

Studi Segregasi dan Pewarisan Marka-marka RAPD pada Tanaman Karet Hasil Persilangan PB 260 dengan PN

NOVALINA¹⁾, Aidi Daslin SAGALA²⁾

¹⁾ Fakultas Pertanian Universitas Jambi, ²⁾ Balai Penelitian Karet Sungai Putih
Email: noflina@yahoo.com

ABSTRACT. This research was conducted with the aim to study the pattern of inheritance and segregation of RAPD markers in a rubber clone from PB 260 and PN crosses. Rubber used in this study consisted of two populations from the first generation: population A (PB 260 x PN 7) and population C (PB 260 x PN7111) and each of male and female parental. The results of segregation analysis shows that the majority of RAPD markers segregating in the first generation of plant populations A and C, following the Mendelian inheritance pattern.

Keywords: inheritance, segregation, RAPD markers, rubber

ABSTRAK. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mempelajari pola pewarisan serta segregasi marka-marka RAPD pada tanaman karet hasil persilangan PB 260 dengan PN. Tanaman karet yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas dua populasi turunan pertama yaitu populasi A (PB260 x PN 7) dan populasi C (PB260 x PN7111) serta masing-masing tanaman tetua jantan dan tetua betina. Berdasarkan hasil analisis segregasi dapat diketahui bahwa sebagian besar marka RAPD bersegregasi pada tanaman turunan pertama populasi A dan C, dan diwariskan mengikuti pola pewarisan Mendelian.

Kata Kunci: pewarisan, segregasi, marka RAPD, karet

PENDAHULUAN

Tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang penting di Indonesia hingga saat ini. Sebagai salah satu negara utama penghasil karet alam di dunia, Indonesia terus berupaya untuk meningkatkan produksi dan produktivitas karet agar dapat memenuhi permintaan pasar global yang terus meningkat, juga untuk meningkatkan devisa negara dan kesejahteraan petani karet.

Penggunaan klon unggul yang berproduksi tinggi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan produksi karet. Para pemulia tanaman karet selama ini terus berupaya untuk mendapatkan klon-klon baru yang mempunyai potensi hasil yang tinggi serta mempunyai karakter agronomi lain yang diinginkan.

Proses seleksi dalam pemuliaan karet dilakukan pada populasi turunan pertama hasil suatu persilangan. Tanaman karet yang terpilih pada proses seleksi awal selanjutnya diperbanyak secara vegetatif dan mengikuti rangkaian uji mulai dari uji pendahuluan sampai uji skala besar. Selama ini persilangan antara dua tanaman tetua pada tanaman karet yang sama-

sama berproduksi tinggi selalu menunjukkan keragaman hasil pada tanaman turunannya. Terdapatnya keragaman potensi hasil pada populasi turunan pertama kemungkinan didasari oleh faktor genetik. Besarnya tingkat keragaman pada tanaman turunan hasil suatu persilangan merupakan bahan baku pada proses seleksi.

Pada tanaman tahunan yang menyerbuk bebas seperti tanaman karet kemungkinan gen-gen yang terdapat pada satu individu tanaman mempunyai genotipe yang berbeda-beda. Untuk gen A bersifat homozigot dominan, sedangkan untuk gen B bersifat heterozigot, untuk gen C bersifat homozigot resesif. Sehingga persilangan antara dua tetua yang bersifat seperti demikian akan mempunyai konfigurasi campuran, sebagian akan mempunyai konfigurasi *backcross* dan sebagiannya lagi akan mempunyai konfigurasi F2 (Liu 1998).

Tanaman-tanaman yang bereproduksi secara seksual seperti tanaman karet, gen tunggal akan diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya mengikuti pewarisan sederhana Mendelian. Berdasarkan hukum segregasi Mendelian suatu sifat sederhana pada populasi

backcross atau *testcross* akan mempunyai rasio segregasi fenotipik 1:1, sedangkan pada populasi F2 akan mempunyai rasio fenotipik 3:1 untuk alel-alel yang mempunyai pewarisan dominan (Liu 1998). Marka genetik seperti marka RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) dapat dianggap sebagai sifat dengan pewarisan sederhana. Teknik RAPD saat ini telah banyak digunakan oleh berbagai kalangan peneliti sejak diperkenalkan pertama kali oleh Williams dkk (1990), diantaranya untuk melihat variasi genetik atau hubungan kekerabatan intra atau antar populasi organisme baik hewan maupun tumbuhan serta untuk konstruksi peta pautan genetik tanaman (Nunome dkk 1999; Levi dkk 200; Liu & Mei 2003; Irwansyah 2004). Teknik RAPD mempunyai beberapa keuntungan diantaranya lebih sederhana, cepat dan biaya relatif lebih murah dibanding teknik molekuler lainnya. Selain itu teknik ini hanya membutuhkan DNA dalam jumlah yang sedikit, serta tidak diperlukannya informasi tentang sekuen DNA.

Polimorfisme yang muncul sebagai hasil teknik RAPD menggambarkan adanya variasi pada situs pelekatan primer dan dari perbedaan panjang DNA antara situs pelekatan primer (Liu 1998). Sesuai dengan namanya teknik ini menggunakan primer acak biasanya berukuran 10 basa nukleotida (*dekamer* nukleotida). Pada analisis RAPD, alel yang berbeda pada lokus yang sama pada umumnya dibedakan oleh terdapatnya atau tidak terdapatnya fragmen DNA pada ukuran tertentu. Fenotipe dengan fragmen DNA yang muncul bersifat dominan terhadap fenotipe yang tidak mengandung fragmen DNA tersebut (Liu 1998).

Berdasarkan hal tersebut diatas dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pola pewarisan dan segregasi marka RAPD pada tanaman karet hasil persilangan PB 260 dengan PN, serta untuk menduga genotipe marka RAPD pada tetua betina dan tetua jantan. Data segregasi marka RAPD selanjutnya dapat digunakan dalam mengkonstruksi peta pautan genetik.

METODE PENELITIAN

Bahan Tanaman

Pada penelitian ini digunakan dua populasi tanaman turunan pertama yaitu populasi A: hasil persilangan PB 260 x PN 7111 sebanyak 22 tanaman (1A – 22A), dan populasi C: hasil persilangan PB 260 x PN 7 sebanyak 20

tanaman (1C – 22C). Tanaman tetua dari populasi persilangan tersebut juga digunakan dalam penelitian ini, masing-masing satu tanaman. Tanaman-tanaman tersebut ditanam pada Agustus-September 1998, dengan jarak tanam 2 m x 2 m di Kebun Percobaan Pusat Penelitian Karet Sungai Putih Medan. Penelitian berlangsung pada Januari 2006 sampai April 2007.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan sampel daun dari masing-masing tanaman populasi A dan C, serta tanaman tetuanya. Sampel daun yang digunakan untuk mengekstraksi DNA merupakan daun muda yang berada pada payung daun teratas dan dalam taraf stadia payung daun penuh. Ekstraksi DNA dari daun karet dilakukan menurut metode Nurhaimi dkk 1998 yang merupakan modifikasi dari metode Orozco-Castilo dkk (1994) khususnya pada penambahan antioksidan polivinil polipirolidon dan merkaptoetanol selama melakukan penggerusan contoh dan ke dalam buffer pengekstrak.

Pengukuran Kualitas DNA

Kualitas DNA dilihat dari ukuran dan ketegasan fragmennya melalui elektroforesis. Bila fragmen yang terbentuk utuh maka DNA tersebut berkualitas baik.

Amplifikasi DNA

Analisis RAPD dilakukan merujuk pada prosedur yang dilakukan Williams dkk (1990) dengan sedikit modifikasi. Reaksi PCR dilakukan menggunakan bahan yang disuplai oleh Promega dan RBC (Real Biotech Corporation).

Amplifikasi PCR menggunakan *thermal cycler* Gene Amp PCR 2400 (Perkin Elmer), dengan siklus termal diulang sebanyak 45 kali, diprogram 1 menit pada suhu 94°C (denaturasi), 1 menit pada 37°C (penempelan primer) dan 2 menit pada 72°C (pemanjangan rantai) diikuti dengan pemanjangan rantai akhir selama 4 menit pada 72°C.

DNA hasil amplifikasi ditambahkan dengan 5 µl buffer *loading* 6X (0.25% *bromophenol blue* (b/v) dan 40% sukrosa (b/v), dan dipisahkan dengan cara elektroforesis pada gel agarosa 1.4% selama 70 menit pada voltase 50V, menggunakan buffer TAE 1X (Tris 40 mM, asam asetat glasial 20 mM, EDTA 1 mM pH

8.0). DNA 1 kb *ladder* (Promega atau RBC) digunakan sebagai penanda untuk mengestimasi fragmen hasil amplifikasi. Setelah elektroforesis gel direndam pada larutan *etidium bromida* selama 30 menit dan pada akuades selama 10 menit. Selanjutnya pita DNA divisualisasi dengan UV *transluminator* dan didokumentasi dengan film polaroid 667.

Penapisan dan Pemilihan Primer

Sebanyak 80 primer acak dekamer (Operon Technologies Inc) digunakan dalam analisis RAPD terhadap sampel DNA tanaman tetua untuk mengetahui primer-primer yang menghasilkan pita DNA yang polimorfik antara tanaman tetua jantan dan betina. Dari 80 primer tersebut, sebanyak 36 primer diantaranya telah digunakan sebelumnya pada penelitian karet (Nurhaimi-Haris dkk 1998; Zulkifli 2001). Primer yang dipilih untuk digunakan dalam analisis RAPD selanjutnya pada populasi turunan pertama adalah yang menghasilkan fragmen polimorfik terhadap kedua tanaman tetua tersebut. Terdapat atau tidaknya pita DNA dari masing-masing primer untuk masing-masing tanaman diskor secara manual. Data dijadikan sebagai data biner sebagai peubah diskret, bernilai 1 untuk terdapatnya pita DNA dan bernilai 0 untuk tidak terdapatnya pita DNA yang homolog.

Analisis statistika

Data marka RAPD yang telah dihitung selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji khi kuadrat ($P > 0.05$) untuk mendapatkan rasio segregasinya, dengan *software* SPSS 14.0. Nilai khi kuadrat pengamatan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

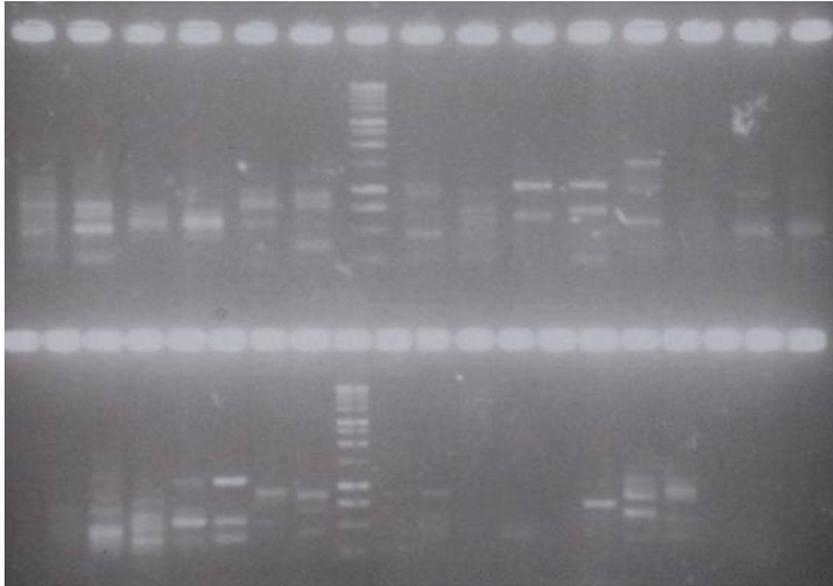
dimana O_i adalah nilai pengamatan fenotipe ke- i dan E_i adalah nilai harapan fenotipe ke- i . Bila χ^2 hitung berada di wilayah dengan peluang lebih besar dari 5% ($P > 0.05$) atau dengan kata lain jika nilai khi kuadrat hitung lebih kecil dari nilai khi kuadrat tabel maka dapat disimpulkan antara pengamatan dan harapan tidak terdapat perbedaan yang nyata dan rasio segregasi uji dapat diterima dan sebaliknya (Jusuf 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis RAPD awal yang dilakukan terhadap tanaman tetua dengan menggunakan 80 primer acak 10-mer dapat diketahui bahwa pada 38 primer menunjukkan polimorfisme antara tanaman tetua betina (PB 260) dan tetua jantan (PN 7111). Dari 80 primer yang ditapis terhadap tetua betina dan tetua jantan, 17 primer (21,2%) tidak menghasilkan produk amplifikasi atau pita yang dihasilkan kurang jelas. Hal yang serupa pernah dilaporkan oleh Grattapaglia dan Sederroff (1994) bahwa sebanyak 50 primer dari 305 primer yang diskining pada tanaman *Eucaliptus* (18,7%) tidak menghasilkan produk amplifikasi. Primer-primer yang pernah digunakan dan dipilih Zulkifli (2001) pada tanaman karet pada umumnya menunjukkan adanya produk amplifikasi. Hasil dari analisis RAPD dengan menggunakan beberapa primer pada tanaman tetua betina (PB260) dan PN 7111 dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari 38 primer yang polimorfik, 25 primer digunakan untuk analisis RAPD selanjutnya pada populasi turunan pertama A dan C. Primer-primer yang diprioritaskan untuk digunakan dalam analisis RAPD pada populasi turunan pertama adalah primer-primer yang menunjukkan terdapatnya pita DNA pada tetua betina tetapi tidak terdapat pita tersebut pada tetua jantan.

Analisis RAPD dengan menggunakan 25 primer acak dekamer terhadap tanaman turunan pertama pada populasi A menghasilkan jumlah fragmen DNA (lokus) yang berkisar antara 2 sampai 6 per primer sehingga secara keseluruhan diperoleh 94 lokus, rata-rata 3.76 lokus per primer terpilih (data tidak disajikan). Ukuran fragmen DNA yang diperoleh berkisar antara 250-2200 bp. Rasio yang serupa juga pernah dilaporkan pada tanaman *Eucaliptus* (3.69 marka/primer terpilih) (Grattapaglia & Sederroff 1994). Dari 94 lokus yang diperoleh terdiri atas 50 lokus polimorf dan adalah 44 lokus monomorf antara PB 260 dan PN 7111. Jumlah lokus total yang diperoleh pada populasi C dengan menggunakan 24 primer sebanyak 91 lokus. Jumlah produk amplifikasi yang diharapkan dengan menggunakan satu primer acak merupakan fungsi dari panjang genom, jumlah nukleotida pada primer dan panjang fragmen maksimum yang dapat diamplifikasi (Liu 1998).



Gambar 1. Hasil analisis RAPD dengan 16 primer 10-mer terhadap PB 260 dan PN 7111

Atas Lajur	1: OPC05 PB260 polimorfik	8 : OPC14 PB 260 polimorfik
	2: OPC05 PN7111	9 : OPC14 PN7111
	3: OPC09 PB260 polimorfik	10: OPC20 PB 260 polimorfik
	4: OPC09 PN7111	11 : OPC20 PN7111
	5: OPC13 PB260 polimorfik	12 : OPD01 PB 260 polimorfik
	6: OPC13 PN7111	13 : OPD01 PN7111
	7: Marker 1kb ladder	14 : OPD03 PB 260 polimorfik
		15 : OPD03 PN7111
Bawah Lajur	1: OPD04 PB260 tidak teramplifikasi	10: OPJ04 PB260 pita kurang jelas
	2: OPD04 PN7111	11: OPJ04 PN7111
	3: OPD05 PB260 polimorfik	12: OPJ11 PB260 pita kurang jelas
	4: OPD05 PN7111	13: OPJ11 PN7111
	5: OPH05 PB260 polimorfik	14: OPJ14 PB260 pita kurang jelas
	6: OPH04 PN7111	15: OPJ14 PN7111
	7: OPH18 PB260 polimorfik	16: OPJ20 PB260 polimorfik
	8: OPH18 PN7111	17: OPJ20 PN7111
	9: Marker 1 kb ladder	18: OPM09 PB260 tidak teramplifikasi
		19: OPM09 PN7111

Hasil analisis segregasi terhadap marka-marka RAPD dengan menggunakan uji khi kuadrat disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2. Marka-marka RAPD yang polimorf antara tetua betina dan tetua jantan dari populasi A yang bersegregasi 1:1 berjumlah sebanyak 30 lokus yang terdiri dari 20 lokus yang muncul pada tetua betina (PB 260) tetapi tidak muncul pada tetua jantan (PN 7111), dan 10 lokus tidak muncul pada PB 260 tetapi muncul pada PN 7111 (Tabel 1). Marka-marka RAPD ini mempunyai konfigurasi *test-cross* pada populasi A.

Marka RAPD merupakan marka yang bersifat dominan, dimana antara individu yang bersifat homozigot dominan tidak dapat dibedakan dengan individu heterozigot, karena kedua

individu tersebut akan sama-sama memberikan hasil pita DNA untuk suatu marka RAPD tertentu. Akan tetapi sifat heterozigot atau homozigot dari marka RAPD dapat diketahui antara tetua betina dan tetua jantan dari suatu populasi dengan menganalisis hasil reaksi RAPD pada populasi turunannya. Menurut Liu (1998) pada marka RAPD, alel yang berbeda pada lokus yang sama dibedakan oleh terdapat atau absennya fragmen DNA pada ukuran tertentu. Fenotipe yang mengandung pita DNA bersifat dominan terhadap fenotipe yang tidak mengandung pita DNA. Marka RAPD yang bersifat heterozigot pada satu tetua dan bersifat homozigot resesif (tidak muncul pita DNA) pada tetua yang lain akan bersegregasi 1:1 pada turunan pertama.

Tabel 1. Marka-marka RAPD yang polimorf antara PB 260 dan PN 7111 yang bersegregasi 1:1 pada Populasi A dan atau Populasi C tanaman karet

No.	Nama Marka	Fenotipe marka			Populasi A		Populasi C	
		PB 260	PN 7111	PN 7	(PB 260 x PN 7111)		(PB 260 x PN 7)	
					ada	tidak ada	ada	tidak ada
1.	A02-1100	ada	tidak	-	10	12 (1:1)	8	12 (1:1)
2.	B07-450	ada	tidak	-	12	10 (1:1)	18	2 (3:1)
3.	C08-800	ada	tidak	-	11	11 (1:1)	9	11 (1:1)
4.	C08-1000	ada	tidak	-	8	14 (1:1)	11	9 (1:1)
5.	C13-2000	ada	tidak	-	10	12 (1:1)	9	11 (1:1)
6.	C19-1200	ada	tidak	-	12	10 (1:1)	9	11 (1:1)
7.	C20-400	ada	tidak	-	10	12 (1:1)	8	12 (1:1)
8.	D01-600	ada	tidak	-	9	13 (1:1)	8	9 (1:1)
9.	D05-400	ada	tidak	-	13	9 (1:1)	-	-
10.	H05-1950	ada	tidak	-	11	11 (1:1)	9	11 (1:1)
11.	M20-1050	ada	tidak	-	9	13 (1:1)	10	10 (1:1)
12.	N15-2000	ada	tidak	-	10	12 (1:1)	11	9 (1:1)
13.	O15-1300	ada	tidak	-	9	13 (1:1)	10	10 (1:1)
14.	O15-1500	ada	tidak	-	10	12 (1:1)	10	10 (1:1)
15.	O20-1300	ada	tidak	-	10	12 (1:1)	10	10 (1:1)
16.	W19-750	ada	tidak	-	9	13 (1:1)	9	11 (1:1)
17.	W19-1100	ada	tidak	-	8	14 (1:1)	15	5 (3:1)
18.	Y09-1200	ada	tidak	-	13	9 (1:1)	16	4 (3:1)
19.	Y19-450	ada	tidak	-	12	10 (1:1)	19	0
20.	Y19-950	ada	tidak	-	13	9 (1:1)	11	8 (1:1)
21.	B07-500	tidak	ada	-	11	11 (1:1)	13	7 (1:1)
22.	C08-650	tidak	ada	-	12	10 (1:1)	0	20 (-)
23.	C20-250	tidak	ada	-	9	13 (1:1)	12	8 (1:1)
24.	D01-2200	tidak	ada	-	7	10 (1:1)	0	20 (-)
25.	H02-700	tidak	ada	-	9	13 (1:1)	0	20 (-)
26.	J20-500	tidak	ada	-	11	11 (1:1)	0	20 (-)
27.	M20-850	tidak	ada	-	12	10 (1:1)	0	20 (-)
28.	O15-800	tidak	ada	-	11	11 (1:1)	10	10 (1:1)
29.	W19-550	tidak	ada	-	11	11 (1:1)	10	10 (1:1)
30.	Y19-650	tidak	ada	-	12	10 (1:1)	19	0
31.	W19-1300	tidak	tidak	-	0	22 (-)	10	10 (1:1)
32.	W19-1700	tidak	tidak	-	0	22 (-)	8	12 (1:1)

Keterangan * rasio 1:1 hasil uji khi kuadrat
rasio 3:1 hasil uji khi kuadrat

Dengan mengadopsi prinsip hukum Mendel, marka RAPD yang monomorf pada tetua betina dan tetua jantan (sama-sama muncul pita DNA untuk lokus yang sama) jika bersegregasi 3:1 pada tanaman turunan pertama dapat diyakini bahwa tetua betina dan tetua jantan sama-sama bersifat heterozigot untuk lokus tersebut. Marka RAPD yang monomorf pada tetua betina dan tetua jantan, jika tidak bersegregasi pada populasi tanaman turunan pertama dapat diyakini bahwa salah satu tetua atau kedua tetua bersifat homozigot dominan untuk marka RAPD tersebut.

Berdasarkan hukum pewarisan Mendel dan konsep yang telah dikemukakan oleh Liu (1998) dapat dinyatakan bahwa pada 20 marka RAPD yang bersegregasi 1:1 pada populasi A untuk yang muncul pada PB 260 tetapi tidak muncul pada PN bersifat heterozigot pada PB 260 dan PN 7111 bersifat homozigot resesif. Sedangkan pada 10 lokus dimana marka-marka RAPD tersebut hanya muncul pada PN 7111 tetapi tidak muncul pada PB 260 dan bersegregasi 1:1 pada tanaman populasi A bersifat heterozigot pada PN 7111 dan bersifat homozigot resesif pada PB 260.

Marka-marka RAPD pada populasi C tidak dapat dibedakan atas lokus polimorf atau monomorf antara tetua betina dan tetua jantan karena data RAPD untuk PN 7 yang merupakan tetua jantan pada populasi C tidak diperoleh. Fragmen DNA yang merupakan produk amplifikasi reaksi PCR-RAPD tidak dihasilkan dengan menggunakan sampel DNA PN 7. Hal ini diduga karena sampel DNA yang digunakan telah rusak.

Walaupun data marka RAPD PN 7 tidak tersedia, pendugaan genotipe tetua jantan dari populasi C dilakukan dengan membandingkan dan mengacu pada hasil analisis segregasi marka-marka RAPD pada populasi A karena kedua populasi tersebut mempunyai tetua betina yang sama (PB 260). Marka RAPD yang bersegregasi 1:1 untuk munculnya fragmen DNA pada PB 260 terdiri dari 19 lokus (Tabel 1 dan Tabel 2). Pada 19 marka RAPD tersebut diyakini bersifat heterozigot pada PB 260 dan diduga bersifat homozigot resesif pada PN 7.

Marka-marka yang sama-sama bersegregasi 1:1 pada populasi A dan C untuk marka-marka yang muncul pada PB 260 berjumlah sebanyak 15 lokus. Beberapa marka yang muncul pada PB 260 dan bersegregasi 1:1 pada populasi A tetapi bersegregasi 3:1 atau tidak bersegregasi pada populasi C yaitu pada marka B07-450, W19-1100, Y09-1200 dan Y19-450s (Tabel 1). Diduga bahwa marka B07-450, W19-1100, Y09-1200 bersifat heterozigot dan marka Y19-450 bersifat homoziot dominan pada tetua jantan populasi C. Marka-marka RAPD yang tidak muncul pada PB 260 tetapi muncul pada PN 7111 dan sama-sama bersegregasi 1:1 pada populasi A dan C terdapat sebanyak 4 marka yaitu marka B07-500, C20-250, O15-800 dan W19-550. Diduga bahwa 4 marka tersebut bersifat heterozigot pada tetua jantan populasi C. Marka-marka C08-650, D01-2200, H02-700, J20-500 dan M20-850 yang tidak muncul pada PB 260 (tetua betina) tetapi muncul pada PN 7111 bersegregasi 1:1 pada populasi A, sedangkan pada populasi C fragmen DNA tersebut tidak teramplifikasi pada semua tanaman populasi C. Diduga bahwa PN 7 bersifat homozigot resesif untuk lima lokus tersebut. Lima marka ini menjadi karakteristik populasi A. Sedangkan 2 marka yaitu W19-1300 dan W19-1700 menjadi penciri populasi C karena hanya muncul pada sebagian populasi C sedangkan pada populasi A fragmen DNA tersebut tidak teramplifikasi pada semua tanaman populasi A.

Lokus-lokus yang sama-sama teramplifikasi (fenotipe sama) pada PB 260 dan PN 7111 tidak dapat dibedakan secara langsung apakah bersifat homozigot atau heterozigot pada kedua tetua tersebut tanpa melihat segregasi marka RAPD tersebut pada tanaman turunan. Berdasarkan hasil penghitungan rasio segregasi pada tanaman populasi A terhadap 41 marka RAPD yang berfenotipe sama pada tetua betina dan tetua jantan dapat diketahui bahwa pada 16 lokus, fragmen DNA teramplifikasi pada semua tanaman populasi A atau dengan kata lain 16 marka RAPD tersebut tidak bersegregasi pada tanaman hasil persilangan PB 260 dan PN 7111 tersebut (Tabel 2). Berdasarkan hasil ini dapat diduga bahwa pada salah satu tetua atau pada kedua tetua bersifat homozigot dominan pada 16 lokus tersebut. Sedangkan pada 25 lokus lainnya bersegregasi dengan rasio 3:1.

Berdasarkan teori pewarisan sederhana Mendelian bahwa persilangan antara dua tetua yang keduanya heterozigot untuk suatu karakter atau marka akan menghasilkan turunan yang mempunyai fenotipe 3:1. Fragmen DNA hasil amplifikasi PCR-RAPD merupakan fenotipe dimana pita DNA yang dihasilkan dapat diamati setelah dielektroforesis. Sehingga dapat diyakini bahwa 25 lokus yang bersegregasi 3:1 pada turunan pertama pada populasi A bersifat heterozigot pada tetua betina dan tetua jantan, serta mempunyai konfigurasi F2 pada populasi A. Marka-marka RAPD yang sama-sama teramplifikasi pada tetua betina dan tetua jantan serta bersegregasi 3:1 pada populasi turunan pertama juga pernah dilaporkan sebelumnya oleh Grattapaglia dan Sederoff pada tanaman *Eucalyptus* (1994).

Proporsi lokus monomorf pada tetua betina dan tetua jantan yang bersegregasi pada tanaman turunan pertama pada populasi A lebih besar (25/41) dibandingkan lokus monomorf yang tidak bersegregasi (16/41). Marka RAPD yang tidak bersegregasi pada populasi C terdiri dari 18 lokus. Jumlah lokus yang tidak bersegregasi pada populasi C lebih banyak dibandingkan dengan tanaman populasi A.

Hasil analisis segregasi marka RAPD ini menunjukkan terdapatnya heterozigositas yang tinggi pada populasi tanaman karet yang diuji. Terdapatnya heterozigositas yang tinggi mengindikasikan bahwa terdapat cukup peluang untuk mendapatkan tanaman-tanaman turunan pertama yang beragam dari suatu persilangan

antara dua tetua. Hal ini kemungkinan disebabkan karena tetua betina dan tetua jantan yang digunakan berasal dari introduksi yang berbeda. PB 260 merupakan klon unggul yang

berasal dari tanaman karet introduksi Wickham, sedangkan PN 7111 sebagai tetua jantan dari populasi A berasal dari introduksi 1981.

Tabel 2. Marka-marka RAPD yang teramplifikasi pada PB 260 dan PN 7111 yang bersegregasi 3:1 atau tidak bersegregasi pada Populasi A dan bersegregasi 3:1 atau 1:1 atau tidak bersegregasi pada Populasi C tanaman karet

No.	Nama Marka	Fenotipe marka			Populasi A		Populasi C	
		PB 260	PN 7111	PN 7	(PB260 x PN 7111) ada : tidak ada	(PB260 x PN 7) ada : tidak ada		
1.	A02-500	ada	ada	-	22 : 0	18 : 2 (3:1)		
2.	B07-800	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
3.	B07-1800	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
4.	C13-750	ada	ada	-	20 : 2 (3:1)	20 : 0		
5.	C13-950	ada	ada	-	22 : 0	16 : 4 (3:1)		
6.	C13-1300	ada	ada	-	22 : 0	14 : 6 (3:1)		
7.	C19-500	ada	ada	-	18 : 4 (3:1)	20 : 0		
8.	C19-750	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	20 : 0		
9.	C19-950	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	20 : 0		
10.	C20-1100	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
11.	D01-350	ada	ada	-	13 : 4 (3:1)	7 : 10 (1:1)		
12.	D01-1000	ada	ada	-	16 : 1	15 : 2 (3:1)		
13.	D01-1500	ada	ada	-	13 : 4 (3:1)	10 : 7 (1:1)		
14.	D05-500	ada	ada	-	22 : 0	- : -		
15.	D18-500	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
16.	D18-950	ada	ada	-	15 : 7 (3:1)	14 : 6 (3:1)		
17.	D20-500	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
18.	H02-250	ada	ada	-	15 : 7 (3:1)	18 : 2 (3:1)		
19.	H02-500	ada	ada	-	15 : 7 (3:1)	15 : 5 (3:1)		
20.	H05-350	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
21.	H05-1100	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
22.	H15-350	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
23.	H15-850	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	15 : 5 (3:1)		
24.	H19-750	ada	ada	-	19 : 3 (3:1)	18 : 2 (3:1)		
25.	H19-1100	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
26.	J13-650	ada	ada	-	17 : 5 (3:1)	14 : 6 (3:1)		
27.	J20-350	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	10 : 10 (1:1)		
28.	J20-600	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
29.	J20-800	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	20 : 0		
30.	M20-300	ada	ada	-	15 : 7 (3:1)	14 : 6 (3:1)		
31.	N15-400	ada	ada	-	18 : 4 (3:1)	10 : 10 (1:1)		
32.	N15-750	ada	ada	-	15 : 7 (3:1)	17 : 3 (3:1)		
33.	N15-1200	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	20 : 0		
34.	N15-1500	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	18 : 2 (3:1)		
35.	O20-350	ada	ada	-	22 : 0	20 : 0		
36.	R13-250	ada	ada	-	22 : 0	17 : 3 (3:1)		
37.	Y09-250	ada	ada	-	20 : 2 (3:1)	17 : 3 (3:1)		
38.	Y09-450	ada	ada	-	18 : 4 (3:1)	15 : 5 (3:1)		
39.	Y09-750	ada	ada	-	15 : 7 (3:1)	15 : 5 (3:1)		
40.	Y19-2000	ada	ada	-	17 : 5 (3:1)	19 : 0		
41.	Abi117.17-400	ada	ada	-	16 : 6 (3:1)	11 : 3 (3:1)		

Keterangan * rasio 1:1 hasil uji khi kuadrat
rasio 3:1 hasil uji khi kuadrat

KESIMPULAN

Sebagian besar marka RAPD yang diuji pada umumnya bersegregasi pada populasi A dan C. Tanaman populasi A bersegregasi 1:1 pada 20 lokus marka RAPD untuk lokus-lokus yang muncul pada PB 260 tetapi tidak muncul pada PN 7111 diduga PB 260 mempunyai genotipe heterozigot dan PN 7111 homozigot resesif untuk lokus-lokus tersebut. Sedangkan pada 10 lokus lainnya yang bersegregasi 1:1 pada populasi A yang tidak muncul pada PB 260 tetapi muncul pada PN 7111 diduga PB 260 bersifat homozigot resesif dan PN 7111 bersifat heterozigot untuk 10 lokus tersebut. Tanaman populasi C mempunyai rasio segregasi 1:1 pada 19 lokus marka RAPD untuk lokus-lokus yang fragmen DNANYA teramplifikasi pada PB 260. Tanaman populasi A dan C sama-sama bersegregasi 1:1 pada 15 lokus.

Marka-marka C08-650, D01-2200, H02-700, J20-500 dan M20-850 merupakan penciri populasi A karena fragmen DNA hanya teramplifikasi pada sebagian tanaman populasi A, tetapi fragmen DNA tersebut tidak teramplifikasi pada semua tanaman populasi C. Sedangkan 2 marka yaitu W19-1300 dan W19-1700 menjadi penciri populasi C karena hanya muncul pada sebagian populasi C sedangkan pada populasi A fragmen DNA tersebut tidak teramplifikasi pada semua tanaman populasi A.

Lokus-lokus yang sama-sama teramplifikasi pada tetua betina dan tetua jantan sebagian besar bersegregasi 3:1 pada tanaman sedangkan sebagiannya lagi tidak bersegregasi. Tanaman populasi A dan C tidak bersegregasi pada 11 lokus yang monomorf antara PB 260 dan PN 7111. Proporsi lokus marka RAPD yang berfenotipe sama pada PB 260 dan PN 7111 yang bersegregasi 3:1 pada populasi A dan C lebih besar dibandingkan dengan yang tidak bersegregasi. Dua populasi yang diamati mempunyai tingkat heterozigositas yang tinggi pada marka RAPD.

Marka-marka RAPD yang diamati mempunyai genotipe yang berbeda antar marka yang berbeda dan menghasilkan konfigurasi yang berbeda, sebagian mempunyai konfigurasi *backcross* (*test-cross*) dan sebagiannya lagi mempunyai konfigurasi F2.

DAFTAR PUSTAKA

- Grattapaglia D, Sederoff R.** 1994. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using pseudo-test-cross:mapping strategy and RAPD markers. *Genetics*. 137:1121-1137.
- Irwansyah E.** 2004. Peta pautan genetik marka RAPD dan analisis QTL kelapa sawit menggunakan populasi silang balik generasi pertama menuju perbaikan kualitas minyak [disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Jusuf M.** 2001. *Genetika I : Struktur dan Ekspresi Gen*. Jakarta : Sagung Seto. p40-41.
- Levi A dkk.** 2001. A genetic linkage map for watermelon based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Amer Soc Hort Sci*. 126(6): 730-737.
- Liu BH.** 1998. *Statistical Genomics : Linkage, Mapping and QTL Analysis*. Washington: CRC Pr.
- Liu C, Mei M.** 2003. Construction of a lychee genetic linkage map based on RAPD markers. [abstrak]. XXVI International Horticultural Congress: Biotechnology in Horticultural Crop Improvement; Achievements, Opportunities and Limitations.
- Nunome T, Yoshida T, Hirai M.** 1999. Construction of AFLP and RAPD-based linkage map of eggplant. [abstrak]. Plant & Animal Genome VII Conference. January 17-21, 1999. San Diego.
- Nurhaimi-Haris, Woelan S, Darussamin A.** 1998. RAPD analysis of genetic variability in plant rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) clones. *Menara Perkebunan*. 66(1): 9-19.
- Orozco-Castilo, Chalmers KJ, Waugh R, Powell W.** 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87:934-940.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalsky JA, Tingey SV.** 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res* 18:6531-6535.

Zulkifli L. 2001. Analisis pembeda klon karet tahan dan rentan penyakit gugur daun *Coryneospora* serta analisis keragaman

genetik dengan AFLP dan RAPD [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.