Hayati, Juni 1995, hlm. 12-16
ISSN 0854-8587
Vol. 2, No. 1

Analisis Kemiripan Genetika Kelapa Koleksi Plasma Nutfah di Kebun Percobaan Mapanget, Sulawesi Utara

(Genetic Similarity Analysis of Coconut Populations from Mapanget Germplasm Collection, North Sulawesi)

NOVARIANTO HENGKY[1*] DAN ALEX HARTANA[2]

[1] *Balai Penelitian Kelapa, Kotak Pos 1004, Manado 95001*
[2] *Jurusan Biologi FMIPA IPB, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144*

Diterima 25 November 1994 / Disetujui 5 April 1995

Coconut germplasm collections are important source of genetic material for coconut breeding programmes. Genetic variability of those germplasm have not been studied throughly. This study was conducted to analyse genetic similarity of 35 coconut populations from Mapanget germplasm collection, North Sulawesi based on variability of isozyme banding patterns, coconut type, and nut colour and shape. The enzymes studied were peroxidase (PER), esterase (EST), and glutamate oxaloacetate transaminase (GOT). Genetic analysis among coconut populations showed that at 0.25 genetic distance there are six classes of coconut populations. This genetic distance supported the testing result of F1 coconut hybrids in the field. Therefore, this population classes by the genetic distance could be used as bases in selection of coconut parents for hybridisation.

PENDAHULUAN

Balai Penelitian Kelapa memiliki lima kebun koleksi plasma nutfah yang tersebar pada lima provinsi. Salah satu di antaranya ialah Kebun Percobaan Mapanget di Sulawesi Utara. Koleksi plasma nutfah kelapa yang terdapat di kebun percobaan ini sampai akhir Repelita V berjumlah sebanyak 35 populasi yang terbagi atas 9 kelapa, tipe Genjah dan 26 kelapa tipe Dalam.

Plasma nutfah sebagai substansi sifat keturunan perlu dievaluasi keanekaragaman genetikanya, sehingga bisa dilakukan seleksi untuk pemanfaatan dalam perakitan kelapa unggul. Sampai saat ini seleksi pada tanaman kelapa hanya dilakukan berdasarkan keragaman karakter vegetatif, generatif dan komponen buah berdasarkan pedoman IBPGR (1978). Ternyata hasil pemanfaatan berdasarkan informasi ini pada saat ini dirasakan masih sedikit. Untuk menghasilkan kelapa yang berproduksi tinggi, cepat berbuah, resisten terhadap penyakit, toleransi pada lahan pasang surut, iklim kering, dan sebagai bahan baku industri makanan atau bukan makanan, dibutuhkan informasi dasar yang lebih rinci.

Isozim adalah suatu enzim polimorfik yang dapat dipisahkan, terdapat dalam organisme yang sama dan mengkatalisis reaksi yang sama (Shaw, 1969). Perbedaan suatu sistem enzim yang mengkatalisis suatu reaksi dalam sel, bisa dilihat melalui perbedaan pola pita dengan metode elektroforesis gel pati sesudah diwarnai (Peirce dan Brewbaker, 1973). Perbedaan pola pita ini berkaitan langsung dengan perbedaan susunan asam amino enzim-enzim yang dianalisis dan susunan asam amino yang membentuk macam-macam protein ini disandi oleh susunan basa nukleotida dalam DNA yang khas untuk setiap jenis protein atau enzim (Ghesquiere, 1984). Oleh karena itu pola pita isozim banyak digunakan sebagai ciri genetika dalam biologi dan pemuliaan.

Pemanfaatan pola pita isozim untuk kepentingan biologi tanaman lebih dapat dipercaya, karena biasanya diatur oleh gen tunggal, bersifat kodominan dalam pewarisannya (Peirce dan Brewbaker, 1973; Adams, 1983; Arulsekar dan Parfitt, 1986) dan bersegregasi secara normal menurut nisbah Mendel (Adams, 1983). Isozim umumnya tidak dipengaruhi oleh lingkungan, koliniar dengan gen dan merupakan produk langsung gen. Oleh karena itu isozim memberikan keuntungan untuk memperoleh kode gen tunggal pada tanaman bertahunan (Torres *et al.*, 1978).

Untuk mempertajam pengelompokan kemiripan genetika populasi kelapa di kebun koleksi plasma nutfah Mapanget, perlu dianalisis keragaman pola pita isozimnya. Pengetahuan tentang keragaman pola pita isozim serta karakter morfologi lainnya diharapkan dapat memperbaiki seleksi kelapa sebagai tetua dalam persilangan.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mempelajari kemiripan genetika kelapa dari kebun koleksi plasma nutfah Mapanget berdasarkan keragaman pola pita isozim (peroksidase, glutamat oksaloasetat transaminase, dan esterase), tipe kelapa, warna kulit buah, dan bentuk buah.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman. Bahan tanaman berupa daun diambil dari koleksi plasma nutfah Kebun Percobaan Mapanget, Balai Penelitian Kelapa, Sulawesi Utara. Analisis isozim dilakukan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, PAU Ilmu Hayat IPB.

* Penulis untuk korespondensi

Daun kelapa yang diperiksa isozimnya diambil dari 35 populasi kelapa. Contoh daun diambil dari 10 pohon secara acak untuk setiap populasi kelapa. Pada setiap populasi tersebut diamati pula data tipe kelapa (Genjah atau Dalam), warna kulit buah, dan bentuk buah. Karakter morfologi ini yang dipilih karena diwariskan bersifat diskrit, dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Analisis Isozim. Penyiapan analisis isozim yang dilakukan meliputi: penyiapan daun, pembuatan larutan penyangga pengekstrak, larutan penyangga gel, gel pati, ekstraksi enzim, elektroforesis, dan pembuatan larutan pewarna. Selesai elektroforesis gel pati dipotong horizontal dan direndam dalam larutan pewarna untuk setiap sistem enzim. Gel kemudian dicuci dan difiksasi untuk pengamatan pola pita dari setiap contoh daun. Kegiatan analisis isozim ini mengikuti prosedur (Ihara *et al.*, 1986), Arulsekar dan Parfitt (1986) serta Wendel dan Weeden (1989) dengan penyesuaian seperlunya (Novarianto *et al.*, 1992).

Sistem enzim yang dianalisis adalah peroksidase (PER), glutamat oksaloasetat transaminase (GOT), dan esterase (EST). Ketiga enzim ini yang ditelusuri lebih lanjut, karena pada penelitian pendahuluan dari tujuh macam sistem enzim yang diperiksa, hanya tiga sistem enzim ini yang menampilkan keragaman pola pita.

Analisis Kelompok. Untuk melihat kemiripan genetika antar populasi kelapa digunakan analisis kelompok. Analisis kelompok antar populasi kelapa menggunakan data keragaman pola pita isozim dan morfologi yaitu tipe kelapa, warna dan bentuk buah. Analisis kelompok menggunakan metode jarak Euclid, sedangkan penggerombolan populasi menggunakan rataan kelompok (Dunn dan Everitt, 1982). Antar populasi kelapa dihitung jarak genetikanya dan kemudian dikelompokkan. Di dalam pengelompokan jarak 0.00 sampai dengan 0.50 menyatakan jarak Euclid dan menggambarkan kemiripan genetika dari 100% sampai 50%.

HASIL

Hasil analisis isozim memperlihatkan bahwa untuk sistem enzim peroksidase diperoleh empat macam pola pita yaitu PER-1, PER-2, PER-3 dan PER-5. Adapun pola pita PER-4 dan PER-6 yang dijumpai pada kelapa Dalam Riau di kebun percobaan Pakuwon, Balai Penelitian Kelapa, Jawa Barat (Novarianto *et al.*, 1993), tidak dijumpai pada koleksi di Mapanget. Sebagian besar populasi kelapa memiliki pola pita PER-1 dan PER-3. Pola pita PER-2 hanya dimiliki kelapa GKN, sedangkan pola pita PER-5 ditemukan pada kelapa GKB, DPN dan DBG. Selanjutnya pola pita sistem enzim GOT dan EST pada umumnya dimiliki oleh seluruh populasi kelapa yang diperiksa, dan tidak memperlihatkan keragaman yang berarti. Kemudian untuk penyebaran morfologi tipe kelapa, warna dan bentuk buah dapat dilihat pada Tabel 1. Keterangan angka yang menunjukkan karakter pola pita isozim atau morfologi kelapa disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan keragaman pola pita isozim dan morfologi kelapa pada Tabel 1 diperoleh hasil analisis pengelompokan seperti pada Gambar 1.

PEMBAHASAN

Pada jarak 0.25 atau kemiripan genetika 75% terdapat enam kelompok populasi kelapa. Kelompok I terdiri dari dua populasi kelapa Genjah yaitu kelapa GMM dan GSO. Kelompok II terdiri dari dua populasi kelapa Dalam yakni M83 dan DPN. Pada kelompok III terdapat lima populasi kelapa Dalam dan satu populasi kelapa genjah (GTT). Kelompok terbesar pada kelompok IV terdiri dari 20 populasi kelapa dan empat populasi di antaranya kelapa genjah yaitu GHJ, GSK, GHN dan GRA. Pada kelompok IV ini populasi kelapa DTA dengan DPU memiliki kemiripan genetika mendekati 95%, dan kemiripan keduanya terhadap populasi kelapa DBI sekitar 80%. Ketiga populasi ini dan GKN merupakan tetua-tetua dari kelapa hibrid KHINA-1 (GKN X DTA), KHINA-2 (GKN X DBI) dan KHINA-3 (GKN X DPU). Kelompok V tersusun atas tiga kelapa Dalam yaitu M32, DID dan M55, dan satu kelapa Genjah yakni GKB. Terakhir kelompok VI adalah kelapa GKN.

Hasil pengelompokan ini memperlihatkan bahwa populasi kelapa tipe Genjah lebih heterogen dibandingkan populasi kelapa tipe Dalam, seperti terlihat pada kelapa GMM dan GSO, dan GKN paling tidak mirip dibandingkan populasi-populasi kelapa lainnya. Dibandingkan terhadap populasi kelapa Dalam lainnya, kelapa Dalam yang ketidakmiripan genetikanya cukup jauh adalah kelapa Dalam M83 dan DPN pada kelompok II, dan kelapa Dalam M32, DID, dan M55 pada kelompok V.

Hasil pengelompokan populasi kelapa ini akan sangat membantu di dalam melakukan seleksi tetua kelapa untuk persilangan buatan dalam perakitan kelapa unggul. Untuk seleksi populasi yang akan digunakan dalam persilangan dapat dipilih antar populasi kelapa yang berbeda kelompok dan tentu saja dengan mempertimbangkan juga hasil evaluasi keragaman kelapa-kelapa tersebut berdasarkan karakter lainnya, seperti ketahanan terhadap penyakit, kualitas dan kuantitas daging buah, dan sebagainya.

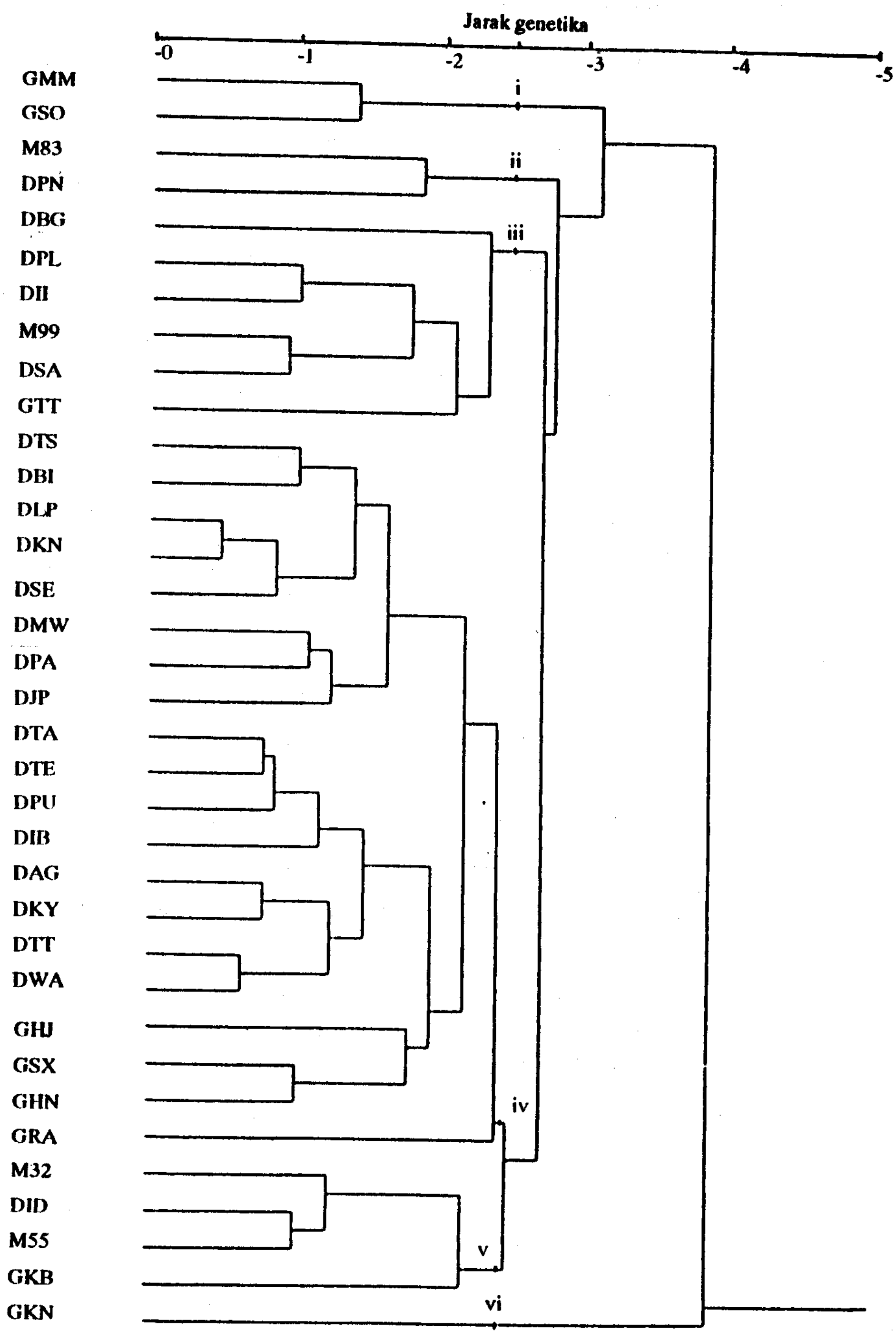
Hasil analisis pola pita isozim kelapa dari kebun koleksi plasma nutfah Mapanget menunjukkan bahwa ada empat macam pola pita PER dan masing-masing dua macam pola pita GOT dan EST. Analisis kemiripan genetika pola pita isozim dan morfologi kelapa pada 35 populasi menunjukkan adanya enam kelompok. Hasil pengelompokan ini dapat dipergunakan sebagai salah satu dasar seleksi tetua untuk persilangan kelapa hibrid.

Pengujian lebih jauh keragaman genetik kelapa ini perlu dilakukan, antara lain dengan menggunakan analisis terutama biologi molekuler DNA.

Tabel 1. Data Matriks Keragaman Pola Pita Isozim dan Morfologi Kultivar-kultivar Kelapa dari Koleksi Plasma Nutfah di Kebun Percobaan Mapanget

No. Kultivar	Asal	PER[a]						GOT[b]		EST[c]		Tipe	Warna Kulit Buah						Bentuk Buah		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tipe Genjah																					
1. Sagerat Orange (GSO)	Maluku	10	0	0	0	0	0	6	4	6	4	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0
2. Raja (GRA)	Maluku	6	0	4	0	0	0	3	7	4	6	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0
3. Tebing Tinggi (GTT)	Sumut	3	0	7	0	0	0	7	3	6	4	2	0	0	0	0	0	1	1	0	1
4. Hijau Jombang (GHJ)	Jatim	6	0	4	0	0	0	1	9	4	6	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0
5. Kuning Bali (GKB)	Bali	6	0	2	0	2	0	8	2	0	10	2	1	0	0	0	0	0	1	0	1
6. Hijau Nias (GHN)	Sumut	10	0	0	0	0	0	4	6	2	8	2	0	0	0	0	0	1	1	0	1
7. Kuning Nias (GKN)	Sumut	0	10	0	0	0	0	10	0	4	6	2	1	0	0	0	0	0	1	0	1
8. Salak (GSK)	Kalsel	7	0	3	0	0	0	4	6	0	10	2	0	0	0	0	0	1	1	0	1
9. Merah Malaysia (GMM)	Malaysia	10	0	0	0	0	0	10	0	5	5	2	0	1	0	0	0	0	1	0	1
Tipe Dalam																					
10. Takome (DTE)	Maluku	6	0	4	0	0	0	1	9	3	7	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1
11. Bali (DBI)	Bali	10	0	0	0	0	0	5	5	6	3	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1
12. Jepara (DJP)	Jateng	8	0	2	0	0	0	8	2	8	2	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
13. Paslaten (DPN)	Sulut	0	0	5	0	5	0	5	5	2	8	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
14. Tenga (DTA)	Sulut	5	0	5	0	0	0	1	9	3	7	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
15. Banyuwangi (DBG)	Jatim	3	0	2	0	5	0	4	6	7	3	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0
16. Sawarna (DSA)	Jabar	2	0	8	0	0	0	3	7	6	4	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
17. Pandu (DPA)	Sulut	8	0	2	0	0	0	8	2	5	5	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
18. Mapanget 99 (M99)	Sulut	0	0	10	0	0	0	2	8	8	2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
19. Mapanget 55 (M55)	Sulut	10	0	0	0	0	0	8	2	0	10	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
20. Mapanget 32 (M32)	Sulut	6	0	4	0	0	0	10	0	2	8	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
21. Mapanget 83 (M83)	Sulut	0	0	10	0	0	0	8	2	0	10	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
22. Kalasey (DKY)	Sulut	6	0	4	0	0	0	4	6	0	10	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
23. Wusa (DWA)	Sulut	3	0	7	0	0	0	4	6	3	7	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
24. Aertembaga (DAG)	Sulut	5	0	5	0	0	0	6	4	2	8	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
25. Ilo-Ilo (DII)	Sulut	5	0	5	0	0	0	6	4	9	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
26. Pungkol (DPL)	Sulut	5	0	5	0	0	0	3	7	9	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
27. Tontalete (DTT)	Sulut	3	0	7	0	0	0	4	6	2	8	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
28. Kinabuhutan (DKN)	Sulut	7	0	3	0	0	0	3	7	5	5	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
29. Talise (DTS)	Sulut	10	0	0	0	0	0	4	6	4	6	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
30. Marinsow (DMW)	Sulut	5	0	5	0	0	0	7	3	6	4	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
31. Palu (DPU)	Sulteng	7	0	3	0	0	0	2	8	2	8	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
32. Lubuk Pakam (DLP)	Sumbar	6	0	4	0	0	0	4	6	5	5	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
33. Sea (DSE)	Sulut	5	0	5	0	0	0	4	6	7	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
34. Igo Duku (DID)	Maluku	8	0	2	0	0	0	8	2	2	8	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
35. Igo Bulan (DIB)	Maluku	6	0	4	0	0	0	2	8	0	10	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0

[a]Peroksidase, [b]Glutamat oksaloasetat transaminase, [c]Esterase



Gambar 1. Dendrogram Populasi Kelapa Koleksi Plasma Nutfah di Kebun Percobaan Mapanget

Tabel 2. Karakter yang Digunakan untuk Analisis Kelompok dari Populasi-populasi Kelapa di Kebun Koleksi Plasma Nutfah Mapanget

Karakter	Keragaman Karakter	
Peroksidase (PER)	1.	Pola pita 1
	2.	Pola pita 2
	3.	Pola pita 3
	4.	Pola pita 4
	5.	Pola pita 5
	6.	Pola pita 6
Glutamat Oksaloasetat Transaminase (GOT)	7.	Pola pita 1
	8.	Pola pita 2
Esterase (EST)	9.	Pola pita 1
	10.	Pola pita 2
Tipe Kelapa	11.	1. Dalam
	11.	2. Genjah
Warna Kulit Buah	12.	Kuning
	13.	Jingga
	14.	Coklat kemerahan
	15.	Coklat
	16.	Hijau kecoklatan
	17.	Hijau
Bentuk Buah	18	Lonjong
	19.	Dasar datar
	20.	Bulat

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek Peningkatan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Bank Dunia XXI (Loan N3311-IND) No. 016/P4M/DPPM/2-3311/MS/92 Direktorat Pembinaan dan Pengabdian pada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI berupa *Basic Science Award I*. Oleh karena itu kami mengucapkan terima kasih. Makalah ini merupakan makalah kesebelas dari Laboratorium Biologi Tumbuhan PAU Ilmu Hayat, IPB.

DAFTAR PUSTAKA

Adams, W.T. 1983. Application of Isozymes in Tree Breeding, p.381-400. *In* S.D. Tanksley and T.J. Orton (ed.), *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Part A. New York: Elsevier.

Arulsekar, S. and D.E. Parfitt. 1986. Isozyme Analysis Procedures for Stone Fruits, Almond, Grape, Walnut, Pistachio, and Fig. *Hort. Sci.* **21**(4):928-933.

Dunn, G. and B.S. Everitt. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. Cambridge: Cambridge Univ. Press.

Ghesquiere, M. 1984. Enzyme Polymorphism in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). I. Genetic Control of Nine Enzyme Systems. *Oleagineux* **39**(12):561-574.

IBPGR. 1978. *Coconut Genetic Resources*. Rome: IBPGR Secretariat.

Ihara, M., L.U. Gadrinab, U.J. Sirengar, and S. Iyama. 1986. Genetic Control of Alcohol Dehydrogenase and Estimation of Some Population Parameters in *Hopea odorata* Roxb. (Dipterocarpaceae). *Japan. J. Genet.* **61**:127-136.

Novarianto, H., A. Hartana, dan A.H. Nasoetion. 1993. Hubungan Kekerabatan antar Populasi Kelapa di Kebun Plasma Nutfah Pakuwon, Sukabumi. *J. Biol. Indon.* **1**(1):55-65.

Novarianto, H., T. Sudaryono, dan A. Hartana. 1992. Prosedur Analisis Isozim pada Tanaman Kelapa. *Buletin Balitka* **16**: 1-13.

Peirce, L.C. and J.L. Brewbaker. 1973. Applications of Isozyme Analysis in Horticultural Science. *Hort. Sci.* **8**(1):17-22.

Shaw, C.R. 1969. Isozyme: Classification, Frequency, and Significance. *Intern. Rev. Cytol.* **25**:297-332.

Torres, A.M., U. Diedenhofen, B.O. Bergh, and R.J. Knight. 1978. Enzyme Polymorphisms as Genetic Markers in the Avocado. *Amer.J.Bot.* **65**(2):134-139.

Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozyme p. 5-45 *In*. D.E. Soltis and P.S. Soltis. (ed.), *Isozymes in Plant Biology*. Portland: Dioscorides Press.