

Kemiripan Genetika Tiga Populasi Kelapa Tipe Dalam Berdasarkan Tiga Metode Analisis Data Penanda RAPD

Genetic Similarity of Three Tall Coconut Populations Based on Three Methods of RAPD Marker Data Analysis

DEWI INDRIYANI ROSLIM^{1*}, ALEX HARTANA^{1,2}, SUHARSONO^{1,3}

¹Jurusan Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16144

²Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Studi Ilmu Hayati, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

³Pusat Penelitian Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

Diterima 5 April 2002/Disetujui 10 Agustus 2002

The objective of this research was to analyse genetic similarity of Banyuwangi Tall (DBG), Lubuk Pakam Tall (DLP), and Paslaten Tall (DPN) coconut populations based on RAPD marker data using cluster analysis, non-metric multidimensional scaling, and principal components analysis. DNA of coconut leaves was amplified using ten random decamer primers (OPA, OPB, & OPC; Operon Alameda Technologies, Alameda, California) in Polymerase Chain Reaction (PCR) machine, and generated 80% RAPD polymorphic markers from total 113 amplification products, with fragment size ranged from 250 bp to 3000 bp. Based on cluster analysis, tall coconut trees from each population grouped within their populations at more than 70% genetic similarity and separated from other tall coconut populations. Overall, genetic similarity of tall coconut populations analyzed was 62%. Non-metric multidimensional scaling showed that coconut populations of DLP and DPN were scattered in the same pool, while in the opposite pool was DBG. Principal component analysis showed two significant principal components (PCs) that explained 33% variability of original data. Those two PCs identified 32 significant RAPD markers, and each coconut tree population clustered within their groups separately. Our results indicated that OPA-18₁₁₅₀ DNA band generated during a PCR, could be used as a specific marker for DLP, while OPA-10₁₇₅₀ and OPC-05₁₂₁₅ were specific for DBG.

PENDAHULUAN

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) merupakan penanda DNA yang memanfaatkan primer acak oligonukleotida pendek (dekamer) untuk mengamplifikasi DNA genom tanaman pada mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Fragmen DNA hasil reaksi berantai polimerase dalam mesin PCR ditampakkan berupa pita-pita DNA dengan berbagai ukuran pasang basa di atas gel elektroforesis (Weising *et al.* 1995). Meskipun lebih mahal dibandingkan analisis morfologi, sitologi, dan isozim, RAPD sangat membantu dalam meningkatkan efisiensi seleksi awal pada tanaman tahunan (*perennial*) (Grattapaglia *et al.* 1992) seperti tanaman kelapa. Selain itu penanda RAPD bersifat tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman.

Data pita DNA hasil RAPD umumnya dianalisis dengan mengubah menjadi data biner satu dan nol berdasarkan ada atau tidak adanya pita. Primer acak yang dipergunakan bisa banyak dan tidak terbatas sehingga data biner berupa matriks biner peubah ganda (*multivariate matrix*). Analisis data peubah ganda dapat menggunakan beberapa metode, diantaranya analisis pengelompokan (*cluster analysis*), skala multidimensional non-metrik (*non-metric multidimensional scaling*), dan

analisis komponen utama (*principal components analysis*) (Hair *et al.* 1998). Analisis komponen utama (AKU) dan skala multidimensional non-metrik termasuk ke dalam metode ordinat (*ordination methods*) (Dunn & Everitt 1980, Rohlf 1993). Analisis pengelompokan menyajikan hasil analisis dalam bentuk diagram pohon. Sedangkan metode ordinat bertujuan menyajikan suatu hasil analisis dengan pemetaan individu sebagai titik-titik di antara sumbu ordinat dalam ruang dimensi ganda yang lebih rendah atau dalam ruang dua dimensi sehingga lebih menarik, lebih ringkas, dan mudah untuk diinterpretasikan.

Analisis pengelompokan merupakan suatu metode untuk mengelompokkan suatu populasi individu ke dalam beberapa kelompok sehingga individu-individu dalam kelompok yang satu lebih homogen dibandingkan individu-individu dalam kelompok yang lain. Kriteria pengelompokan didasarkan pada ukuran keserupaan yang berupa kemiripan genetika (*genetic similarity*). Pengelompokan yang ditampilkan dalam bentuk diagram pohon dapat dibuat dengan dua pendekatan, yaitu *phenetic* dan *cladistic*. Pendekatan *phenetic* berdasarkan kemiripan individu tanpa memperhatikan jalur atau hubungan evolusinya, dan tampilan yang dihasilkan disebut fenogram. Sedangkan pendekatan *cladistic* membangun diagram pohon dengan memperhatikan jalur evolusinya atau silsilah, dan tampilan yang dihasilkan disebut kladogram (Nei 1987). *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic* (UPGMA) merupakan salah satu metode pengelompokan suatu populasi

‡ Alamat kini: Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau, Kampus Bina Widyia Km. 12.5, Pekanbaru 28293

* Penulis untuk korespondensi, Tel. +62-761-23800,
E-mail: zahra_iin@yahoo.com

menjadi diagram pohon yang paling sederhana, dengan tampilan paling baik dan mendekati kebenaran. Prosedur merata-ratakan jarak genetika dalam UPGMA menurunkan efek kesalahan dalam memperkirakan panjang percabangan (Nei 1987) sehingga besarnya kemiripan genetika antar individu dapat ditentukan langsung pada diagram pohon yang dihasilkan. Penggunaan analisis pengelompokan metode UPGMA berdasarkan data penanda RAPD dapat mengidentifikasi keanekaragaman genetika plasma nutfah spesies tanaman dan mempengaruhi pemilihan individu untuk disilangkan (Skroch *et al.* 1992). Analisis pengelompokan ini telah diterapkan antara lain pada tanaman kelapa (Ashburner *et al.* 1997, Hayati *et al.* 2000), dan *Ocimum gratissimum* L. (Vieira *et al.* 2001).

Metode ordinat menggambarkan kedekatan individu-individu berdasarkan penyebarannya pada grafik dua dimensi. Besarnya kedekatan antar individu tidak dapat ditentukan secara langsung pada grafik yang dihasilkan karena pemetaan individu pada grafik dua dimensi didasarkan pada jarak *Euclidean* hasil transformasi. Pada skala multidimensional non-metrik, matriks kemiripan genetika yang berupa ruang berdimensi banyak diskalakan atau ditransformasikan ke dalam anak ruang berdimensi ganda yang lebih sedikit. Jarak antar titik merupakan jarak *euclidean* yang menggambarkan hubungan antar individu. Jadi skala multidimensional non-metrik memberikan kemudahan untuk memahami kedekatan atau kemiripan antar individu dan dapat menunjukkan bahwa individu yang dipetakan pada jarak *euclidean* yang berdekatan memiliki kemiripan genetika yang lebih besar daripada yang jaraknya berjauhan (Dunn & Everitt 1980, Hair *et al.* 1998). Pada skala multidimensional non-metrik data penanda RAPD kacang *Phaseolus vulgaris* menyebar membentuk dua kelompok yang konsisten dengan dua wilayah pusat keanekaragaman spesies kacang tersebut, yaitu Andean dan Mesoamerican (Skroch *et al.* 1992).

Analisis komponen utama akan mereduksi dimensi peubah asal sehingga diperoleh peubah baru (disebut komponen utama) dari matriks peragamnya tanpa menghilangkan banyak informasi yang dikandung peubah asal (Dunn & Everitt 1980). Analisis komponen utama ini dapat dipakai untuk membuat pengelompokan, menentukan perbedaan antar asesi dalam suatu spesies, dan mengidentifikasi peubah asal yang paling berperan dalam pengelompokan. Peubah asal yang paling berperan tersebut tidak dapat ditentukan pada analisis pengelompokan metode UPGMA maupun pada skala multidimensional non-metrik. Vieira *et al.* (2001) berhasil mengidentifikasi tiga kemitipe dalam spesies *Ocimum gratissimum* menggunakan AKU berdasarkan data penanda RAPD, yaitu kemitipe eugenol, geraniol, dan *thymol*.

Pemilihan suatu metode analisis biasanya mempertimbangkan tujuan penelitian yang ingin dicapai, data yang tersedia, dan prasarana pendukung. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan membahas hasil analisis kemiripan genetika tiga populasi kelapa Dalam (Dalam Banyuwangi, Dalam Lubuk Pakam, dan Dalam Paslaten) dengan metode pengelompokan UPGMA, skala multidimensional non-metrik, dan analisis komponen utama dari data biner peubah ganda penanda RAPD.

BAHAN DAN METODE

Isolasi DNA Kelapa. DNA genom tanaman kelapa (Tabel 1) diisolasi mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Lengkong *et al.* (1998). Kuantitas DNA yang dihasilkan dari masing-masing contoh diperiksa dengan spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu, UV-1201) pada panjang gelombang 260 dan 280 nm (Sambrook *et al.* 1989), sedangkan kualitasnya dilihat pada gel elektroforesis 0.8%.

Analisis RAPD. DNA kelapa diamplifikasi menggunakan primer acak 10 pasang basa (dekamer) (Operon Alameda Tech) dengan nisbah kandungan G + C antara 60% sampai 70%. Primer tersebut diseleksi dari 27 primer acak (Tabel 2) menggunakan DNA pohon kelapa yang dipilih secara acak satu pohon mewakili setiap populasi kelapa Dalam (Tabel 1). Primer yang memberikan pola pita amplifikasi lebih dari dua dan polimorfik dipilih untuk mengamplifikasi DNA 10 contoh tanaman kelapa dari setiap populasi. DNA kelapa diamplifikasi mengikuti prosedur PCR yang dilakukan oleh Lengkong *et al.* (2001). Reaksi amplifikasi dilakukan pada mesin PCR (*GeneAmp PCR System 2400*, Perkin Elmer) dan berlangsung sebanyak 38 siklus.

Tabel 1. Populasi kelapa Dalam yang dianalisis dengan penanda RAPD

Populasi	Asal populasi	Lokasi koleksi	Kode	Jumlah
Dalam Lubuk Pakam	Sumatera	KIP Mapanget	DLPM	10
Dalam Lubuk Pakam	Utara	KIP Pakuwon	DLPP	10
Dalam Paslaten	Sulawesi	KIP Mapanget	DPNM	10
Dalam Paslaten	Utara	KIP Pakuwon	DPNP	10
Dalam Banyuwangi	Jawa	KIP Mapanget	DBGM	10
Dalam Banyuwangi	Timur	KIP Pakuwon	DBGP	10
Dalam Banyuwangi		Banyuwangi	DBGA	10
Total			7 pop	70 tan

Tabel 2. Jenis dan susunan basa dari 27 primer yang diseleksi

Jenis primer	Susunan basa (5'-3')
OPA-01	CAGGCCCTTC
OPA-02	TGCCGAGCTG
OPA-03	AGTCAGCCAC
OPA-04	AATCGGGCTG
OPA-05	AGGGGTCTTG
OPA-08	GTGACGTAGG
OPA-10	GTGATCGCAG
OPA-12	TCGGCGATAG
OPA-13	CAGCACCCAC
OPA-15	TTCCGAACCC
OPA-17	GACCGCTTGT
OPA-18	AGGTGACCGT
OPA-20	GTTGCGATCC
OPB-04	GGACTGGAGT
OPB-08	GTGACGTAGG
OPB-12	CCTTGACGCA
OPB-15	GGAGGGTGTT
OPB-20	GGACCCCTTAC
OPC-02	GTGAGGCGTC
OPC-05	GATGACCGCC
OPC-09	CTCACCGTCC
OPC-10	TGTCTGGGTG
OPC-11	AAAGCTGCGG
OPC-13	AAGCCTCGTC
OPC-15	GACCGATCAG
OPC-19	GTTGCCAGCC
OPC-20	ACTTCGCCAC

Fragmen DNA hasil amplifikasi dipisahkan melalui elektroforesis pada gel agarose 0.8% pada 70 volt selama 190 menit di dalam larutan penyangga TAE (Tris standar 2 mM; asam asetat glasial 0.017 M; dan EDTA 0.5 M, pH 8). Gel diwarnai dengan larutan etidium bromida 0.5 µg/ml selama 20 menit, direndam dalam akuades selama 20 menit, diamati menggunakan sinar ultra violet, dan direkam pada kertas dokumentasi gel dan disket. Ukuran pita DNA diduga menggunakan DNA standar, 1 kb DNA ladder (Promega).

Analisis Data. Pita DNA pada gel diterjemahkan menjadi data biner dengan memberi nilai satu (1) jika pita ada dan nol (0) jika tidak ada pita. Data biner tersebut dipakai untuk menghitung nilai kemiripan genetika menggunakan rumus koefisien Jaccard [$S_j = a/(a+b+c)$] dan hasilnya dipakai dalam analisis pengelompokan dengan UPGMA dan metode ordinat berupa skala multidimensional non-metrik menggunakan program komputer NTSYS-pc versi 1.80 (Rohlf 1993). Selain itu data biner dipakai untuk membuat matriks peragam (*covariance matrix*) yang kemudian digunakan untuk mengidentifikasi fragmen DNA yang berperan dalam pengelompokan dan khas bagi suatu populasi kelapa pada AKU menggunakan program komputer Minitab 11. Pengidentifikasian fragmen DNA tersebut meliputi tahapan menentukan komponen utama (KU_n) pertama yang mempunyai akar ciri (*eigenvalue*) lebih dari satu, mengalikan persen peragam (*covariance*) KU_n dengan total peubah asal (fragmen DNA hasil amplifikasi) sehingga dihasilkan X , kemudian menentukan nilai mutlak KU_n sebanyak X nilai terbesar. Total X fragmen DNA dari semua KU_n dipakai untuk membuat fenogram analisis pengelompokan dengan UPGMA.

HASIL

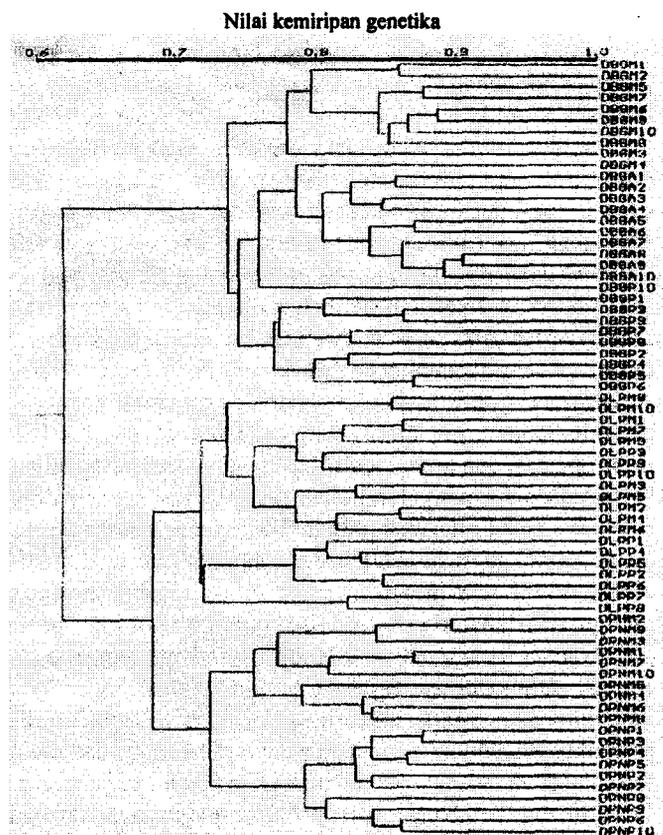
Hasil seleksi terhadap 27 primer yang memperlihatkan pola pita DNA lebih dari dua dan polimorfik ialah OPA-04, OPA-10, OPA-13, OPA-15, OPA-20, OPA-18, OPC-5, OPC-11, OPC-15, dan OPC-20. Hasil amplifikasi sepuluh primer tersebut memperoleh fragmen DNA berukuran 250 pb sampai 3000 pb. Jumlah fragmen DNA yang dapat diamplifikasi berkisar 7 (OPA-15) sampai 15 (OPA-10), dan rata-rata menghasilkan 11 pita per primer. Primer OPA-18 menghasilkan fragmen DNA berukuran 1150 pb (disebut OPA-18₁₁₅₀) yang hanya dimiliki oleh populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam, sedangkan fragmen OPA-10₁₇₅₀ dan OPC-05₁₂₁₅ hanya dimiliki oleh populasi kelapa Dalam Banyuwangi. Kesepuluh primer tersebut menghasilkan total pita DNA sebanyak 113 dan polimorfismenya mencapai 80%.

Rata-rata kemiripan genetika yang dihitung dengan koefisien kemiripan Jaccard di dalam populasi kelapa Dalam Banyuwangi (DBG), Dalam Paslaten (DPN), dan Dalam Lubuk Pakam (DLP) berturut-turut 81, 80, dan 77%. Analisis pengelompokan dengan UPGMA menghasilkan fenogram yang mengelompokkan individu kelapa ke dalam kelompok populasinya masing-masing, yaitu kelompok populasi kelapa DBG (Jawa Timur), DLP (Sumatera Utara), dan DPN (Sulawesi Utara), dengan kemiripan genetika lebih dari 70%. Seluruh pohon kelapa menjadi satu kelompok dengan

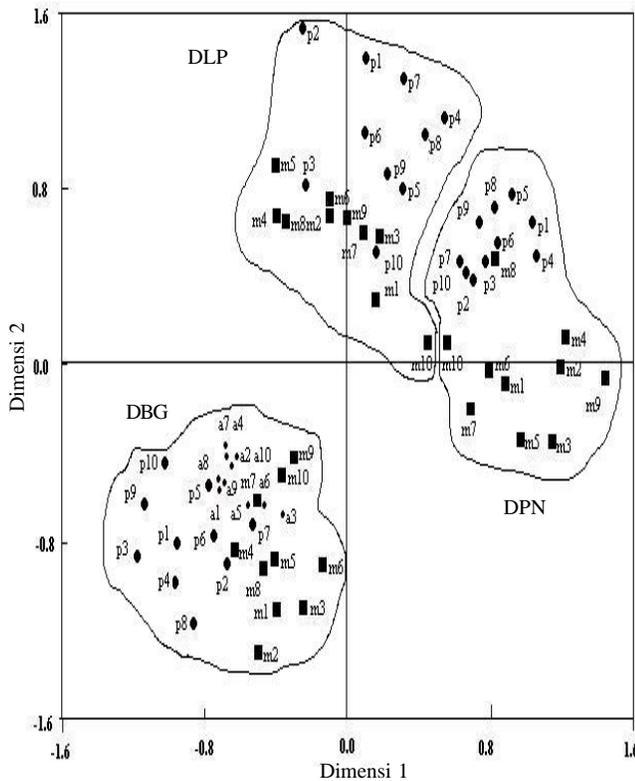
kemiripan genetika 62%, dan antar pohon kelapa tidak ditemukan yang tingkat kemiripan genetiknya sampai 100% (Gambar 1).

Metode ordinat, baik skala multidimensional non-metrik maupun AKU menghasilkan grafik yang memetakan individu dari populasi kelapa DLP dan DPN pada daerah arah yang sama, sedangkan DBG pada daerah arah yang berlawanan (Gambar 2 & 3). Komponen utama satu (KU_1) dapat menerangkan keragaman data asal sebesar 24% dengan akar ciri 3.357; dan komponen utama dua (KU_2) menjelaskan keragaman data asal sebesar 9% dengan akar ciri 1.244. Total kedua KU tersebut menerangkan keragaman data asal sebesar 33%. Total penanda RAPD yang dapat diterangkan oleh kedua KU tersebut seharusnya 37 penanda RAPD, namun 5 penanda RAPD diterangkan baik oleh KU_1 maupun oleh KU_2 sehingga penanda RAPD yang berperan dalam mengelompokkan secara terpisah ketiga populasi kelapa Dalam tersebut berjumlah 32 penanda RAPD (Tabel 3). Jika diperhatikan posisi relatif seluruh pohon kelapa Dalam pada pemetaan individu kelapa terhadap KU_1 dan KU_2 , maka kumpulan pohon kelapa tersebut dapat dibuat menjadi tiga kelompok yaitu kelompok populasi kelapa DLP, DPN, dan DBG (Gambar 3).

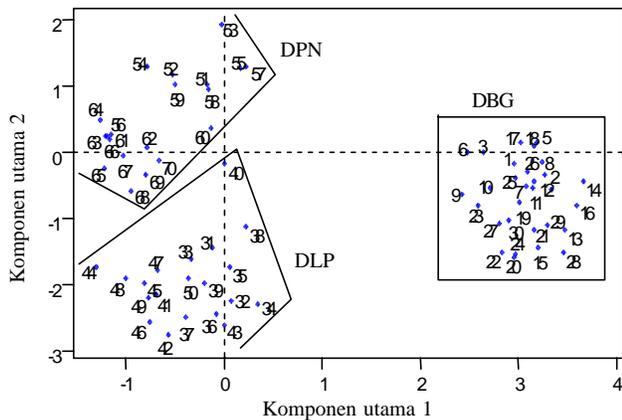
Berdasarkan 32 penanda RAPD hasil AKU, fragmen DNA ke-13 hasil amplifikasi menggunakan primer OPA-13 (OPA-13#13) dan OPC-15#3,#4,#8,#10 menghasilkan persentase



Gambar 1. Fenogram kemiripan genetika populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam, Dalam Paslaten, dan Dalam Banyuwangi berdasarkan 113 penanda RAPD yang berhasil diamplifikasi.



Gambar 2. Skala multidimensional non-metrik populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam (DLP), Dalam Paslaten (DPN), dan Dalam Banyuwangi (DBG) berdasarkan 113 penanda RAPD yang berhasil diamplifikasi. m: KIP Mapanget, p: KIP Pakuwon.



Gambar 3. Pemetaan KU1 dan KU2 terhadap populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam (DLP), Dalam Paslaten (DPN), dan Dalam Banyuwangi (DBG) berdasarkan 113 penanda RAPD yang berhasil diamplifikasi. Keterangan: 1-10 DBGGM; 11-20 DBGP; 21-30 DBGGA; 31-40 DLPM; 41-50 DLPP; 51-60 DPNM; 61-70 DPNP.

amplifikasi yang sangat kecil pada populasi kelapa DBG (0%-3%), tetapi cukup besar pada populasi kelapa DLP (45%-100%) dan DPN (65%-100%). Sebaliknya fragmen DNA ke-4 hasil amplifikasi menggunakan primer OPA-20 (OPA-20#4), OPA-18#3, OPA-04#5,#8,#11, OPA-10#1,#2,#3,#12, OPC-05#1,#6, OPC-15#9, dan OPC-20#1,#4,#5 menghasilkan persentase amplifikasi yang sangat besar pada populasi kelapa DBG (43%-100%), tetapi kecil pada populasi kelapa DLP (0%-55%) dan DPN (0%-55%) (Tabel 3).

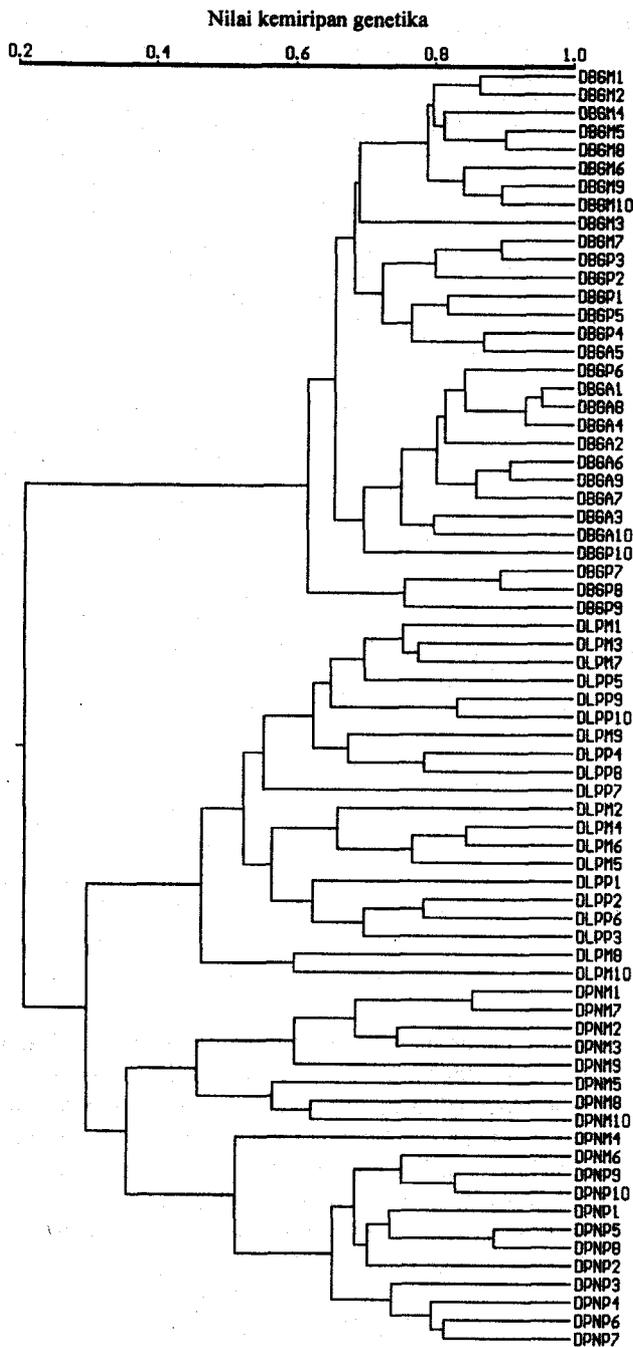
Tabel 3. Persentase penanda RAPD pada populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam (DLP), Dalam Paslaten (DPN), dan Dalam Banyuwangi (DBG)

Primer	Penanda ke-	Persen penanda RAPD pada populasi kelapa		
		DBG	DLP	DPN
OPA-13	13	0	50	70
	4	80	0	15
	3	80	10	35
OPA-20	4	70	40	80
	7	0	100	0
	2	87	55	40
OPA-04	5	83	35	0
	8	53	0	0
	11	43	10	0
OPA-10	1	53	0	0
	2	100	5	0
	3	100	0	0
OPA-18	4	100	10	85
	6	87	100	0
	9	60	55	0
OPA-05	11	83	65	0
	12	100	45	20
	7	70	85	15
OPC-11	1	50	0	0
	5	0	75	10
	6	100	0	0
OPC-05	9	50	100	70
	10	97	100	40
	2	33	80	65
OPC-15	3	0	50	65
	4	0	50	65
	8	3	45	80
OPC-20	9	100	40	0
	10	0	100	100
	1	93	55	55
OPC-05	4	67	0	0
	5	70	0	0

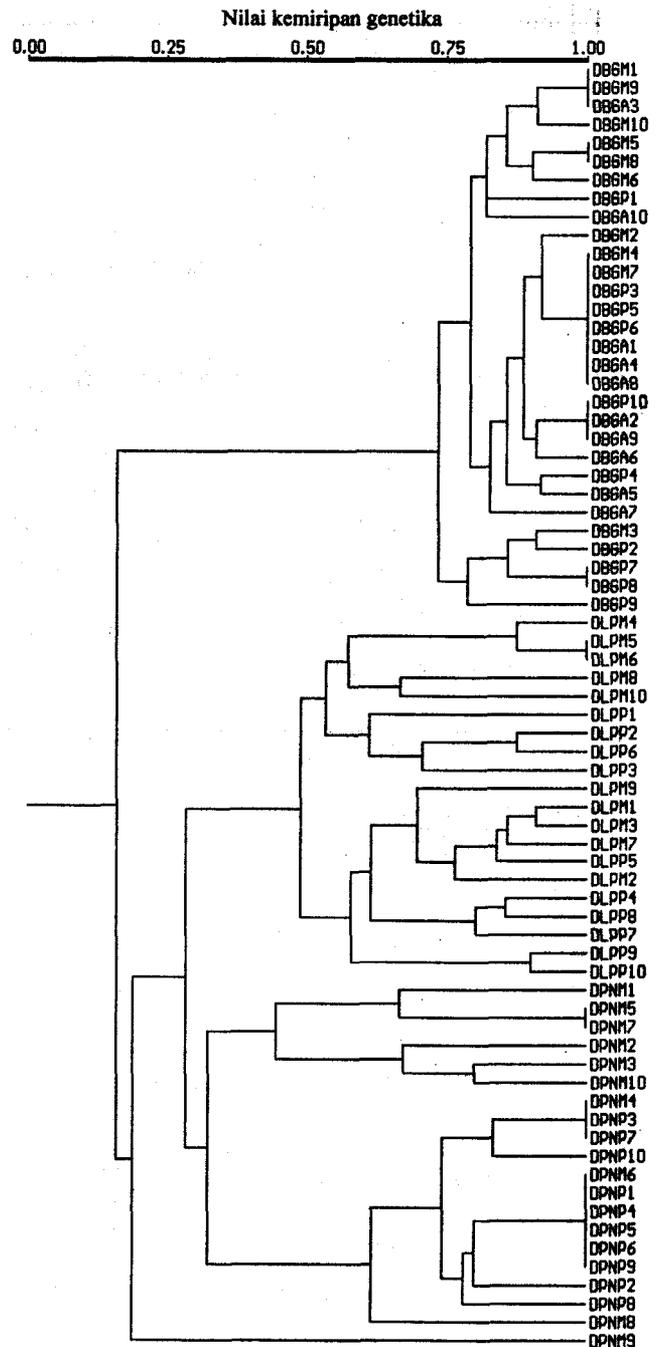
Analisis pengelompokan menggunakan 32 pita hasil AKU menunjukkan bahwa semua individu dari setiap populasi kelapa masih mengumpul dalam kelompok populasinya secara terpisah (Gambar 4). Reduksi kedua menjadi 17 pita juga menghasilkan pengelompokan yang memisahkan individu dari setiap populasi kelapa ke dalam kelompok populasinya, kecuali satu individu dari populasi kelapa Dalam Paslaten (DPNM9) (Gambar 5).

PEMBAHASAN

Polimorfisme fragmen DNA yang dihasilkan pada penelitian ini (80%) sejalan dengan analisis RAPD Pandin (2000) terhadap lima populasi kelapa Dalam yang berasal dari tiga pulau dengan menggunakan 10 primer acak yang menghasilkan polimorfisme 95%. Primer-primer tersebut, tiga di antaranya, sama dengan primer yang digunakan pada penelitian ini, yaitu OPA-10, OPA-13, dan OPA-20. Ketiga primer tersebut dapat mengamplifikasi DNA dari populasi kelapa DBG, DLP, dan DPN pada penelitian ini dan dapat juga mengamplifikasi DNA dari populasi kelapa Dalam Bali (DBI), Dalam Palu (DPU), Dalam Mapanget (DMT), Dalam Tenga (DTA), Dalam Sawarna (DSA) (Pandini 2000); Dalam Jepara (DJP), Dalam Boyolali (DBY), Dalam Pangandaran (DPG) (Sumarsono 2000); Dalam Takome (DTE), Dalam Igo



Gambar 4. Fenogram kemiripan genetica populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam (DLP), Dalam Paslaten (DPN), dan Dalam Banyuwangi (DBG) berdasarkan 32 penanda RAPD hasil AKU.



Gambar 5. Fenogram kemiripan genetica populasi kelapa Dalam Lubuk Pakam (DLP), Dalam Paslaten (DPN), dan Dalam Banyuwangi (DBG) berdasarkan 17 penanda RAPD hasil AKU.

Bulan (DIB), dan Dalam Igo Duku (DID) (Matondang *et al.* 2001). Dengan demikian ketiga primer tersebut mempunyai homologi sekuen dengan DNA dari 14 populasi kelapa Dalam.

Pada penelitian ini silsilah individu kelapa yang dianalisis tidak diketahui sehingga pendekatan yang dipakai untuk membuat pengelompokan ialah pendekatan fenetik. Fenogram yang dihasilkan pada penelitian ini mirip dengan fenogram lima populasi kelapa Dalam yang berasal tiga pulau Bali (DBI), Jawa (DSA), dan Sulawesi (DTA, DMT, DPU) koleksi KIP Mapanget dengan penanda RAPD menggunakan 10 primer acak yang membentuk kelompok terpisah sesuai kelompok populasinya, masing-masing pada kemiripan

genetika lebih dari 75% dan seluruh pohon kelapa yang dianalisis memiliki kemiripan genetica lebih dari 60% (Pandin 2000).

Analisis pengelompokan dengan UPGMA pada penelitian ini menghasilkan tingkat kemiripan genetica antar individu dalam populasi kelapa DLP, DPN, maupun DBG tidak ada yang mencapai 100% seperti pada analisis RAPD terhadap lima populasi kelapa Dalam asal Pulau Jawa (Sumarsono 2000) dan tiga populasi kelapa Dalam asal provinsi Maluku (Matondang *et al.* 2001). Salah satu kemungkinan penyebab kejadian tersebut karena buah kelapa yang dikoleksi berasal dari pohon yang menyerbuk silang di dalam populasi kelapa

yang beragam di tempat asalnya. Umumnya kelapa tipe Dalam menyerbuk silang sedangkan kelapa tipe Genjah menyerbuk sendiri, walaupun tidak tertutup kemungkinan bagi kelapa tipe Genjah untuk menyerbuk silang dengan kelapa tipe Genjah lainnya atau dengan kelapa tipe Dalam yang tumbuh di sekitarnya (Harries 1978). Jika kelapa Dalam diduga bergenotipe heterozigot, maka penyerbukan silang antarindividu dalam satu populasi akan menghasilkan keturunan yang memiliki genotipe beragam, mengakibatkan antarindividu dalam satu populasi kelapa Dalam tidak ada yang memiliki genotipe persis sama.

Pada penelitian ini, posisi DBG yang hampir tegak lurus terhadap DLP dan DPN baik pada skala multidimensional non-metrik maupun AKU menunjukkan dimensi yang terpisah, dan bahwa populasi kelapa DLP memiliki hubungan genetika yang lebih dekat dengan populasi kelapa DPN dibandingkan dengan DBG (Gambar 2 & 3). Metode ordinat yang berupa AKU dapat mengidentifikasi penanda RAPD yang paling berperan dalam pengelompokan individu dan penanda yang khas bagi suatu populasi kelapa jika dibandingkan dengan metode ordinat yang berupa skala multidimensional non-metrik ataupun analisis pengelompokan dengan UPGMA. Identifikasi tersebut memungkinkan untuk dilakukan karena AKU dapat mereduksi dimensi himpunan peubah asal yang terdiri atas banyak peubah dan menghilangkan peubah-peubah asal yang mempunyai sumbangan informasi yang relatif kecil. Antarkomponen utama (KU) tidak berkorelasi dan tertata berdasarkan besarnya keragaman yang dijelaskan. Komponen utama satu (KU1) memiliki keragaman terbesar sehingga memiliki peran terbesar dalam memisahkan individu. Beberapa komponen utama pertama yang diperoleh diharapkan akan dapat menjelaskan dengan baik keragaman data asal. Analisis komponen utama dapat diturunkan dari matriks peragam (*covariance matrix*) maupun matriks korelasi (*correlation matrix*). Pada penelitian ini, AKU diturunkan dari matriks peragam karena antarfragmen DNA yang berhasil diamplifikasi tidak ada korelasi. Keragaman yang dapat diterangkan oleh kedua KU tersebut (33%) sesuai dengan persentase ketidakmiripan genetika hasil analisis pengelompokan dengan UPGMA, yaitu 38%. Kesesuaian tersebut menunjukkan bahwa hasil analisis pengelompokan dengan UPGMA dan metode ordinat yang berupa AKU bersifat saling mendukung, walaupun keduanya ditransformasi dari matriks yang berbeda.

Untuk memastikan bahwa penanda RAPD yang diidentifikasi pada AKU benar-benar berperan dalam pengelompokan perlu dilakukan beberapa kali reduksi peubah asal dan analisis pengelompokan. Melalui satu kali reduksi data asal menggunakan AKU menghasilkan 32 penanda RAPD dan fenogram yang masih mengelompokkan individu kelapa ke dalam kelompok populasinya secara terpisah (Gambar 4). Posisi individu kelapa mengalami beberapa perubahan, tetapi masih berada dalam kelompok populasinya. Sebagai contoh, individu DLPP7-DLPP8 memiliki kemiripan genetika lebih dari 80% (Gambar 1), tetapi pada Gambar 4 mempunyai kemiripan genetika kurang dari 60% karena DLPP7 bergabung terlebih dahulu dengan beberapa individu

dari DLPP/DLPM yang lain sebelum bergabung dengan DLPP8. Contoh lain, individu DLPP9-DLPP10 mempunyai kemiripan genetika lebih dari 85% (Gambar 1), tetapi pada fenogram berdasarkan 32 penanda RAPD hasil AKU memiliki kemiripan genetika kurang dari 85% (Gambar 4). Perpaduan analisis pengelompokan dengan UPGMA dan metode ordinat yang berupa AKU membuktikan bahwa dengan satu kali reduksi data asal (jumlah pita yang berhasil diamplifikasi) dapat diperoleh penanda RAPD yang paling berperan dalam pengelompokan populasi kelapa secara terpisah.

Distribusi individu kelapa pada grafik 2-dimensi dengan skala multidimensional non-metrik merupakan cerminan dari fragmen DNA yang berhasil diamplifikasi. Penggabungan hasil analisis pengelompokan dengan UPGMA maupun metode ordinat yang berupa skala multidimensional non-metrik dan AKU semakin memperkuat kesimpulan bahwa populasi kelapa DLP memiliki hubungan genetika yang lebih dekat dengan populasi kelapa DPN dibandingkan dengan DBG karena 63% dari 32 penanda RAPD hasil AKU menghasilkan persentase amplifikasi yang sejalan pada populasi DLP dan DPN, tetapi berlawanan dengan DBG. Sisanya, 37% dari 32 penanda RAPD hasil AKU mengelompokkan pohon kelapa ke dalam populasinya masing-masing dan setiap populasi memisah pada kemiripan genetika lebih dari 70%.

Untuk memastikan bahwa penanda RAPD tersebut merupakan penanda molekul bagi masing-masing populasinya, primer OPA-18 harus dicobakan pada sejumlah besar pohon kelapa DLP dan primer OPA-10 serta OPC-05 pada sejumlah besar pohon kelapa DBG. Ketiga fragmen DNA ini dapat diisolasi, disekuensi DNA-nya, dan dapat digunakan sebagai pelacak.

Analisis pengelompokan dengan UPGMA dan metode ordinat yang berupa skala multidimensional non-metrik ataupun komponen utama dapat digunakan secara bersama-sama untuk menganalisis hubungan genetika berdasarkan data penanda RAPD pada suatu populasi kelapa, ketiganya menghasilkan informasi yang saling mendukung dan melengkapi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima disampaikan kepada Hengky Novariantio dari Balai Penelitian Kelapa dan Palma Lain, Manado, serta Helderling Tampake dari Kebun Instalasi Penelitian Pakuwon, Jawa Barat yang telah memberikan bahan daun kelapa. Penelitian dibiayai oleh Proyek Hibah Tim Penelitian Pascasarjana (URGE) No. 038/ADD-1/HTPP/URGE/1998 a.n. Alex Hartana dengan judul *Molecular Genetic Analysis of Indonesia Coconut Germplasm for Crop Improvement in Breeding Program*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashburner GR, Thompson WK, Halloran GM. 1997. RAPD analysis of South Pacific coconut palm populations. *Crop Sci* 37:992-997.
- Dunn G, Everitt BS. 1980. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. London: Cambridge University Pr.

- Grattapaglia D, Chaparro J, Wilcox P, McCord S, Werner D, Amerson H, McKeand S, Bridgwater F, Whetten R, O'Malley D, Sederoff R. 1992. Mapping in woody plants with RAPD markers: Application to breeding in forestry and horticulture. Di dalam: *Application of RAPD Technology to Plant Breeding*. Joint Plant Breeding Symposia Series. Minneapolis: CSSA/ASHS/AGA. hlm 37-40.
- Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. 1998. *Multivariate Data Analysis*. Ed ke-5. New Jersey: Prentice-Hall.
- Harries HC. 1978. The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. *Bot Rev* 44:265-320.
- Hayati PKD, Hartana A, Suharsono, Aswidinnoor H. 2000. Keanekaragaman genetik kelapa 'Genjah Jombang' berdasarkan *random amplified polymorphic DNA*. *Hayati* 7:35-40.
- Lengkong EF, Suharsono, Runtunuwu SD, Hartana A. 2001. Pengoptimuman reaksi berantai polimerase DNA tanaman kelapa. *Hayati* 8:121-123.
- Lengkong EF, Hartana A, Suharsono. 1998. Keragaman genetik beberapa kultivar kelapa berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Di dalam: *Prosiding Seminar Sehari Hasil-hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat*. Bogor, 3 Sep 1998. hlm 1-12.
- Matondang I, Suharsono, Hartana A. 2001. Analisis keanekaragaman genetik kelapa Dalam asal Maluku menggunakan teknik *random amplified polymorphic DNA*. *Hayati* 8:31-34.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Colombis Univ.
- Pandin DS. 2000. Kemiripan genetic populasi kelapa Dalam Mapanget, Tenga, Bali, Palu, dan Sawarna berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Rohlf F. 1993. *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Versi 1.80*. New York: Exeter Publishing Ltd.
- Sambrook JE, Fritsch F, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbour Laboratory.
- Skroch P, Tivang J, Nienhuis J. 1992. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. Di dalam: *Application of RAPD Technology to Plant Breeding*. Joint Plant Breeding Symposia Series. Minneapolis: CSSA/ASHS/AGA. hlm 26-30.
- Sumarsono. 2000. Keanekaragaman genetik lima populasi kelapa Dalam dari Pulau Jawa berdasarkan penanda RAPD. [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Vieira RF, Grayer RJ, Paton A, Simon JE. 2001. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids, and RAPD markers. *Biochem Syst Ecol* 29:287-304.
- Weising K, Nybom H, Wolff K, Meyer W. 1995. *DNA Fingerprinting in Plants and Fungi*. Boca Raton: CRG Pr.