

VARIASI GENETIK BEBERAPA SPESIES KAPAS (*Gossypium* sp.) BERDASARKAN KERAGAMAN POLA PITA ISOZIM

E. SULISTYOWATI¹⁾, SULISTYOWATI²⁾, S. RUSTINI¹⁾, S. SUMARTINI¹⁾, dan ABDURRAKHMAN¹⁾

- 1) **Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat Malang**
2) **Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta**

(Terima tgl. 15 - 1 - 2009 - Terbit tgl. 8 - 4 - 2009)

ABSTRAK

Deskripsi aksesi-aksesi kapas berdasarkan karakter morfologinya telah disusun berdasarkan descriptor list yang disusun oleh IBPGR, akan tetapi marka genetik dari aksesi-aksesi tersebut belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari keragaman pola-pita isozim Peroksidase (PER), Esterase (EST), dan Aspartate amino transferase (AAT) pada 19 aksesi kapas dan kemiripan ke-19 aksesi kapas berdasarkan ketiga isozim tersebut. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari 2008 di Rumah Kaca Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta dan analisis isozim dilakukan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, PAU Ilmu Hayat IPB. Metode analisis yang digunakan adalah elektroforesis gel pati tipe horizontal dengan tiga sistem enzim, yaitu enzim peroksidase (PER), esterase (EST), dan aspartate amino transferase (AAT). Penelitian menghasilkan data berupa pola pita isozim yang selanjutnya dibuat dalam data biner. Data biner yang dihasilkan dibuat dalam persamaan matrik dan dilanjutkan analisis gerombol dengan metode 'UPGMA' (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) menggunakan fungsi SHAN pada Program NTSYSpc versi 2.02. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Isozim esterase dapat dijadikan marka genetik bagi Kanesia 1 (terbentuk satu pita spesifik) dan Kanesia 6 (satu pita spesifik); isozim peroksidase dapat dijadikan marka genetik bagi Kanesia 3 (dua pita pada kutub positif), aksesi-aksesi *G. barbadense* (dalam hal ini CTX-3 dan Giza-90 dua pita pada kutub positif) dan *G. arboreum* (empat pita pada kutub positif dan satu pita pada kutub negatif). Sedangkan isozim aspartat amino transferase dapat dijadikan marka genetik bagi spesies *G. herbaceum* (dua pita spesifik). Selain itu, terdapat kemiripan genetik antar aksesi kapas berdasarkan ketiga isozim (EST, PER, dan AAT). Pengelompokan berdasarkan ketiga isozim dari ke-19 aksesi kapas diketahui bahwa pada jarak kemiripan 0,59 atau kemiripan 59% semua aksesi kapas menyatu, yang terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama hanya terdiri aksesi Kanesia 1 saja. Sedangkan Kelompok kedua terdiri atas aksesi-aksesi Kanesia 2, Kanesia 3, Kanesia 6, Kanesia 4, Kanesia 10, Kanesia 7, Kanesia 11, Kanesia 12, M-5, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 15, AKA-5, Kanesia 13, Kanesia 14, CTX-3, Giza-90 dan Kanesia 5.

Kata kunci: *Gossypium* sp., keragaman genetik, pola pita isozim

ABSTRACT

Genetic Diversity of Cotton Species (Gossypium sp.) Based on Variation of Isozyme Banding Pattern

Morphological characters of cotton accessions have been described based on the descriptor list produced by IBPGR, but the genetic markers for those accessions have not yet been known. This research aimed at studying the diversity and similarity among 19 cotton accessions based on isozyme banding patterns of peroxidase (PER), esterase (EST), and aspartate amino transferase (AAT). Research was carried out in February 2008 at the green house of Faculty of Agriculture, Sebelas Maret University, Surakarta and the isozyme was analyzed in Plant Biological Laboratory, Biological Science PAU IPB. Samples were electrophoresed on horizontal type of potato extract gel and stained with three enzyme systems, i.e. peroxidase (PER), esterase (EST), and aspartate amino

transferase (AAT). The isozyme bandings were scored and translated into binary data, which was then used to deduce the similarity among accessions and to draw dendrogram by using 'UPGMA' (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) method from the NTSYSpc software version 2.02. Experimental results showed that isozyme esterase can be used as genetic marker for Kanesia 1 (one specific band) and Kanesia 6 (one specific band). Isozyme peroxidase can be used as genetic marker for Kanesia 3 (two bands at positive end), accessions *G. barbadense* i.e. CTX-3 and Giza-90 (two bands at positive end) and *G. arboreum* (four bands at positive end and one band at negative). Isozyme aspartate amino transferase can be used as genetic marker for spesies *G. herbaceum* (two specific bands). Moreover, the similarity analysis among 19 cotton accessions based on the three isozymes showed that at the similarity level of 59%, all accessions are divided in two groups. The first group consisted of Kanesia 1 only. Whereas the second group consisted of accessions Kanesia 2, Kanesia 3, Kanesia 6, Kanesia 4, Kanesia 10, Kanesia 7, Kanesia 11, Kanesia 12, M-5, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 15, AKA-5, Kanesia 13, Kanesia 14, CTX-3, Giza-90, and Kanesia 5.

Key words: *Gossypium* sp., genetic diversity, isozyme banding pattern

PENDAHULUAN

Kapas merupakan salah satu bahan baku dalam industri dan produk tekstil yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Balittas) Malang memiliki koleksi plasma nutfah kapas yang berjumlah 662 aksesi yang terdiri dari 642 aksesi *G. hirsutum*, 14 aksesi *G. barbadense*, 3 aksesi *G. arboreum*, dan 3 aksesi *G. herbaceum*. Di antara koleksi plasma nutfah tersebut, 15 aksesi merupakan varietas unggul nasional seri Kanesia (Kapas Nasional Indonesia) hasil program perbaikan varietas kapas yang telah dilepas untuk digunakan dalam program pengembangan kapas nasional. Salah satu cara untuk melindungi kelestarian kapas dan memelihara keragaman genetiknya adalah dengan pengelolaan plasma nutfah yang baik sehingga dapat dicegah kehilangan plasma nutfah yang potensial untuk pemuliaan tanaman di masa depan (SUMARTINI, 2002). Selain penyimpanan benih, pengelolaan plasma nutfah kapas tetapi juga mencakup kegiatan monitoring, regenerasi, evaluasi, dan pemanfaatannya untuk pemuliaan tanaman (SUMARTINI, 2002). Data base dari aksesi-aksesi tersebut telah disusun menggunakan penanda morfologi sesuai *descriptor list* yang berlaku secara internasional yang disusun oleh International

Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). Akan tetapi pendekatan ini mempunyai keterbatasan karena penampilan fenotipik atau morfologi merupakan interaksi faktor genetik dan lingkungan (RIESBERG dan ELLSTRAND, 1993).

Salah satu upaya untuk mengembangkan marka genetik bagi aksesori-aksesori dalam koleksi plasma nutfah adalah dengan cara mengembangkan marka genetik secara biokimia menggunakan penanda protein (analisis isozim dengan elektroforesis protein) ataupun DNA. Isoenzim adalah kelompok enzim yang terdiri dari molekul-molekul aktif yang memiliki struktur kimia yang berbeda tetapi mengkatalisis reaksi kimia yang sama. Enzim-enzim tersebut diproduksi berdasarkan kode-kode yang dikontrol oleh gen-gen yang sama pada lokus yang berbeda atau lokus yang sama, ataupun oleh gen-gen yang berbeda (FAROOQ *et al.*, 1999). Isoenzim merupakan produk langsung dari gen dan relatif bebas dari pengaruh langsung lingkungan, sehingga dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari dan mengidentifikasi keragaman individu atau suatu kultivar (ROUF, 2007). Beberapa keuntungan dari penggunaan protein sebagai marka yaitu dapat menganalisis sampel dengan cepat, bahan kimia yang digunakan relatif lebih sedikit, tekniknya lebih mudah, beberapa lokus dapat diseleksi dan dapat digunakan sebagai data dasar untuk beberapa spesies (WIGATI, 2003). Selain itu, karakteristik marka isoenzim antara lain adalah marka tersebut (1) merupakan produk dari alel-alel yang berbeda dan bergerak pada posisi yang berbeda dalam gel, (2) memiliki sifat kodominan dan bebas dari epistasis sehingga dapat dipakai untuk membedakan antara individu homozigot dan heterozigot, (3) berpeluang untuk mengestimasi jumlah gen yang mengkode produksi enzim tersebut berdasarkan pola pita yang terbentuk (PASTEUR *et al.*, 1988; BRAR, 1992). Dalam penelitian digunakan tiga enzim yaitu *Peroksidase* (PER), *Esterase* (EST), dan *Aspartate amino transferase* (AAT) yang juga telah digunakan untuk mengidentifikasi keragaman genetik pada spesies jeruk (KING *et al.*, 1996), cabe (BERMAWIE, 1997), pisang (YUNIASTUTI *et al.*, 1997), nanas (ARADYA *et al.*, 1994; MANJUNATHA *et al.*, 2003), padi (IQBAL dan FAROOQ, 2001).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari keragaman pola-pita isozim *Peroksidase* (PER), *Esterase* (EST), dan *Aspartate amino transferase* (AAT) pada 19 aksesori kapas dan menganalisis kemiripan aksesori-aksesori tersebut berdasarkan ketiga isozim yang telah ditentukan tersebut di atas.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari - Agustus 2008 di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta dan analisis isozim

dilakukan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, Institut Pertanian Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun tanaman kapas dari 19 aksesori kapas yang terdiri dari empat spesies, yaitu 15 aksesori *G. hirsutum* (Kanesia 1-Kanesia 15), satu aksesori *G. herbaceum* (M-5 atau KI 188), satu aksesori *G. arboreum* (AKA-5 atau KI 412), dan dua aksesori *G. barbadense* yaitu CTX-3 yang *male sterile* (KI 489) dan Giza 90 (KI 711). Bahan kimia yang digunakan adalah pati, buffer pengeksrak, buffer gel, buffer elektroda, pewarna peroksidase, esterase, dan aspartate amino transferase. Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat elektroforesis model horizontal, power supply, microwave, lemari es atau ruang pendingin, alat pemotong gel, nampan tempat pewarnaan.

Sampel daun kapas sebanyak 100-200 mg yang berumur dua minggu setelah tanam, dihaluskan dalam mortar yang telah diberi pasir kuarsa, dengan menambahkan 0,5 ml buffer pengeksrak (10 mM L- asam askorbat; 40 mM L-sistein; 20% Trion-X-100; 0,25 g PVP-40 (Polyvinyl polypyrrolidone); dan 0,1 M Na₂HPO₄·H₂O pH 7,0). Selanjutnya cairan sel daun yang telah hancur diserap dengan kertas berukuran 0,4 x 0,5 cm² dan digunakan sebagai sampel yang akan dielektroforesis dengan cara menyisipkan pada gel yang telah dilubangi. Gel yang digunakan dibuat dari gel tepung pati kentang dengan konsentrasi 12% dalam buffer gel (5mM L-Histidin monohidrat, pH 6,0). Selanjutnya gel yang telah disisipi kertas saring yang telah mengandung cairan sel daun dari semua sampel yang diuji, dimasukkan ke dalam tray yang telah berisi buffer elektroda (50 mM asam sitrat monohidrat, 150 mM tris hidroksimetil aminometan, pH 6,0). Elektroforesis dilakukan dalam dua tahap; tahap awal dilakukan selama 30 menit pada 100 volt, dan selanjutnya pada 150 atau 200 volt selama 3-4 jam. Bromofenol biru diberikan pada salah satu sisi gel sebagai penanda dan untuk mengontrol jarak migrasi protein. Setelah proses elektroforesis berakhir, kertas saring dikeluarkan terlebih dahulu dari lubang-lubangnya dan kemudian gel dibelah menjadi tiga pada posisi horizontal menggunakan alat pemotong. Lembaran gel diletakkan dalam tiga nampan terpisah, dan diperlakukan dengan pewarna substrat untuk isozim-isozim *peroksidase* (100 ml 50 mM Natrium asetat pH 5,0, 50 mg CaCl₂, 0,5 ml H₂O₂ 3%, 50 mg 3-Amino-9 etilkarbasol, 5 ml Aseton, dan 5 ml -Dimethylformamid), esterase (100 ml Sodium fosfat pH 7,0, 150 mg -Naftil asetat, 50 mg 2-Naftil asetat, 5 ml Aseton, dan 100 mg Fast Blue RR Salt), dan aspartate amino transferase (1ml Fast Blue BB Salt 50 mg, 292 mg a- Ketoglutaric acid, 1,07 g L- aspartic acid, 4,00 mg PVP-40, 400 mg Na₂EDTA, dan 11,36 g Sodium phosphate, dibasic). Lama pewarnaan adalah 2 jam, selanjutnya gel dicuci dengan air mengalir sampai pita-pita yang diharapkan muncul dan dilakukan fiksasi menggunakan 50% gliserol : 50% etanol atau

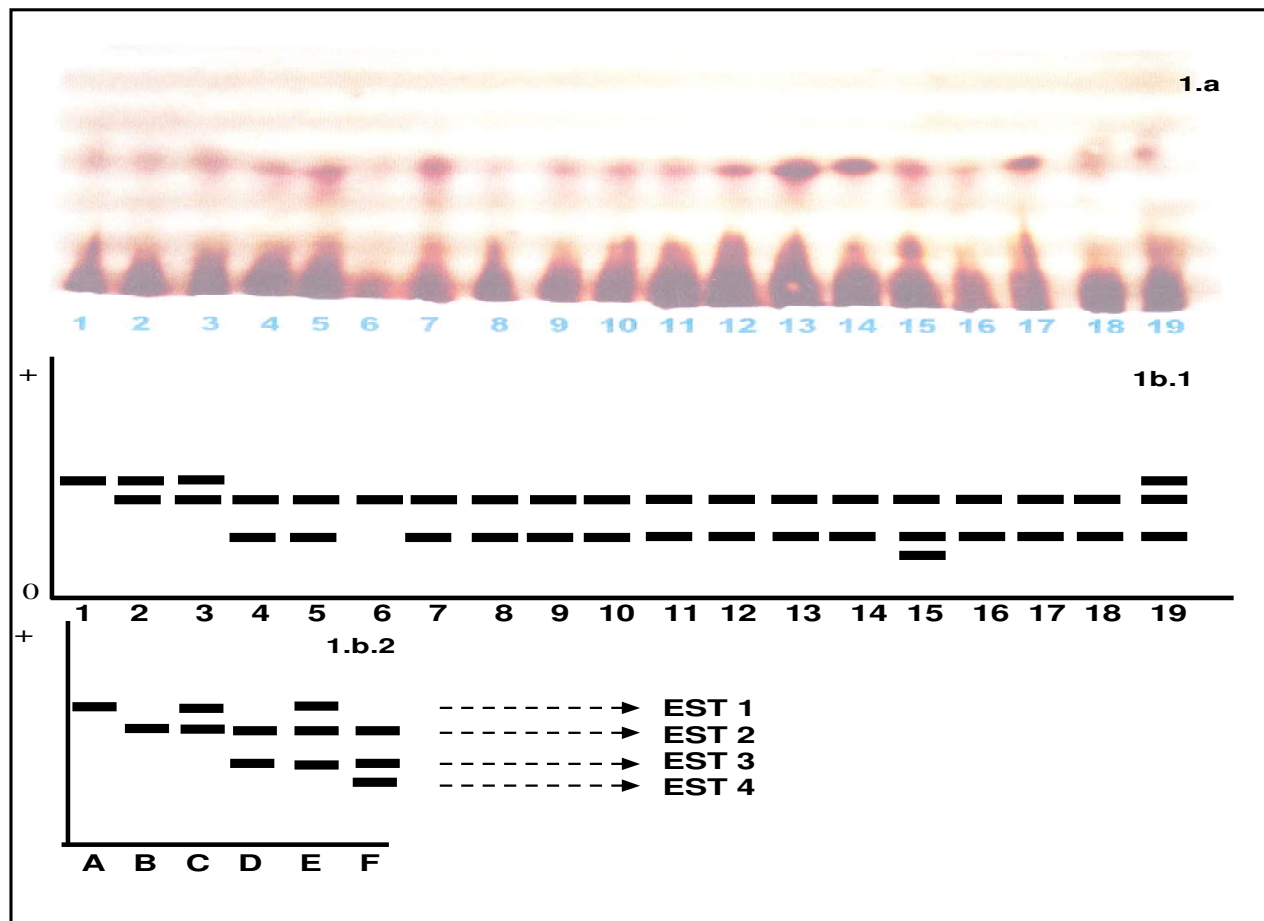
dengan etanol : akuades : asam asetat : gliserol = 5 : 4 : 2 : 1 dan dilakukan pemotretan.

Hasil pembentukan pita-pita protein diskor dengan angka 1 jika pada lokus tersebut terdapat pita, dan angka 0 apabila tidak terdapat pita pada jarak tertentu, dan selanjutnya disusun data biner. Berdasarkan data biner maka dilakukan penghitungan koefisien DICE untuk mengetahui nilai kemiripan genetik menurut rumus (NEI dan LI, 1979), yaitu: $D_{ij} = \frac{2n_{ij}}{n_i + n_j}$, dimana D_{ij} adalah koefisien kemiripan genetik antar individu i dan j , n_{ij} = jumlah pita yang sama posisinya pada individu i dan j ; n_i dan n_j masing-masing adalah jumlah pita pada individu i dan j . Pembuatan dendrogram/cluster dilakukan melalui fungsi SHAN (*Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis*) dengan metode 'UPGMA' (*Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average*) pada program NTSYSpc versi 2.02 (ROHLF, 1997).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Marka Protein dan Kemiripan 19 Aksesi Kapas berdasarkan Isozim Esterase

Isozim esterase lebih banyak didapati pada tanaman herba dibanding di tanaman berkayu (SURANTO, 2001), sehingga isozim ini berguna untuk menilai keragaman genetik suatu populasi tanaman. Pada isozim esterase (EST), jumlah pita yang muncul bervariasi dari satu sampai tiga pita pada empat posisi (EST1 - EST4), dan terdapat variasi pola-pita seperti yang terlihat pada Gambar 1a yang diinterpretasikan dalam diagram pada Gambar 1.b.1. Secara umum dari Gambar 1.b.1. dapat disimpulkan bahwa analisis menggunakan isozim esterase menghasilkan enam pola pita (tipe A-F) sebagaimana disajikan dalam Gambar 1.b.2. Pola pita A terdiri dari 1 pita (Gambar 1.b.2) dibentuk pada aksesi Kanesia 1 saja. Untuk pola pita B



Gambar 1. Foto gel (1.a) dan interpretasi pola pita esterase (1.b.1), serta tipe pola pita esterase (1.b.2) pada 19 aksesi kapas
 Figure 1. Gel Photograph (1.a) and interpretation of esterase banding pattern (1.b.1), and types of esterase banding pattern (1.b.2) of 19 cotton accessions
 Keterangan : 1. Kanesia 1; 2. Kanesia 2, 3. Kanesia 3; 4. Kanesia 4; 5. Kanesia 5; 6. Kanesia 6; 7. Kanesia 7; 8. Kanesia 8; 9. Kanesia 9; 10. Kanesia 10, 11. Kanesia 11; 12. Kanesia 12; 13. Kanesia 13; 14. Kanesia 14; 15. Kanesia 15; 16. M-5; 17. AKA-5; 18. CTX-3; 19. Giza 90

Notes :

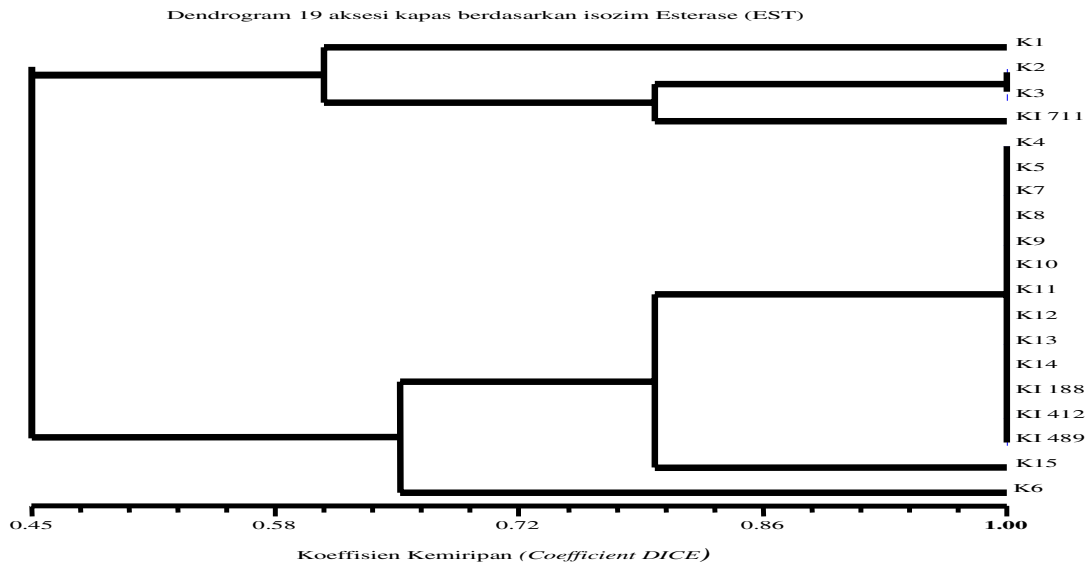
yang juga hanya terdiri 1 pita terbentuk pada Kanesia 6 saja dan posisi pitanya berbeda dengan pada Kanesia 1. Dengan demikian isozim esterase ini merupakan penanda genetik spesifik untuk kedua aksesori tersebut. Pola pita C yang terdiri dari 2 pita ditemui pada aksesori Kanesia 2 dan Kanesia 3. Pola pita D juga terdiri dari 2 pita ditemui pada aksesori-aksesori Kanesia 4, Kanesia 5, Kanesia 7, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 10, Kanesia 11, Kanesia 12, Kanesia 13, Kanesia 14, M-5, AKA-5, dan CTX-3. Pola pita E dan F terdiri dari 3 pita, meskipun tata diagram ke dua pola tersebut berbeda. Pola pita E dibentuk pada aksesori Giza-90, sedangkan pola pita F dibentuk oleh aksesori Kanesia 15. Berdasarkan pola pembentukan pita tersebut di atas, maka dalam analisis isozim esterase ini dihasilkan pita-pita protein dalam empat posisi yang berbeda, yaitu EST1-EST4 yang digunakan untuk menghitung koefisien DICE (Gambar 1.b.2.).

Analisis kemiripan genetik 19 aksesori kapas berdasarkan isozim esterase menghasilkan dendrogram yang disajikan dalam Gambar 2. Kemiripan 100 % berarti sama persis atau sempurna dan sebaliknya 0% berarti berbeda sama sekali (WIDAYAH, 2006). Pada koefisien kemiripan 60%, 19 aksesori yang diuji terbagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama terdiri dari empat aksesori kapas yaitu aksesori-aksesori Kanesia 1, Kanesia 2, Kanesia 3, dan Giza 90. Sedangkan kelompok kedua terdiri dari 15 aksesori kapas, yaitu aksesori Kanesia 4, Kanesia 5, Kanesia 7, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 10, Kanesia 11, Kanesia 12, Kanesia 13, Kanesia 14, M-5, AKA-5, CTX-3, Kanesia 15, dan Kanesia 6.

Jelas sekali dalam dendrogram pada Gambar 2 bahwa pada jarak kemiripan 65%, Kanesia 1 dan Kanesia 6 terpisah sama sekali dari kedua kelompok besar tersebut. Secara keseluruhan, semua aksesori kapas yang dianalisis baru bergabung pada koefisien kemiripan 0,45 atau kemiripan 45%. Kemiripan sifat atau jarak genetik antar aksesori dapat digunakan sebagai indeks seleksi tetua persilangan dan dapat dikembangkan untuk melakukan seleksi kombinasi tetua superior (SAPARNI, 2008). Semakin tinggi kemiripan antar aksesori, semakin rendah pula tingkat keragaman genetik yang dihasilkan. Tingkat keragaman yang tinggi menghasilkan variasi genetik yang tinggi pula dalam program pemuliaan tanaman dengan hibridisasi.

Marka Protein dan Kemiripan 19 Aksesori Kapas berdasarkan Isozim Peroksidase

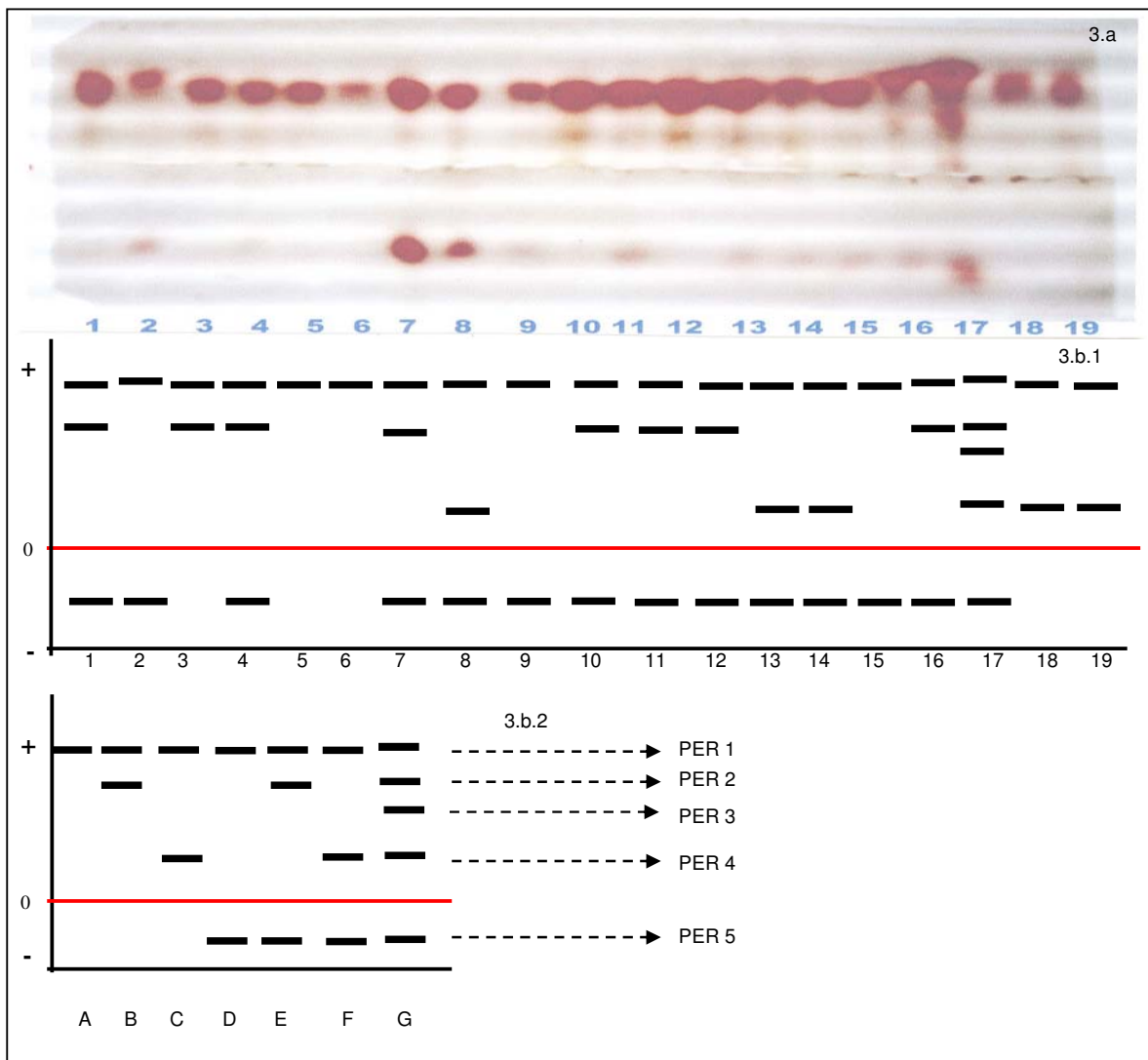
Peroksidase pada tanaman merupakan isoenzim yang berperan dalam pertumbuhan, diferensiasi, dan pertahanan. Aktivitas isoenzim peroksidase mudah dideteksi karena aktivitasnya yang luar biasa pada jaringan (CAHYARINI *et al.*, 2004). Hasil analisis isoenzim peroksidase pada 19 aksesori kapas (Gambar 3.a) menunjukkan bahwa terdapat keragaman dalam tampilan pola pita, dimana keragaman terjadi berdasarkan jumlah maupun pola pitanya.



Gambar 2. Kemiripan genetik 19 aksesori kapas berdasarkan pola pita esterase
Figure 2. Genetic similarity of 19 cotton accessions based on esterase banding patterns

Terdapat lima kelompok pita isozim peroksidase (PER 1 – PER 5), yaitu empat kelompok pita pada kutub positif dan satu kelompok pita pada kutub negatif (Gambar 3.b.2). Selain itu, terdapat tujuh tipe pola pita protein peroksidase (tipe A-G, Gambar 3.b.2). Pola pita A terdiri dari 1 pita ditemui pada aksesori Kanesia 5 dan Kanesia 6. Untuk pola pita B dan C terdiri dari 2 pita, meskipun tata diagram kedua pola tersebut berbeda, namun posisi pitanya sama-sama dijumpai pada kutub positif semua. Pola pita B dibentuk oleh aksesori Kanesia 3 saja, sedangkan pola pita C ditemui pada aksesori CTX-3 dan Giza-90 yang merupakan spesies *G. Barbadense*, sehingga dapat disimpulkan bahwa sifat *male sterile* tidak dipengaruhi oleh esterase. Pola pita D juga terdiri dari 2 pita, dengan posisi pita satu di kutub

positif dan satunya lagi di kutub negatif. Pola pita D ini ditemui pada aksesori-aksesori Kanesia 2, Kanesia 9, dan Kanesia 15. Pola pita E dan F terdiri dari 3 pita, meskipun tata diagram kedua pola tersebut berbeda. Pola pita E dibentuk oleh aksesori Kanesia 1, Kanesia 4, Kanesia 7, Kanesia 10, Kanesia 12 dan M-5, sedangkan pola pita F dibentuk oleh aksesori Kanesia 8, Kanesia 13, dan Kanesia 14. Pola pita G terdiri dari 5 pita, dibentuk oleh aksesori KI 412 atau AKA-5 yang merupakan spesies *G. arboreum*. Dengan demikian berdasarkan analisis isozim PER ini dapat ditunjukkan bahwa terdapat pola pita spesifik yang dihasilkan oleh aksesori-aksesori *G. barbadense* (CTX-3 dan Giza 90), *G. arboreum* (AKA-5), dan Kanesia 3.



Gambar 3. Foto gel (3.a) dan interpretasi pola pita peroksidase (3.b.1), serta tipe pola pita peroksidase (3.b.2) pada 19 aksesori kapas
 Figure 3. Gel photograph (3.a) interpretation of peroxidase banding pattern (3.b.1), and types of peroxidase banding pattern (3.b.2) of 19 cotton accessions
 Keterangan : 1. Kanesia 1; 2. Kanesia 2; 3. Kanesia 3; 4. Kanesia 4; 5. Kanesia 5; 6. Kanesia 6; 7. Kanesia 7; 8. Kanesia 8; 9. Kanesia 9; 10. Kanesia 10, 11. Kanesia 11; 12. Kanesia 12; 13. Kanesia 13; 14. Kanesia 14; 15. Kanesia 15; 16. M-5; 17. AKA-5; 18. CTX-3; 19. Giza 90

Notes :

Pola pembentukan pita tersebut di atas menghasilkan pita-pita protein dalam lima posisi yang berbeda yaitu PER 1 – PER 5 yang digunakan untuk menghitung koefisien DICE (Gambar 3.b.2.). Hasil perhitungan kemiripan genetik berdasarkan isozim peroksidase menunjukkan bahwa tingkat kemiripan genetik diantara 19 aksesi kapas yang diuji berkisar 33 -10%. Hasil analisis gerombol menghasilkan dendrogram pengelompokan aksesi berdasarkan tingkat kemiripan genetik antar 19 aksesi kapas yang diuji (Gambar 4).

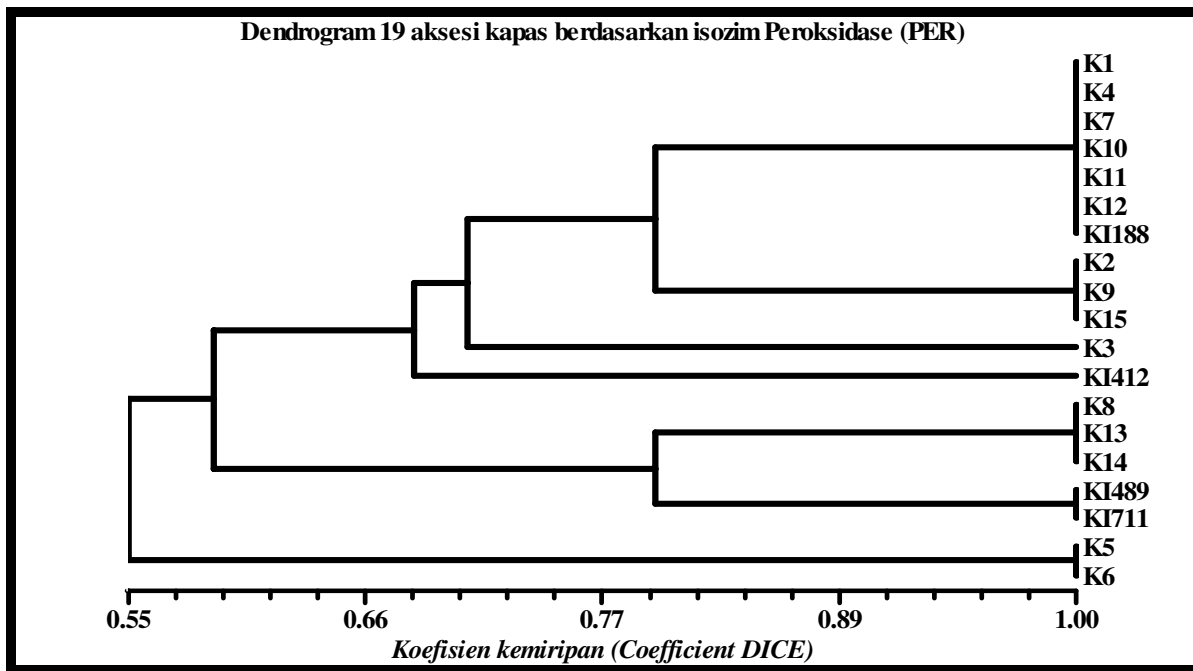
Secara keseluruhan semua aksesi-aksesi kapas yang diujikan bergabung pada koefisien kemiripan 0,55 atau kemiripan 55%. Hal ini berarti semua aksesi kapas mempunyai hubungan kemiripan yang jauh. Selanjutnya pada jarak kemiripan 0,66 atau kemiripan 66%, 19 aksesi kapas yang dianalisis terbagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama terdiri dari 12 aksesi, terbagi ke dalam empat sub kelompok, yaitu a) sub kelompok pertama yang terdiri dari aksesi-aksesi Kanesia 1, Kanesia 4, Kanesia 7, Kanesia 10, Kanesia 11, Kanesia 12, M-5 dengan tingkat kemiripan 100%, b) sub kelompok kedua terdiri dari aksesi-aksesi Kanesia 2, Kanesia 9, dan Kanesia 15 juga dengan tingkat kemiripan 100%, c) sub kelompok ketiga dan keempat masing-masing hanya memiliki satu anggota, meskipun koefisien kemiripan kedua sub kelompok tersebut berbeda dimana sub kelompok ketiga terdiri oleh aksesi Kanesia 3 saja, dan d) sub kelompok keempat oleh aksesi

G. arboreum AKA-5. Kelompok kedua terdiri dari lima aksesi yang terbagi menjadi dua sub kelompok yaitu a) sub kelompok kelima yang terdiri dari aksesi Kanesia 8, Kanesia 13, dan Kanesia 14 dengan kemiripan 100%, dan b) sub kelompok keenam yang terdiri dari aksesi *G. barbadense* CTX-3 dan Giza-90. Kelompok ketiga terdiri dari dua aksesi yaitu Kanesia 5 dan Kanesia 6 dengan tingkat kemiripan 100%.

Marka Protein dan Kemiripan 19 Aksesi Kapas berdasarkan Isozim Aspartate Amino Transferase (AAT)

Analisis menggunakan isozim AAT menunjukkan keragaman pola pita yang berjumlah satu sampai tiga pita seperti yang terlihat pada Gambar 5.a. Terdapat tiga kelompok pita isozim AAT (Gambar 5.b.1) pada kutub positif yaitu AAT 1 – AAT 3 (Gambar 5.b.2) dan empat pola pita AAT (pola A-D, Gambar 5.b.2.).

Pola pita A terdiri dari 1 pita (gambar 5.b.2) ditemui pada aksesi-aksesi Kanesia 1, Kanesia 11, Kanesia 12, Kanesia 13, Kanesia 14, Kanesia 15, AKA-5, CTX-3 dan Giza-90. Pola pita B, yang terdiri dari 2 pita, dibentuk oleh aksesi M-5 saja yang merupakan spesies *G. herbaceum*. Pola pita C juga terdiri dari 2 pita ditemui pada aksesi-aksesi Kanesia 2, Kanesia 3, Kanesia 4, Kanesia 6, Kanesia

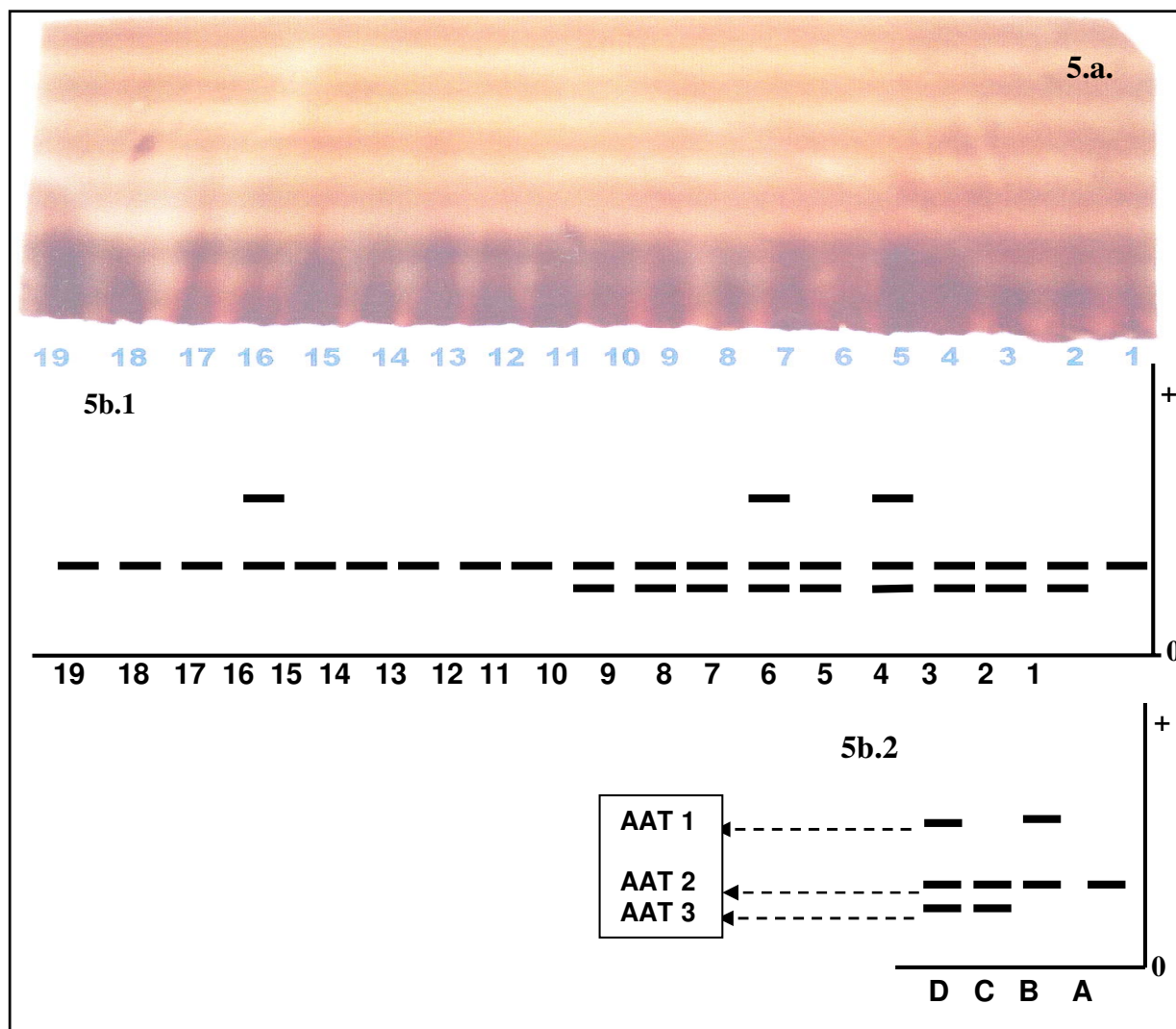


Gambar 4. Kemiripan genetik 19 aksesi kapas berdasarkan pola pita peroksidase.
 Figure 4. Genetic similarity of 19 cotton accessions based on peroxidase banding patterns

8, Kanesia 9, dan Kanesia 10. Pola pita D terdiri dari 3 pita, ditemui pada aksesi-aksesi Kanesia 5 dan Kanesia 7. Dengan demikian pola pita B yang dibentuk oleh isozim AAT pada *G. herbaceum* bersifat spesifik, dalam hal ini khusus untuk aksesi M-5.

Hasil perhitungan kemiripan genetik berdasarkan isozim AAT menunjukkan bahwa derajat kemiripan genetik pada 19 aksesi kapas yang diuji berkisar 0,50-1,00. Selanjutnya data kemiripan antar aksesi digunakan dalam

analisis gerombol untuk mengetahui kekerabatan yang terjadi diantara 19 aksesi yang diuji berdasarkan analisis isozim AAT. Dibandingkan dengan analisis menggunakan isozim esterase dan peroksidase di atas, ternyata pengelompokan yang terjadi di antara 19 aksesi yang diuji berdasarkan analisis isozim AAT lebih sederhana, sebagaimana yang disajikan dalam dendrogram pada Gambar 6.



Gambar 5. Foto gel (5.a) dan interpretasi pola pita aspartat amino transferase (5.b.1), serta tipe pola pita aspartat amino transferase (5.b.2) pada 19 aksesi kapas

Figure 5. Gel photograph (3.a), interpretation of aspartate amino transferase banding pattern (1.b.1) of 19 cotton accessions

Keterangan : 1. Kanesia 1; 2. Kanesia 2, 3. Kanesia 3; 4. Kanesia 4; 5. Kanesia 5; 6. Kanesia 6; 7. Kanesia 7; 8. Kanesia 8; 9. Kanesia 9; 10. Kanesia 10, 11. Kanesia 11; 12. Kanesia 12; 13. Kanesia 13; 14. Kanesia 14; 15. Kanesia 15; 16. M-5; 17. AKA-5; 18. CTX-3; 19. Giza 90

Notes :

Dari Gambar 6 terlihat bahwa pada kemiripan 67%, 19 aksesi kapas yang diuji terbagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama terdiri dari sembilan aksesi kapas yaitu aksesi Kanesia 1, Kanesia 11, Kanesia 12, Kanesia 13, Kanesia 14, Kanesia 15, AKA-5, CTX-3, dan Giza-90. Kelompok kedua hanya terdiri satu aksesi yaitu M-5. Kelompok ketiga terdiri dari sembilan aksesi kapas, yang terbagi menjadi dua sub kelompok, yaitu sub kelompok pertama yang terdiri dari aksesi-aksesi Kanesia 2, Kanesia 3, Kanesia 4, Kanesia 6, Kanesia 8, Kanesia 9, dan Kanesia 10, dan sub kelompok kedua yang terdiri dari aksesi Kanesia 5 dan Kanesia 7. Sub kelompok pertama dan kedua pada kelompok ketiga mempunyai koefisien kemiripan 1,00 atau kemiripan 100%. Secara keseluruhan semua aksesi kapas mengelompok pada jarak kemiripan 0,62 atau kemiripan 62%. Hal ini berarti semua aksesi kapas masih mempunyai hubungan kemiripan yang dekat.

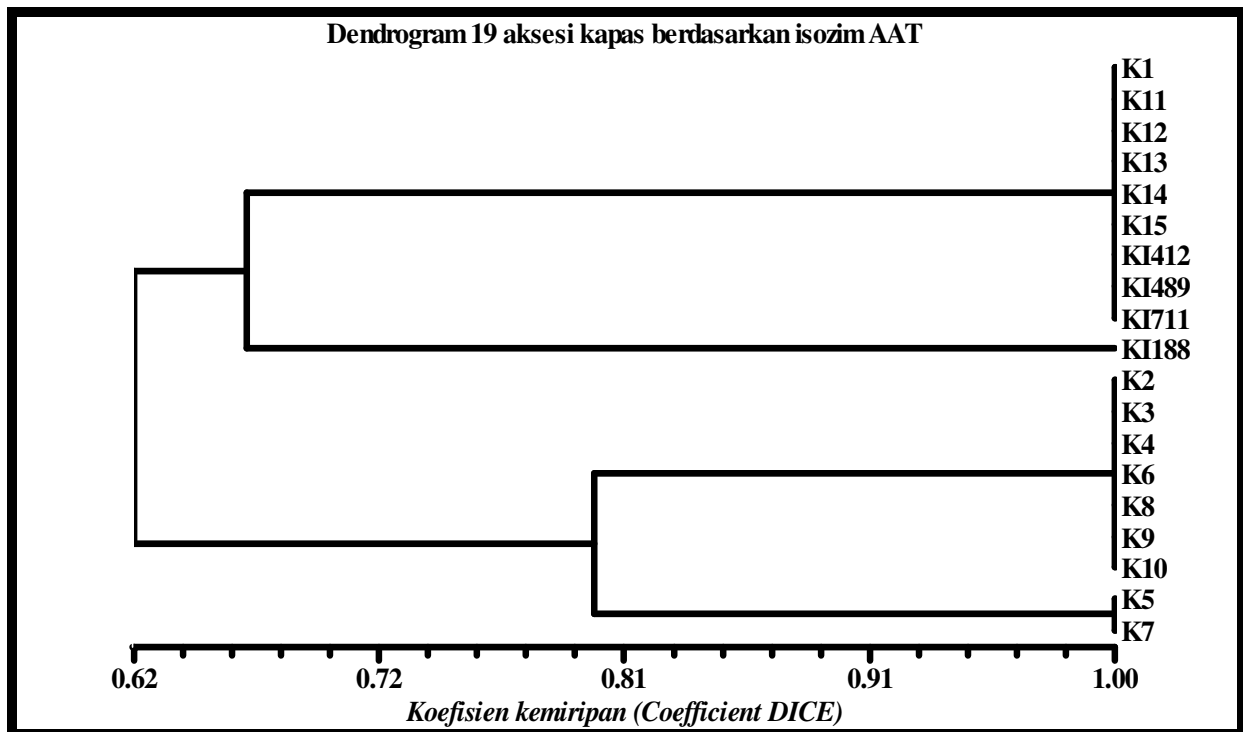
Kemiripan Genetik 19 Aksesi Kapas Berdasarkan Analisis Gabungan Tiga Isozim, (EST, PER, dan AAT)

Tingkat kemiripan genetik dari 19 aksesi kapas yang diuji berkisar antara 0,36-1,00. Nilai terendah (0,36) ditunjukkan oleh pasangan aksesi Kanesia 1 dengan Kanesia 5. Sedangkan nilai tertinggi (tingkat kemiripan

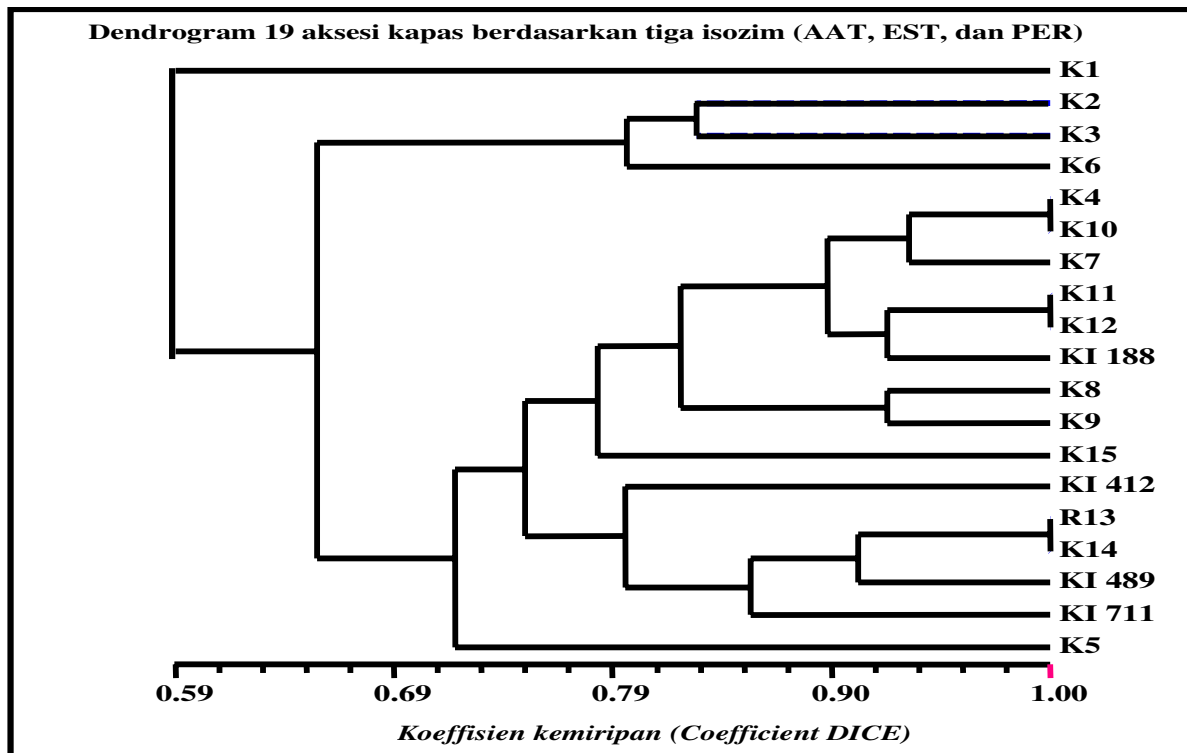
genetik 100%) ditunjukkan oleh pasangan aksesi Kanesia 4 dengan Kanesia 10, Kanesia 11 dengan Kanesia 12, dan Kanesia 13 dengan Kanesia 14. Data tersebut selanjutnya digunakan untuk analisis gerombol dalam rangka untuk mengetahui kekerabatan di antara 19 aksesi yang diuji sebagaimana disajikan dalam Gambar 7.

Berdasarkan hasil dendrogram (Gambar 7) diketahui bahwa pada jarak kemiripan 0,70 atau kemiripan 70%, ke-19 aksesi kapas terbagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama hanya terdiri dari satu aksesi yaitu Kanesia 1 saja. Untuk kelompok kedua terdiri dari tiga aksesi yaitu Kanesia 2, Kanesia 3, dan Kanesia 6. Kelompok ketiga terdiri dari 15 aksesi kapas yaitu aksesi Kanesia 4, Kanesia 10, Kanesia 7, Kanesia 11, Kanesia 12, M-5, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 15, AKA-5, Kanesia 13, Kanesia 14, CTX-3, Giza-90 dan Kanesia 5. Aksesi Kanesia 1 cenderung memisah dari aksesi-aksesi yang lainnya secara morfologi, karena mempunyai tinggi tanaman yang lebih tinggi dari aksesi yang lainnya (Lampiran 1).

Pada jarak kemiripan 59% semua aksesi kapas menyatu dan terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama hanya terdiri atas aksesi Kanesia 1 saja. Kelompok kedua terdiri atas aksesi-aksesi Kanesia 2, Kanesia 3, Kanesia 6, Kanesia 4, Kanesia 10, Kanesia 7, Kanesia 11, Kanesia 12, M-5, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 15, AKA-5, Kanesia 13, Kanesia 14, CTX-3, Giza 90 dan Kanesia 5. Menurut CAHYARINI *et al.* (2004) bahwa jarak kemiripan



Gambar 6. Kemiripan genetik 19 aksesi kapas berdasarkan pola pita aspartat amino transferase
 Figure 6. Genetic similarity of 19 cotton accessions based on aspartate amino transferase banding patterns



Gambar 7. Kemiripan genetik 19 aksesi kapas berdasarkan analisis gabungan pola pita isozym EST, PER, dan AAT
 Figure 7. Genetic similarity of 19 cotton accessions based on combined analysis of banding patterns of EST, PER, and AAT

bisa dikatakan jauh apabila kurang dari 0,6 atau 60%. Sehingga kelompok-kelompok dari 19 aksesi kapas yang terpisah pada jarak kemiripan 0,59 mempunyai hubungan kemiripan yang cukup jauh.

Data molekuler plasma nutfah berguna untuk perencanaan penanaman dan strategi pertukaran tanaman, menghitung jarak genetik koleksi, mengidentifikasi duplikat aksesi, memonitor perubahan struktur genetik, dan menemukan gen baru yang bermanfaat (AGISIMANTO dan SUPRIYANTO, 2007). Aksesi-aksesi yang mempunyai jarak genetik besar antara satu dengan lainnya atau aksesi-aksesi yang mempunyai hubungan kemiripan jauh adalah aksesi-aksesi yang baik digunakan untuk kegiatan pemuliaan. Sebaliknya aksesi-aksesi yang mempunyai jarak genetik kecil antara satu dengan lainnya atau aksesi-aksesi yang mempunyai hubungan kemiripan sangat dekat, maka diantara aksesi-aksesi tersebut dapat dipilih satu saja untuk koleksi plasma nutfah bila sarana dan prasarana sangat terbatas (SUKARTINI, 2007).

KESIMPULAN

Isozim esterase dapat dijadikan marka genetik bagi Kanesia 1 (terbentuk satu pita spesifik) dan Kanesia 6 (satu pita spesifik). Isozim peroksidase dapat dijadikan marka genetik bagi Kanesia 3 (dua pita pada kutub positif), aksesi-aksesi *G. barbadense* dalam hal ini CTX-3 dan Giza-90 (dua pita pada kutub positif), dan *G. arboreum* (empat pita pada kutub positif dan satu pita pada kutub negatif). Sedangkan isozim aspartat amino tranferase dapat dijadikan marka genetik bagi spesies *G. herbaceum* (dua pita spesifik).

Terdapat kemiripan genetik antar aksesi kapas berdasarkan ketiga isozim (EST, PER, dan AAT). Pengelompokan ke-19 aksesi kapas berdasarkan ketiga isozim tersebut diketahui bahwa pada jarak kemiripan 0,59 atau kemiripan 59% semua aksesi kapas menyatu yang terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama hanya terdiri dari aksesi Kanesia 1 saja. Sedangkan Kelompok kedua terdiri atas aksesi-aksesi Kanesia 2, Kanesia 3,

Kanesia 6, Kanesia 4, Kanesia 10, Kanesia 7, Kanesia 11, Kanesia 12, M-5, Kanesia 8, Kanesia 9, Kanesia 15, AKA-5, Kanesia 13, Kanesia 14, CTX-3, Giza-90, dan Kanesia 5.

DAFTAR PUSTAKA

- AGISIMANTO, D. dan A. SUPRIYANTO. 2007. Keragaman genetik pamelon Indonesia berdasarkan Primer Random Amplified Polymorphic DNA. *J. Hortikultura*. 17(1) : 1-7.
- ARADYA, K.M., F. ZEE, and R.M. MANSARDT. 1994. Isozyme variation in cultivated and wild pineapple. *Euphytica*. 79: 87-99.
- BERMAWIE, N. 1997. Pendugaan jarak genetik antar spesies pada tanaman cabe (*Capsicum sp.*) dengan analisis isozim. *Pros. Simposium Nasional dan Kongres III PERIPI*. Bandung, 24-25 September 1997. p. 447-457.
- BRAR, D.S. 1992. Isozyme: Technique and Applications in Rice Improvement. Third Rice Biotechnology Training Course. Manila, 5 October-27 November 1992.
- CAHYARINI, R. D., A. YUNUS, dan E. PURWANTO. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim. *J. Agrosains*. 6 (2) : 96-104.
- FAROOQ, S., N. IQBAL, and A.A. ZAIDI. 1999. Isozyme markers in cotton breeding-I. Standardization of different isozyme systems for the identification of different cultivars of cotton (*Gossypium hirsutum*). *Pakistan Journal of Botany*. 31: 5-20.
- IQBAL, N. and S. FAROOQ. 2001. Inter- and interspecific variations in wild rice species detected through isozyme markers. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 4: 422-424.
- KING, B.J., L.S. LEE, and P.T. SCOTT. 1996. Identification of triploid citrus by isozyme analysis. *Euphytica*. 99: 223-231.
- MANJUNATHA, B.B., S. VIRUPAKSHI, and G.R. NAIK. 2003. Peroxidase isozyme polymorphism in popular sugarcane cultivars. *Current Science* 85: 1347-1349.
- NEI, M. and W. H. LI. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76:5269-5273.
- PASTEUR, N., G. PASTEUR, F. BONHOMME, J. CATALAN, and J. BRITTON-DAVIDIAN. 1988. *Practical Isozyme Genetics*. Ellis Horwood Ltd. England. 212 pp.
- RIESBERG, L.H. and C.N. ELLSTRAND. 1993. What Can Molecular and Morphological Markers Tell Us about Plant Hybridization?. *Plant Science*. 12: 2134-241.
- ROHLF, F. J. 1997. *NTSYSpc : Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Version 2,02. Setauket, Exeter Software. Exeter Publishing Co. Ltd.
- ROUF, A. 2007. Studi Keragaman Genetik Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Di Jawa Tengah. Tesis S2 Program Pasca Sarjana UNS. Surakarta.
- SAPARNI, S. 2008. Identifikasi Sifat Morfologi Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Aksesori Jawa di Kebun Induk Jarak Pagar Pakuwon. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- SUKARTINI. 2007. Pengelompokan aksesori pisang menggunakan karakter morfologi IPGRI. *J. Hortikultura*. 17(1): 26-33.
- SUMARTINI, S. 2002. Pengelolaan plasma nutfah kapas di Indonesia. *Kapas. Monograf*. Balittas, Malang. No. 7. p. 20-31.
- SURANTO. 2001. Studies on *Ranunculus* population: isozymic pattern. *Biodiversitas*. 2: 85-91.
- WIDAYAH, Y. 2006. Keragaman Morfologi Beberapa Famili *Zingiberaceae* (Zingiber, Curcuma, dan Kaempferia) di Beberapa Wilayah Jawa Tengah. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- WIGATI, E. 2003. Variasi Genetik Ikan Anggoli (*Pristipomoides multidens*) Berdasarkan Pola Pita Allozyme. Skripsi S1 Fakultas MIPA UNS. Surakarta.
- YUNIASTUTI, E., R. MEGIA, S. HARRAN, dan A. HARTANA. 1997. Keanekaragaman pola pita isozim beberapa kultivar pisang (*Musa spp.*) Indonesia. *Pros. Simposium Nasional dan Kongres III PERIPI*. Bandung, 24-25 September 1997. p. 458-464.

