

Keragaman Genetik Kultivar Kelapa Dalam Mapanget (DMT) dan Dalam Tenga (DTA) Berdasarkan Penanda Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

DONATA S. PANDIN

Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain, Manado
Jalan Raya Mapanget, Kotak Pos 1004 Manado 95001

Diterima 12 Januari 2009 / Direvisi 12 Maret 2009 / Disetujui 10 April 2009

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman genetik di dalam dan antar-populasi kelapa Dalam Mapanget (DMT) dan Dalam Tenga (DTA), dan mempelajari hubungan kekerabatan antar populasi kelapa tersebut berdasarkan penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Penelitian dilaksanakan mulai Februari sampai dengan Mei 2007 di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa sepuluh primer RAPD yang digunakan dapat memisahkan kelapa DMT dan DTA ke dalam kelompoknya masing-masing. Keanekaragaman genetik antar individu dalam kedua populasi ini sudah semakin sempit karena itu perbaikan sifat melalui seleksi dalam setiap populasi harus dilakukan dengan sangat hati-hati. Hubungan kekerabatan antara kelapa DMT dan DTA cukup jauh (52%), sehingga jika perbaikan sifat dilakukan melalui persilangan antara kedua populasi tersebut akan sangat memberikan harapan untuk memperoleh hasil persilangan yang membawa karakter-karakter yang diharapkan, yaitu melalui efek heterosis yang tinggi.

Kata kunci: Dalam Mapanget (DMT), Dalam Tenga (DTA), keragaman genetik, RAPD.

ABSTRACT

Genetic Diversity of Mapanget Tall (DMT) and Tenga Tall (DTA) Coconuts based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

The objective of this research were to determine genetic diversity within and inter population of Mapanget Tall (DMT) and Tenga Tall (DTA) coconuts, and their genetic relationship based on RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Research was done at Plant Biology Laboratory of Center Research of Genetic Resources and Biotechnology, Institut Pertanian Bogor, from February to May 2007. The result showed that ten RAPD 10-primer used could separate DMT and DTA in each group. Genetic diversity within population was relatively narrow, so that selection in order to improve character in each population must be done selectively. Genetic relationship between DMT dan DTA populations was high (52%), so that crossing between these population will give highest heterosis effect.

Keywords: Mapanget Tall (DMT), Tenga Tall, genetic diversity, RAPD.

PENDAHULUAN

Indonesia diduga adalah salah satu pusat asal tanaman kelapa dan sumber keanekaragaman genetik kelapa di dunia. Inventarisasi populasi kelapa yang dilakukan oleh COGENT, CGR (The International Coconut Genetic Resources Network, Coconut Genetic Resources) dari 17 negara, dilaporkan telah dikoleksi sebanyak 936 populasi dan 309 diantaranya berasal dari Asia Tenggara. Dari 309 aksesori yang berasal dari Asia Tenggara, 105 populasi berasal dari Indonesia atau setara dengan 11.22% dari seluruh populasi kelapa yang telah dilaporkan (Batugal, 1998).

Keanekaragaman karakter genetik yang tinggi dari suatu populasi tanaman sangat bermanfaat sebagai sumber keanekaragaman gen untuk program pemuliaan tanaman dalam usaha perbaikan produksi tanaman pertanian dan pemeliharaan kesinambungan sumber gen yang ada.

Untuk dapat digunakan dalam program pemuliaan, populasi kelapa yang telah dikoleksi tersebut dikarakterisasi. Pengkarakterisasian tanaman kelapa yang dikoleksi di BALITKA dilakukan terhadap sifat seperti: kecepatan berbunga pertama, jumlah daun, jumlah tandan, jumlah buah, kadar kopra, dan kadar minyak. Kelapa yang memiliki jumlah buah, kadar kopra, dan kadar minyak tinggi adalah Dalam Mapanget (DMT) dan Dalam Tenga (DTA). Keduanya berproduksi lebih dari 80 butir/pohon/tahun, kadar kopra berkisar 270-300 g/butir dan kadar minyak tinggi adalah DMT berkisar 62-71% (Rompas, 1993).

Kelapa DMT dan DTA telah digunakan dalam program hibridisasi baik

antara tipe Genjah dengan tipe Dalam maupun tipe Dalam dengan tipe Dalam untuk menghasilkan kelapa Hibrida unggul. Kelapa hibrida hasil persilangan Genjah Kuning Nias (GKN) dengan DTA dan persilangan antar nomor terpilih kelapa DMT telah dilepas oleh Menteri Pertanian pada tahun 1984 (Novarianto, 1996).

Pendekatan untuk mempelajari keragaman genetik dapat dilakukan melalui karakter morfologi, sitologi dan molekular. Penanda morfologi paling mudah dilakukan tetapi sulit dipastikan bedanya karena faktor lingkungan sulit dihilangkan, akibatnya sangat sulit menentukan pembeda antar populasi di dalam satu tipe kelapa. Penanda molekular terdiri atas penanda isozim dan penanda DNA (Asiedu et al., 1989; Melchinger, 1990; Rohde et al., 1995). Penanda isozim dapat memberikan informasi genetik lebih cepat, mudah, dan murah tetapi menghasilkan polimorfisme yang terbatas (Novarianto dan Hartana, 1995). Penanda DNA mampu menyediakan polimorfisme pola pita DNA dalam jumlah lebih banyak, konsisten, dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan serta tahap perkembangan tanaman.

Penanda DNA adalah bagian kecil dari DNA yang memperlihatkan polimorfisme sekuen pada individu-individu berbeda dalam suatu spesies. Dengan berkembangnya teknologi penanda DNA, pengkarakterisasian keanekaragaman genetik pada tanaman kelapa dapat dilakukan.

Penanda DNA telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi suatu individu atau genotipe, derajat kekerabatan antar genotipe, dan adanya variasi genetik suatu populasi tanaman (Brown et al., 1996); menentukan adanya suatu

gen atau kompleks gen yang diinginkan dalam suatu genotipe tertentu, dan pengembangan varietas tanaman baru melalui transformasi (Lande dan Thompson, 1990; Preston et al., 1999). Gupta et al. (1999) menyatakan bahwa penanda DNA dapat digunakan untuk mengetahui adanya introgresi gen, untuk pemetaan gen, penandaan gen, dan konservasi plasma nutfah. Lee (1995) menyatakan bahwa penanda DNA dapat pula digunakan untuk sidik jari DNA tetua untuk memperkirakan penampilan turunannya (hybrid), transgen silang-balik, homosigositas, dan peta genetik QTL (Quantitative Trait Loci).

Karena lamanya waktu yang dibutuhkan dalam pemuliaan tanaman kelapa, maka teknologi molekular seperti penanda DNA memiliki potensi besar untuk digunakan sebagai alat untuk menyeleksi dan mengidentifikasi suatu karakter dalam program pemuliaan kelapa.

Berbagai teknik penanda DNA telah digunakan dalam analisis keragaman genetik kelapa seperti RAPD, RFLP (Lebrun et al., 1998), dan AFLP (Perera et al., 1998), SSR (Teulat et al., 2000), dan melacak beberapa sifat QTL (Herran et al., 2000; Lebrun et al., 2001).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) adalah salah satu penanda yang telah banyak digunakan untuk mempelajari keragaman genetik dan hubungan kekerabatan dari suatu organisme. Kelebihan RAPD dalam menganalisis keragaman genetik dan hubungan kekerabatan dibandingkan penanda DNA lainnya seperti RFLP, SSR, dan AFLP adalah prosedurnya lebih murah, mudah, cepat, contoh DNA yang diperlukan sedikit (0.5-50 ng), dan tidak memerlukan radioisotop (Powell et al., 1996).

Penanda RAPD telah digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada tanaman kelapa (Rohde et al., 1995; Ashburner et al., 1997; Lengkong et al., 1998; Hayati et al., 2000; Hannum et al., 2003; Mawikere, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman genetik di dalam dan antar-populasi kelapa Dalam Mapanget (DMT) dan Dalam Tenga (DTA) berdasarkan penanda RAPD, dan mempelajari hubungan kekerabatan antar populasi kelapa tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Pelaksanaan penelitian dilaksanakan mulai Februari 2007 sampai dengan Mei 2007.

Bahan tanaman kelapa yang digunakan adalah daun muda dari populasi kelapa Dalam Mapanget dan Dalam Tenga (DTA) yang berasal dari koleksi plasma nutfah kelapa di Kebun Percobaan Mapanget, Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain (Balitka), Manado. Dari masing-masing populasi kelapa dipilih 10 tanaman secara acak sehingga jumlah tanaman yang digunakan 20 pohon.

DNA total tanaman diisolasi dari daun muda mengikuti metode Rohde et al. (1995) yang telah dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada proses penghalusan sampel daun, sentrifugasi DNA, dan pemurnian DNA. Pada proses penghalusan sampel dilakukan penambahan pasir kuarsa sebanyak 4% dari berat sampel. Sentrifugasi DNA dilakukan pada 4000 rpm selama 10 menit.

Tabel 1. Primer Operon 10-mer Kit A dan Kit B dan susunan basanya.

Table 1. Name and sequence of operon 10-mer primers Kit A and Kit B.

No	Primer Kit A Primers Kit A	Sekuen 5' - 3' Sequence 5'-3'	No	Primer Kit B Primers Kit B	Sekuen 5' - 3' Sequence 5'-3'
1	OPA-01	CAGGCCCTTC	1	OPB-01	GTTCGCTCC
2	OPA-02	TGCCGAGCTC	2	OPB-02	TGATCCCTGG
3	OPA-03	AGTCAGCCAC	3	OPB-03	CATCCCCCTG
4	OPA-04	AATCGGGCTG	4	OPB-04	GGACTGGAGT
5	OPA-05	AGGGGTCTTG	5	OPB-05	TGCGCCCTTC
6	OPA-06	GAAACGGGTG	6	OPB-06	TGCTCTGCC
7	OPA-07	AGCCAGCGAA	7	OPB-07	GGTGACGCAG
8	OPA-08	GACCGCTTGT	8	OPB-08	GTCCACACGG
9	OPA-09	AGGTGACCGT	9	OPB-09	TGGGGGACTC
10	OPA-10	CAAACGTCCG	10	OPB-10	CTGCTGGGAC
11	OPA-11	CAATCGCCGT	11	OPB-11	CTAGACCCGT
12	OPA-12	TCGGCGATAG	12	OPB-12	CCTTGACGCA
13	OPA-13	CAGCACCCAC	13	OPB-13	TTCCCCGCT
14	OPA-14	TCTGTGCTGG	14	OPB-14	TCCGCTCTGG
15	OPA-15	TTCCGAACCC	15	OPB-15	GGCGGGTGT
16	OPA-16	AGCCAGCGAA	16	OPB-16	TTTGCCCGGA
17	OPA-17	GACCGCTTGT	17	OPB-17	AGGGAACGAG
18	OPA-18	AGGTACCCGT	18	OPB-18	CCACAGCAGT
19	OPA-18	CAAACGTCCG	19	OPB-18	ACCCCGAAG
20	OPA-20	GTTGCGATCC	20	OPB-20	GGACCCTTAC

Untuk menghilangkan kontaminan RNA, kedalam suspensi DNA ditambahkan RNase A dengan konsentrasi 20 ug/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C sampai seluruh pelet DNA larut. Selanjutnya suspensi DNA diekstraksi berturut-turut dengan 1 volume fenol, dan campuran kloroform : isoamil alkohol (24 : 1).

Penetapan kuantitas dan kemurnian DNA diukur menggunakan spektrofotometer (Cecil CE 2020) mengikuti metode Sambrook et al. (1989). Konsentrasi DNA dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Konsentrasi DNA (ug/ml)} = \frac{\text{Abs}_{260 \text{ nm}} \times 50 \text{ ug/ml}}{\text{faktor pengenceran}}$$

Kualitas DNA diketahui dengan membandingkan hasil migrasi DNA total bersama DNA standar λ /HindIII pada gel agarose menggunakan elektroforesis horizontal. DNA yang berkualitas baik

adalah fragmen DNA dengan ukuran besar.

Kemurnian DNA ditetapkan berdasarkan ratio antara absorbansi pada 260 nm (Abs_{260}) dengan absorbansi pada 280 nm (Abs_{280}). Kemurnian di atas 1.7 dianggap baik.

Prosedur amplifikasi dilakukan pada mesin PCR (Gene Amp PCR System 2400 Perkin-Elmer) menurut Lengkong et al. (1998). Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan primer acak 10-mer dari Operon Kit A dan Kit B (Operon Technologies, Alameda, California). Primer yang digunakan diseleksi dari 40 primer yaitu 20 primer Kit A dan 20 primer Kit B (Tabel 1). Dari setiap populasi kelapa yang diteliti diambil secara acak dua contoh DNA dan diamplifikasi dengan PCR menggunakan 40 primer tersebut. Primer yang memberikan hasil amplifikasi lebih dari dua pita dipilih untuk digunakan dalam penelitian selanjutnya.

Reaksi amplifikasi mengikuti prosedur yang disarankan oleh Promega dengan beberapa modifikasi. Volume final campuran reaksi amplifikasi sebanyak 40 µl dengan komposisi reaksi PCR adalah 1 x buffer reaksi (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9.0, 0.01% Triton X-100), 200 µM dNTP, 3 mM MgCl₂, 5 pMol primer, 1 unit Taq polimerase (Ampli-Taq, Promega), dan 50 ng DNA cetakan. Reaksi amplifikasi berlangsung sebanyak 38 siklus dan diprogram sebagai berikut: 5 menit 94°C untuk pre-PCR, 1 menit 94°C untuk denaturasi DNA, 1 menit 37°C untuk pelekatan primer, 2 menit 72°C untuk pemanjangan primer, dan 5 menit 72°C untuk post-PCR. Hasil amplifikasi dilarikan bersama DNA standar 1 kb DNA ladder pada gel Agarose 1.0% dalam 1 x TAE. Hasil elektroforesis divisualisasikan di bawah UV-iluminator dan didokumentasikan menggunakan dalam sebuah disket menggunakan mesin Gel Doc.

Setiap profil pita DNA berhubungan dengan lokus yang mengandung alel tertentu. Pita hasil amplifikasi pada posisi yang sama pada laju elektroforesis yang sama untuk setiap tanaman kelapa, dianggap sebagai satu lokus homolog. Lokus tersebut diubah ke dalam bentuk data biner dengan memberi nilai satu (1) jika terdapat pita dan nol (0) jika pita tidak ada. Matriks data biner kemudian diturunkan menjadi matriks jarak genetik. Untuk menentukan jarak genetik pasangan genotipe yang terdapat pada individu berbeda digunakan koefisien Dice dari rumus Nei dan Li (1979) sebagai berikut :

$$F_{ab} = \frac{2n_{ab}}{(n_a + n_b)}$$

Keterangan/note :

F_{ab} = Koefisien kemiripan genetik individu a dan b
Coefficient of genetic similarity a and b individual.

n_{ab} = Jumlah pita yang sama posisinya pada individu a dan b
Number of band in some position of a and b individual.

n_a dan n_b = Jumlah pita pada masing-masing individu a dan b.
Number of band in each a and b individual.

Berdasarkan nilai kemiripan genetik tersebut dilakukan analisis pengelompokan. Pengelompokan data matriks (cluster analysis) dan pembuatan dendrogram dilakukan menggunakan metode UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic). Pengelompokan mencerminkan hubungan kemiripan genetik setiap individu pohon kelapa dalam satu populasi tertentu yang ditampilkan berupa dendrogram kemiripan genetik. Semua data RAPD dianalisis menggunakan komputer NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate System) versi 2.0. Jarak genetik dihitung dari selisih nilai persentase kemiripan genetik data RAPD terhadap 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi DNA dari 4 pohon kelapa Dalam menggunakan 40 primer acak 10-mer (Operon) menunjukkan bahwa 10 primer menghasilkan pola pita lebih dari dua dan polimorfik, sedangkan 30 primer lainnya hanya menghasilkan 1-2 pita bahkan ada yang tidak menghasilkan pita sehingga tidak digunakan dalam penelitian selanjutnya (Tabel 2). Primer yang menghasilkan pita sedikit dengan polimorfisme rendah sebaiknya tidak digunakan dalam menganalisis keanekaragaman genetik (Nienhuis et al., 1994). Primer yang menghasilkan pola pita polimorfik dipilih 10 primer yaitu OPA-02, OPA-08, OPA-10, OPA-13, OPA-20, OPB-08, OPB-

11, OPB-12, OPB-15, dan OPB-20. Sepuluh primer ini yang digunakan untuk menganalisis populasi kelapa DMT dan DTA yang masing-masing diwakili oleh 10 pohon contoh acak.

Hasil amplifikasi menggunakan 10 primer acak tersebut tidak satupun yang memberikan pita spesifik untuk kedua populasi kelapa DMT dan DTA. Jumlah pita DNA berkisar antara 5 (OPB-15) dan 14 (OPA-10). Jumlah pita DNA yang diperoleh dari setiap primer serupa dengan hasil Lengkong et al. (1998) pada beberapa populasi kelapa Genjah, Hayati et al. (2000) pada populasi kelapa Genjah Jombang, Hanum et al. (2003) pada tiga populasi kelapa Genjah, Rosliem et al. (2003) pada tiga populasi kelapa Dalam dari tiga pulau di Sumatera, Mawikere (2006), yaitu berkisar antara 3-15 pita per

primer.

Jumlah pita DNA polimorfik dalam analisis keragaman genetik sangat menentukan tingkat keragaman suatu populasi. Semakin banyak pita DNA polimorfik akan lebih menggambarkan keadaan genom tanaman karena situs pelekatan primer dengan genom tanaman semakin banyak dan akan memperkecil bias karena tidak terwakilinya bagian genom tertentu (Nienhuis et al., 1994). Perbedaan jumlah dan polimorfisme pita DNA yang dihasilkan dari setiap primer menggambarkan kekompleksan genom tanaman (Grattapaglia et al., 1992).

Jumlah pita polimorfik dari pengamatan profil pita RAPD yang dihasilkan oleh 10 primer terhadap populasi kelapa DMT dan DTA disajikan pada Tabel 3.

Tabel 2. Nama primer dan jumlah pita hasil amplifikasi DNA empat pohon kelapa Dalam (DMT dan DTA).

Table 2. Name of primers and number of band of amplified DNA from four trees of Tall Coconut (DMT and DTA).

No	Primer Kit A Primers Kit A	Jumlah pita Number of band	No	Primer Kit B Primers Kit B	Jumlah pita Number of band
1	OPA-01	0-1	1	OPB-01	1
2	OPA-02	4-5	2	OPB-02	1
3	OPA-03	1	3	OPB-03	2
4	OPA-04	2	4	OPB-04	2
5	OPA-05	2	5	OPB-05	1
6	OPA-06	1-2	6	OPB-06	1
7	OPA-07	2	7	OPB-07	2
8	OPA-08	2-7	8	OPB-08	2-4
9	OPA-09	2	9	OPB-09	0-1
10	OPA-10	4-9	10	OPB-10	2
11	OPA-11	2	11	OPB-11	1-3
12	OPA-12	2	12	OPB-12	2-3
13	OPA-13	3-5	13	OPB-13	0
14	OPA-14	0-1	14	OPB-14	3
15	OPA-15	2	15	OPB-15	3
16	OPA-16	0-1	16	OPB-16	0-1
17	OPA-17	2	17	OPB-17	0
18	OPA-18	2	18	OPB-18	0
19	OPA-18	0	19	OPB-18	0-1
20	OPA-20	3-5	20	OPB-20	3-4

Tabel 3. Nama dan urutan basa primer dan jumlah pita polimorfik DNA kelapa DMT dan DTA hasil amplifikasi.

Table 3. Name, nucleotide sequence and number of polymorphic band of DMT and DTA coconut DNA.

Primer Primers	Sekuen 5' - 3' Sequence 5'-3'	Jumlah pita polimorfik Polymorphic band			Total pita Number of band
		DMT	DTA	Jumlah	
OPA-02	TGCCGAGCTC	7	7	9	10
OPA-08	GACCGTTGT	4	0	9	9
OPA-10	CAAACGTCGG	5	5	10	12
OPA-13	CAGCACCCAC	3	6	6	7
OPA-20	GTTGCGATCC	1	4	7	7
OPB-08	GTCCACACGG	1	1	5	5
OPB-11	CTAGACCCGT	8	6	10	10
OPB-12	CCTTGACGCA	0	1	4	4
OPB-15	GGCGGGTGTT	0	2	2	3
OPB-20	GGACCCTTAC	0	2	3	5
Total		29	32	65	72
Persentase (%) Percentage		58	59	90	-
Rata-rata pita Average of band		3	4	-	-

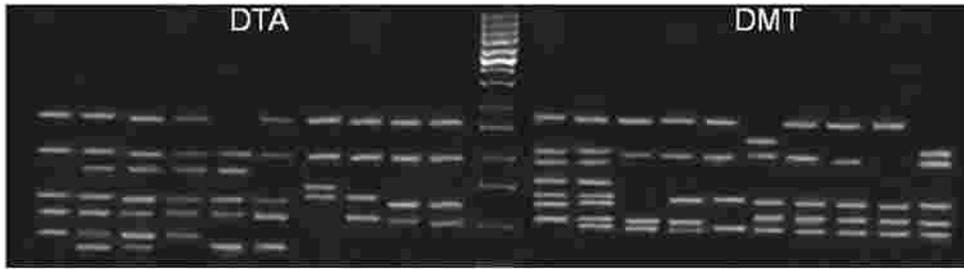
Pita DNA hasil amplifikasi menggunakan 10 primer terseleksi berukuran 200 pb – 2400 pb (pasang basa), masih berada pada kisaran ukuran yang umumnya dapat diamplifikasi pada genom tanaman (Grattapaglia et al., 1992). Profil pita RAPD hasil amplifikasi DNA total populasi DMT, dan DTA menunjukkan bahwa primer OPA-10 dan OPB-11 menghasilkan jumlah pita polimorfik terbanyak, yaitu masing-masing 10 pita (Tabel 3) dan profil pita polimorfiknya dapat dilihat pada Gambar 1.

Primer OPA-10 menghasilkan pita lebih banyak pada individu kelapa (Gambar 1) dibandingkan dengan primer OPB-11 (Gambar 2), artinya situs pelekatan primer OPA-10 pada genom tanaman kelapa cukup banyak tersebar. Profil pita OPB-11 dalam individu kelapa hanya berkisar 1-3 pita tetapi merupakan pita polimorfik. Pada beberapa populasi kelapa seperti Dalam Takome, Dalam Igo Duku, dan Dalam Igo Bulan, primer OPB-11 tidak dapat mengamplifikasi

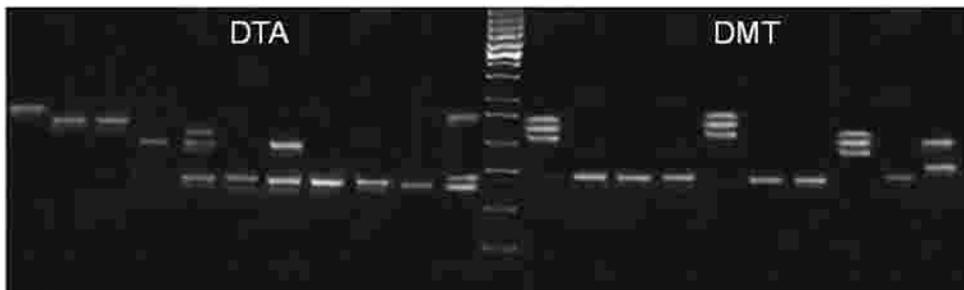
DNA kelapa tersebut (Matondang et al., 2000). Hasil ini menunjukkan bahwa primer OPB-11 kemungkinan merupakan primer yang memiliki situs homolog yang jarang pada tanaman kelapa, bahkan mungkin tidak ada pada genom populasi kelapa tertentu. Beberapa faktor penyebab tidak teramplifikasinya DNA oleh suatu primer kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya situs homolog antara primer tersebut dengan DNA cetakan (template DNA) dari suatu organisme, kemungkinan lainnya adalah primer acak yang digunakan menempel pada dua situs pada DNA cetakan yang jaraknya cukup jauh sehingga enzim DNA taq polimerase tidak mampu mengamplifikasinya.

Kemiripan genetik di dalam populasi Kelapa DMT dan DTA

Tingkat kemiripan genetik suatu populasi dapat digambarkan oleh jarak genetik dari individu-individu anggota populasi tersebut. Semakin kecil jarak



Gambar 1. Polimorfisme Pita DNA populasi kelapa DTA dan DMT menggunakan primer OPA-10.
Figure 1. Band polymorphism of DTA and DMT coconut DNA by using OPA-10 primer.

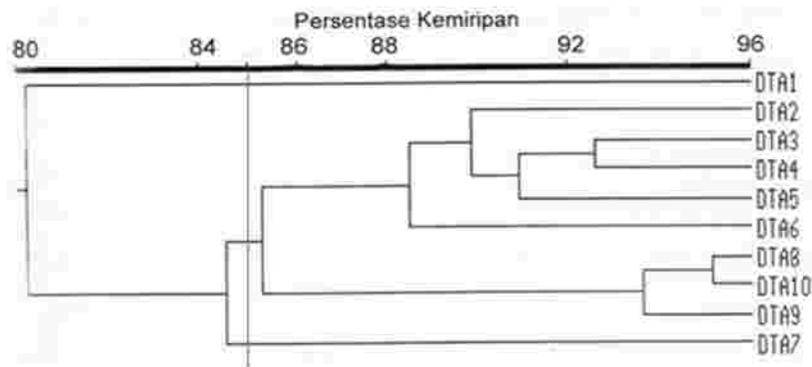


Gambar 2. Polimorfisme Pita DNA populasi kelapa DTA dan DMT menggunakan primer OPB-11.
Figure 2. Band polymorphism of DTA and DMT coconut DNA by using OPB-11 primer.

genetik antar individu dalam suatu populasi, maka semakin seragam populasi tersebut. Sebaliknya semakin besar jarak genetik individu-individu dalam suatu populasi maka populasi tersebut mempunyai anggota yang semakin beragam. Tingkat polimorfisme pita DNA sejalan dengan tingkat keanekaragaman suatu populasi. Berdasarkan 10 primer acak yang digunakan, kelapa DMT memiliki persentase pita polimorfik sebesar 58% dengan rata-rata jarak genetik antar individu di dalam populasi DMT 15% sedangkan untuk kelapa DTA memiliki persentase pita polimorfik sebesar 59% dengan rata-rata jarak genetik antar individu di dalam populasi DMT 17%. Rendahnya rata-rata jarak genetik kedua populasi kelapa ini diduga

karena kelapa DMT dan DTA telah mengalami seleksi massa positif yang lama, sehingga individu-individu yang diperbanyak dan membentuk populasi adalah individu-individu yang telah memiliki kemiripan genetik cukup tinggi. Dendogram kemiripan genetik kelapa DMT dan DTA berdasarkan RAPD disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Gambar 3. Dendrogram kemiripan genetik populasi kelapa DMT
Figure 3. Dendrogram of genetic similarity of DMT coconut population



Gambar 4. Dendrogram kemiripan genetik populasi kelapa DTA
Figure 4. Dendrogram of genetic similarity of DTA coconut population

Berdasarkan dendrogram kemiripan genetik kelapa DMT (Gambar 3) dapat dilihat bahwa populasi kelapa DMT terbagi atas dua kelompok pada kemiripan 85%, dan pada kemiripan genetik 83% semua individu dalam populasi ini telah membentuk satu kelompok. Hasil ini menunjukkan bahwa populasi kelapa DMT telah memiliki kemiripan genetik yang cukup tinggi. Tingginya kemiripan genetik antar individu dalam populasi

kelapa DMT, karena populasi ini telah beberapa kali mengalami seleksi massa positif. Seleksi untuk maksud perbaikan sifat dalam populasi kelapa DMT harus dilakukan dengan sangat hati-hati. Berdasarkan dendrogram kemiripan genetik kelapa DTA (Gambar 4) dapat dilihat bahwa tingkat kemiripan yang tinggi dijumpai pula pada populasi kelapa Dalam Tenga (DTA). Pada tingkat kemiripan 85% kelapa DTA masih

terbagi atas 4 kelompok (Gambar 4), sedangkan pada kemiripan genetik 84% individu DTA1 masih terpisah dari 9 anggota lainnya, artinya DTA1 memiliki jarak genetik yang paling jauh dalam populasinya. Untuk mengetahui mengapa DTA1 masih terpisah dari 9 individu lainnya, perlu dilakukan pengamatan terhadap karakter-karakter yang lain yang mungkin berbeda dengan individu-individu lainnya dalam populasi kelapa DTA. Melihat masih terdapat individu-individu yang memiliki jarak genetik yang cukup jauh dalam populasi kelapa DTA, maka seleksi untuk perbaikan sifat masih dapat dilakukan tetapi harus dilakukan dengan sangat selektif.

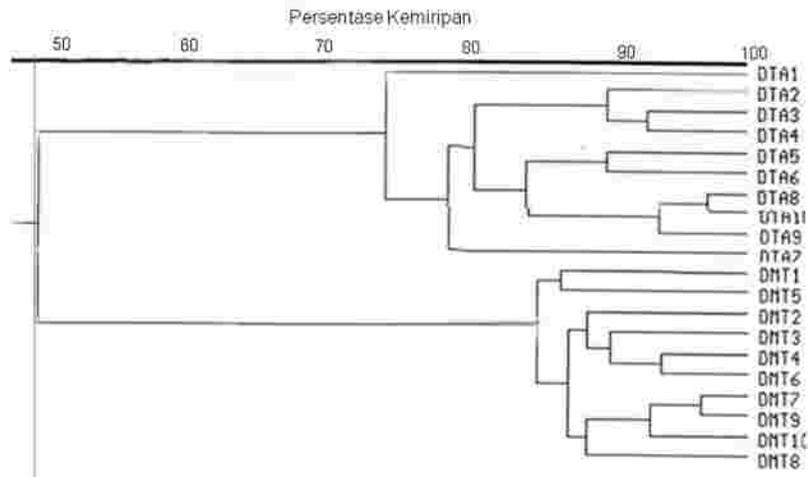
Hubungan kekerabatan antar populasi kelapa DMT dan DTA

Jarak genetik antar populasi kelapa DMT dan DTA berdasarkan matriks kemiripan genetik adalah 48%. Dalam analisis pengelompokan kedua

populasi ini mengelompok dalam populasinya masing-masing (Gambar 5). Fenomena ini membuktikan bahwa penanda RAPD dapat digunakan untuk membedakan spesies, galur, atau hasil persilangan sendiri dari suatu popuasi tanaman (Tingey et al., 1992).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kemiripan genetik antara kelapa DMT dan DTA adalah 48%, artinya kedua populasi ini memiliki jarak genetik yang cukup jauh, yaitu 52%. Kecilnya kemiripan genetik antara kedua populasi tersebut diduga karena telah terjadi seleksi yang berulang-ulang pada masing-masing populasi kelapa tersebut sehingga yang kemudian dikoleksi oleh Balitka telah memiliki jarak genetik yang semakin jauh.

Melihat hubungan kekerabatan antar populasi kelapa DMT dan DTA yang cukup jauh dan tingkat homogenitas yang cukup tinggi antar individu dalam populasi yang sama, sehingga akan sangat memberikan harapan untuk



Gambar 5. Dendrogram kemiripan genetik populasi kelapa DMT dan DTA.
Figure 5. Dendrogram of genetic similarity of DMT and DTA coconut populations.

perbaikan karakter bila kedua populasi ini disilangkan.

Teknik RAPD ini dapat digunakan pula untuk mempelajari tingkat keragaman genetik dalam populasi dan hubungan kekerabatan antar populasi kelapa Dalam yang lain. Dengan demikian dapat memudahkan seleksi tetua dalam perakitan kelapa unggul, baik untuk digunakan dalam persilangan kelapa tipe Genjah x Dalam, Dalam x Dalam, maupun untuk perakitan kelapa Dalam Komposit.

KESIMPULAN

Sepuluh primer RAPD yang digunakan dapat memisahkan kelapa DMT dan DTA ke dalam kelompoknya masing-masing. Keanekaragaman genetik antar individu dalam kedua populasi ini sudah semakin sempit karena itu perbaikan sifat melalui seleksi dalam setiap populasi harus dilakukan dengan sangat hati-hati.

Hubungan kekerabatan antara kelapa DMT dan DTA cukup jauh sehingga jika perbaikan sifat dilakukan melalui persilangan antara kedua populasi tersebut akan sangat memberikan harapan untuk memperoleh hasil persilangan yang membawa karakter-karakter yang diharapkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashburner GR, Thomson WK, Halloran GM. 1997. RAPD analysis of South Pacific coconut palm populations. *Crop Sci.* 37:992-997.
- Asiedu R, Kulle NT, Mujeeb-Kazi A. 1989. Diagnostic marker in wheat wide crosses. In Mujeeb-Kazi and LA Sitch (Eds). *Review Advances in Plant biotechnology. International Simposium on Genetic Manipulation in Crops.* CYMMIT, Mexico. p.243-249.
- Batugal P. 1998. International collaboration in coconut germplasm conservation and utilization. Dalam *Modernisasi Usaha Pertanian Berbasis Kelapa.* Puslitbangtri. Badan Litbang Kehutanan dan Perkebunan. P.110-117.
- Brown SM, Szewc-McFadden, Kresovich S. 1996. Development and application of Simple Sequence Repeats (SSR) loci for plant genome analysis. In Jauhar, P P (Ed). *Methods of genome analysis in plants.* CRC Press. New York. hlm.147-159.
- Grattapaglia D, Chaparro J, Wilcox P, McCord S, Werner D, Amerson H, McKeand S, Bridgewater F, Whetten R, O'Malley D, Sederoff R. 1992. Mapping in the woody plants with RAPD markers: Application to breeding in forestry and horticulture. P.37-40. In *Joint Plant Breeding Simposia Series.* Minneapolis. 1 November 1992.
- Gupta PK, Balyan HS, Sharma PC, Ramesh B. 1999. Microsatellite in plants: A new class of molecular markers. *Current Sci.* 70(1):45-54.
- Hannum S, Hartana A, Suharsono. 2003. Kemiripan genetic a empat populasi kelapa Genjah berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA. *Hayati* 10(4):125-129.
- Hayati PK, Hartana A, Suharsono, Aswidinnoor H. 2000. Keanekaragaman genetika kelapa Genjah Jombang berdasarkan RAP DNA. *Hayati* 7(2):35-40.

- Herran A, Estioko L, Becker D, Rodriguez MJB. 2000. Linkage mapping and QTL analysis in coconut. *Theor. Appl. Genet.* 101: 292-300.
- Lande R, Thompson R. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124:743-756.
- Lebrun P, Cho YPN, Seguin M, Grivet L, and Bouduin L. 1998. Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Euphytica* 101:103-108.
- Lebrun P, Baudouin L, Bourdeix R, Konan JL, Barker JHA, Aldam C, Herran A, Ritter E. 2001. Construction of a linkage map of the Rennel Island Tall coconut type (*Cocos nucifera* L) and QTL analysis for yield characters. *Genome* 44:962-970.
- Lengkong EF, Hartana A, dan Suharsono. 1998. Keragaman genetik beberapa kultivar berdasarkan penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). P.1-12. Dalam *Prosiding Seminar Sehari Hasil-hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat*. 3 September 1998. PAU Ilmu Hayat IPB. Bogor.
- Lee M. 1995. DNA markers and plant breeding programs. *Agronomy* 55: 265-344.
- Matondang I. 2000. Keragaman genetik populasi kelapa yang berasal dari Maluku berdasarkan penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Tesis Magister Sains PPs-IPB. Bogor.
- Mawikere NL. 2006. Plasma nutfah kelapa Papua dan hubungan kekerabatannya dengan populasi kelapa Indonesia lainnya dan Papua New Guinea berdasarkan penanda RAPD. Disertasi Doktor Sekolah Pascasarjana, IPB. Bogor.
- Melchinger AE. 1990. Use of the molecular marker in breeding for oligogene disease resistance. *Plant Breeding* 104:1-19.
- Nei M, Li WM. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proc. Natl. Acad. Science.* 76:5269-5273.
- Nienhuis J, Tivang J, Skroch P. 1994. Analysis of genetic relationship among genotypes based on molecular marker data. In *Analysis of molecular Data. Joint Plant Breeding Simposia Series. Oregon*, 5-6 August 1994.
- Novariantio H. 1996. Varitas kelapa yang diinginkan petani, konservasi serta strategi pemuliaan kelapa. Laporan Bulanan puslitbangtri. Bogor.
- Novariantio H, Hartana A. 1995. Analisis kemiripan genetik kelapa koleksi plasma nutfah di Kebun Percobaan Mapanget, Sulawesi Utara. *Hayati* 2(1):12-16. Bogor.
- Perera L, Russel JR, Provan J, McNicol JW, Powell W. 1998. Evaluating genetic relationship between indigenous coconut (*Cocos nucifera* L) accession from Sri Lanka by means of AFLP profiling. *Theor. Appl. Genet.* 96:545-550.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanavey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2:225-238.
- Preston LR, Harker N, Holton T, Morell MK. 1999. Plant cultivar identification using DNA analysis. *Plant Varieties and Seed* 12:191-205.

- Rohde W, Kullaya A, Rodriguez J, and Ritter E. 1995. Genome analysis of *Cocos nucifera* L by PCR Amplification of spacer sequence separating a subset of copia-like EcoR1 repetitive elements. *J.Genet. and Breed.* 49:170-186.
- Rompas T. 1993. Beberapa kultivar kelapa yang potensial dikembangkan dan program hibridisasi. Dalam Prosiding Konferensi Nasional Kelapa III 20-23 Juli 1993. Yogyakarta. Balitbang Pertanian. Puslitbangtri. Buku III. p.567-576.
- Roslim DI, Hartana A, Suharsono. 2003. Kemiripan genetika tiga populasi kelapa tipe Dalam berdasarkan tiga metode analisis data penanda RAPD. *Hayati* 10(1):12-18.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: A laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, NY.
- Teulat B, Aldam C, Trehin R, Lebrun P, Barker JHA, Arnold GM, Karp A, Boudouin L, Rognon F. 2000. An Analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) population from across the geographic range using sequence-tagged microsatellite (SSRs) and RFLPs. *Theor.Appl.Genet.* 100:764-771
- Tingey SV, Rafalski JA, Williams JGK. 1992. Genetic analysis with RAPD markers Di dalam Application of RAPD Technology to Plant Breeding. *Joint Plant Breeding Symposia Series*. Minneapolis, 1 Nov 1992 hlm 3-8.