Jarak Genetik dan Hubungan Kekeabatan Nanas Berdasarkan Analisis Isozim

Hadiati, S.

Balai Penelitian Tanaman Buah, Jl. Raya Solok–Aripan Km. 8, Solok, 27301

Penelitian ini bertujuan mengetahui jarak genetik dan hubungan kekerabatan 30 aksesori nanas berdasarkan analisis isozim. Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Buah-Solok mulai bulan September sampai dengan November 2001. Analisis isozim menggunakan elektroforesis model vertikal dengan gel poliakrilamid dengan lima sistem enzim (peroksidase, fosfoglukomutase, alkohol dehidrogenase, malat dehidrogenase, dan sikimat dehidrogenase). Untuk menentukan kemiripan genetik antaraksesi-aksesi nanas digunakan rumus koefisien kemiripan Dice. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat kemiripan genetik paling kecil (0,23) atau jarak genetik terjauh (0,77) terdapat antara aksesori no. 16, 18, 24, 28, 31, 22, 2 (klon queen) dengan aksesori no. 10, 33, 35, 44 (klon merah) dan aksesori no. 3, 30, 32, 46 (klon hijau). Derajat kemiripan genetik terbesar (1,00) atau jarak genetik terdekat (0,00) terjadi antaranggota dalam klon merah, hijau, merah pagar, queen (kecuali no. 11, 17, 7), dan cayenne (kecuali no. 4, 37, 38). Hubungan kekerabatan 30 nomor aksesori terdiri atas empat kelompok pada kemiripan genetik 0,63, yaitu klon merah dan hijau, klon merah pagar, klon queen, dan klon cayenne. Tetua yang berjarak genetik jauh memiliki variabilitas genetik yang luas dan efek heterosis yang tinggi, sehingga peluang mendapatkan varietas unggul dalam persilangan semakin besar.

Kata kunci : *Ananas comosus*, Aksesori; Jarak genetik; Hubungan kekerabatan; Isozim

**ABSTRACT.** Hadiati, S. 2003. Estimation of genetic distance and genetic relationship of pineapple based on isozyme analysis. The objectives of this research were to determine genetic distance and genetic relationships among the pineapple accessions based on isozyme banding patterns. This research was conducted at Indonesian Fruit Research Institute from September to November 2001. Isozyme was analyzed using polyacrylamide gel electrophoresis with five enzymes (peroksidase, phosphoglucomutase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, and shikimate dehydrogenase). The similarity based on Dice formula was used to determine genetic distance of 30 pineapple accessions. The results showed that the nearest genetic similarity (0.23) or the farthest genetic distance (0.77) was among accessions number of 16, 18, 24, 28, 31, 22, 2 (queen clones) accessions number of 10, 33, 35, 44 (red clones) and accessions of 3, 30, 32, 46 (green clones). The biggest genetic similarity (1.00) or the nearest genetic distance (0.00) was occurred on the clones red, green, merah pagar, queen except for 11, 17, 7, and cayenne clone except for no. 4, 37, 38. The 30 pineapple accessions relationship was grouped into four genetic similarity 0.65, of red clone, merah pagar clone, queen clone, and cayenne clone. Parents having for genetic distance indicated wide genetic variability and high heterosis effect so that the hybridization give the big chance for getting superior quality.

Keywords : *Ananas comosus*; Accession; Genetic distance; Genetic relationship; Isozymes

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan salah satu komoditas buah tropis yang penting bila dilihat dari kegunaan dan nilai ekonomis, serta mempunyai nilai gizi yang tinggi. Produksi nanas di Indonesia dari tahun 1995 sampai 2000 mengalami penurunan, yaitu dari 703.300 t menjadi 393.299 t (Departemen Pertanian 2001). Hal ini mengakibatkan volume dan nilai ekspor juga mengalami penurunan yang cukup tajam. Untuk meningkatkan produksi, maka perlu dicari varietas yang berdaya hasil lebih tinggi dan mutu lebih baik dari varietas-varietas yang sudah ada sehingga dapat meningkatkan nilai tambah. Oleh karena itu, untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan penelitian yang lebih intensif, terutama penelitian dari segi pemuliaan.

Pemuliaan tanaman nanas diarahkan untuk mendapatkan tanaman nanas yang mempunyai

pertumbuhan cepat, daun pendek, tidak berduri, tangkai buah pendek dan kuat, berdaya hasil tinggi, sistem perakaran baik, bentuk buah silindris, kemasakan seragam, dan daging buah berwarna lebih kuning, kandungan oksalat dan bromelin buah rendah, memenuhi standar untuk buah segar dan olahan, serta tahan terhadap hama/penyakit (Collins 1968 & Py *et al.* 1987). Tujuan tersebut dapat dicapai antara lain melalui persilangan antarkultivar maupun dengan spesies lainnya. Persilangan antara kultivar dari spesies *comosus* dengan spesies lain dari *Ananas* menghasilkan biji F<sub>1</sub> yang viabel dan tanaman F<sub>1</sub> yang fertil (Collins 1968).

Untuk merakit varietas unggul, penentuan tetua persilangan perlu diperhatikan. Dalam penentuan tetua persilangan selain deskripsi plasma nutfah, juga perlu informasi mengenai jarak genetik dan hubungan kekerabatan. Jarak

genetik dan hubungan kekerabatan dapat digunakan sebagai indeks dalam pemilihan tetua (Shamsuddin 1985; Souza & Sorrells 1991a; & 1991b). Dalam persilangan, semakin jauh jarak genetik antartetua yang digunakan, maka berpeluang memperoleh hibrida dengan tingkat heterosis tinggi, yaitu hibrida dengan karakter melebihi kedua tetuanya atau tetua terbaiknya (Tatineni *et al.* 1996), tetapi biasanya akan menurunkan kompatibilitas dan fertilitas. Collins (1960) dalam Aradya *et al.* (1994) menunjukkan bahwa hibrida antara *A. bracteatus* dan *A. ananasoides* relatif kurang kompatibel dibanding hibrida interspesifik pada *Ananas* lainnya. Hal ini disebabkan jarak genetik antara *A. bracteatus* dan *A. ananasoides* lebih jauh dibandingkan *Ananas* lainnya. Sebaliknya, persilangan antartetua yang berkerabat dekat menghasilkan keragaman genetik yang sempit dan derajat fertilitas di antara hibrida akan meningkat.

Hubungan kekerabatan genetik dalam populasi dapat diukur berdasarkan kesamaan dari sejumlah karakter. Hal ini diasumsikan bahwa karakter yang berbeda dari suatu individu menggambarkan perbedaan susunan genetiknya (Souza & Sorrells 1991a). Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan tanaman nanas adalah melalui analisis isozim. Isozim adalah suatu enzim yang secara umum terdiri dari satu atau lebih rangkaian polipeptida yang dikode oleh lokus yang sama atau berbeda. Perbedaan suatu enzim yang mengkatalisis suatu reaksi dalam sel dapat dilihat melalui perbedaan pola pita. Perbedaan pola pita ini berkaitan dengan perbedaan bobot dan muatan asam amino penyusun enzim. Analisis isozim telah banyak digunakan di bidang pemuliaan untuk mengetahui jarak genetik dan hubungan kekerabatan, antara lain pada tanaman kelapa dengan tiga sistem enzim (esterase, glutamat oxaloasetat transaminase, dan endopeptidase) (Hengky 1995), pada tanaman bawang dengan empat sistem enzim (diaphorase, esterase, glukose-6-fosfat dehidrogenase, dan fosfoglukomutase) (Pooler & Simon 1993), pada tanaman nanas digunakan enzim alkohol dehidrogenase, glukosefosfat isomerase, fosfoglukomutase, sikimate dehidrogenase, triosefosfat isomerase, uridine difosfoglukose

pirofosforilase peroksidase, dan malate dehidrogenase untuk karakterisasi, klasifikasi, mengetahui hubungan genetik antaraksesi plasma nutfah di Hawaii, dan mengetahui asal-usul genetik *A. comosus* berdasarkan distribusi dalam dan antarspesies nanas, termasuk *Pseudonanas* (deWald *et al.* 1988 & 1992; Aradya *et al.* 1994).

Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Buah mempunyai koleksi beberapa aksesori nanas yang berasal dari beberapa daerah di Jawa dan Sumatera. Koleksi nanas tersebut mempunyai penampilan fenotipik yang bervariasi. Sampai saat ini belum diketahui seberapa jauh jarak genetik dan hubungan kekerabatan antaraksesi-aksesi nanas tersebut. Oleh karena itu telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui jarak genetik dan hubungan kekerabatan antarnomor aksesori nanas berdasarkan pola pita isozim.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Buah Solok, mulai bulan September sampai dengan Nopember 2001. Bahan tanaman yang digunakan adalah 30 nomor aksesori nanas yang berasal dari kebun koleksi plasma nutfah Balai Penelitian Tanaman Buah Solok. Berdasarkan pengamatan morfologi, 30 nomor aksesori tersebut dapat dikelompokkan menjadi lima kelompok, yaitu merah (no. 10, 33, 35, 44), hijau (no. 3, 30, 32, 46), merah pagar, (no. 1, 45), queen (no. 16, 17, 18, 24, 28, 31, 22, 2, 7, 11), dan cayenne (no. 20, 26, 27, 34, 8, 5, 4, 37, 38, 39) (Lampiran 1). Bahan tanaman untuk analisis isozim adalah daun muda yang masih berwarna putih yang diambil sebelum tanaman nanas memasuki fase generatif.

Analisis isozim dilakukan di laboratorium Bioteknologi Tanaman Pangan Bogor. Metode elektroforesis yang digunakan adalah elektroforesis gel poliakrilamid (PAGE) metode vertikal. Elektroforesis isozim menggunakan dua lapis gel poliakrilamid, yaitu *stacking gel* terdiri dari 4% akrilamid, 0,5 M Tris-HCl, pH 6,8, amonium persulfat, TEMED, dan *separating gel* terdiri dari 6,0-7,5% akrilamid dan 1,5 M Tris-HCl, pH 8,8 (Triest & Kabir 2000). Buffer elektroda yang digunakan adalah Tris-glisin pH 8,3. Sampel daun muda sebanyak 0,5 g digerus

dengan mortar dan diberi 1 ml buffer ekstraksi moderat menurut Wendel & Weeden (1989). Ekstraksi dilakukan di atas pecahan es. Elektroforesis dilakukan di dalam kulkas pada suhu 4-10 C, voltase 125-175 V dan arus 18-34 mA. Larutan pewarna isozim dibuat menurut prosedur Arulsekar & Parfitt (1986) dan Wendel & Weeden (1989) dengan beberapa modifikasi. Sistem enzim yang dianalisis adalah peroksidase (PER:EC:1.11.1.7), fosfoglukomutase (PGM:EC:2.7.5.1), alkohol dehidrogenase (ADH:EC:1.1.1.1), malat dehidrogenase (MDH:EC:1.1.1.37), dan sikimat dehidrogenase (SKDH: EC:1.1.1.25).

### Analisis data

Pola pita yang dihasilkan diterjemahkan menjadi data biner, yaitu nilai satu (1) untuk adanya pita dan nilai nol (0) untuk tidak adanya pita pada satu posisi yang sama antaraksesi dari tiap enzim yang diuji. Penghitungan kemiripan genetik menggunakan rumus kemiripan genetik Dice (Fuentes *et al.* 1999). Untuk menghitung koefisien jarak, data dikonversikan dengan rumus  $(d) = 1 - S_b$ , di mana  $d$  adalah jarak, dan  $S_b$  adalah koefisien kemiripan, dengan formula sebagai berikut:

$$S_b = \frac{2a}{(n_i + n_j)}$$

$S_b$  = koefisien Dice, yang menunjukkan derajat kemiripan genotip

$a$  = total pita (nilai 1) yang dimiliki oleh aksesori ke- $i$  dan ke- $j$

$n_i$  dan  $n_j$  = total nilai 1 dari kolom ke- $i$  dan ke- $j$

Analisis kekerabatan menggunakan analisis gerombol (*cluster analysis*), dengan teknik hierarki (Beer *et al.* 1993 ; Franco *et al.* 1997; Ravishankar *et al.* 2000) dengan program NTSYS versi 2.1. Tingkat kepercayaan dari dendrogram dihitung dengan analisis *bootstrap* dengan pengulangan 2000 kali.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil analisis isozim menggunakan lima sistem enzim pada 30 aksesori nanas diperoleh 10 lokus yang terdiri dari 37 alel polimorfik dan sembilan alel monomorfik.

Hasil perhitungan kemiripan genetik menunjukkan bahwa derajat kemiripan genetik pada aksesori yang diuji berkisar 0,23 – 1,00 atau pada jarak genetik 0,00–0,77 (Tabel 1). Semakin besar nilai derajat kemiripan genetik antara dua aksesori berarti semakin besar kemiripan genetiknya. Aksesori-aksesori yang mempunyai nilai derajat kemiripan genetik 1,00 berarti aksesori-aksesori tersebut menunjukkan kemiripan genetik yang mutlak berdasarkan analisis isozim. Derajat kemiripan genetik paling kecil (0,23) atau jarak genetik terjauh (0,77) terdapat antara aksesori no. 16, 18, 24, 28, 31, 22, 2 (klon queen) dengan aksesori no. 10, 33, 35, 44 (klon merah), dan aksesori no. 3, 30, 32, 46 (klon hijau). Sedangkan derajat kemiripan genetik yang terbesar (1,00) atau jarak genetik terdekat (0,00) terjadi antaranggota kecuali no. 11, 17, 7, dan cayenne kecuali no. 4, 37, 38 (Tabel 1).

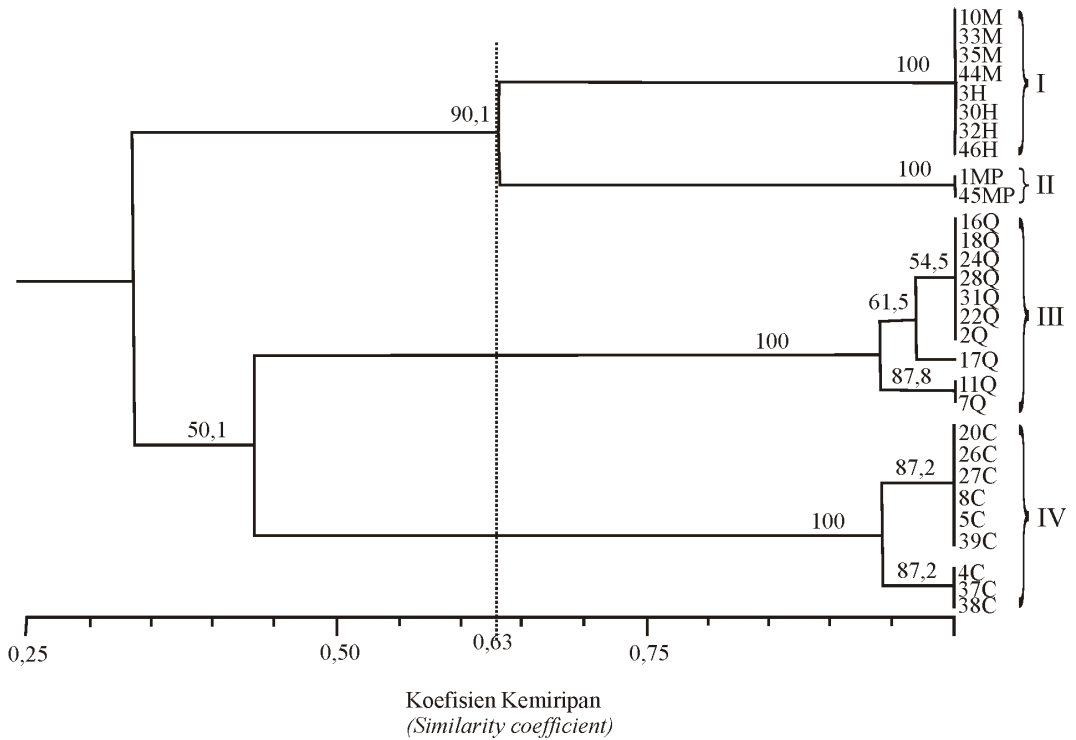
Hubungan kekerabatan antaraksesori disajikan dalam bentuk dendrogram (Gambar 1). Pemotongan pengelompokan ditetapkan pada jarak terlebar antardendrogram, yaitu pada derajat kemiripan genetik 0,63. Hasil pengelompokan menunjukkan bahwa pada derajat kemiripan genetik 0,63 (63%) terbagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok (I) merah dan hijau, (II) merah pagar, (III) queen, dan (IV) cayenne (Gambar 1).

Analisis *bootstrap* dilakukan untuk mengetahui tingkat kepercayaan pengelompokan. Hasil analisis menunjukkan bahwa keempat kelompok di atas (kelompok I, II, III, dan IV) mempunyai tingkat kepercayaan yang tinggi, yaitu masing-masing 100%. Sedangkan pengelompokan aksesori di dalam kelompok queen dan cayenne mempunyai tingkat kepercayaan yang rendah, yaitu di bawah 90% (Gambar 1). Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah enzim yang digunakan hanya sesuai untuk pengelompokan antarklon, sehingga pengelompokan dalam klon memerlukan jumlah enzim yang lebih banyak lagi.

Klon merah dan hijau berada dalam satu kelompok (kelompok I) dan mempunyai koefisien kemiripan genetik 1,00, berarti aksesori-aksesori dalam kelompok tersebut menunjukkan kemiripan genetik yang mutlak berdasarkan analisis isozim. Berdasarkan ciri-ciri morfologi, klon merah dan hijau termasuk dalam kelompok spanish dan menurut

**Tabel 1. Matriks jarak taksonomi berdasarkan karakter kuantitatif pada 24 nomor aksesi nanas (*Matrix of taxonomy distance according to quantitative characters at 24 pineapple accessions*)**

	10 M	33 M	1 MP	45MP	3 H	30 H	32H	16Q	17Q	18Q	24Q	11Q	28Q	7 Q	31Q	22Q	2 Q	4 C	20C	26C	27C	34C	8 C	5 C	
10 M	0,000																								
33 M	0,326	0,000																							
1 MP	1,842	1,908	0,000																						
45 MP	1,475	1,609	0,782	0,000																					
3 H	0,436	0,477	1,829	1,606	0,000																				
30 H	1,263	1,245	2,212	2,112	1,066	0,000																			
32 H	0,995	0,957	2,174	2,054	0,759	0,490	0,000																		
16 Q	1,104	1,082	2,075	1,797	1,273	1,652	1,415	0,000																	
17 Q	1,016	1,047	1,940	1,691	1,170	1,549	1,316	0,384	0,000																
18 Q	1,482	1,509	1,722	1,653	1,513	1,795	1,642	0,942	0,876	0,000															
24 Q	0,955	1,021	1,944	1,615	1,159	1,610	1,373	0,376	0,257	0,938	0,000														
11 Q	1,150	1,144	1,919	1,779	1,190	1,482	1,239	0,573	0,406	0,750	0,576	0,000													
28 Q	1,152	1,233	1,866	1,630	1,221	1,558	1,359	0,724	0,544	0,800	0,565	0,506	0,000												
7 Q	1,069	1,148	1,956	1,670	1,239	1,608	1,386	0,521	0,263	0,870	0,268	0,480	0,456	0,000											
31 Q	1,031	1,075	1,992	1,667	1,239	1,607	1,413	0,412	0,305	0,970	0,248	0,607	0,567	0,323	0,000										
22 Q	1,192	1,254	1,981	1,546	1,484	2,026	1,833	0,910	0,925	1,325	0,766	1,248	1,240	0,943	0,852	0,000									
2 Q	1,321	1,445	2,252	1,864	1,486	2,044	1,754	1,235	1,229	1,462	1,079	1,326	1,232	1,128	1,240	1,278	0,000								
4 C	1,412	1,385	2,069	1,920	1,423	1,721	1,496	0,768	0,749	1,062	0,809	0,753	0,821	0,825	0,835	1,272	1,550	0,000							
20 C	1,428	1,434	2,133	1,859	1,572	1,999	1,746	0,710	0,783	1,193	0,738	1,008	1,023	0,861	0,761	0,903	1,511	0,579	0,000						
26 C	2,201	2,198	2,634	2,708	2,016	2,009	1,819	1,817	1,710	1,687	1,840	1,458	1,470	1,732	1,844	2,495	2,235	1,380	1,877	0,000					
27 C	1,385	1,375	2,133	1,897	1,452	1,823	1,571	0,661	0,770	1,051	0,738	0,815	0,804	0,810	0,802	1,194	1,247	0,458	0,609	1,520	0,000				
34 C	1,723	1,712	2,235	2,183	1,647	1,834	1,623	1,113	1,083	1,181	1,174	0,947	0,959	1,140	1,195	1,730	1,770	0,556	1,016	0,923	0,744	0,000			
8 C	1,389	1,381	2,177	1,990	1,429	1,684	1,446	0,725	0,706	1,036	0,770	0,695	0,713	0,745	0,758	1,370	1,409	0,472	0,778	1,289	0,436	0,673	0,000		
5 C	1,434	1,420	2,211	1,979	1,510	1,820	1,590	0,647	0,767	1,104	0,747	0,826	0,840	0,813	0,764	1,214	1,428	0,399	0,513	1,534	0,294	0,730	0,437	0,000	



**Gambar 1. Dendrogram 30 nomor aksesii nanas (*Dendrogram of 30 pineapple accessions*). Angka-angka pada garpu merupakan persentase tingkat ketelitian hasil analisis *bootstrap* 2000 kali (*Numbers at fork were percentage of carefulness which bootstrap analysis 2000 times*)**

asal-usulnya, diduga nanas hijau merupakan hasil mutan dari nanas merah (Py *et al.* 1987). Hal ini berarti kelima enzim yang digunakan belum mampu membedakan klon merah dan hijau yang secara genetis kedua klon tersebut berbeda. Hal serupa juga terjadi pada mutan kaktus, di mana mutan dark marie mempunyai pola pita yang sama dengan marie sebagai tetuanya berdasarkan enzim GPI, MDH, PGM, SKDH, TPI, dan LAP, padahal kedua kultivar tersebut mempunyai bunga dan pigmen *phyloclade* yang berbeda (Leary & Boyle 2000). Agar diperoleh keragaman pola pita yang dapat membedakan klon merah dan hijau tersebut di atas, maka perlu dilakukan penambahan jenis enzim lainnya.

Pada derajat kemiripan genetik lebih kecil dari 0,63 (63 %), klon merah pagar berada dalam satu kelompok dengan klon merah dan hijau yang termasuk dalam kelompok spanish (Gambar 1). Hal ini berarti klon merah pagar lebih berkerabat dekat ke spanish daripada ke queen maupun ke cayenne.

Pada klon queen (kelompok III) terdapat tiga aksesii yang berbeda dengan anggota queen lainnya, yaitu no. 17, 11, dan 7. Herbogiandono (1980) dalam Sutarto (1983) membagi kelompok queen menjadi dua berdasarkan karakter morfologi, yaitu batu dan palembang. Batu mempunyai ukuran buah 500 g dan pohon lebih kecil, sedangkan palembang mempunyai ukuran buah 700 g dengan pohon agak besar. Pada penelitian ini aksesii no. 17, 7, dan 11 mempunyai berat buah masing-masing 574,4, 565, dan 740 g. Berdasarkan ciri-ciri tersebut kemungkinan aksesii no. 17 dan 7 adalah termasuk kelompok batu, dan aksesii no. 11 termasuk kelompok palembang. Hasil analisis isozim ini memperlihatkan, bahwa walaupun tanaman nanas diperbanyak secara vegetatif, tetapi menunjukkan adanya variasi genetik yang kemungkinan disebabkan oleh adanya mutasi, sesuai dengan pendapat Collins (1968).

Aksesii no. 4, 37, dan 38 juga berbeda dengan anggota cayenne lainnya. Secara fenotipik,

aksesi no. 4 mempunyai rata-rata karakter morfologi yang hampir sama dengan anggota cayenne lainnya. Hal ini berarti perbedaan pola pita isozim tidak diikuti oleh perbedaan fenotipik. Menurut Collins (1968), perubahan genetik nanas cayenne terjadi akibat mutasi, sehingga populasi nanas cayenne yang ada sekarang bukan lagi sebuah klon, tetapi merupakan kumpulan klon dengan fenotipik mirip.

### KESIMPULAN

1. Derajat kemiripan genetik paling kecil (0,23) atau jarak genetik terjauh (0,77) terdapat antara aksesori no. 16, 18, 24, 28, 31, 22, 2 (klon queen) dengan aksesori no. 10, 33, 35, 44 (klon merah) dan aksesori no. 3, 30, 32, 46 (klon hijau). Derajat kemiripan genetik terbesar (1,00) atau jarak genetik terdekat (0,00) terjadi antar anggota dalam klon merah, hijau, merah pagar, queen (kecuali no. 11, 17, 7), dan cayenne (kecuali no. 4, 37, 38)
2. Hubungan kekerabatan pada 30 nomor aksesori nanas berdasarkan pola pita isozim (PER, PGM, ADH, MDH, dan SKDH) terbagi menjadi empat kelompok pada kemiripan genetik 0,63, yaitu merah dan hijau, merah pagar, queen, dan cayenne.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ibu Murdaningsih, H.K, Bapak A. Baihaki dan Ibu Neni Rostini yang telah memberikan saran-saran dalam penelitian ini serta Kartono yang telah membantu dalam penyediaan materi penelitian sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

### PUSTAKA

1. Aradya, K.M., F. Zee, and R.M. Manshardt. 1994. Isozyme variation in cultivated and wild pineapple. *Euphytica*, 79:87-99.
2. Arulsekaran, S., and D.E. Parfitt. 1986. Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio and fig. *Hort. Sci.* 21(4):928-933.

3. Beer, S.C., J. Goffreda, T.D. Phillips, and M.E. Sorrells. 1993. Assessment of genetic variation in *Avena sterilis* using morphological traits, isozymes, and RFLPs. *Crop Sci.* 33:1386-1393.
4. Collins, J.L. 1968. *The pineapple, botany, cultivation and utilization*. Leonard Hill, London. 293p
5. Departemen Pertanian. 2001. *Data base pasar internasional hortikultura Tahun 1995 - 2000*. Direktorat Pengolahan dan Pemasaran Hasil Hortikultura. Departemen Pertanian.
6. de Wald, M., G.A. Moore, and W.B. Sherman. 1988. Identification of pineapple cultivars by isozyme genotype. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113(6):935-938.
7. \_\_\_\_\_, 1992. Isozymes in *Ananas* (pineapple): Genetics and usefulness in taxonomy. *J.Amer.Soc. Hort. Sci.*, 117(3): 491-496.
8. Franco, J., J.Crossa, J.Villasenor, S.Taba, and B.A.Eberhart. 1997. Classifying Mexican maize accessions using hierarchical and density search methods. *Crop Sci.* 37:972-980.
9. Fuentes, J.L., F. Escobar, A. Alvares, G. Gallego, M.C. Duque, M. Ferrer, J. Enrique, and J.M. Tohme. 1999. Analyses of genetic diversity in Cuban rice varieties using isozyme, RAPD, and AFLP markers. *Euphytica*. 109:107-115.
10. Hengky, N. 1995. Keragaman pola pita isozim pada empat kultivar kelapa distribution of isoenzymes in a *Schlumbergera*. *Zuriat*. 6(1):17-24.
11. Leary, M.C.O., and T.H. Boyle. 2000. Diversity an (Cactaceae) clonal germplasm collection. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 125(1):81-85.
12. Pooler, M.R., and P.W. Simon. 1993. Characterization and classification of isozyme and morphological variation in a diverse collection of garlic clones. *Euphytica*. 68:121-130.
13. Py, C., Lacoeuilhe, J.J., and C. Teisson. 1987. *The pineapple, cultivation and uses*. Paris. 568p.
14. Ravishankar, K.V., L. Anand, and M.R. Dinesh. 2000. Assessment of genetic relatedness among mango cultivars of India using RAPD marker. *J. Hort. Sci & Biotech.* 75(2):198-201.
15. Shamsuddin, A.K.M. 1985. Genetic diversity in relation to heterosis and combining ability in spring wheat. *Theor. Appl. Genet.* 70:306-308.
16. Souza, E., and M.E. Sorrells, 1991a. Relationships among 70 North American oat gerplasms: I. Cluster analysis using quantitative characters. *Crop Sci.* 31:599-605.
17. \_\_\_\_\_, 1991b. Relationships among 70 North American oat gerplasms : II Cluster analysis using qualitative characters. *Crop Sci.* 31:605-612.
18. Sutarto, I. 1983. Beberapa pengamatan keragaman antar klon dan dalam klon pada populasi tanaman nanas (*Ananas comosus* (L). Merr.). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Tidak dipublikasi.

19. Tatineni, V.G., Cantrell, and D.D. Davis. 1996. Genetic diversity in elite cotton germplasm determined by morphological characteristics and RAPDs. *Crop Sci.* 36:186–192.
20. Triest, L., and S.M.G. Kabir. 2000. The use of allozymes at three life stages influences genetic variation analysis and clustering in *Cicer arietinum* germplasm collections. *Euphytica.* 112:109–115.
21. Wendel, J.F., and N.F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In Soltis, D.E., and P.S. Soltis. 1989. *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland, Oregon. (4):5-45.



**Lampiran 1. Pengelompokan aksesi-aksesi nanas berdasarkan morfologi (*Grouping of pineapple accession according to morphology*)**

<b>Karakter (Character)</b>	<b>Merah</b>	<b>Merah pagar</b>	<b>Hijau</b>	<b>Queen</b>	<b>Cayenne</b>
<b>Daun (Leaf):</b>					
- Dimensi ( <i>Dimension</i> )	Lebar, panjang	Agak lebar, panjang	Lebar, panjang	Sempit, pendek	Lebar, panjang
- Warna tepi daun ( <i>Edge leaf color</i> )	Merah kecoklatan	Merah kecoklatan	Hijau	Hijau keunguan	Hijau
- Warna tengah daun ( <i>Central leaf color</i> )	Hijau kemerahcoklatan	Hijau kemerahcoklatan	Hijau	Ungu	Ungu
- Duri ( <i>Thorn</i> )	Rapat, pendek	Jarang, panjang	Rapat, pendek	Agak rapat, pendek	Tak berduri, kecuali dekat ujung
<b>Buah (Fruit):</b>					
- Warna buah masak ( <i>Ripe fruit color</i> )	Merah tembaga	Merah kekuningan	Kuning emas	Kuning tembaga	Kuning orange
- Warna daging buah ( <i>Flesh color</i> )	Kuning	Putih kekuningan	Kuning	Kuning terang	Kuning muda
- Mata ( <i>Eyes</i> )	Datar, lebih lebar	Datar, lebih kecil	Datar, lebih lebar	Menonjol, lebih kecil	Datar, lebar
- Panjang tangkai buah ( <i>Peduncle length</i> )	16 cm	25 cm	16 cm	15 cm	12 cm
- Berat ( <i>Weight</i> )	500 – 600 g	400 – 500 g	750 – 1000 g	500 – 750 g	700 – 1600 g
- Bentuk ( <i>Shape</i> )	Bulat	Bulat	Bulat	Silindris, kerucut	Silindris
<b>Tunas pada saat panen (<i>Bud at harvest</i>):</b>					
- Tunas mahkota ( <i>Crown bud</i> )	Tidak ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
- Slip	Sedikit	Agak banyak	Sedikit	Banyak	Sedikit
<b>Nomor aksesi (<i>Accession number</i>)</b>	10, 33, 44, 35	1, 45	3, 30, 32, 46	16, 17, 18, 24, 11, 28, 7, 31, 22, 2,	4, 20, 26, 27, 34, 8, 5, 37, 38, 39