

## KERAGAMAN GENETIK KELAPA DALAM BALI (DBI) DAN DALAM SAWARNA (DSA) BERDASARKAN PENANDA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA* (RAPD)

DONATA S. PANDIN

Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain  
Po Box 1004, Manado 90051, Email : [balitka05@yahoo.com](mailto:balitka05@yahoo.com)

(Diterima Tgl. 26 - 10 - 2009 - Disetujui Tgl. 8 - 2 - 2010)

### ABSTRACT

Keragaman genetik dan hubungan kekerabatan dalam populasi kelapa Dalam Bali (DBI) dan Dalam Sawarna (DSA) dianalisis menggunakan penanda RAPD. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor pada Februari-Mei 2007. Bahan yang digunakan dalam penelitian sebanyak 10 individu dari masing-masing populasi. Primer acak digunakan dalam analisis terdiri atas 10 primer -10 mer yaitu OPA-02, OPA-08, OPA-10, OPA-13, OPA-20, OPB-08, OPB-11, OPB-12, OPB-15, OPB-20. DNA diekstraksi menggunakan metode Rohde yang telah dimodifikasi, konsentrasi ditetapkan menggunakan metode Sambrook. Untuk melihat tingkat kekerabatan antar individu berdasarkan pola pita RAPD dari setiap primer digunakan program NTsys ver. 2.0 (Program Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis), sedangkan untuk analisis gerombol digunakan metode UPGMA untuk membuat dendrogram. Koefisien keragaman antar individu dalam populasi kelapa DBI berkisar antara 2,4% – 30,7% dengan rata-rata 21,7%, dan untuk populasi kelapa DSA antara 1,5% – 22,4% dengan rata-rata 12,7%. Jarak genetik individu-individu dalam populasi kelapa Dalam Bali (DBI) cukup jauh menunjukkan bahwa keragaman genetik dalam populasi Dalam Bali masih tinggi, sehingga seleksi untuk maksud perbaikan sifat masih sangat memungkinkan. Pada populasi kelapa Dalam Sawarna (DSA) jarak genetik individu-individu dalam sudah semakin sempit, artinya keanekaragaman genetik antar individu di dalam populasi DSA sudah sangat rendah oleh karena itu seleksi untuk maksud perbaikan sifat harus dilakukan dengan selektif. Hubungan kekerabatan antar populasi kelapa Dalam Bali dan Dalam Sawarna sebesar 44% artinya jarak genetik kedua populasi ini cukup jauh yaitu 56%. Sehingga jika individu-individu terseleksi dari kedua populasi tersebut disilangkan, akan diperoleh keturunan yang memiliki nilai heterosis tinggi.

Kata kunci: Kelapa Dalam Bali, kelapa Dalam Sawarna, keragaman genetik, hubungan kekerabatan, RAPD

### ABSTRACT

#### ***Genetic Diversity of Bali Tall (DBI) and Sawarna Tall (DSA) Coconuts Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)***

Genetic Diversity of Bali Tall (DBI) and Sawarna Tall (DSA) coconuts based on *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) was observed. Ten plants were used in each population. The objectives of this research were to determine genetic diversity within-and inter-population of Bali Tall (DBI) and Sawarna Tall (DSA) coconuts, and genetic relationship of those population based on RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Research was done in Plant Biology Laboratory of Center Research of Genetic Resources and Biotechnology, Institut Pertanian Bogor, February – May 2007. DNA extraction was done by modified Rohde method and to determine the concentration and quality of DNA by Sambrook method. Ten RAPD 10-mer were used namely OPA-02, OPA-08, OPA-10, OPA-13, OPA-20, OPB-08, OPB-11, OPB-12,

OPB-15, OPB-20. To find out the level of genetic relationship between individuals based on RAPD banding pattern of each primer, we used NTsys program ver. 2.0 (program Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), whereas for the analysis of clustering UPGMA method is used to create a dendrogram. These ten RAPD primers could separate DBI and DSA in each group. Genetic diversity within-population of Bali Tall coconut population varied from 2.4 to 30.7% with average of 21.7%. So that, opportunity to improve characters in DBI coconut population could be done by selection. Genetic diversity within-population of Sawarna Tall coconut population progressively was narrow, ranging from 1.5 to 12.4% with average 12.7%, so the selection in order to do character improvement in this population could be done selectively. Genetic relationship between DBI dan DSA populations was far enough (54%), so the crossing between those population will be good for characters improvement.

Key words : Bali Tall coconut, Sawarna Tall coconut, genetic diversity, genetic relationship, RAPD

### PENDAHULUAN

Kelapa Dalam Bali dan Dalam Sawarna adalah dua populasi kelapa yang telah dilepas sebagai Kelapa Unggul Nasional. Hubungan antara keanekaragaman karakter genetika dan perbedaan geografi populasi kelapa selama ini didasarkan pada ciri-ciri agronomi dan morfologi. Cara ini sangat mudah dilakukan tetapi memiliki kelemahan yaitu memerlukan waktu yang lama, perlu tenaga kerja yang intensif, dan hanya memberikan gambaran keanekaragaman yang sederhana (SUGIMURA *et al.*, 1997), dan yang paling utama adalah karakter morfologi masih dipengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga sulit mendapatkan hasil keanekaragaman genetik yang akurat.

Berkembangnya teknologi penanda DNA menyebabkan keanekaragaman karakter genetika dalam plasma nutfah kelapa pada taraf DNA dapat dilakukan. Penanda DNA menawarkan alternatif analisis yang lebih baik untuk melengkapi kelemahan penanda morfologi. Penanda DNA mampu memberikan polimorfisme pita DNA dalam jumlah yang banyak, konsisten, dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

*Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) adalah salah satu penanda DNA yang menggunakan prinsip kerja mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang mampu mengamplifikasi sekuen DNA secara *in vitro*.

Penggunaan RAPD ini banyak digunakan karena pengerjaannya cukup sederhana, mudah dalam persiapan, memberikan hasil yang lebih cepat, dan menghasilkan jumlah karakter yang relatif tidak terbatas sehingga sangat membantu untuk keperluan analisis keanekaragaman genetika tanaman yang tidak diketahui latar belakang genomnya (GARCIA *et al.*, 2004)

Pada tanaman tahunan, RAPD sangat membantu dalam meningkatkan efisiensi pada seleksi awal (GRATTAPAGLIA *et al.*, 1992). Pada tanaman kelapa, penggunaan RAPD untuk menganalisis keanekaragaman karakter genetika telah dilakukan terhadap 17 populasi kelapa di Pasifik Selatan (ASHBURNER *et al.*, 1997), tiga populasi kelapa Genjah (LENGKONG *et al.*, 1999), tiga populasi kelapa Dalam dari Maluku (MATONDANG, 2000), enam populasi kelapa Dalam dari Kalimantan Barat (IFADATIN, 2002), empat populasi kelapa Genjah dari beberapa tempat di Indonesia (HANNUM *et al.*, 2003), 5 populasi kelapa Dalam dari Jawa (SUMARSONO *et al.*, 2003) dan beberapa populasi kelapa Dalam dari India (UPADHYAY *et al.*, 2004), serta kelapa Dalam dari Papua (MAWIKERE, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman genetik di dalam dan antar-populasi kelapa Dalam Bali (DBI) dan Dalam Sawarna (DSA) berdasarkan penanda RAPD, dan mempelajari hubungan kekerabatan antar populasi kelapa tersebut.

## BAHAN DAN METODE

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

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah populasi kelapa Dalam Bali dan Sawarna koleksi Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain di Mapanget. Bahan untuk analisis molekular adalah daun muda dari populasi kelapa masing-masing 10 pohon, sehingga jumlah keseluruhan bahan tanaman adalah 20 pohon.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah (1) Bahan-bahan kimia untuk isolasi DNA tanaman kelapa, (2) PCR Core Kit dan Primer acak 10-mer dari Operon Kit A dan Kit B, dan (3) Agarose dan Etidium Bromida

### Isolasi DNA Total

DNA total tanaman diisolasi mengikuti Metode ROHDE *et al.* (1995) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1,5 gram daun kelapa yang masih muda dimasukkan ke dalam

mortar yang berisi 10 ml buffer lisis (100 mM Tris-HCl pH8, 2% (m/v) CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, dan 0,2%  $\beta$ -mercaptoetanol (ditambahkan pada saat akan diisolasi) dan 0,07 gr pasir kuarsa, digerus sampai halus. Serbuk daun dipindahkan ke dalam tabung 15 ml dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 1,5 jam. Suspensi DNA dipanen dengan melakukan sentrifus pada 4000 rpm selama 5 menit. Supernatan diberi 1 volume kloroform: isoamil alkohol (24:1), dikocok perlahan sampai homogen lalu disentrifus pada 4.000 rpm selama 10 menit. Suspensi DNA dipresipitasi dengan menambahkan 0,1 volume sodium asetat 3 M pH 8 dan 0,8 volume isopropanol. Endapan DNA didapat melalui sentrifus pada 4.000 rpm selama 10 menit, lalu disuspensi dalam 500  $\mu$ l larutan TE 1X. Untuk menghilangkan kontaminan RNA, ke dalam suspensi DNA ditambahkan RNase A dengan konsentrasi 20  $\mu$ g/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Selanjutnya suspensi DNA diekstraksi berturut-turut dengan 1 volume fenol dan campuran kloroform : isoamil alkohol (24 : 1). Suspensi DNA dipresipitasi dengan 0,8 volume isopropanol lalu dibilas dengan alkohol 70% dingin. Pelet DNA kering diberi 200  $\mu$ l TE dan disimpan pada -20°C.

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

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

Kualitas DNA diketahui dengan membandingkan hasil migrasi DNA total bersama DNA standar  $\lambda$ /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 ( $\text{Abs}_{260}$ ) dengan absorbansi pada 280 nm ( $\text{Abs}_{280}$ ). Kemurnian di atas 1,7 dianggap baik.

### RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

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, dua contoh DNA diambil secara acak dan diamplifikasi dengan PCR menggunakan 40 primer tersebut. Primer yang memberikan hasil amplifikasi lebih dari dua pita dipilih untuk digunakan dalam penelitian selanjutnya.

Tabel 1. Primer operon 10-mer Kit A dan Kit B dan susunan basanya  
 Table 1. Name and sequence of operon primers 10-mer Kit A and Kit B

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

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 MgCl<sub>2</sub>, 5 pMol primer, 1 unit Taq polimerase (AmpliTaq, 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 Agarosa 1,0% dalam 1 x TAE dengan voltase 70 V selama 3,5 jam. Gel hasil elektroforesis divisualisasikan dengan merendam gel dalam larutan Etidium Bromida (EtBr) 0,5 ug/ml selama 20 menit, lalu direndam dengan aquades selama 15 menit untuk menghilangkan etidium bromida yang terikat non spesifik pada gel agarosa. Fragmen DNA pada gel diamati di atas UV-transiluminator (Hofer) dan direkam dalam disket melalui alat dokumentasi gel (Gel Doc).

### Analisis Data

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 :

- $F_{ab}$  = koefisien kemiripan genetik individu a dan b  
 $n_{ab}$  = jumlah pita yang sama posisinya pada individu a dan b  
 $n_a$  dan  $n_b$  = jumlah pita pada masing-masing individu a dan b

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 program 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

Kemampuan suatu primer untuk dapat mengamplifikasi DNA cetakan (template DNA) dari suatu genom tanaman selain ditentukan oleh jumlah dan kualitas DNA, juga ditentukan oleh adanya situs (sekuen) pada DNA cetakan yang homolog dengan urutan basa-basa dari primer yang digunakan. Jika di dalam DNA cetakan yang digunakan tidak mempunyai situs homolog, maka DNA cetakan tidak akan diamplifikasi yang ditandai dengan tidak adanya pita DNA di dalam gel agarosa hasil elektroforesis. Oleh karena itu langkah awal yang perlu dilakukan adalah seleksi primer yang dapat mengamplifikasi DNA genom tanaman kelapa yang dihasilkan dalam bentuk pita-pita DNA. Untuk mendapatkan hasil keanekaragaman genetik tanaman yang akurat maka harus dilakukan seleksi terhadap primer yang akan digunakan di dalam penelitian. Primer yang dipilih sebaiknya primer yang dapat menghasilkan banyak pita RAPD dan memiliki polimorfisme tinggi. Primer yang menghasilkan pita sedikit dengan polimorfisme rendah sebaiknya tidak digunakan dalam menganalisis keanekaragaman genetik tanaman (MANOJ *et al.*, 2005).

Seleksi primer dalam penelitian ini dilakukan dengan mengamplifikasi DNA kelapa dari kedua populasi kelapa yang digunakan (DBI dan DSA) masing-masing dua pohon. Dari 40 primer acak Operon yang diseleksi diperoleh 10 primer di antaranya menghasilkan lebih dari dua pita RAPD 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). Tidak teramplifikasinya DNA kelapa oleh beberapa primer yang diuji kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya sekuen homolog antara primer dengan DNA cetakan dari populasi kelapa tersebut. Kemungkinan lainnya adalah primer tersebut menempel pada dua situs pada DNA cetakan yang memiliki jarak yang cukup jauh sehingga tidak mampu diamplifikasi oleh enzim DNA taq polimerase.

Jumlah total pita DNA yang berhasil diamplifikasi oleh setiap primer menggunakan 10 primer acak pada populasi kelapa DBI dan DSA 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, 1999), HAYATI *et al.* (2000), HANNUM *et al.* (2003), ROSLIM *et al.* (2003), SUMARSONO *et al.* (2003), dan MAWIKERE (2005) yaitu berkisar antara 3-15 pita per primer. Hasil ini tergolong rendah bila dibandingkan dengan hasil yang diperoleh VICCINI *et al.* (2004) pada spesies *Lippia* (Verbenaceae) yang menggunakan 18 primer Kit A dan Kit B, yang berhasil mendapatkan jumlah pita DNA berkisar antara 2 (OPA-13) hingga 49 (OPA-19) dengan rata-rata 27 pita per primer.

Pita RAPD terbentuk dari pemanjangan primer yang menempel pada DNA cetakan yang terjadi secara berulang. Setiap primer dapat menempel secara bersamaan pada beberapa situs homolog yang tersebar di dalam DNA cetakan, dan hasil pemanjangan primer tersebut memiliki ukuran yang sangat bervariasi. Oleh karena itu di dalam hasil elektroforesis menggunakan gel agaros terlihat

Tabel 2. Nama primer dan jumlah pita hasil amplifikasi DNA 4 pohon kelapa Dalam DBI dan DSA

Table 2. Name of primer and number of amplified DNA of four trees of DBI and DSA coconut population

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

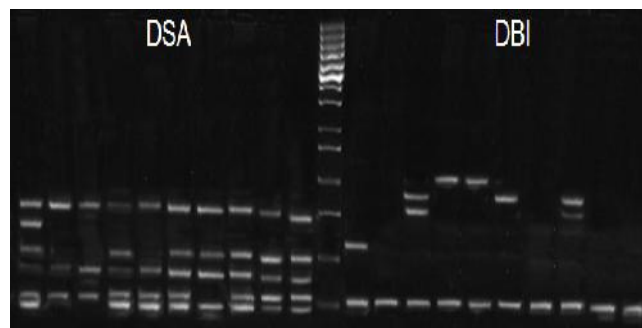
beberapa pita dengan ukuran berbeda. Jumlah pita DNA yang terdeteksi dalam setiap primer bergantung pada urutan basa dari primer dan ada atau tidaknya variasi dalam genotipe tertentu (UPADHYAY *et al.*, 2004).

Pita DNA hasil amplifikasi menggunakan 10 primer terseleksi menunjukkan bahwa primer OPA-8 menghasilkan pita paling banyak yaitu 9 pita (Gambar 1) sedangkan primer OPB-11 meskipun hanya menghasilkan 1-3 pita pada setiap individu tetapi semuanya bersifat polimorfik (Gambar 2).

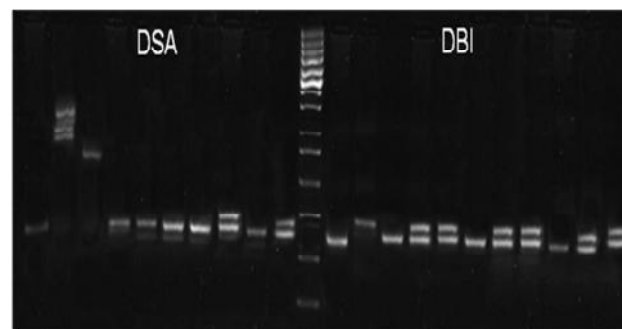
Tabel 3. Nama dan urutan basa primer dan jumlah pita polimorfik DNA kelapa DBI dan DSA hasil amplifikasi

Table 3. Name and base sequence of primers, and number of polymorphic band of DBI and DSA amplified DNA

| Primer                      | Sekuen 5' - 3' | Jumlah pita polimorfik |     |        | Total pita |
|-----------------------------|----------------|------------------------|-----|--------|------------|
|                             |                | DBI                    | DSA | Jumlah |            |
| OPA-02                      | TGCCGAGCTC     | 5                      | 3   | 6      | 8          |
| OPA-08                      | GACCGTTGT      | 4                      | 3   | 7      | 8          |
| OPA-10                      | CAAACGTCGG     | 3                      | 3   | 7      | 8          |
| OPA-13                      | CAGCACCCAC     | 5                      | 0   | 6      | 7          |
| OPA-20                      | GTTGCGATCC     | 3                      | 2   | 8      | 8          |
| OPB-08                      | GTCCACACGG     | 4                      | 4   | 8      | 9          |
| OPB-11                      | CTAGACCCGT     | 3                      | 6   | 6      | 6          |
| OPB-12                      | CCTTGACGCA     | 0                      | 1   | 3      | 3          |
| OPB-15                      | GGCGGGTGT      | 0                      | 2   | 2      | 3          |
| OPB-20                      | GGACCCTTAC     | 1                      | 3   | 3      | 6          |
| Total                       |                | 27                     | 30  | 56     |            |
| Persentase Percentage (%)   |                | 62                     | 52  | 95     |            |
| Rata-rata pita Average band |                | 3                      | 3   |        |            |



Gambar 1. Pola pita primer OPA-8 pada DNA Populasi DSA dan DBI  
Figure 1. Band pattern of OPA-8 primer on DNA of DSA and DBI coconut population



Gambar 2. Pola pita primer OPB-11 pada DNA Populasi DSA dan DBI  
Figure 2. Band pattern of OPB-11 primer on DNA of DSA and DBI coconut population

Dari Gambar 1 dan Gambar 2 terlihat bahwa primer OPA-8 menghasilkan jumlah pita lebih banyak dibandingkan dengan OPB-11. Hasil ini menunjukkan bahwa situs pelekatan primer OPA-8 pada DNA tanaman kelapa DSA lebih banyak tersebar, dibandingkan kelapa DBI. Kemungkinan lainnya adalah situs pelekatan antara 2 lokus cukup jauh sehingga pada proses PCR, mesin yang diprogram dengan waktu pemanjangan terbatas tidak mampu mengamplifikasi DNA cetakan pada populasi kelapa DBI.

Primer OPB-11 pada populasi kelapa DBI cukup menarik karena menghasilkan tiga pola pita yaitu dua pola pita mempunyai satu pita dan satu pola pita dengan dua pita (Gambar 2). Letak pita-pita dari pola pita yang menghasilkan dua pita sama dengan letak (ukuran) pita dari masing-masing pita pada pola pita yang hanya menghasilkan satu pita. Hubungan pola pita dengan satu pita dengan pola pita satu pita lainnya diduga bersifat kodominan dan individu dengan satu pita adalah individu yang bergenotipe homozigot, sedangkan yang memiliki dua pita adalah individu yang bergenotipe heterozigot untuk primer OPB-11. Dengan demikian primer OPB-11 kemungkinan dapat digunakan untuk membedakan individu homozigot dari yang heterozigot pada populasi kelapa DBI.

Untuk melihat tingkat kekerabatan antar individu dalam masing-masing populasi kelapa DBI dan DSA

berdasarkan pola pita RAPD dari setiap primer digunakan program NTsys ver. 2,0 (Program Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis), sedangkan untuk analisis gerombol digunakan metode UPGMA untuk membuat dendrogram (pohon kekerabatan). Koefisien kemiripan antar individu dalam populasi kelapa DBI (Tabel 4) berkisar antara 69,3 - 97,6% dengan rata-rata 78,3%, dan untuk populasi kelapa DSA (Tabel 5) antara 77,6 - 98,5% dengan rata-rata 87,3%. Menurut ROHLF (2000), derajat kemiripan antar genotipe menggunakan matriks genetik dapat dibagi dalam 4 kategori yaitu kemiripan sangat dekat (sangat baik)  $r \geq 0,9$ ; baik  $0,8 \leq r \leq 0,9$ ; kurang baik  $0,7 \leq r \leq 0,8$ ; buruk  $r \leq 0,7$ .

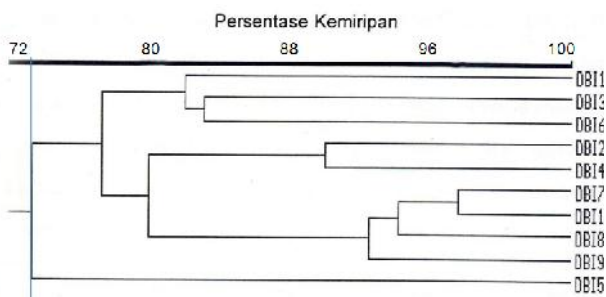
Tingkat kemiripan genetik suatu populasi dapat digambarkan oleh jarak genetik dari individu-individu anggota populasi tersebut. Semakin kecil jarak genetik antar individu dalam suatu populasi, maka semakin seragam populasi tersebut. Sebaliknya semakin besar jarak genetik individu-individu di dalam suatu populasi, maka populasi tersebut mempunyai anggota yang semakin beragam. Koefisien kemiripan dari setiap primer acak yang digunakan, dipakai untuk analisis sidik gerombol guna melihat hubungan kekerabatan dengan menggunakan dendrogram (Gambar 3 dan Gambar 4).

Tabel 4. Koefisien kemiripan dan matriks kekerabatan genetik dari individu-individu populasi kelapa DBI  
Table 4. Index similarity and genetical matrix among individual plants of DBI coconut population

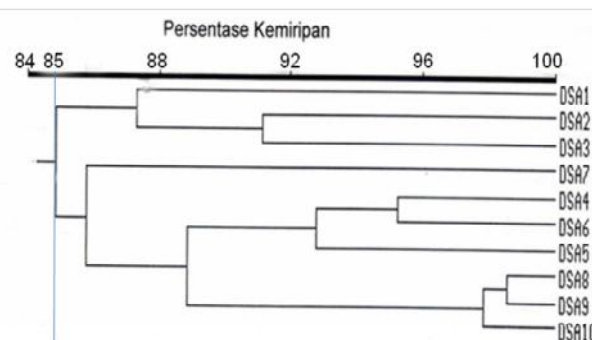
| Pohon | DBI1  | DBI2  | DBI3  | DBI4  | DBI5  | DBI6  | DBI7  | DBI8  | DBI9  | DBI10 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DBI1  | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| DBI2  | 0,711 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| DBI3  | 0,826 | 0,693 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |
| DBI4  | 0,750 | 0,902 | 0,730 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |
| DBI5  | 0,734 | 0,769 | 0,716 | 0,800 | 1,000 |       |       |       |       |       |
| DBI6  | 0,818 | 0,723 | 0,833 | 0,800 | 0,705 | 1,000 |       |       |       |       |
| DBI7  | 0,809 | 0,800 | 0,782 | 0,833 | 0,734 | 0,772 | 1,000 |       |       |       |
| DBI8  | 0,772 | 0,765 | 0,833 | 0,800 | 0,705 | 0,782 | 0,954 | 1,000 |       |       |
| DBI9  | 0,800 | 0,744 | 0,772 | 0,782 | 0,723 | 0,761 | 0,950 | 0,904 | 1,000 |       |
| DBI10 | 0,837 | 0,826 | 0,808 | 0,857 | 0,720 | 0,800 | 0,976 | 0,933 | 0,926 | 1,000 |

Tabel 5. Koefisien kemiripan dan matriks kekerabatan genetik dari individu-individu populasi kelapa DSA  
Table 5. Index similarity and genetical matrix among individual plants of DSA coconut population

| Pohon | DSA1  | DSA2  | DSA3  | DSA4  | DSA5  | DSA6  | DSA7  | DSA8  | DSA9  | DSA10 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DSA1  | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| DSA2  | 0,876 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| DSA3  | 0,869 | 0,911 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |
| DSA4  | 0,898 | 0,853 | 0,906 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |
| DSA5  | 0,852 | 0,835 | 0,888 | 0,920 | 1,000 |       |       |       |       |       |
| DSA6  | 0,882 | 0,835 | 0,888 | 0,952 | 0,935 | 1,000 |       |       |       |       |
| DSA7  | 0,861 | 0,788 | 0,776 | 0,865 | 0,818 | 0,878 | 1,000 |       |       |       |
| DSA8  | 0,861 | 0,788 | 0,833 | 0,895 | 0,848 | 0,909 | 0,857 | 1,000 |       |       |
| DSA9  | 0,873 | 0,800 | 0,848 | 0,909 | 0,861 | 0,923 | 0,869 | 0,985 | 1,000 |       |
| DSA10 | 0,861 | 0,788 | 0,835 | 0,895 | 0,848 | 0,909 | 0,857 | 0,971 | 0,985 | 1,000 |



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

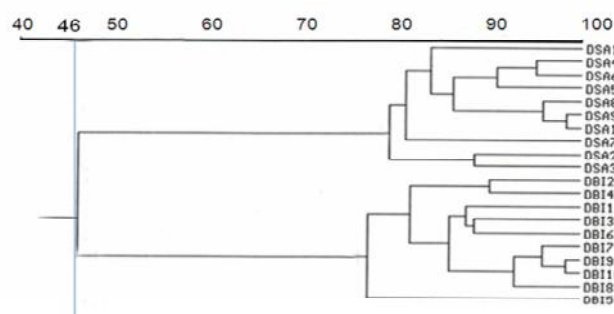


Gambar 4. Dendrogram kemiripan genetik populasi kelapa DSA.  
 Figure 4. Dendrogram of genetic similarity of DSA coconut population

Dendrogram kemiripan genetik populasi kelapa DBI menunjukkan bahwa pada kemiripan 80% populasi ini masih terbagi dalam tiga kelompok. Populasi kelapa DBI baru membentuk satu kelompok pada kemiripan 73%. Berdasarkan dendrogram ini dapat dilihat bahwa pada populasi kelapa DBI masih terdapat individu-individu yang memiliki jarak genetik cukup jauh sehingga seleksi untuk karakter-karakter tertentu untuk perbaikan sifat masih sangat memungkinkan.

Berdasarkan koefisien kemiripan dan matriks kekerabatan genetik, pada populasi kelapa DSA dapat dilihat bahwa rata-rata jarak genetik di dalam populasinya adalah 13%. Dendrogram kemiripan genetik (Gambar 4) memperlihatkan bahwa individu-individu dalam populasi DSA membentuk satu kelompok pada tingkat kemiripan 85%. Hasil ini menunjukkan bahwa keanekaragaman genetik antar individu di dalam populasi DSA sudah sangat rendah. Rendahnya keanekaragaman genetik ini diduga karena terjadinya penyerbukan di dalam populasi kelapa DSA sendiri, karena populasi ini berasal dari Perkebunan Lebak, Jawa Barat, yang telah ditanam selama tiga generasi. Hasil analisis keanekaragaman genetik pada kelapa DSA berdasarkan RAPD ini sejalan dengan evaluasi keragaman genetik berdasarkan karakter morfologi yaitu 15% (TENDA *et al.*, 1992). Walaupun keanekaragaman genetik sudah cukup rendah, tetapi dari dendrogram ini terlihat masih ada individu-individu yang terpisah cukup jauh dari kelompoknya misalnya DSA7, sehingga perbaikan

sifat melalui seleksi masih dapat dilakukan dengan sangat selektif.



Gambar 5. Dendrogram kemiripan genetik populasi kelapa DBI dan DSA  
 Figure 5 Dendrogram of genetic similarity of DBI and DSA coconut population

Keanekaragaman genetik suatu populasi dapat terjadi karena adanya interaksi dari beberapa faktor seperti mutasi, migrasi, rekombinasi, seleksi, dan hanyutan gen (*genetic drift*). Mutasi, migrasi, dan rekombinasi gen akan memperkaya keragaman dalam populasi alami, sedangkan seleksi dan hanyutan genetik cenderung mengurangi variasi (FORD-LLOYD dan JACKSON, 1986).

Dendrogram kemiripan genetik antar populasi kelapa DBI dan DSA dapat dilihat pada Gambar 5. Analisis pengelompokan menunjukkan bahwa kedua populasi kelapa yang diteliti mengelompok dalam populasinya masing-masing. Fenomena ini membuktikan bahwa penanda RAPD dapat digunakan untuk membedakan spesies, galur, atau hasil silang dalam (*inbreeding*) dari suatu populasi tanaman (TINGEY *et al.*, 1992). Hasil penelitian ini juga memperlihatkan, kelapa DBI dan DSA adalah dua populasi kelapa Dalam yang memiliki jarak genetik yang sangat jauh yaitu 56%. Jika seleksi dilakukan pada masing-masing populasi dan kemudian dilanjutkan dengan persilangan antar individu dari kedua populasi ini maka peluang untuk perbaikan sifat sangat terbuka luas. Kelapa Dalam DBI dan DSA adalah dua populasi yang sudah memiliki tingkat kemiripan genetik tinggi dalam populasinya masing-masing, dengan hubungan kekerabatan antar kedua populasi tersebut yang jauh akan memungkinkan untuk mencapai tujuan merakit kelapa Dalam komposit intervarietas dengan tingkat heterosis tinggi jika digunakan sebagai tetua.

## KESIMPULAN

Jarak genetik individu-individu dalam populasi kelapa Dalam Bali (DBI) cukup jauh artinya keragaman genetik dalam populasi Dalam Bali masih tinggi, sehingga seleksi untuk maksud perbaikan sifat masih sangat memungkinkan. Pada populasi kelapa Dalam Sawarna (DSA) jarak genetik individu-individu dalam populasi

sudah semakin sempit, artinya keanekaragaman genetik antar individu di dalam populasi DSA sudah sangat rendah oleh karena itu seleksi untuk maksud perbaikan sifat harus dilakukan dengan selektif. Hubungan kekerabatan antar populasi kelapa Dalam Bali dan Dalam Sawarna sebesar 44% sehingga persilangan antar populasi untuk perbaikan sifat sangat memberikan harapan, karena peluang seleksi untuk mendapatkan individu-individu yang membawa karakter spesifik dengan heterosis tinggi sangat besar.

#### DAFTAR PUSTAKA

- ASHBURNER GR., THOMSON WK., HALLORAN GM. 1997. RAPD analysis of South pacific coconut palm populations. *Crop Sci.* 37:992-997.
- FORD-LLOYD B. and JACKSON. 1986. *Plant Genetic Resources and Introduction to their Conservation and Use.* Edward Arnold Pty. Ltd. Australia. p.152.
- GARCIA AAF., BENCHIMOL LL., BARBOSA AMM., GERALDI IO, SOUZA JR. CL, SOUZA AP. 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP, and SSR markers for diversity studies in tropical maize. *Genetic and Molecular Biology.* 27(4):579-588.
- GRATTAPAGLIA D., CHAPARRO J., WILCOX P., MCCORD S., WERNER D., AMERSON H., MCKEAND S., BRIDGEWATER F., WHETTEN R., O'MALLEY D., and SEDEROFF R. 1992. Mapping in the woody plants with RAPD markers: Application to breeding in forestry and horticulture. *Joint Plant Breeding Simposia Series.* Minneapolis. 1 November 1992. p.37-40.
- HANNUM S., HARTANA A., SUHARSONO. 2003. Kemiripan genetik empat populasi kelapa Genjah berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA. *Hayati.* 10(4):125-129.
- HAYATI PK., HARTANA A., SUHARSONO, dan ASWIDINNOOR H. 2000. Keanekaragaman genetik kelapa Genjah Jombang berdasarkan RAP DNA. *Hayati.* 7(2):35-40.
- IFADATIN, S. 2002. Kemiripan genetik enam populasi kelapa Dalam dari Kalimantan Barat berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Tesis Magister). Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- LENGKONG EF., HARTANA A., dan SUHARSONO. 1998. Keragaman genetik beberapa kultivar berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Prosiding Seminar Sehari Hasil-hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat. 3 September 1998. PAU Ilmu Hayat IPB. Bogor. p.1-12.
- LENGKONG EF., HARTANA A., dan SUHARSONO. 1999. Penggunaan penanda molekuler pada analisis keragaman genetik kelapa. Prosiding Simposium Hasil Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. Manado, 10 Maret 1999. Balitbang Kehutanan dan Perkebunan, Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. p.1-10.
- MANOJ, T., N.K. SINGH, M. RATHORE, and N. KUMAR. 2005. RAPD markers in the analysis of genetic diversity among common bean germplasm from Central Himalaya. *Genetic Res. and Crop Evol.* 52(3):315-324.
- 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. 2005. 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.
- NEI M. and LI WM. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proc. Natl. Acad. Science.* 76:5269-5273.
- 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 EcoRI repetitive elements. *J. Genet. and Breed.* 49:170-186.
- ROHLF FJ. 2000. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.10. Exeter Software, New York.
- ROSLIM DI, HARTANA A, SUHARSONO. 2003. Kemiripan genetik tiga populasi kelapa tipe Dalam berdasarkan tiga metode analisis data RAPD. *Hayati* 10(1):12-18.
- SAMBROOK J., FRITSCH EF., MANIATIS T. 1989. *Molecular cloning: A laboratory Manual.* 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, NY.
- SUGIMURA Y., ITANO M., SALUD CD., OTSUJI K, YAMAGUCHI H. 1997. Biometric analysis on diversity of coconut palm: cultivar classification by botanical and agronomical traits. *Euphytica.* 98:29-35.
- SUMARSONO, HARTANA A., SUHARSONO, TJAHYOLEKSONO A. 2003. Keragaman genetik lima populasi kelapa yang berasal dari Jawa berdasarkan atas penanda *Random Amplified Polymorphic DNA*. *Biosfera.* 20(2):37-42.
- TENDA ET., ROMPAS T., TAMPAKE H. 1992. Keragaan kelapa dalam Sawarna di PTP XI Jawa Barat. *Buletin Balitka.* 18:28-31.
- TINGEY SV., RAVALSKI JA., WILLIAMS JGK., 1992. Genetic analysis with RAPD markers. Application of RAPD Technology to Plant Breeding. *Joint Plant Breeding Simposia Series.* Minneapolis, 1 Nov 1992. p.3-8.
- UPADHYAY A., JAYADEV K., MANIMEKALAI R., PARTHASARATHY VA. 2004. Genetic relationship and diversity in Indian coconut accession based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae.* 99:353-362.
- VICCINI LF, DA COSTA DCS, MACHADO MA, CAMPOS AL. 2004. Genetic diversity among nine species of *Lippia*

(Verbenaceae) based on RAPD markers. Plant Syst.  
Evol. 246:1-8.