

## Penanda DNA Untuk Pemuliaan Tanaman Kelapa (*Cocos nucifera* L.)

DONATA S. PANDIN

Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain  
*Indonesian Coconut and Other Palm Crops Research Institute*  
Jalan Raya Mapanget PO Box 1004, Manado  
Tepl. (0431) 812430. Faks. (0431) 812017. E-mail: balitka05@yahoo.com  
Website: www.balitka.litbang.deptan.go.id

Diterima: 8 Februari 2010 : Disetujui: 26 Mei 2010

### ABSTRAK

Kegiatan pemuliaan pada tanaman kelapa merupakan proses yang sangat lama dan mahal. Pemuliaan tanaman kelapa di Indonesia telah dilakukan melalui eksplorasi, koleksi, dan hibridisasi. Inventarisasi populasi kelapa yang dilakukan oleh COGENT, CGR (*The International Coconut Genetic Resources Network, Coconut Genetic Resources*) dari 17 negara, dilaporkan sebanyak 936 populasi dan 105 populasi diantaranya berasal dari Indonesia atau setara dengan 11.22% dari seluruh populasi kelapa di dunia yang telah dilaporkan. Beberapa dari koleksi yang ada di BALITKA telah digunakan sebagai materi persilangan baik antara kelapa Genjah dengan Dalam, maupun kelapa Dalam dengan Dalam. Dari koleksi plasma nutfah kelapa tersebut, telah berhasil dilepas sebagai Kelapa unggul sebanyak 15 varietas kelapa Dalam, 4 varietas kelapa Genjah, dan 5 varietas kelapa Hibrida. Kemajuan dibidang genetika terutama pada penanda DNA telah banyak merubah pola penelitian pada disiplin ilmu genetika dan pemuliaan tanaman. Ditemukan banyak penggunaan penanda DNA dalam pemuliaan tanaman. Beberapa penanda DNA yang telah digunakan pada tanaman kelapa adalah analisis variasi genetik, evolusi/migrasi tanaman kelapa, keterpautan gen tertentu terhadap karakter spesifik, penelusuran tetua, dan analisis lokus-lokus karakter kuantitatif dengan menggunakan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), dan mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeat* (SSR). Saat ini BALITKA sedang melakukan penelitian untuk mengidentifikasi fragmen DNA sebagai penanda sifat kopyor, klarifikasi kandidat penanda sifat produksi buah pada kelapa Dalam Mapanget, dan identifikasi penanda tanaman tahan terhadap *P. palmivora*. Pemanfaatan penanda DNA akan menghemat waktu dan tenaga kerja karena pengujian yang dilakukan pada tingkat DNA tidak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh. Keuntungan lainnya adalah jumlah benih, bibit, atau galur yang

dibutuhkan untuk pengujian dapat dikurangi, karena banyak yang sudah tidak terpilih setelah seleksi dengan penanda DNA pada tahap awal generasi, sehingga desain pemuliaan lebih efektif. Efisiensi paling besar adalah seleksi terhadap sifat spesifik (target) akan lebih cepat karena seleksi berdasarkan genotif spesifik lebih mudah diidentifikasi dan diseleksi.

Kata kunci : *Cocos nucifera*, pemuliaan, RFLP, RAPD, mikrosatelit (SSR)

### ABSTRACT

#### **DNA Marker in Coconut Breeding Programm**

Coconut plant breeding activities in Tall coconut is a very long and expensive process. Coconut plant breeding in Indonesia has been done through the exploration, collection, and hybridization. Inventarization of coconut populations conducted by the COGENT, CGR (*The International Coconut Genetic Resources Network, the Coconut Genetic Resources*) from 17 countries, reported as many as 936 population and 105 of the population of which originated from Indonesia or equal to 11:22% of the entire population of the world's coconut has been reported . Some of existing collections in BALITKA has used as the material crosses between dwarf and tall coconut. From the collection of coconut germplasm, we have successfully released as much as 15 varieties of superior Tall coconut palm, 4 Dwarf coconut varieties, and five varieties of hybrid coconuts. Progress in the genetics field, especially on the DNA marker has changed the pattern of research in disciplines of genetics and plant breeding. A lot of DNA markers in plant breeding had found and used. Several DNA markers that have been used on the coconut crop are to analyze genetic variation, the evolution / migration of coconut plantations, mapping of specific genes related to specific characters, parental analysis, and analysis of quantitative trait loci using *Restriction Fragment Length polymorphism* (RFLP), the *Random Amplified Polymorphic*

DNA (RAPD), *Amplified Fragment Length polymorphism* (AFLP), and of micro-satellite or *Simple Sequence Repeat* (SSR). BALITKA currently doing research to identify DNA fragments as a marker kopyor properties, clarification of the nature of the candidate marker of fruit production in coconut In Mapanget, and identification markers *P. palmivora* resistant plants. Utilization of DNA markers will save time and labour because the tests conducted at the DNA level is not influenced by environmental. Another advantage is the number of seeds, seedlings, or strain required for testing can be reduced, because many of them had not elected after selection by DNA marker generation in the early stages, so the breeding design is more effective. Greatest efficiency is the selection of specific characters will be faster because the selection based on specific genotype is more easily identified and selected.

Keywords: *Cocos nucifera*, breeding, RFLP, RAPD, micro-satellite (SSR)

## PENDAHULUAN

Kegiatan pemuliaan tanaman kelapa di Indonesia telah dilakukan melalui eksplorasi, koleksi, dan hibridisasi. Inventarisasi populasi kelapa yang dilakukan oleh COGENT, CGR (*The International Coconut Genetik Resources Network, Coconut Genetic Resources*) dari 17 negara, dilaporkan 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).

Penyebaran kelapa ini berawal dari Asia ke arah Timur menuju Pasifik dan Amerika, serta ke Barat menuju Afrika (Perera *et al.*, 2000; Teulat *et al.*, 2000). Hasil penelusuran menggunakan RFLP membuktikan bahwa kelapa bergerak dari Asia Tenggara menuju Pasifik dan pantai barat Amerika (Lebrun *et al.*, 1998).

Migrasi suatu individu atau populasi tanaman dari satu benua ke benua lain atau dari satu tempat ke tempat lain baik melalui migrasi satu arah (*one-way migration*) maupun migrasi simetrik (*simetric migration*), yang diikuti oleh terjadinya isolasi geografi dan hibridisasi menyebabkan terjadinya aliran gen (Servedio & Kirkpatrick, 1997). Aliran gen antar populasi tanaman akan menimbulkan konsekuensi evolusi

yang nyata dan dapat menyebabkan meningkatnya keanekaragaman karakter genetika, menimbulkan kombinasi gen baru, dan memindahkan kemampuan beradaptasi di suatu tempat dari suatu populasi ke populasi lainnya (Nagy, 1997).

Konservasi dan pemanfaatan sumber genetika tanaman sangat penting dalam rangka perbaikan produksi serta pemeliharaan tanaman kelapa secara berkesinambungan. Oleh karena itu evaluasi terhadap karakter genetika dalam suatu spesies tanaman merupakan syarat utama untuk usaha pemuliaan berkelanjutan di masa mendatang. Karakterisasi dan evaluasi standar suatu aksesori secara rutin dapat dilakukan dengan berbagai metode termasuk cara-cara tradisional seperti karakter morfologi, dan evaluasi terhadap karakter agronomis pada kondisi lingkungan bervariasi hingga karakterisasi yang melibatkan profil isozim, protein dan sekuen DNA spesifik melalui pendekatan genom berbeda (de Vicente *et al.*, 2005).

Keragaman genetik dalam suatu populasi tanaman sangat penting, agar seleksi dengan maksud untuk mendapatkan karakter-karakter unggul dapat dilakukan. Makin tinggi keragaman genetik maka peluang untuk mendapatkan genotipe unggul semakin besar (Greech and Reich, 1971), dan menunjukkan besarnya pengaruh genetik terhadap sifat yang diekspresikan (Knight, 1979). Jika keragaman genetik suatu tanaman sangat sempit sehingga seleksi sulit dilakukan maka, salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik adalah melalui mutasi. Mutasi adalah terjadinya perubahan materi genetik pada tingkat genom, kromosom, DNA atau gen sehingga mengakibatkan terjadinya keragaman genetik (Soeranto, 2003). Dalam bidang pemuliaan tanaman, teknik mutasi dapat meningkatkan keragaman genetik sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki.

Kegiatan pemuliaan pada tanaman kelapa merupakan proses yang sangat lama dan mahal. Pengujian satu keturunan tunggal untuk tanaman kelapa membutuhkan minimal 70 pohon atau membutuhkan lahan setara 0.5 Ha untuk masa penelitian minimal selama 10 tahun

setelah tanam. Selain itu jumlah zuriat yang bisa diperoleh dari satu tetua betina dalam setahun sangat rendah (Santos *et al.*, 1996). Pada kondisi ini diperlukan metode yang dapat meningkatkan efisiensi untuk pemuliaan tanaman kelapa.

Tanaman menyimpan informasi genetiknya di dalam genom inti, dan dalam organel kloroplas dan mitokondria. Beberapa mekanisme seperti delesi, inverse, translokasi, dan transposisi dapat terjadi secara alami maupun diinduksi yang menyebabkan terjadinya perubahan basa nukleotida pada sekuen DNA. Perubahan tersebut tidak selalu mengubah karakter morfologi sehingga penggunaan penanda yang langsung berintegrasi dengan sistem genetika akan lebih mampu menggambarkan keadaan genom yang sesungguhnya. Untuk menanggulangi keterbatasan penanda morfologi maka penggunaan penanda molekular yang didasari oleh adanya polimorfisme pada tingkat protein atau DNA. Pada tanaman kelapa, informasi genetika berdasarkan penanda protein telah dilakukan menggunakan isozim. Polimorfisme protein dideteksi dengan cara elektroforesis dan perbedaan yang terdeteksi antar alel bergantung pada asam amino yang bermuatan. Informasi genetika berdasarkan penanda DNA pada tanaman kelapa dapat dilakukan dengan Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), dan mikrosatelit atau Simple Sequence Repeat (SSR).

Tulisan ini bertujuan untuk menyampaikan pentingnya pemanfaatan penanda DNA dalam program pemuliaan tanaman kelapa di Indonesia.

## PEMULIAAN TANAMAN KELAPA

Program pemuliaan tanaman kelapa dibagi atas program jangka pendek dan jangka panjang. Program jangka pendek ditujukan untuk menghasilkan benih yang berkualitas baik, sedangkan program jangka panjang bertujuan untuk memperbaiki populasi tanaman kelapa. Program pemuliaan kelapa di Indonesia bertujuan untuk menghasilkan bahan tanaman yang memiliki karakteristik antara lain: cepat

berbunga, habitat pohon pendek, resisten terhadap hama dan penyakit, hasil kopra per satuan luas tinggi dengan pemupukan rendah, ukuran buah besar, daging buah tebal, kandungan minyak tinggi, dan kandungan air rendah (Rompas *et al.*, 1988). Pemuliaan tanaman kelapa di masa mendatang diharapkan menghasilkan bahan tanaman yang memiliki sifat berbuah banyak, cepat berbuah, dan hasil kopra tinggi (Novarianto *et al.*, 1998). Selain pada sifat cepat berbuah dan berbuah banyak, perbaikan pada sifat kandungan minyak tinggi, resisten terhadap penyakit busuk pucuk dan gugur buah, resisten terhadap hama utama, toleran terhadap lahan pasang surut, toleran terhadap kekeringan, kandungan asam laurat tinggi, dan kandungan protein tinggi dengan komposisi asam amino esensial baik.

Persilangan antara kelapa Dalam dan Genjah bertujuan untuk menghasilkan kelapa yang dapat menggabungkan sifat baik yang dimiliki oleh kedua tetuanya menjadi kelapa hibrida unggul. Hingga saat ini telah dilepas lima kelapa hibrida hasil persilangan antara kelapa Dalam dengan kelapa Genjah yang diberi nama kelapa hibrida Indonesia (KHINA). Kelapa hibrida hasil persilangan antara kelapa Genjah Kuning Nias (GKN) dan kelapa Dalam Tenga (DTA), Dalam Bali (DBI), dan Dalam Palu (DPU) berturut-turut adalah KHINA-1, KHINA-2, dan KHINA-3, dan hasil persilangan antara Genjah Kuning Bali (GKB) dan Dalam Mapanget (DMT) adalah KHINA-4 serta persilangan antara Genjah Raja (GRA) dan DMT adalah KHINA-5. Kelima varietas kelapa hibrida tersebut telah dilepas sebagai Kelapa Unggul Nasional.

Persilangan kelapa Dalam dengan Dalam dan seleksi terhadap blok tanaman kelapa penghasil kopra tinggi bertujuan untuk mendapatkan populasi kelapa yang memproduksi tinggi dengan pemeliharaan sederhana. Program pemuliaan jangka pendek saat ini adalah untuk memenuhi kebutuhan benih kelapa guna menunjang program revitalisasi di bidang perkebunan khususnya tanaman kelapa melalui penilaian untuk evaluasi penentuan Blok Penghasil Tinggi (BPT) kelapa Dalam di berbagai daerah. Selain program penetapan BPT dan penetapan Pohon Induk kelapa (PIK) sebagai

sumber benih, juga sedang dilakukan pengujian terhadap kelapa hibrida hasil persilangan antara kelapa Dalam dengan Dalam sebagai benih komposit intervarietas. Kelapa Dalam hibrida intervarietas merupakan populasi kelapa yang diharapkan berproduksi tinggi dengan pemeliharaan sederhana.

Pemurnian kelapa Dalam Mapanget dengan melakukan penyerbukan di antara pohon-pohon terpilih selama empat generasi telah mengakibatkan terjadinya depresi silangdalam. Depresi silangdalam berdasarkan sifat morfologi ditemukan pada hampir semua karakter vegetatif, generatif, dan komponen buah yang diamati, kecuali pada sifat lebar tangkai tandan dan tebal tangkai tandan. Tangkai tandan yang lebih lebar dan tebal akan lebih kuat menyanggah buah-buah kelapa. Karakter yang mengalami depresi silangdalam namun lebih disukai adalah pada panjang 11 bekas daun, panjang tangkai daun, dan panjang tangkai tandan karena tanaman kelapa menjadi lebih pendek, dan lebih kuat menyanggah buah yang banyak dan besar (Pandin, 2009e). Sedangkan analisis depresi silangdalam berdasarkan penanda DNA (SSR), menunjukkan bahwa 4 lokus dari 15 lokus primer SSR yang digunakan tidak lagi berada dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg, artinya alel-alel tersebut tidak lagi diwariskan secara bebas (Pandin, 2009d). Hasil ini menunjukkan bahwa lokus-lokus yang tidak dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg, sudah bergenotipe homozigot (dominan atau resesif) sehingga alel komplemennya tidak lagi diwariskan.

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 sifat-sifat genetika dalam program pemuliaan kelapa.

Kemajuan dibidang molekular terutama pada penanda DNA telah banyak merubah pola penelitian pada disiplin ilmu genetika dan pemuliaan tanaman. Ditemukan banyak penggunaan penanda DNA dalam pemuliaan tanaman, satu diantaranya yang sangat menjanjikan di dalam pengembangan kultivar adalah *Marker assisted selection* (MAS). MAS adalah penggunaan penanda DNA yang letaknya

sangat dekat dan tidak terpisah (linkage) dengan lokus (gen) target, sehingga dapat digunakan sebagai penanda untuk menyeleksi suatu sifat atau karakter fenotipik.

Pemanfaatan MAS akan menghemat waktu dan tenaga kerja karena pengujian dilakukan pada tingkat DNA yang tidak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh. Keuntungan lainnya adalah jumlah benih, bibit, atau galur yang dibutuhkan untuk pengujian dapat dikurangi, karena banyak yang sudah tidak terpilih setelah seleksi dengan MAS pada tahap awal generasi sehingga desain pemuliaan lebih efektif. Efisiensi paling besar adalah seleksi terhadap sifat spesifik (target) akan lebih cepat karena seleksi berdasarkan genotipe spesifik lebih mudah diidentifikasi dan diseleksi. Penentuan hubungan genetika dari plasma nutfah spesifik sangat berguna untuk menentukan galur atau populasi yang akan dipertahankan untuk memaksimalkan pemanfaatan keragaman genetika plasma nutfah (Thorman and Osborn, 1992)

### Penanda DNA

Sifat kuantitatif pada tanaman umumnya dikendalikan oleh banyak gen dan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sehingga perbedaan antar klon atau varietas dalam satu spesies yang berkerabat dekat sulit dibedakan. Tanaman menyimpan informasi genetiknya di dalam genom inti, dan organel kloroplas, serta mitokondria. Beberapa mekanisme terjadinya penggantian dan perubahan basa nukleotida pada DNA adalah dileksi, inverse, translokasi dan transposisi yang dapat terjadi secara alami maupun diinduksi. Mekanisme perubahan ini tidak selalu dapat mengubah fenotipe tanaman sehingga pemanfaatan penanda morfologi menjadi terbatas. Penanda DNA dapat digunakan sebagai alat untuk mendeteksi perubahan pada level DNA. Dengan kemajuan teknologi di bidang biologi molekular, maka masalah tersebut dapat diatasi.

Beberapa penanda DNA yang dapat digunakan untuk menganalisis variasi genetika, evolusi dari suatu tanaman, keterpautan gen tertentu terhadap karakter spesifik, penelusuran tetua, analisis lokus-lokus karakter kuantitatif, dan revisi klasifikasi tanaman adalah Restriction

Fragment Length Polymorphism (RFLP), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), dan mikrosatelit atau Simple Sequence Repeat (SSR) (Bustaman dan Moelyopawiro, 1998; Teulat *et al.*, 2000; Perera *et al.*, 1998; Perera *et al.*, 2000; Fitmawati, 2008).

Penanda DNA digunakan untuk identifikasi suatu individu atau genotipe, derajat kekerabatan antar genotipe, dan adanya variasi genetika suatu populasi tanaman (Brown *et al.*, 1996); determinasi gen atau kompleks gen yang diinginkan dalam suatu genotipe spesifik, dan pengembangan varietas tanaman baru melalui transformasi (Henry, 1997; Lande and Thompson, 1990; Preston *et al.*, 1999). Gupta *et al.* (1999) menyatakan bahwa penanda DNA dapat digunakan untuk mengetahui adanya introgresi gen, pemetaan gen, gen *tagging*, dan konservasi plasma nutfah. Selanjutnya Lee (1995) menyatakan bahwa penanda DNA dapat pula digunakan untuk DNA *fingerprinting* tetua untuk memperkirakan performen turunannya (hybrid), transgen *backcross*, homosigositas, dan peta genetika *Quantitative Trait Loci* (QTL)

Penanda DNA menganalisis hubungan pada tingkat DNA, sehingga perubahan yang tidak terlihat dengan penanda lainnya dapat diketahui dengan penanda DNA. Dengan menggunakan penanda DNA pengaruh seleksi, erosi genetik, mutasi, dan hasil penyerbukan terkontrol dapat diketahui.

### **Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)**

Penelitian untuk mengeksploitasi polimorfisme DNA pada genom tanaman dengan memanfaatkan teknologi marka molekuler jumlahnya terus meningkat. *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) adalah teknik molekuler yang didasarkan pada polimorfisme yang diakibatkan oleh adanya substitusi basa (nukleotida), insersi, delesi, ataupun translokasi yang kemungkinan terjadi pada masa lalu. Teknik ini memanfaatkan situs-situs restriksi spesifik yang terdapat pada genom suatu organisme. Enzim restriksi atau endonuklease restriksi adalah enzim yang memotong untai

DNA pada rangka gula-fosfat tanpa merusak basa, sesuai urutan yang dikenalnya.

Enzim restriksi secara tradisional dibagi menjadi 3 tipe berdasarkan komposisi subunit, posisi pemotongan, spesifisitas sekuens, dan kofaktor yang diperlukan (Sasnauskas *et al.*, 2007) yaitu :

- (1) Enzim restriksi tipe I, enzim ini bersifat kompleks dengan *multisubunit*, memotong DNA secara acak dan jauh dari sekuens pengenalannya. Enzim restriksi tipe I berperan besar dalam biokimia, tetapi karena tidak dapat menghasilkan potongan fragmen DNA yang diinginkan sehingga tidak diproduksi (Sasnauskas *et al.*, 2007).
- (2) Enzim restriksi tipe II, enzim ini memotong DNA dekat atau pada situs pengenalan, dan menghasilkan fragmen-fragmen sesuai yang diinginkan sehingga umum digunakan untuk analisis DNA dan kloning gen. Enzim tipe II yang umum digunakan adalah HhaI, HindIII, EcoRI, dan NotI, dan tersedia secara komersil. Enzim ini tergolong kecil dengan subunit yang memiliki 200-350 asam amino dan memerlukan Mg<sup>2+</sup> sebagai kofaktor.
- (3) Enzim restriksi tipe III, enzim ini merupakan enzim restriksi yang tidak digunakan dalam laboratorium, karena memotong di luar situs pengenalan dan membutuhkan dua sekuen dengan orientasi berlawanan pada DNA yang sama.

Sekuen pengenalan sering disebut situs pengenalan merupakan sekuen DNA yang menjadi tempat menempelnya enzim restriksi dan melakukan pemotongan pada sekuen tersebut. Panjang sekuen pengenalan enzim restriksi berbeda-beda, misalnya enzim EcoRI, SacI, dan SstI mempunyai sekuen pengenalan sepanjang 6 pasang basa, sedangkan NotI 8 pasang basa, dan Sau3AI hanya 4 pasang basa. Kebanyakan dari enzim restriksi bersifat palindromik (*palindromic*) yang berarti sekuen pengenalan sama jika dibaca dari 5'→3' baik atas atau bawah. Enzim-enzim restriksi yang sering dipakai, beserta sekuen yang dikenali antara lain: HindIII dengan situs pengenalan 5'-AAGCTT-3', EcoRI yang mengenali urutan (sekuen) 5'-G'AATCC-3', BamHI 5'-G'GATCC-3', ApaI (5'-GGGCC'3'),

BglIII (5'-A'GATCT-3'), ClaI (5'-AT'CGAT-3'), DraI (5'-TTT'AAA-3'), EcoRV (5'-GAT'ATC-3'), KpnI (5'-GGTAC'C-3'), NcoI (5'-C'CATGG-3'), NdeI (5'-CA'TATG-3'), NotI (5'-GC'GGCCGC-3'), PstI (5'-CTGCA'G-3'), SacI (5'-GAGCT'C-3'), SalI (5'-G'TCGAC-3'), SmaI (5'-CCC'GGG-3'), XbaI (5'-T'CTAGA-3'), dan XhoI (5'-C'TCGAG-3'). Enzim-enzim tersebut dapat dipesan melalui perusahaan-perusahaan yang bergerak di bidang bioteknologi dan biologi molekuler.

Hasil pemotongan genom menggunakan enzim restriksi tertentu akan menghasilkan perbedaan panjang fragmen DNA, yang menunjukkan jarak dari situs-situs restriksi enzim tersebut dalam suatu genom organisme. Genom yang telah terfragmentasi kemudian dapat dianalisis sesuai tujuan penelitian. Melalui analisis selanjutnya dapat diketahui apakah pada sekuen target telah terjadi perubahan akibat adanya substitusi basa (nukleotida), insersi, dileksi, ataupun translokasi.

Keuntungan penanda RFLP adalah pada umumnya bersifat co-dominan (alel-alel dalam sampel heterozigot dapat terdeteksi), dan sangat lokus-spesifik. Teknik RFLP pada awal ditemukan memerlukan pelacak (probe) RFLP yaitu suatu sekuens DNA berlabel zat radioaktif (<sup>32</sup>P) atau non radioaktif seperti biotin/Digoxigenium (DIG) menggunakan pelacakan *Knelow* yang akan berhybridisasi dengan satu atau lebih fragmen dari sampel DNA. Hibridisasi DNA template dengan pelacak dilakukan setelah genom hasil restriksi dipisahkan dengan elektroforesis gel, sehingga pola blotting akan mengungkapkan karakteristik unik genotipe tertentu pada lokus tertentu.

Faktor-faktor pembatas menggunakan analisis RFLP adalah memerlukan tenaga dan DNA lebih banyak, waktu lebih lama, serta enzim restriksi yang spesifik. Dengan kemajuan teknologi PCR saat ini, RFLP dapat dikombinasikan dengan PCR (RFLP-PCR), sehingga DNA yang dibutuhkan menjadi sangat kecil, dan waktu yang biasanya digunakan untuk restriksi selama 24 jam menjadi 2-3 jam. Oleh karena itu, sampel dapat dianalisis dalam waktu yang lebih singkat. Nama lain untuk teknik ini adalah *Cleaved Amplified Polymorphic Sequence* (CAPS).

Selain digunakan untuk sidik jari genetika, RFLP juga merupakan alat penting dalam pemetaan genom, identifikasi gen ketahanan terhadap penyakit, penentuan gen pengontrol suatu penyakit, dan pengujian tetua.

Pada tanaman kelapa, RFLP telah digunakan untuk menganalisis keragaman genetika dan pola migrasi tanaman kelapa di dunia (Lebrun *et al.*, 1998), serta hubungan kekerabatan antar aksesori kelapa indigenous dari Sri Lanka (Perera *et al.*, 1998). Lebrun *et al.* (1998) menganalisis populasi kelapa dari berbagai negara penghasil kelapa di dunia yang menunjukkan bahwa populasi kelapa Papua New Guinea (mewakili Pasifik Selatan) mengelompok bersama populasi kelapa dari Indonesia (mewakili Asia Tenggara). Penelitian ini juga menemukan bahwa tanaman kelapa berasal dari Asia Tenggara menuju Pasifik dan pantai barat Amerika.

Populasi kelapa primitif memiliki buah berbentuk lonjong, sabut tebal, tempurung tebal, endosperm tebal, dan kandungan air lebih sedikit. Sedangkan kelapa budidaya memiliki buah berbentuk lebih bulat, sabut dan tempurung lebih tipis, kandungan air lebih banyak (Harries, 1978). Di Maluku dan Papua ditemukan cukup banyak individu kelapa memiliki buah yang bentuknya lebih primitif, yaitu berbentuk lonjong dengan kandungan air lebih sedikit. Jika hasil ini dikaitkan dengan pola migrasi kelapa menggunakan penanda RFLP, semakin memperkuat dugaan bahwa Indonesia merupakan salah satu daerah asal dan pusat persebaran tanaman kelapa di dunia. Dengan demikian RFLP dapat digunakan untuk mengungkap asal usul (sejarah) suatu tanaman di dunia.

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

*Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) pertama kali diperkenalkan oleh Williams *et al* (1990). RAPD banyak digunakan untuk menganalisis keanekaragaman karakter genetik dalam berbagai penelitian dengan pertimbangan antara lain tidak membutuhkan latar belakang pengetahuan tentang genom yang akan dianalisis, primer yang digunakan bersifat universal (dapat digunakan untuk prokariot

maupun eukariot), mampu menghasilkan karakter yang relatif tidak terbatas jumlahnya, bahan-bahan yang digunakan relatif lebih murah, preparasi lebih mudah, dan memberikan hasil lebih cepat dibandingkan dengan analisis molekular lainnya (Weising *et al.*, 1995).

Metode RAPD mampu mendeteksi sekuens nukleotida dengan hanya menggunakan satu primer. Primer tersebut akan berikatan dengan utas tunggal genom yang satu dan pada utas DNA pasangannya dengan arah berlawanan. Selama situs penempelan primer masih berada pada jarak yang dapat diamplifikasi pada umumnya tidak lebih dari 5000 pasangan basa (pb), maka akan diperoleh produk DNA amplifikasi (Weising *et al.*, 1995). Polimorfisme RAPD merupakan hasil dari perbedaan panjang DNA hasil amplifikasi (Powell *et al.*, 1996)

Penggunaan penanda RAPD untuk menunjang program pemuliaan tanaman telah banyak digunakan, antara lain untuk menganalisis keanekaragaman karakter genetik plasma nutfah kakao (Ronning *et al.*, 1995), ubi jalar (Villodon *et al.*, 1995; Thompson *et al.*, 1997), pepaya (Huang *et al.*, 2000). Analisis keterpautan gen tahan terhadap karat pada buncis (Haley *et al.*, 1993), peta keterpautan pada apel (Conner *et al.*, 1997), dan *Castanea sativa* Mill (Casasoli *et al.*, 2001).

Pada tanaman kelapa, penanda RAPD telah digunakan oleh banyak peneliti untuk menganalisis keanekaragaman berbagai populasi tanaman kelapa di dunia. Ashburner *et al.* (1997) menganalisis populasi kelapa dari Pasifik Selatan, Hannum *et al.* (2003) pada empat populasi kelapa Genjah, Hayati *et al.* (2000) pada populasi kelapa Genjah Jombang, Ifadatin (2002) pada populasi kelapa Dalam dari Kalimantan Barat, Lengkong *et al.* (1999) pada kelapa Genjah Kuning Nias, Matondang *et al.* (2001) pada kelapa Dalam dari Maluku, Pandin (2009a, 2009b) pada empat populasi kelapa Dalam dari beberapa daerah di Indonesia, Roslim *et al.* (2003) pada kelapa Dalam dari Riau, Soemarsono *et al.* (2003) pada kelapa Dalam dari pulau Jawa, Upadhyay *et al.* (2004) pada populasi kelapa di India, dan Mawikere (2006) pada populasi kelapa Dalam dari Papua. Selain itu telah digunakan juga untuk

menganalisis karakter ketahanan terhadap penyakit *Lethal yellowing* pada kelapa (Cardena *et al.*, 2003), analisis QTL pada kelapa Dalam Rennel (Lebrun *et al.*, 2001).

Penanda RAPD dalam program pemuliaan tanaman kelapa sangat efisien untuk menganalisis keragaman genetika, hubungan kekerabatan antar-populasi dan inter-populasi, karakter ketahanan terhadap penyakit, bahkan lokus-lokus karakter kuantitatif.

Dengan penggunaan RAPD yang relatif mudah, murah, dan menganalisis dalam tingkat DNA, maka seleksi dini dapat dilakukan terhadap sifat-sifat ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, karakter-karakter yang bersifat kuantitatif, dan duplikasi tanaman koleksi dapat dihindari. Pemuliaan tanaman kelapa yang menyediakan materi tanaman dalam bentuk koleksi plasma nutfah, memerlukan lahan yang luas dan waktu yang lama dalam setiap akses yang dikoleksi, dimasa mendatang dapat memanfaatkan RAPD untuk menyeleksi individu yang akan dikoleksi.

#### **Mikrosatelit (Simple sequence repeat , SSR)**

DNA ruas berulang yang memiliki variasi paling tinggi dalam genom tanaman adalah sekuens berulang dengan fragmen berulang sederhana atau pendek. Fragmen ini dikenal dengan nama minisatelit dan mikrosatelit. Minisatelit adalah DNA yang memiliki pengulangan biasanya antara 10-60 pasang basa, yang pada awal penemuannya banyak diaplikasikan pada genom manusia. Sedangkan Mikrosatelit (SSR) memiliki unit berulang lebih sedikit berkisar antara 1 – 6 pasang basa, terdapat dalam jumlah sangat banyak dan menyebar di dalam genom, dan banyak digunakan pada tanaman.

Variasi fragmen-fragmen ini biasanya merupakan hasil perubahan dalam jumlah kopi dari perulangan asal dan sering dikategorikan sebagai *Variable number of tandem repeats* (VNTR). Karena level polimorfisme yang sangat tinggi dapat dideteksi dengan fragmen ini, VNTR diakui sebagai alat yang manjur untuk finger printing dan identifikasi kultivar tanaman (Karp *et al.* 1995). Fragmen ini juga dapat digunakan untuk mempelajari keragaman antar dan intra

populasi, studi ekologi, menghitung jarak genetik, dan mempelajari evolusi tanaman (Perera *et al.*, 2000).

Mikrosatelit dikenal dengan beberapa nama seperti *simple sequence repeat* (SSR), *simple tandem repeat* (STR), *sequence tagged microsatelit site* (STMS), dan *simple sequence length polymorphism* (SSLP).

*Simple sequence repeat* (SSR) memberikan kandungan informasi yang tinggi, pada umumnya single lokus, bersifat kodominan, membutuhkan jumlah DNA yang sangat sedikit, relatif sederhana, dan deteksi yang didasarkan pada PCR menandakan bahwa SSR merupakan alat ideal untuk banyak aplikasi genetika (Karp *et al.*, 1995; Rivera *et al.*, 1999; Saghai-Marooof *et al.*, 1994; Morgante and Olivieri, 1993).

Sekuen mikrosatelit DNA yang pendek dengan sekuen DNA pengapit bersifat *conserved*, memungkinkan mendesain primer untuk mengamplifikasi situs-situs spesifik menggunakan PCR. Jika primer-primer tersebut digunakan mengamplifikasi lokus-lokus SSR tertentu, maka setiap primer akan menghasilkan polimorfisme dalam bentuk perbedaan panjang hasil amplifikasi yang dikenal dengan SSLP (*Simple Sequence Length Polymorphism*). Setiap panjang mewakili satu alel dari suatu lokus. Perbedaan panjang terjadi karena perbedaan jumlah unit pengulangan pada lokus-lokus SSR tertentu (Morgante dan Olivieri, 1993; Gupta *et al.*, 1996; Karp *et al.*, 1997; Liu 1998). Keanekaragaman jumlah ulangan pada mikrosatelit dapat dideteksi dengan gelelektroforesis produk DNA yang sudah diamplifikasi di dalam sekuen gel standar, yang dapat memisahkan fragmen-fragmen yang membedakan tiap-tiap nukleotida.

Mikrosatelit DNA terdapat dalam jumlah banyak dan menyebar di dalam genom. Bentuk umum pengulangan Mikrosatelit DNA (SSR) adalah pengulangan dua basa secara sederhana seperti (CA)<sub>n</sub>; (AC)<sub>n</sub>; (GT)<sub>n</sub>; (GA)<sub>n</sub>; (CT)<sub>n</sub>; (CG)<sub>n</sub>; (GC)<sub>n</sub>; (AT)<sub>n</sub>; dan (TA)<sub>n</sub>, dalam hal ini n adalah jumlah pengulangan. Mikrosatelit dengan pengulangan 3-basa dan 4-basa ditemukan juga tetapi frekuensinya lebih rendah dibandingkan pengulangan 2-basa (Liu, 1998; Preston *et al.*, 1999). Brown *et al.*, (1996) melaporkan bahwa pengulangan SSR paling banyak adalah (AT)<sub>n</sub>

diikuti oleh (A)<sub>n</sub>, (AG)<sub>n</sub>, (AAT)<sub>n</sub>, (AAC)<sub>n</sub>, (AGC)<sub>n</sub>, (AAG)<sub>n</sub>, (AATC)<sub>n</sub>, (AC)<sub>n</sub> bergantung pada jenis tanaman. Pada kelapa, sekuensing yang dilakukan pada 197 klon pustaka genom dari kelapa Tagnanan menunjukkan bahwa 75% mengandung sekuen DNA mikrosatelit dan 64% dari SSR tersebut adalah pengulangan 2-basa GA/CT, CA/GT dan GC/CG; 6% merupakan pengulangan 3-basa dan 30% merupakan pengulangan campuran (Rivera *et al.*, 1999).

Lokasi dari sekuen berulang sederhana seperti mikrosatelit yang terletak di antara gen atau yang berdekatan dengan suatu gen sangat penting, agar dapat digunakan sebagai penanda dari sifat yang disandi oleh gen tersebut. Beberapa fragmen sekuen berulang (SSR) yang terletak di dalam atau berdekatan dengan gen fungsional sudah ditemukan. Kirkpatrick (1992) melaporkan menggunakan keberadaan ulangan mikrosatelit (AC)<sub>n</sub> di dalam gen Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) manusia (Rotwein *et al.*, 1990) dan tikus (Shimatsu dan Rotwein, 1987), untuk mengembangkan primer-primer guna mengamplifikasi genom mikrosatelit bovine dan porcine pada babi. Hal ini menunjukkan bahwa penanda mikrosatelit pada satu spesies mungkin saja dapat dimanfaatkan untuk menentukan informasi sekuen dari spesies lain.

Penelitian menggunakan penanda DNA SSR berkaitan dengan beberapa sifat spesifik pada tanaman kelapa telah dilakukan. Dari sekian banyak karakter penting pada tanaman kelapa, dua karakter di antaranya adalah kecepatan berbuah dan produksi buah. Penelitian terhadap kedua sifat tersebut menggunakan penanda DNA belum banyak dilakukan. Sejak mikrosatelit ditemukan dalam jumlah yang sangat banyak di dalam genom, dengan tingkat polimorfisme yang tinggi dan mudah dianalisis, mikrosatelit menjadi penanda pilihan untuk pemetaan genetik dan analisis keterpautan pada hampir semua spesies. SSRs merupakan salah satu teknik yang banyak digunakan sebagai penciri genetik (*fingerprinting*) (Karp, 1999). Pandin (2009c) mendapatkan adanya fragmen (pita) spesifik yaitu CNZ21-270 bp dan CNZ51-110 bp, yang diduga berkaitan dengan pohon-pohon yang tidak berbuah atau berbuah sangat lambat. Kedua sifat tersebut perlu dilakukan



penelitian lanjutan dengan mengaplikasikan primer SSR kelapa CNZ21 dan CNZ51 pada jumlah tanaman yang lebih memadai untuk memastikan kandidat penanda yang didapatkan sebelumnya.

Selain digunakan untuk identifikasi fragmen spesifik pada karakter produksi, Mikrosatelit DNA telah digunakan juga untuk pemetaan gen berkaitan dan analisis *Quantitative Trait Loci* (QTL) pada tanaman kelapa Dalam (Herran *et al.*, 2000; Lebrun *et al.*, 2001), pelacakan tetua pada tanaman kelapa (Pandin, 2008), dan analisis depresi silang dalam pada hasil penyerbukan sendiri tanaman kelapa (Pandin, 2009 d). Hal ini menunjukkan bahwa Mikrosatelit DNA dapat diaplikasikan dalam berbagai tujuan penelitian.

Mikrosatelit DNA (SSR) dengan kemudahan dan kecepatan menggunakan teknologi PCR, bersifat kodominan, dan mudah diinterpretasikan membuat mikrosatelit menjadi penanda paling baik dalam pemetaan gen. Kebanyakan mikrosatelit hipervariabel, sehingga jumlah genotipe individu F2 untuk analisis segregasi dapat dikurangi. Karakteristik mikrosatelit yang menarik ini telah mengurangi secara besar-besaran penggunaan dari penanda RFLP dalam penelitian pemetaan genetika (Muladno, 2006).

Berdasarkan uraian di atas maka dimasa mendatang pemanfaatan Mikrosatelit DNA (SSR) dalam program pemuliaan tanaman kelapa akan sangat membantu untuk (1) mempercepat mengidentifikasi penanda DNA atau gen tertentu yang berkaitan dengan suatu karakter spesifik yang bernilai ekonomi, (2) memperkecil penggunaan lahan untuk setiap satuan penelitian, (3) memperkecil biaya yang diperlukan untuk pemeliharaan tanaman mengingat tanaman kelapa merupakan tanaman tahunan, (4) dapat mencegah duplikasi materi koleksi.

### Analisis Data

Data yang dihasilkan dari analisis molekular sering digunakan sebagai dasar untuk klasifikasi individu pada suatu populasi, untuk konstruksi filogenetik, penelusuran tetua, identifikasi penanda suatu sifat tertentu, revisi

taksonomi dan lain-lain. Dendogram yang dikonstruksi dalam analisis tersebut umumnya didasarkan pada tingkat kesamaan antara individu yang digunakan. Namun, batas kepercayaan untuk pengelompokan yang dihasilkan melalui dendogram, biasanya tidak dapat diterima untuk perhitungan menggunakan prosedur statistik yang umum.

Data molekular untuk dapat dianalisis harus diubah ke dalam bentuk data biner berdasarkan ada dan tidaknya pita hasil amplifikasi. Jika terdapat pita hasil amplifikasi diberi skor 1, sedangkan jika tidak ada diberi skor 0. Data biner yang diperoleh dapat digunakan untuk menyusun dendogram atau filogenetik dari organisme yang dianalisis. Untuk penelusuran tetua, pemetaan genetik, dan indentifikasi fragmen spesifik data biner diubah ke dalam data genotipe, dan dengan program khusus dianalisis sesuai tujuan. Contoh persiapan pengolahan data menggunakan penanda molekular, disajikan pada Gambar berikut.



Gambar 1. Contoh pola pita DNA menggunakan penanda RFLP

Tabel 1. Contoh Data biner yang diturunkan dari gambar 1 pada turunannya.

	Nomor pohon					
	1	2	3	4	5	6
Pita 1	1	1	1	0	0	0
Pita 2	1	1	1	1	1	1
Pita 3	0	0	0	0	0	1

Tabel 2. Contoh Data genotipe yang diturunkan dari Tabel 1.

	Nomor pohon					
	1	2	3	4	5	6
Genotipe	1	1	1	2	2	2
	2	2	2	2	2	3

Tabel 3. Perbandingan teknik penanda molecular RFLP, RAPD, AFLP, dan Mikrosatelit (SSR)

	RFLP	RAPD	AFLP	SSR
Prinsip	Restriksi dgn endonuklease, Southern blot, hybridisasi	Amplifikasi DNA, Primer acak	Restriksi dgn endonuklease, Amplifikasi DNA, perlu pasangan primer spesifik dan adaptor	Amplifikasi DNA, perlu pasangan primer spesifik
Tipe polimorfisme terdeteksi	Perubahan basa	Perubahan basa	Perubahan basa	Perbedaan panjang pengulangan basa
Perlu informasi sekuens	Tidak	Tidak	Tidak	Perlu
Metode deteksi Radioisotop	Ya/tidak	Tidak	Ya/tidak	Ya/tidak
Reproducible	Tinggi	Rendah	Tinggi	Tinggi
Tingkat kesulitan	Sedang	Rendah	Sedang-Tinggi	Sedang-Tinggi
Lokus amplified terdeteksi	Kodominan	Dominan	Kodominan	Kodominan
Biaya	Sedang	Rendah	Tinggi	Tinggi
Penggunaan :				
1. Finger printing & keragaman genetik	+	++	+++	+++
2. Qualitative gene tagging	++	++	+++	+++
3. QTL mapping	++	-	++	+++
4. MAS	+	+/-	++	++
5. Comparative mapping	++	+	++	++

Hasil pola pita molekular yang telah diubah ke dalam bentuk data biner dapat diolah menggunakan Program computer NTsys ver. 2.01 untuk mendapatkan matriks jarak genetik dan dendogram atau filogenetik dari sampel.

Untuk menganalisis data sesuai tujuan penelitian, saat ini tersedia sangat banyak program/software yang dapat digunakan untuk mengolah data molekular. Sebagai contoh, Data genotipe yang disusun dari data biner (Tabel 1) dapat digunakan untuk menganalisis hubungan tetua dengan zuriatnya (pelacakan tetua), peta keterpautan (*linkage map*), dan korelasi antar lokus dengan lokus dan lokus dengan sifat morfologi. Pelacakan tetua menggunakan program Cervus 2.0 (Marshall, 1998), depresi silang dalam berdasarkan penanda molekular menggunakan program POPGENE ver. 1.32 (Yeah *et al.*, 2001), pembuatan peta keterpautan menggunakan MAPMAKER dengan nilai LOD 3, dan korelasi antar lokus dengan lokus dan antara lokus dengan sifat morfologi menggunakan Program Minitab 14.

#### Perbandingan Penanda DNA RFLP, RAPD, AFLP, dan Mikrosatelit (SSR)

Setiap teknik penanda DNA memiliki kekurangan dan kelebihan masing-masing. Oleh karena itu pemilihan teknik yang akan

digunakan disesuaikan dengan tujuan penelitian yang ingin dicapai. Perbandingan penggunaan teknik penanda DNA RFLP, RAPD, AFLP, dan Mikrosatelit (SSR), disajikan pada Tabel 3.

#### Pemuliaan Kelapa di Masa Datang

Keragaman genetika untuk berbagai program pemuliaan tanaman merupakan suatu kebutuhan utama. Tanaman tipe primitif, *landrace*, galur-galur hasil pemuliaan dan kerabat liarnya mengandung komponen-komponen utama sebagai sumber genetika. Metoda seleksi berdasarkan peran gen yang mengendalikan karakter menduduki peranan yang lebih penting, dimana metoda ini dikembangkan atas dasar gen yang mengendalikan karakter tersebut yang diwariskan ke generasi-generasi berikutnya. Peran dan jumlah gen yang mengendalikan suatu karakter menentukan arah dan kemajuan seleksi. Berbagai metoda seleksi yang dikembangkan sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan, antara lain adalah seleksi dilakukan pada tingkat gametofit dan sporofit (Ottaviano and Sari-Gorla, 1993), seleksi secara *in vitro* (Wenzel and Foroughi-Webr, 1993), seleksi pada tingkat molekular (Arus and Morino-Gonzales, 1993).

Koleksi plasmanutfah kelapa yang berasal dari berbagai tempat di Indonesia sebagai

sumber genetika, harus dianalisis keragaman genetiknya terlebih dahulu sebelum digunakan dalam program pemuliaan selanjutnya. Pendekatan klasik dalam mempelajari keragaman genetika adalah berdasarkan karakter morfologi, tetapi teknik ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan oleh karena itu hasilnya kurang tepat. Pendekatan lainnya adalah melalui polimorfisme isozim, yang merupakan salah satu penanda molekular tetapi isozim jumlahnya tidak banyak sehingga kurang efisien untuk digunakan dalam karakterisasi keragaman genetika dalam suatu koleksi plasmanutfah. Teknik molekular seperti Penanda DNA berdasarkan PCR saat ini semakin berkembang, sederhana, dan *reliable*. Oleh karena itu Penanda DNA ini akan menjadi pilihan utama untuk menganalisis keragaman genetika plasmanutfah kelapa, sidik jari DNA, penanda suatu sifat, QTL dan lain-lain. dalam program Pemuliaan di masa akan datang.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Indonesia memiliki keanekaragaman kelapa yang tinggi, dengan luas pertanaman tertinggi di dunia, tetapi rata-rata produksi kelapa per hektar per tahun masih sangat rendah. Pengetahuan tentang karakter-karakter yang bernilai ekonomi tinggi serta identifikasi dini pohon-pohon yang berpotensi produksi tinggi, dan memiliki gen ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit utama sangat penting, mengingat umur mulai berbuah kelapa yang lama. Oleh karena itu diperlukan suatu metode yang efisien untuk dapat digunakan mendeteksi dan menyeleksi karakter-karakter tersebut.

Setiap marka molekular memiliki kelebihan dan kelemahan masing-masing jika dijadikan sebagai metoda dalam kegiatan seleksi. Penggunaan *polymerase chain reaction* (PCR) pada metode RFLP, RAPD, AFLP atau SSR lebih sering digunakan, karena lebih sederhana dibandingkan metoda lainnya dan pemakaiannya disesuaikan dengan tujuan penelitian. Meskipun kemajuan dibidang molekular telah sangat maju, tetapi metoda seleksi konvensional masih tetap tidak bisa ditinggalkan. Teknik penanda DNA ini digunakan untuk melengkapi atau menyem-

purnakan program seleksi yang dilakukan, untuk meningkatkan proporsi gen target dari populasi tanaman yang dihasilkan. Pemilihan teknik molekular disesuaikan dengan tujuan, biaya yang tersedia, dan persyaratan-persyaratan yang dibutuhkan untuk melakukannya.

Pemanfaatan sidik jari DNA adalah suatu pendekatan yang penting karena dapat mencegah adanya duplikasi dalam koleksi plasmanutfah, sehingga koleksi plasmanutfah dapat dikelola dengan lebih baik dan dimanfaatkan sebagai sumber materi untuk digunakan dalam program pemuliaan guna mengembangkan varietas-varietas yang diinginkan.

Berbagai gen penting yang mengontrol karakter agronomi dan ketahanan hama dan penyakit telah ditransfer dari suatu varietas ke varietas lain pada berbagai tanaman oleh pemulia tanaman. Karakter-karakter tersebut umumnya dikontrol oleh alel dominan atau resesif, dan membutuhkan waktu yang lama untuk melakukan transfer gen, kadang-kadang prosedur seleksi berliku dan mahal, serta membutuhkan lahan yang luas bila dilakukan melalui teknik pemuliaan konvensional. Melalui teknik molekular seperti penanda DNA, jika suatu gen dapat diketahui *linkage* dengan suatu penanda DNA sehingga seleksi terhadap gen pengontrol karakter target dapat diseleksi secara tidak langsung, dengan demikian akan sangat mengirit waktu dan dana.

Kebanyakan karakter produksi diwariskan secara poligenik (QTL) dan sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Oleh karena itu determinasi nilai genotipik melalui ekspresi fenotipiknya menjadi tidak tepat dengan nilai heritabilitas yang rendah. Pada umumnya pemulia tanaman melakukan seleksi terhadap karakter hasil ketika galur murni yang homogen sudah ditemukan. Saat ini lokus-lokus yang berkaitan dengan karakter kuantitatif (QTL) pada berbagai tanaman telah ditemukan untuk berbagai karakter melalui penanda DNA. Pada tanaman kelapa QTL terhadap kecepatan berkecambah telah dilakukan (Lebrun *et al.*, 2001). Program pemuliaan kelapa yang akan datang dapat dilakukan pada karakter-karakter kuantitatif lainnya pada kelapa.

Berdasarkan uraian di atas, maka pemanfaatan penanda DNA dalam program pemuliaan kelapa akan sangat efisien dan efektif.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arus, P. and J. Moreno-Gonzales, 1993. Marker-assisted selection. *In*: Hayward, M.D., N.O. Bosermark, and I. Romagosa (Eds.) *Plant Breeding: Principles and Prospects*. Chapman&Hall. London. p.314-331.
- Ashburner, G.R., Thomson W.K., Halloran G.M. 1997. RAPD analysis of South pacific coconut palm populations. *Crop Sci.* 37:992-997.
- Bailey, J.A., Nash C., Morgan L.W., O'Connell R.J., and TeBeest DO. 1996. Molecular taxonomy of *Colletotrichum* species causing anthracnose on the *Malvaceae*. *Phytopathology* 86: 1076-1083.
- Batugal, P. 1998. International Collaboration in coconut germplasm conservation and utilization. Di dalam: *Modernisasi Usaha Pertanian Berbasis Kelapa*. Bogor. Balitbang Kehutanan dan Perkebunan, Puslitbangtri. Hlm 110-117
- Brown, S.M., Szewc-McFadden, and S Kresovich. 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. p.147-159
- Bustaman, M. dan Moelyopawiro S. 1998. Pemanfaatan teknologi sidik jari DNA di bidang pertanian. *Crop Science* 33: 1386-1393. *Zuriat* 9 (2): 77-89
- Cook, D.E.L., Kennedy D.M., Guy D.C., Russell J., Unkle S.E., and Duncan J.M. 1996. Relatedness of group I species of *Phytophthora* as assed by random amplified polymorphic DNA (RAPDs) and sequences of ribosomal DNA. *Mycological Research* 100 : 297-303.
- Förster, H., Kinscherf T.G., Leong S.A., and Maxwell DP. 1987. Molecular analysis of the mitochondrial genome of *Phytophthora*. *Current Genetic* 12: 215-218
- 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. p.37-40. *In*. *Joint Plant Breedin g Simposia Series*. Minneapolis. 1 November 1992.
- Greech, J.L. and Reits P.L. 1971. Plant germplasm now and tomorrow. Di dalam NC Brady (ed). *Advance in Agronomy*. Academy Press.
- Gupta, P.K., Balyan H.S., Sharma P.C., and Ramesh B. 1999. Microsatellite in plants: A new class of molecular markers. *Current Sci.* 70(1):45-54
- Hannum, S., Hartana A., dan Suharsono. 2003. Kemiripan genetic a empat populasi kelapa Genjah berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA. *Hayati* 10(4):125-129.
- Harries, H.C. 1978. The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. *Bot Rev* 44(3): 265-319.
- Hayati, P.K., Hartana A., Suharsono, dan Aswidinnoor H. 2000. Keanekaragaman genetika 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
- Karp , A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayad W.G. and Hodgkin T. 1995. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI. Rome. p.46
- Karp, A. and Edwards K.J. 1997. Techniques for analysis, characterization, and conservation of plant genetic resources. Di dalam : Karp et al (Ed). *Molecular tools in plant genetic resources conservation. A guide to the technologies*. IPGRI. Hlm 11-22
- Karp, A. 1999. The use of polymorphic microsatellites for assessing genetic diversity in coconut. *In* Oropeza C, Verdiel JL,

- Ashburner GR, Cardena R, Samantha JM. Editors. Current advances in coconut biotechnology. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture Kluwer Academic Publisher London. Hlm 121-130
- Kirkpatrick, B.W. 1992. Identification of a conserved microsatellite site in the porcine and bovine insulin-like growth factor-I gene 5' flank. *J. Animal Genetics* Vol. 23:543-548
- Knight, R. 1979. Quantitative genetic statistics and plant breeding. P.41-76. Di dalam Knight R (ed). *Plant Breeding*, Brisbane.
- Lebrun, P., N'Cho Y.P, Seguin M., Grivet L. and Baudouin 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 J.L., Barker J.H.A., Aldam C., Herran A., and 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
- Lee, S.B. and Taylor J.W. 1992. Phylogenie of five fungus like protostan *Phytophthora* species inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution* 9: 636-653.
- Lengkong E.F., Hartana A., dan Suharsono. 1999. Penggunaan penanda molekuler pada analisis keragaman genetika kelapa. Di dalam Prosiding Simposium Hasil Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. Manado, 10 Maret 1999. Balitbang Kehutanan dan Perkebunan, Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. Hlm:1-10.
- Liu, B.H. 1998. Statistical genomics, linkage mapping, and QTL analysis. CRC Press. New York. p.45-83
- Marshall, T.C., Slate J., Kruuk L., and Pemberton J.M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7(5):639-655
- Matondang, I. 2001. Keragaman genetik populasi kelapa yang berasal dari Maluku berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Tesis Magister Sains PPs-IPB. Bogor.
- Mawikere, N.L. 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.
- Morgante, M. and Olivieri A.M. 1993. PCR-amplified SSRs as markers in plant genetics. *Plant J.* 3:175-182
- Muladno. 2006. Aplikasi Teknologi Molekuler dalam Upaya Peningkatan Produktivitas Hewan. Pelatihan Teknik Diasnognik molekuler untuk Peningkatan Produksi Peternakan dan Perikanan di Kawasan Timur Indonesia. Kerjasama Pusat Studi Ilmu Hayati, Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat Institut Pertanian Bogor dan Direktorat Pendidikan Tinggi Depdiknas, Bogor.
- Nagy, E.S. 1997. Frequency - dependent seed production and hybridization rates: Implications for gene flow between locally adapted plant populations. *Evolution* 51(3): 703-714
- Novariantio, H., T. Rompas and S.N. Darwis. 1998. Coconut breeding programme in Indonesia. Pp.28-41 in *Coconut Breeding Proceeding*. Paper presented at a Workshop on Standardization of Coconut Breeding Research Techniques, 20-25 June 1994, Port Bouet, Cote de Ivoire (p.A. Batugal and V. Ramanatha Rao, editors), IPGRI-APO, Serdang Malaysia.
- Ottaviano, E. and M. Sari-Gorla, 1993. Gametophytic and Sporophytic Selection. In: Hayward, M.D., N.O. Bosermark, and I. Romagosa (Eds.) *Plant Breeding: Principles and Prospects*. Chapman & Hall. London. p.332-352.
- Pandin, D.S., Hartana A., Hajrial Aswidinnoor, dan Asep Setiawan. 2008. Pelacakan tetua populasi Kelapa Dalam Mapanget No.32 (DMT-32) menggunakan analisis aliran gen (Gene Flow) berdasarkan penanda

- mikrosatelit (SSR). *J. Penelitian Tanaman Industri* 14 (4): 131-140
- Pandin, D.S. 2009a. Keragaman genetik kelapa Dalam Tenga (DTA) dan Dalam Mapanget (DMT) berdasarkan penanda RAPD. Buletin Palma No.16
- Pandin, D.S. 2009b. Keragaman genetik kelapa Dalam Bali (DBI) dan Dalam Sawarna (DSA) berdasarkan penanda RAPD. Buletin Palma No.17
- Pandin, D.S. 2009c. Identifikasi pita spesifik berkaitan dengan karakter produksi buah pada tanaman kelapa berdasarkan penanda Mikrosatelit (SSR). Prosiding Simposium Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. hlm.123-134
- Pandin, DS. 2009 d. Depresi silangdalam pada kelapa Dalam Mapanget No.32 berdasarkan penanda DNA Mikrosatelit (SSR). Buletin Palma No. 17
- Perera, L., Russel J.R., Provan J., McNicol J.W., 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
- Perera, L., Russell J.R., Provan J., and Powell W. 2000. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L). *Genome* 43:15-21
- Preston, L.R., Harker N, Holton T, and Morell MK. 1999. Plant cultivar identification using DNA analysis. *Plant Varieties and Seed* 12:191-205
- Ristaino, J.B., Madritch M., Trout C.I., and Parra G. 1998. PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 948-954.
- Rivera, R., Edwards K.J., Barker J.H.A., Arnold G.M., Ayad G., Hodgkin T., and Karp A. 1999. Isolation and characterization of poly-morphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. *Genom* 42:668-675
- Roslim, D.I., Hartana A., dan Suharsono. 2003. Kemiripan genetika tiga populasi kelapa tipe Dalam berdasarkan tiga metode analisis data penanda RAPD. *Hayati* 10(1):12-18
- Rotwein, P. dan Hall L.J. 1990. Evolution of Insulin-Like Growth Factor II: Characterization of the Mouse IGF-II Gene and Identifi-cation of Two Pseudo-Exons. *J. DNA and Cell Biology.* p 725-735
- Saghai-Marroof, M.A., Biyashev R.M., Yang G.P., Zhang Q., and Allard R.W. 1994 Extraordinarily polymorphic micro-satellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:5466-5470
- Santos, G.A., Batugal P.A., Othman A,, Boudouin L., and Labouisse J.P. 1996. Manual on Standardized Research Techniques in Coconut Breeding. COGENT, IPGRI Shimatsu dan Rotwein, 1987
- Sasnauskas, G., Connolly B.A., Halford S.E., and Siksny V. 2007. Site-specific DNA transesteri-fication catalyzed by a restriction enzyme *Proc Natl Acad Sci USA* 104(7): 2115-20.
- Servedio, M.R. and Kirkpatrick M. 1997. The effect of gene flow on reinforcement. *Evolution* 51(6): 1764-1772.
- Shimatsu, A. and Rotwein P. 1987. Mosaic evolution of the insulin-like growth factors. *Journal of. Biological Chemisrly* 262:7894-7900
- Sumarsono, Hartana A., Suharsono, dan Tjahyoleksono A. 2003. Keragaman genetik lima populasi kelapa yang berasal dari Jawa berdasarkan atas penanda Random Amplified Polymorphic DNA. *Biosfera* 20(2):37-42.
- Tan, M.K., Timmer L.W., Broadbent P., Priest M., and Cain P. 1996. Differentiation by molecular analysis of *Elsinoe* spp. causing scab diseases of citrus and its epidemiological implications. *Phytopathology* 86:1039-1044.
- Teulat, B., Aldam C., Trehnin R., Lebrun P., Barker J.H.A., Arnold G.M., Karp A., Boudouin L., and Rognon F. 2000. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) population from across

- the geographic range using sequence-tagged micro-satellite (SSRs) and AFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 100:764-771
- Upadhyay, A., Jayadev K., Manimekalai R., and Parthasarathy V.A. 2004. Genetic relationship and diversity in Indian coconut accession based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae* 99:353-362.
- Vicente, M.C. de, Gusman F.A., Engels J., and Rao VR. 2005. Genetic characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. The Role Biotechnology. Villa Gualino, Turin, Italy. 5-7 March 2005. Hlm.121-128
- Weising, K., Nybom H., Wolff K., and Meyer W. 1995. DNA Finger Printing in Plants and Fungi. Boca Raton-Florida: CRC Pr.
- Wenzel, G. and B. Foroughi-Webr, 1993. In vitro selection. In: Hayward, M.D., N.O. Bosemark, and I. Romagosa (Eds.) Plant Breeding: Principles and Prospects. Chapman&Hall. London. p.353-370.
- Williams, J.G.K., Kubaik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., and Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18:6531-6535.
- Winter, P. and Kahl G. 2004. Molecular marker technologies for plant improvement. *World J. of Microbiology and Biotech.* Vol. 11 (4): 438-448
- Yeah, F.C., Yang R.C. and Boyle T. 2001. POPGENE ver. 1.32. <http://www.ualberta.ca/~fyeah/index.htm>