

PENANDA MIKROSATELIT SEBAGAI PENCIRI JATI "PLUS"

Mariya Ulfa, Amin Retnoningsih

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

Endah Suwarni

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perum Perhutani

Email: mariya.ulfa@gmail.com, phone: +6285727509431

Mariya Ulfa, Amin Retnoningsih & Endah Suwarni. 2010. Microsatellite Marker as Characterization of Teak "Plus". *Floribunda* 4(1): 5–14.— The result of this study showed that all primers used were polymorphic allele. Locus Tg-AAG10 could detect polyploidy of teak accession J32 and J37 from Ngawi. The total of alleles detected was 8, with the average 6 alleles per locus. The highest amount was found in locus Tg-AAG10 (9 alleles). The genetic diversity parameter of Java teak "plus" using microsatellite marker showed high result and also could detect allele and specific genotype. Allele and specific genotype as teak fingerprint data could be detected by all three loci, so that all loci that were used in this research could be used as fingerprint of teak "plus" in Java.

Keywords: Teak "plus", Java, genetics diversity, microsatellite, fingerprinting.

Mariya Ulfa, Amin Retnoningsih & Endah Suwarni. 2010. Penanda Mikrosatelit Sebagai Penciri Jati "Plus". *Floribunda* 4(1): 5–14.— Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua primer yang digunakan bersifat polimorfik. Locus Tg-AAG10 mampu mendeteksi jenis jati poliploid (J32 dan J37 dari Ngawi). Total alel yang terdeteksi sebanyak 8 alel dengan rata-rata 6 alel per lokus. Jumlah tertinggi ditemukan pada lokus Tg-AAG10 (9 alel). Parameter keanekaragaman genetika jati "plus" Jawa menggunakan penanda mikrosatelit menunjukkan hasil yang tinggi serta mampu mendeteksi alel dan genotipe spesifik. Alel dan genotipe spesifik sebagai data *fingerprint* jati dapat dideteksi oleh ketiga lokus, sehingga semua lokus yang digunakan dalam penelitian ini dapat dijadikan sidik jari jati "plus" di Jawa.

Kata Kunci: Jati "plus", Jawa, keragaman genetika, mikrosatelit, *fingerprinting*.

Hutan jati tropis di Jawa diduga memiliki tingkat keanekaragaman genetika dan heterozigositas yang cukup tinggi. Asumsi ini didukung karena tingkat penyerbukan silang jati Jawa mencapai 98%, disebabkan serbuk sarinya dapat menyebar ke segala arah mencapai 180 m (Palupi 2005). Studi keanekaragaman genetika dalam populasi merupakan dasar kegiatan pemuliaan dan konservasi suatu tanaman. Hal ini karena keberhasilan memilih aksesori tanaman plus dapat digunakan sebagai sumber material genetika dengan keanekaragaman genetika total yang tinggi.

Jati "plus" merupakan jenis pohon jati unggul dan berkualitas di Indonesia. Jati ini merupakan hasil seleksi Perum Perhutani berdasarkan sifat-sifat unggul morfologi tanaman (Siswamartana dkk. 2005), seperti: bentuk batang lurus, tumbuh cepat, diameter besar, tahan hama dan penyakit (Anonim 2006). Namun karakter morfologi ini memiliki keterbatasan karena variasinya sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Oleh karena itu dibutuhkan karakterisasi keanekaragaman genetika dengan hasil yang lebih cepat, efektif, dan akurat menggunakan penanda molekular (Santoso dkk. 2006).

Keanekaragaman genetika dapat dipelajari melalui analisis penanda mikrosatelit. Mikrosatelit ini adalah segmen DNA dengan motif pengulangan 1–6 nukleotida yang diapit daerah spesifik (Courtois 2002). Panjang pengulangan yang berbedabeda menghasilkan variasi yang tinggi di antara aksesori yang dianalisis. Mikrosatelit memiliki polimorfisme tinggi, bersifat kodominan, *single locus* (Crouch et al. 1998; Murray 1996) dan dapat dideteksi dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan DNA dalam jumlah sedikit.

Penelitian yang menggunakan analisis penanda mikrosatelit antara lain dilakukan oleh Munarti (2005) dan Boer (2007) di daerah Sulawesi. Hasil penelitian tersebut, menunjukkan bahwa penanda mikrosatelit dapat mengungkap variasi genetika jati di Sulawesi. Penanda mikrosatelit juga dilaporkan mampu mendeteksi sidik jari DNA (*fingerprinting*) genom tanaman pisang (Kaemmer et al. 1997; Creste et al. 2004). Oleh karena itu dalam penelitian ini, analisis penanda mikrosatelit digunakan untuk mengungkap informasi keanekaragaman genetika jati "plus" di Jawa serta menjadi awal informasi dalam pembuatan *database* identifikasi sidik jari DNA jati berdasarkan

penanda mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular, Universitas Negeri Semarang dan Laboratorium Genetika Molekular Pusat Penelitian dan Pengembangan Perhutani Cepu. Sampel daun jati yang digunakan sebanyak 48 klon dari pohon induk jati dari berbagai daerah di Jawa yang ditanam di kebun benih clonal (KBK) Perhutani, yaitu: Clangap, Ngawi, dan Saradan.

DNA diisolasi dari organ kuncup daun jati muda dengan menggunakan metode CTAB (Doyle & Doyle 1987) yang dimodifikasi. Ada tidaknya DNA pada hasil ekstraksi dilihat melalui hasil elektroforesis gel agarose 0.8% pada 100 volt selama 30 menit.

PCR menggunakan 12.5 µl larutan yang mengandung 1x buffer PCR, 0.25 unit taq polimerase, 0.25 µM MgCl₂ (Roche), 100 µM dNTP, 0.2 µM untuk setiap primer, dan 20–25 ng DNA. Kondisi PCR diprogram dengan denaturasi awal 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* selama 30 detik (suhu bergantung primer pada Tabel 1), *extension* pada 72°C selama 30 detik diakhiri dengan *final extension* 10 menit. Amplifikasi dilakukan untuk 35 siklus. Hasil PCR dilihat melalui elektroforesis gel agarose 0.8% pada 50 volt selama 30 menit.

Penentuan posisi pita DNA dilakukan secara manual. Estimasi keanekaragaman genetika dianalisis melalui jumlah alel yang terungkap, yaitu rata-rata jumlah alel per lokus, frekuensi alel, *Polymorphism Information Content* (PIC), heterosigositas harapan (*He*) dan pengamatan (*Ho*), serta analisis hubungan kekerabatan antar subpopulasi (Finkelday 2005). Hubungan kekerabatan dianalisis menggunakan program NTSYSpc (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Sistem*) versi 2.02 (Rohlf 1998).

Frekuensi alel setiap lokus mikrosatelit dan heterosigositas harapan dihitung berdasarkan rumus Nei (1987):

$$X_i = (2n_{ii} + \sum n_{ij}) / (2N)$$

$$He = 2N (1 - \sum X_i^2) / (2N - 1)$$

Keterangan : $j \neq i$

X_i = frekuensi alel ke- i

n_{ij} = jumlah individu genotip A_iA_j

n_{ii} = jumlah individu genotip A_iA_i

N = jumlah sampel

PIC/*Polymorphisme Information Content* (Bostein et al. 1980; CIMMYT 2004), dengan

persamaan :

$$PIC = 1 - (\sum X_i^2)$$

Keterangan :

$\sum X_i$ = $\sum$ frekuensi alel Lokus ke- i

PIC = Prosentase informasi polimorfisme suatu lokus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Polimorfisme Alel

Setiap pita hasil amplifikasi DNA mikrosatelit yang diseparasi pada agar poliakrilamid merupakan satu alel tertentu. Penentuan ukuran dan jumlah alel yang muncul didasarkan asumsi bahwa semua pita DNA memiliki laju yang sama dan homolog. Polimorfisme alel merupakan variasi gen pada satu lokus. Polimorfisme dan ukuran relatif alel pada tiga lokus yang diteliti diproyeksikan pada gambar 1, 2, 3 dan 4.

Mikrosatelit merupakan penanda yang efektif untuk deteksi ploidi (Bruvo et al. 2004). Pada penelitian ini berhasil ditemukan tiga pita alel oleh lokus Tg-AAG10 (Gambar 4) pada nomor aksesori 31 dan 32, yaitu pohon jati “plus” dari Ngawi nomor klon J32 dan J37. Tiga pita alel menunjukkan individu pohon tersebut bersifat poliploidi dengan tingkat ploidi minimal tiga (triploid). Asumsi ini sesuai dengan pernyataan Sharma & Mukhopadhyay (1963) bahwa jati merupakan spesies tetraploid. Khosla & Sareen (1980) bahkan menyatakan bahwa jati merupakan spesies heksaploid berdasarkan pengamatan sitologi dan susunan kromosomnya. Tingkat ploidi jati “plus” di Jawa dapat dipastikan melalui studi lanjutan kariotipe seperti penelitian yang dilakukan Sharma & Mukhopadhyay (1963).

Tingkat ploidi berhubungan dengan ciri morfologi, distribusi geografis dan kondisi lingkungan sebagai tempat tumbuh tanaman. Poliploidi tanaman dapat ditentukan oleh keasaman tanah. Sifat diploid disebabkan karena daerah tempat tumbuh bersifat asam, sedangkan sifat tetraploid karena lingkungan bersifat basa (Sengbuch 2004). Jati poliploid dalam penelitian ini diduga berasal dari pohon induk yang berasal dari daerah tanah dengan pH basa. Secara alami morfologi tanaman poliploid lebih besar dan kekar dari tanaman diploid, seperti permukaan daun lebih luas, organ bunga lebih besar, batang lebih tebal dan tanaman lebih tinggi. Oleh karena itu sifat ploidi dapat menjadi salah satu karakter kualitas jati yang penting diperhatikan dalam pemuliaan jati. Meskipun demikian pada individu triploid biji bersifat

Tabel 1. Jenis Primer mikrosatelit jati yang digunakan

No	Primer	Urutan Basa (5'–3')	Ann (°C)
1	Tg-AC 28	F:ACGGCTATCAGACCAGCAGA	57
		R: ATGCATGGCATGTTCTACCC	
2	Tg-ATC02	R: TAGCATTTGCTGCAAGCTGT	55
		F:TCAAAGCTTGGCTACCACCA	
3	Tg-AAG10	R:GCCGAATTGGGACGACTTTA	55
		F:GTGCACCAAGTCCGAGCAAT	

steril dibandingkan pada individu diploid ataupun tetraploid (Crowder 1986).

2. Analisis Keanekaragaman Genetika

Parameter keanekaragaman genetika inter populasi antara lain: rata-rata jumlah alel per lokus, frekuensi alel, PIC, H_e (heterosigositas harapan) dan H_o (heterosigositas observasi), serta analisis *cluster* antar subpopulasi (Finkelday 2005).

a. Rata-rata alel, frekuensi alel dan PIC

Total alel dari 3 lokus mikrosatelit pada 48 pohon jati “plus” populasi Jawa, sebanyak 18 alel dengan rata-rata 6 alel setiap lokus (Tabel 2). Pada setiap lokus mikrosatelit ditemukan lebih dari satu alel. Hal ini menunjukkan bahwa lokus yang digunakan bersifat polimorfik. Lokus Tg-AAG10 menghasilkan jumlah alel tertinggi. Jumlah alel pada lokus ini lebih tinggi dari hasil penelitian keanekaragaman genetika pada 90 sampel pohon jati di Sulawesi Tenggara. Pada lokus yang sama (Tg-AAG10 dan Tg-ATC02) ditemukan masing-masing 4 alel, serta diperoleh rata-rata alel sebesar 3.7 pada tiga lokus yang sama (Boer 2007).

Hasil penelitian lain, 80 sampel pohon jati yang berasal dari Sulawesi Selatan menunjukkan bahwa lokus Tg-ATC02 memiliki 4 alel (Munarti 2005). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat polimorfisme jati Jawa lebih tinggi dari jati Sulawesi. Jati Jawa memiliki sebaran alami (Wepf 1954). Asumsi ini sesuai dengan pendapat Kartadikara & Prat (1995) bahwa Indonesia merupakan daerah asal jati dan salah satu “*center of diversity*” jati. Nilai polimorfisme jati di Jawa lebih tinggi dari Sulawesi sehingga kemungkinan Jawa dengan daerah hutan jati terbesar dan potensial di Indonesia, merupakan pusat diversitas jati. Namun analisis ini masih memerlukan studi lanjutan

dengan menambah beberapa sampel aksesori jati dari beberapa daerah di Indonesia

Nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) memiliki arti bahwa suatu lokus bersifat kurang informatif pada nilai (<0.30), cukup informatif ($0.3–0.59$), dan memiliki informatif tinggi (>0.60) (Mateescu et al. 2005). Pada penelitian ini rata-rata nilai PIC 0.56 (Tabel 2). Dengan demikian dapat diartikan bahwa 3 penanda yang digunakan bersifat cukup informatif dalam mengungkap polimorfisme jati di Jawa.

b. Heterosigositas

Keanekaragaman genetika juga dapat ditunjukkan dari nilai H_o dan H_e (Tabel 3). Rata-rata nilai heterosigositas pengamatan (H_o) dari 3 pasang primer yang digunakan adalah 0.44. Hasil ini dapat berarti bahwa individu jati yang bergenotipe heterozigot pada 3 lokus mikrosatelit sebanyak 44% dari seluruh individu yang dianalisis. Keanekaragaman genetika dari rata-rata nilai H_e (0.56) dalam penelitian ini lebih besar dibandingkan hasil penelitian Kartadikara & Prat (1995) pada provenan jati dari Indonesia, India, Thailand, dan Afrika yang menggunakan penanda isoenzim sebesar 0.37. Perbedaan nilai ini disebabkan perbedaan penanda genetika yang digunakan. Mikrosatelit memberikan rata-rata nilai polimorfisme yang tinggi (0.56) pada penelitian ini.

c. Hubungan kekerabatan

Analisis hubungan kekerabatan 48 pohon jati “plus” asal Jawa menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Grouping Method with Arithmetic Averaging*) menghasilkan dendrogram dengan koefisien kemiripan antara 0.46–1.00 (Gambar 5). Semakin besar nilai koefisien kemiripan, maka semakin dekat hubungan kekerabatan

Tabel 2. Rata-rata alel per lokus, frekuensi alel dan PIC dari 48 sampel jati “plus”

Lokus/ Primer Mi-krosatelit	Ukuran relatif (bp)	Jumlah alel	PIC	Alel	Frekuensi alel
Tg-AAG10	190–230	9	0.802	A, B, C, D, E, F, G, H, I	0.03–0.63
Tg-ATC02	215–250	6	0.540	A, B, C, D, E, F	0.03–0.80
Tg-AC 28	200–222	3	0.328	A, B, C	0.05–0.33
Total alel		18	1.670		
Rata-rata alel/ lokus		6	0.557		

Tabel 3. Nilai heterosisitas pengamatan (H_o) dan harapan (H_e) pada setiap lokus

No	Lokus/primer	H_o	H_e
1	Tg-AAG10	0.52	0.81
2	Tg-ATC02	0.50	0.55
3	Tg-AC 28	0.31	0.33
Rata-rata		0.44	0.56

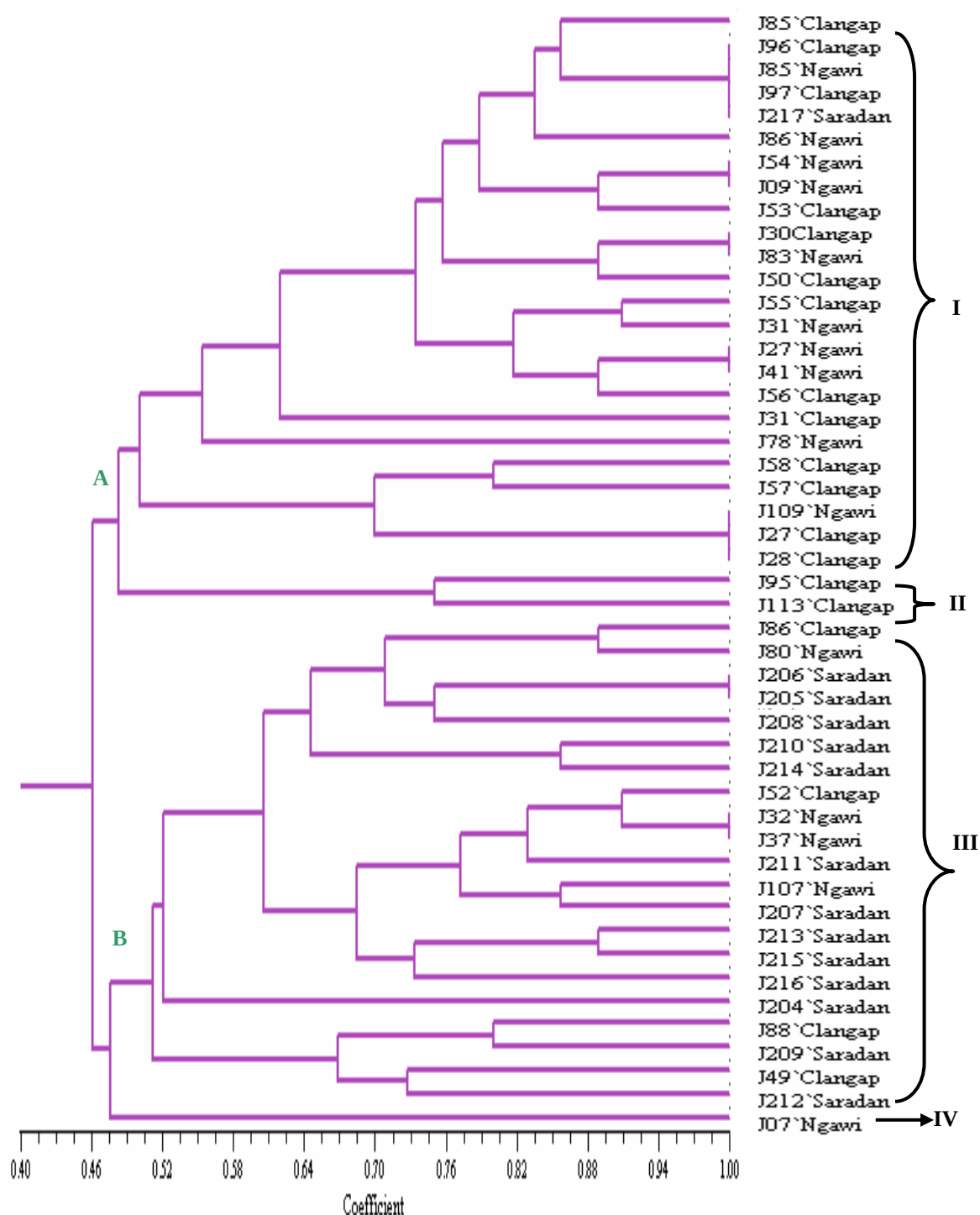
hanya pada 3 lokus. Mikrosatelit tersebar di dalam genom tanaman (Solihin 2000), sehingga diperlukan analisis lanjut menggunakan jumlah lokus mikrosatelit yang lebih banyak guna meningkatkan ketelitian pengamatan hubungan kekerabatan antar individu jati “plus” koleksi Perhutani. Secara umum pada dendrogram dengan koefisien 0.46 terbentuk dua kelompok besar (A dan B). Terbentuknya dua kelompok A dan B dibedakan oleh munculnya alel F (lokus Tg-AAG10) yang hanya ditemukan pada kelompok B. Hal ini berarti alel F merupakan ciri pada kelompok B.

Pada koefisien kemiripan 0.48 terdapat empat kelompok (I, II, III dan IV). Kelompok I dan III merupakan campuran individu jati dari subpopulasi yang berbeda. Kelompok II hanya beranggotakan dua individu jati dari KBK Clangap (J95 dan J113), dan kelompok IV hanya beranggotakan satu individu jati dari KBK Ngawi (J07). Kelompok ini terbentuk karena pada kelompok II selalu ditemukan alel A (lokus Tg-AAG10) dan pada kelompok IV ditemukan alel C (lokus Tg-AC28) sebagai genotipe homozigot spesifik. Dengan demikian dapat diartikan bahwa alel A

(lokus Tg-AAG10) merupakan ciri jati “plus” pada kelompok II. Alel C (lokus Tg-AC28) dalam genotipe homozigot merupakan ciri jati “plus” pada kelompok IV. Pohon plus dari kebun benih pada umumnya berasal dari bahan genetika tanaman dari berbagai populasi yang memiliki karakter unggul (Mulyadiana 2010). Hal ini diduga merupakan sebab pengelompokan jati tidak spesifik lokasi, karena sampel pohon diambil dari kebun benih. Akan tetapi informasi kekerabatan dapat digunakan dalam upaya pemuliaan variasi genetika melalui sistem penanaman (Mulyadiana 2010). Sistem penanaman dilakukan dengan melihat hubungan kekerabatan dari pohon plus, apabila anakan berasal dari populasi yang berdekatan maka penanamannya dilakukan sangat berjauhan. Langkah ini bertujuan untuk meningkatkan variasi genetika dalam suatu populasi sehingga akan menghasilkan benih yang berkualitas dan unggul.

3. Genotipe dan *Fingerprinting*

Mikrosatelit bersifat kodominan sehingga genotipe dapat langsung ditentukan berdasarkan variasi alel (Crouch et al. 1998). Profil alel pada



Gambar 5. Dendrogram 48 jati “plus” asal populasi Jawa berdasarkan 3 lokus mikrosatelit.

setiap individu merupakan gambaran genotipnya. Visualisasi satu alel menunjukkan genotipe homozigot dan dua alel atau lebih menunjukkan genotipe heterozigot. Kombinasi alel tersebut merupakan genotipe untuk setiap lokus (Tabel 4).

Genotipe yang terdeteksi seluruhnya ada 32. Lokus Tg-AAG10 mendeteksi variasi genotipe

paling tinggi sebesar 21 dengan 13 genotipe spesifik tanpa alel spesifik. Lokus Tg-ATC02 mendeteksi 7 variasi genotipe dengan 4 genotipe spesifik dan satu alel spesifik, yaitu alel D yang dimiliki sampel 13 dengan kode pohon plus J113 dari Clangap. Lokus Tg-AC28 mendeteksi 4 variasi genotipe dengan 3 genotipe spesifik tanpa alel

Tabel 4. Genotipe 48 jati “plus” menggunakan tiga lokus mikrosatelit

No	Kode Jati Plus	Asal		Tg-ATC02		Tg-AAG10		Tg-AC28
1	J 85	Clangap	B	Homosigot	*EH	Heteresigot	B	Homosigot
2	J 86	Clangap	B	Homosigot	F	Homosigot	AB	Heterosigot
3	J 88	Clangap	AB	Heterosigot	*D	Homosigot	AB	Heterosigot
4	J 95	Clangap	BE	Heterosigot	A	Homosigot	B	Homosigot
5	J 96	Clangap	B	Homosigot	E	Homosigot	B	Homosigot
6	J 58	Clangap	BF	Heterosigot	*C	Homosigot	AB	Heterosigot
7	J 55	Clangap	B	Homosigot	CE	Heterosigot	AB	Heterosigot
8	J 54	Ngawi	B	Homosigot	E	Homosigot	AB	Heterosigot
9	J 09	Ngawi	B	Homosigot	E	Homosigot	AB	Heterosigot
10	J 31	Ngawi	AB	Heterosigot	CE	Heterosigot	AB	Heterosigot
11	J 85	Ngawi	B	Homosigot	E	Homosigot	B	Homosigot
12	J 78	Ngawi	*C	Homosigot	E	Homosigot	B	Homosigot
13	J 27	Ngawi	B	Homosigot	CE	Heterosigot	B	Homosigot
14	J 109	Ngawi	B	Homosigot	BI	Heterosigot	AB	Heterosigot
15	J 07	Ngawi	AB	Heterosigot	FH	Heterosigot	*C	Homosigot
16	J 86	Ngawi	B	Homosigot	*AE	Heterosigot	B	Homosigot
17	J 80	Ngawi	B	Homosigot	*CF	Heterosigot	AB	Heterosigot
18	J 41	Ngawi	B	Homosigot	CE	Heterosigot	B	Homosigot
19	J 113	Clangap	^BD	Heterosigot	A	Homosigot	B	Homosigot
20	J 27	Clangap	B	Homosigot	BI	Heterosigot	AB	Heterosigot
21	J 28	Clangap	B	Homosigot	BI	Heterosigot	AB	Heterosigot
22	J 30	Clangap	AB	Heterosigot	E	Homosigot	B	Homosigot
23	J 31	Clangap	AB	Heterosigot	E	Homosigot	*A	Homosigot
24	J 49	Clangap	AB	Heterosigot	*AH	Heterosigot	AB	Heterosigot
25	J 50	Clangap	AB	Heterosigot	E	Homosigot	*BC	Heterosigot
26	J 52	Clangap	AB	Heterosigot	FI	Heterosigot	B	Homosigot
27	J 53	Clangap	BF	Heterosigot	E	Homosigot	AB	Heterosigot
28	J 56	Clangap	*E	Homosigot	CE	Heterosigot	B	Homosigot
29	J 57	Clangap	BF	Heterosigot	*B	Homosigot	AB	Heterosigot
30	J 97	Clangap	B	Homosigot	E	Homosigot	B	Homosigot
31	J 32	Ngawi	AB	Heterosigot	DFI	Heterosigot	B	Homosigot
32	J 37	Ngawi	AB	Heterosigot	DFI	Heterosigot	B	Homosigot
33	J 83	Ngawi	AB	Heterosigot	E	Homosigot	B	Homosigot
34	J 107	Ngawi	A	Homosigot	F	Homosigot	B	Homosigot
35	J 206	Saradan	BE	Heterosigot	F	Homosigot	B	Homosigot
36	J 204	Saradan	*AE	Heterosigot	*EF	Heterosigot	B	Homosigot
37	J 205	Saradan	BE	Heterosigot	F	Homosigot	B	Homosigot
38	J 208	Saradan	B	Homosigot	FH	Heterosigot	B	Homosigot
39	J 207	Saradan	AB	Heterosigot	F	Homosigot	B	Homosigot
40	J 209	Saradan	AB	Heterosigot	*DG	Heterosigot	B	Homosigot
41	J 210	Saradan	B	Homosigot	*G	Homosigot	B	Homosigot
42	J 211	Saradan	A	Homosigot	FI	Heterosigot	B	Homosigot
43	J 212	Saradan	AB	Heterosigot	*GH	Heterosigot	B	Homosigot
44	J 213	Saradan	BC	Heterosigot	FI	Heterosigot	B	Homosigot
45	J 214	Saradan	B	Homosigot	*FG	Heterosigot	B	Homosigot
46	J 215	Saradan	B	Homosigot	FI	Heterosigot	B	Homosigot
47	J 216	Saradan	BC	Heterosigot	*DF	Heterosigot	B	Homosigot
48	J 217	Saradan	B	Homosigot	E	Homosigot	B	Homosigot

Keterangan : * = Genotype spesifik; ^ = Genotipe dengan alel spesifik

Tabel 5. Alel dan Genotipe spesifik (*fingerprinting*) dari 48 jati "plus" Perhutani

No	Nama lokus	Kode dan asal jati	Genotipe	Ukuran relatif (bp)	
1.	Tg ATC 02	J78 Ngawi	C	230	
		J113 Clangap	BD	225	235
		J56 Clangap	E	240	
		J204 Saradan	AE	215	240
2.	Tg AAG10	J85 Clangap	EH	210	225
		J88 Clangap	D	206	
		J58 Clangap	C	200	
		J86 Ngawi	AE	190	210
		J80 Ngawi	CF	200	215
		J49 Clangap	AH	190	225
		J57 Clangap	B	195	
		J204 Saradan	EF	210	215
		J209 Saradan	DG	206	220
		J210 Saradan	G		220
		J212 Saradan	GH	220	225
		J214 Saradan	FG	215	220
		J216 Saradan	DF	206	215
3.	Tg AC28	J07 Ngawi	C	222	
		J31 Clangap	A	200	
		J50 Clangap	BC	200	222

spesifik. Lokus merupakan kedudukan alel dalam kromosom (Crowder 1986). Alel homozigot/heterozigot dari satu pasang gen menempati lokus yang sama pada pasangan kromosom homolognya (identik). Oleh karena itu adanya alel-alel spesifik yang ditemukan pada tiap lokus diduga individu pohon jati tersebut mempunyai sifat fenotipe khas karena penanda molekular sering berada di dekat gen (Muladno 2002).

Pola larik pita dalam bentuk susunan genotipe merupakan metode yang tepat dalam menjelaskan sidik jari DNA secara individual. Alel dan genotipe (Tabel 5) merupakan gambaran dari kombinasi alel spesifik yang dimiliki individu pada lokus tertentu (Goh et al. 2007). Analisis menggunakan tiga lokus mikrosatelit mendeteksi 20 individu jati "plus" dari 3 KBK (Clangap, Ngawi dan Saradan) memiliki susunan alel/genotipe spesifik. Jumlah alel dan susunan genotipe spesifik akan lebih akurat dengan analisis lokus yang lebih banyak (Courtois 2002). Hal ini karena sekuens

mikrosatelit tersebar di dalam genom tanaman (Solihin 2000) dan sering terletak di dalam *intron* (Muladno 2002), sehingga alel spesifik dapat dijadikan penanda karakter tanaman khususnya pada jati "plus".

Pada lokus Tg-AAG10 banyak ditemukan genotipe spesifik, dari 48 jati "plus" yang dianalisa dideteksi 13 individu jati spesifik. Oleh karena itu diharapkan lokus ini dapat menjadi penanda identifikasi pohon jati "plus" secara luas. Pada lokus Tg-ATC02 ditemukan satu alel spesifik dan empat genotipe spesifik dari empat individu jati. Alel spesifik dengan ukuran relatif 235bp hanya ditemukan pada individu jati J113 dari KBK Clangap. Pada individu jati "plus" ini dimungkinkan terdapat pula ciri morfologi yang spesifik.

Pada lokus Tg-AC28 paling sedikit ditemukan genotipe spesifik, yaitu tiga individu jati "plus" dari Ngawi dan Clangap tanpa alel spesifik. Dengan demikian tiga lokus mikrosatelit yang digunakan dapat mendeteksi individu secara spe-

sifik sebagai data sidik jari jati di Jawa. Identifikasi *fingerprint* digunakan sebagai data informasi dalam kebutuhan seleksi di masa mendatang dan pengembangan kualitas unggul material jati (Goh et al. 2007).

SIMPULAN

Jumlah rata-rata alel ditemukan cukup tinggi (6 alel per lokus) dan tertinggi pada lokus Tg-AAG10 (9 alel). Rata-rata nilai PIC 0.56 per lokus, berarti setiap lokus bersifat cukup informatif. Nilai PIC tertinggi pada lokus Tg-AAG10 yaitu 0.80 yang memiliki makna sangat informatif dalam mengungkap polimorfisme. Nilai heterosigositas harapan sebesar 0.56 tergolong besar. Kemiripan berkisar antara 0.46–1.00 atau terdapat keanekaragaman 0–0.54%. Semua parameter di atas didapatkan nilai yang cukup besar sehingga keanekaragaman genetika jati di Jawa disimpulkan cukup tinggi.

Genotipe yang terdeteksi seluruhnya ada 32, 20 di antaranya genotipe spesifik dan 1 alel spesifik. DNA *fingerprint* dalam bentuk alel dan genotipe spesifik dapat dideteksi oleh ketiga lokus, sehingga semua lokus yang digunakan dalam penelitian ini dapat dijadikan sebagai sidik jari jati “plus” di Jawa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Penelitian dan Pengembangan Hutan Perhutani wilayah Cepu atas fasilitas dan izin Penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Noor Aini Habibah, S.Si, M.Si, dan Mun Isyatul Millah, S.Si atas kerjasama dan masukan yang membangun.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1992. *Manual Kehutanan*. Departemen Kehutanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Anonim. 2006. *Manual Seleksi Pohon Plus*. Sumedang: Balai Perbenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura. Departemen Kehutanan.
- Boer D. 2007. Keragaman dan Struktur Genetik Populasi Jati Sulawesi Tenggara Berdasarkan Marka Mikrosatelit. [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Bostein D, White RL, Skolnick K & Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314–331.
- Bruvo R, Michiels NK, D'souza TG & Schulenberg. 2004. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Mol. Ecol* 13: 2101–2106.
- [CIMMYT]. 2004. Laboratory Handbook: Protocol for maize genotyping using SSR markers and Data Analysis. Metro Manila: AMBIONET Service Laboratory. p15.
- Courtois B. 2002. *Microsatellite markers*. Cirad-Biotrap.
- Creste S, Neto AT, Vencovsky R, Silva SO & Figueira A. 2004. Genetic diversity of *Musa* diploid and triploid accessions from the Brazilian banana breeding program estimated by microsatellite markers. *Gen. Res. Crop. Evol.* 51: 723–733.
- Crouch JH, Crouch HK, Tenkouano A & Ortis RR. 1998. VNTR-based diversity analysis of 2x and 4x full-sib *Musa* hybrids. *EJB Elec. J. Biotech.* 2(3): 1–8.
- Crowder LV. 1986. *Genetika Tumbuhan*. Terjemahan Kusdiarti Lilik, 1986. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Doyle JJ & Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin.* 19(1): 11–15.
- Ernawati E, Wahyuningsih S & Yulianty. 2008. Penampilan Fenotipik Tanaman Cabai Merah Keriting Hasil Induksi Poliplodisasi Dengan Ekstrak Umbi Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* L). Dalam: *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008* Universitas Lampung, 17–18 November 2008. Hal: 375–381.
- Finkeldey R. 2005. *Pengantar Genetika Hutan Tropis*. Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding. Germany.
- Fovana IJ, Lidah YJ, Diarrassouba SPA, Sangare NA & Verhaegen D. 2008. Genetic structure and conservation of teak (*Tectona grandis*) plantations in Cote d'Ivoire Revealed by Site Specific Recombinase (SSR). *Journal Tropical Conservation Science* 1(3): 279–292.
- Goh D, Chaix G, Bailleres H & Monteuiis O. 2007. Mass production and quality control of teak clones for tropical plantations: *Bois Et Forêts Des Tropiques* 293 (3): 65–77.
- Kaemmer D, Fisher D, Jarret JL, Baurens FC, Grapin A, Dambier D, Noyer JL, Lanaud C, Kahl G & Lagoda PJJ. 1997. Molecular breeding in the genus *Musa*: a strong case

- for STMS marker technology. *Euphytica* 96: 49–63.
- Kartadikara WS & Prat D. 1995. Genetic structure and mating system in teak (*Tectona grandis* L.f) provenances. *Journal Silvae Genetics* 44 (2–3): 104–109.
- Khosla PK & Sareen TS. 1980. Cytological characteristics and chromosomal system of forest trees. In : *Advances in Forest Genetics*. Khosla PK (Ed). Pp 117–156.
- Mateescu RG, Zhang Z, Tsai K, Phavaphutanon J, Wurster B, Lust G, Quaas R, Murphy K, Acland GM & Todhunter RJ. 2005. Analysis of allele fidelity, polymorphic information content, and density of microsatellites in a genome-wide screening for Hip *Dysplasia* in a Crossbreed Pedigree. *Journal of Heredity*. 96(7): 847–853.
- Muladno. 2002. *Teknologi Rekayasa Genetika*. Bogor. Pustaka Wirausaha Muda.
- Mulyadiana A. 2010. Keragaman genetik *Shorea laevis* Ridl. Di Kalimantan berdasarkan penanda mikrosatelit. IPB. [Skripsi]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Munarti. 2005. Analisis Keragaman Genetik Jati Asal Sulawesi Selatan Berdasarkan Marker Simple Sequence Repeat (SSR). [Tesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Murray BW. 1996. *The estimasi of genetic distance and population substructure from microsatellite allele frequency data*. Canada. Depart. of Biology, McMaster University.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetic*. New York. Columbia University Press.
- Palupi ER. 2005. Genetik, biotik and physiological factors in seed production of teak (*Tectona grandis* L.f): A case study in clonal seed orchard in East Java. [Disertasi]. Bogor. Bogor Agriculture University.
- Rohlf FJ. 1998. *NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analyses System Version 2.0. User Guide*. Exeter Software Applied Biostatistics Inc. New York.
- Santoso TJ, Utami DW & Septiningsih EM. 2006. Analisis Sidik Jari DNA Plasma Nutfah Kedelai menggunakan Marka SSR. *Jurnal Agro Biogen* 2(1): 1–7.
- Sengbusch P. 2004. Polyploidy. On line at <http://Botani.online.evolution-the.modern.synthesis-polyploidy> [Accessed 5 Juni 2006].
- Sharma AK & Mukhopadhyay. 1963. Cytotaxonomic Investigation with the aid of improved method on the family *Verbenaceae* with special reference to the line of evolution. *Journal Genetics* 58: 358–386.
- Siswamartana S, Rosalina U & Wibowo. 2005. *Seperempat Abad Pemuliaan Jati Perum Perhutani*. Jakarta: Puslitbang Perum Perhutani.
- Solihin DD. 2000. *Application of Microsatellite Marker in Plant Genetic Diversity*. Bogor. Bogor Agriculture University.
- Wepf. 1954. Tanaman Jati di Jawa. *Rimba Indonesia* 3: 400–429.