

PELACAKAN TETUA POPULASI KELAPA DALAM MAPANGET No.32 (DMT-32) MENGGUNAKAN ANALISIS ALIRAN GEN (*Gene Flow*) BERDASARKAN PENANDA MIKROSATELIT (SSR)

DONATA S PANDIN¹, ALEX HARTANA², HAJRIAL ASWIDINNOOR³, ASEP SETIAWAN³

**1. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain
Jl. Raya Mapanget, Kotak Pos 1004, Manado 95001
2. Program Studi Biologi, Institut Pertanian Bogor
3. Program Studi Agronomi, Institut Pertanian Bogor**

ABSTRAK

Kelapa Dalam Mapanget (DMT) merupakan salah satu kelapa dalam unggul produksi dan kadar minyak serta protein yang baik. Beberapa populasi generasi DMT telah diseleksi selama tahun 1957 – 1979 menghasilkan populasi DMT 32. Penelitian ini bertujuan untuk melacak tetua melalui aliran gen dalam beberapa generasi populasi kelapa DMT-32 hasil penyerbukan campuran polen, pada taraf DNA berdasarkan penanda mikrosatelit (SSR). Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah populasi hasil penyerbukan kelapa DMT-32 generasi kedua (DMT-32 S2), populasi DMT-32 generasi ketiga (DMT-32 S3), dan populasi DMT-32 generasi keempat (DMT-32 S4) berturut-turut sebanyak 9, 40, dan 38 pohon. Analisis hubungan tetua dengan zuriatnya menggunakan program komputer CERVUS ver. 2.0. Jumlah primer SSR yang digunakan sebanyak 19 primer dan 15 di antaranya dapat digunakan untuk melacak tetua dari individu-individu kelapa DMT-32 S3 dan DMT-32 S4. Semua individu DMT-32 S2 menjadi tetua dari individu-individu DMT-32 S3, tetapi tidak semua individu DMT-32 S3 menjadi tetua dari DMT-32 S4. Hasil pelacakan tetua menunjukkan bahwa 2 pohon DMT-32 S3 yang benar-benar hasil penyerbukan hasil zigot polen sendiri dari satu pohon kelapa DMT-32 S2 No.8, dan 1 pohon zuriat dari DMT-32 S2 No.3. Pada DMT-32 S4 ada 2 individu pohon yang benar-benar merupakan hasil penyerbukan zigot polen sendiri pohon DMT-32 S3 No.28, masing-masing 1 pohon zuriat dari DMT-32 S3 No.32 dan DMT-32 S3 No.35. DMT-32 S2 No.1 merupakan tetua dari 8 individu DMT-32 S3, dan lima dari zuriatnya adalah tetua dari 13 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No. 2 adalah tetua dari 9 individu DMT-32 S3 dan empat nomor di antaranya menjadi tetua dari 14 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.3 merupakan tetua dari 11 individu DMT-32 S3 dan enam nomor pohon di antaranya menjadi tetua dari 18 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.4 memiliki 5 zuriat dan dua nomor pohon di antaranya menjadi tetua dari 7 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.5 merupakan tetua dari 10 pohon DMT-32 S3 dan enam nomor pohon di antaranya menjadi tetua dari 24 pohon DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.6 adalah tetua dari 4 zuriat DMT-32 S3 dan hanya satu nomor pohon yang menjadi tetua dari 4 individu pohon DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.7 merupakan tetua dari 10 zuriat pohon DMT-32 S3, lima di antaranya merupakan tetua dari 20 pohon DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.8 memiliki 12 zuriat DMT-32 S3, dan empat di antaranya adalah tetua dari 15 pohon DMT-32 S4. DMT-32 S2 nomor 9 merupakan tetua dari 7 pohon DMT-32 S3, dan empat diantaranya adalah tetua dari 17 pohon DMT-32 S4.

Kata kunci : *Cocos nucifera* L, Mapanget Tall Coconut (DMT 32), mikrosatelit, SSR, pelacakan tetua

ABSTRACT

Parentage analysis of Mapanget Tall Coconut No.32 (DMT-32) population via gene flow based on Microsatellite Markers (SSR)

Mapanget Tall Coconut (DMT) is one of the superior coconut for its production, coconut oil and protein. Several generation of the DMT population has been selected in 1957 – 1979 producing DMT 32 generations. The aim of this research was to analyze the parents of

Mapanget Tall Coconut No.32 (DMT-32) in DNA level via gene flow based on microsatellite markers (SSR). Plant materials used in this research were nine (9) palms of DMT-32 S2, 40 palms of DMT-32 S3 and 38 palms of DMT-32 S4. Relationship between parents and progeny were analyzed by using CERVUS ver. 2.0 computer program. Among 19 SSR primers used, 15 of them can be used in parentage analysis of Mapanget Tall Coconut No.32 of third and fourth generations. All of 9 (nine) palms of DMT-32 S2 are the parents of DMT-32 S3, but some of those palms of DMT-32 S3 are not the parents of DMT-32 S4. The result of parentage analysis showed that two palms of DMT-32 S3 were progeny of selfed DMT-32 S2 No.8, and one palm was progeny of selfed DMT-32 S2 No.3. In DMT-32 S4 there were two palms progeny of DMT-32 S3 No.28 and one palm was progeny of DMT-32 S3 No.32 and DMT-32 S3 No.35 respectively. DMT-32 S2 No.1 had 8 progeny in DMT-32 S3 and five of those were the parents of 13 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No. 2 had 9 progeny in DMT-32 S3 and four of those were the parents of 14 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.3 had 11 progeny in DMT-32 S3 and six of those were the parents of 18 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.4 had 5 progeny in DMT-32 S3 and two of those were the parents of 7 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.5 had 10 progeny in DMT-32 S3 and six of those were the parents of 24 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.6 had 4 progeny in DMT-32 S3 and only one was the parent of 4 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.7 had 10 progeny in DMT-32 S3 and five of those were the parents of 20 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.8 had 12 progeny in DMT-32 S3 and four of those were the parents of 15 individu DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.9 had 7 progeny in DMT-32 S3 and four of those were the parents of 17 individu DMT-32 S4.

Key words : *Cocos nucifera* L, Mapanget Tall Coconut (DMT-32), microsatellite, SSR, parentage analysis

PENDAHULUAN

Kegiatan pemuliaan tanaman kelapa di Indonesia telah dilakukan melalui eksplorasi, seleksi, dan koleksi populasi-populasi kelapa yang berproduksi tinggi di berbagai tempat di Indonesia, dilanjutkan dengan hibridisasi untuk mendapatkan jenis kelapa hibrida sesuai tujuan yang ingin dicapai.

Koleksi Kelapa Dalam Mapanget (DMT) adalah salah satu kelapa dalam unggul yang berproduksi tinggi dengan kadar minyak dan protein yang baik. Selain digunakan sebagai tetua jantan dalam pembuatan kelapa hibrida, pohon-pohon terseleksi kelapa Dalam Mapanget (DMT No 10, No 32, No 55) diserbuki oleh campuran polen dari pohon-pohon tersebut. Buah kelapa dari hasil penyerbukan ini ditanam di Kebun Percobaan Mapanget membentuk populasi DMT generasi pertama (DMT S1)

pada 1957. Populasi DMT S1 ini diseleksi lagi dan individu pohon terseleksi diserbuki oleh campuran polen dari pohon kelapa terseleksi tersebut, dan buah kelapa yang diperoleh ditanam di Kebun Percobaan Kima Atas pada tahun 1969, membentuk populasi generasi kedua DMT (DMT S2). Dengan cara yang sama populasi DMT generasi ketiga (DMT S3), dan DMT generasi keempat (DMT S4) dibuat pada tahun 1979 dan tahun 1993 (NOVARIANTO *et al.*, 1989; NOVARIANTO *et al.*, 1998). Karena polen yang digunakan merupakan campuran polen dari pohon kelapa terseleksi pada setiap generasi sehingga identitas individu tua pohon sebagai jantan dari setiap zuriat generasi tidak diketahui.

Untuk mempelajari kontrol pewarisan suatu karakter pada tanaman, maka diperlukan silsilah yang lengkap dan jelas asal usul persilangannya pada setiap generasi. Suatu karakter yang dikontrol oleh gen, pola pewarisannya akan dapat ditelusuri melalui silsilah hasil persilangan dari beberapa generasi yang jelas polanya, akan tetapi bila pola persilangan tidak jelas maka perlu dicari suatu metode yang bisa menelusuri dengan melihat suatu fenotipe sifat yang merupakan pencerminan genotipenya yang sedikit sekali dipengaruhi oleh lingkungan. Pewarisan genotipe ini yang dicerminkan oleh fenotipenya dari satu generasi ke generasi berikutnya, merupakan pelacakan aliran gen terutama untuk silsilah yang tetuanya tidak jelas.

Terjadinya aliran gen pada populasi perlu memperhatikan (1) antar tanaman yang dipelajari harus serasi secara seksual (*sex compatible*), ketidak serasian akan menyebabkan aliran gen tidak akan terjadi, (2) harus ada karakter yang berasosiasi dengan gen target. Modifikasi harus dapat meningkatkan kemampuan tanaman untuk bertahan (*survive*) dan berkembang biak sehingga gen terseleksi dapat bertahan dari generasi ke generasi (DOEBLEY, 1990).

Penyerbukan sendiri atau penyerbukan oleh polen tanaman itu sendiri, walaupun berupa campuran polen dari pohon terpilih, pada tanaman yang bersifat menyerbuk terbuka dapat mengakibatkan terjadinya penghanyutan gen. Penghanyutan genetik dan migrasi adalah proses netral dan mempengaruhi frekuensi gen pada populasi alami dan terjadi pada seluruh genom. Sedangkan rekombinasi dan seleksi menginduksi terjadinya perubahan genetika pada lokus target (CAVALLI SFORZA & BODMER, 1971).

Dengan berkembangnya teknologi penanda DNA, pelacakan tua dan aliran gen dalam plasma nutfah kelapa pada taraf DNA dapat dilakukan. Penanda DNA menawarkan alternatif analisis yang lebih baik terutama untuk mengkaraktisasi suatu populasi tanaman, karena mampu menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah yang banyak, konsisten, dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

Teknologi molekular seperti penanda DNA memiliki potensi besar untuk digunakan dalam program pemuliaan kelapa, mengingat kelapa merupakan tanaman tahunan yang memerlukan waktu lama dari satu generasi ke generasi berikutnya dalam program pemuliaan.

Berbagai teknik penanda DNA telah digunakan dalam analisis keragaman genetik kelapa seperti RAPD, RFLP (LEBRUN *et al.*, 1998) dan AFLP (PERERA *et al.*, 1998), SSR (TEULAT *et al.*, 2000; MASKROMO, 2005), dan beberapa sifat QTL (HERRAN *et al.*, 2000; LEBRUN *et al.*, 2001).

Penanda DNA ruas berulang, terutama DNA ruas berulang sederhana (*Simple Sequence Repeats, SSR*) adalah suatu penanda DNA yang berkemampuan untuk digunakan dalam menganalisis keragaman genetik suatu populasi tanaman, karena dapat memberikan fenotipe polimorfik yang banyak (SZEWE-MCFADEN *et al.*, 1996; POWELL *et al.*, 1996), dan dapat menganalisis aliran gen dari tua ke zuriatnya (PERERA *et al.*, 2000; LEBRUN *et al.*, 2001), dan dapat memetakan genom suatu populasi tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk melacak tua dari populasi kelapa DMT nomor 32 generasi ketiga (DMT-32 S3) dan keempat (DMT-32 S4). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian dan penyeleksian sifat-sifat genetik yang potensial untuk program pemuliaan tanaman kelapa.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Pelaksanaan penelitian dimulai Mei 2004 sampai dengan Mei 2007.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda dari populasi hasil penyerbukan campuran polen kelapa Dalam Mapangget No.32 (DMT-32) yaitu populasi DMT-32 S2, populasi DMT-32 S3, dan populasi DMT-32 S4 berturut-turut sebanyak 9, 40, dan 38 pohon yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain (BALITKA) Manado.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah (1) Bahan-bahan kimia untuk isolasi DNA tanaman kelapa, (2) PCR Core Kit dan Primer Mikrosatelit (SSR) kelapa untuk analisis SSR, dan (3) Bahan kimia untuk pembuatan PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) dan pewarnaan perak (silver staining).

Isolasi DNA Total

DNA total tanaman diisolasi mengikuti metode ROHDE *et al.* (1995) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1,5 g daun kelapa yang masih muda dimasukkan ke dalam mortar yang berisi 10 ml buffer lisis (100 mM Tris-HCl pH8, 2% (m/v) CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, dan 0,2% β -mercaptoetanol (ditambahkan pada saat akan diisolasi) dan 0,07 g pasir kuarsa, digerus sampai halus. Serbuk daun dipindahkan ke dalam tabung 15 ml dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 1,5 jam. Suspensi DNA dipanen dengan melakukan sentrifus pada 4000 rpm selama

5 menit. Supernatan diberi 1 volume kloroform : isoamil alkohol (24:1), dikocok perlahan sampai homogen lalu disentrifus pada 4000 rpm selama 10 menit. Suspensi DNA dipresipitasi dengan menambahkan 0,1 volume sodium asetat 3 M pH 8, dan 0.8 volume isopropanol. Endapan DNA didapat dari hasil sentrifus pada 4000 rpm selama 10 menit, lalu disuspensi dalam 500 µl larutan TE 1X. Untuk menghilangkan kontaminan RNA, ke dalam suspensi DNA ditambahkan RNase A dengan konsentrasi 20 µg/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Selanjutnya suspensi DNA diekstraksi berturut-turut dengan 1 volume fenol, dan campuran kloroform : isoamil alkohol (24 : 1). Suspensi DNA dipresipitasi dengan 0.8 volume isopropanol lalu dibilas dengan alkohol 70% dingin. Pelet DNA kering diberi 200 ul TE dan disimpan pada -20°C.

Uji Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Penetapan kuantitas dan kemurnian DNA diukur menggunakan spektrofotometer (Cecil CE 2020) pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. DNA mempunyai kemurnian tinggi jika ratio nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm berkisar antara 1,8 – 2,0 (SAMBROOK *et al.*, 1989). Konsentrasi DNA dihitung berdasarkan rumus : pengenceran x nilai absorbansi pada 260 nm x 50 µg/ml.

Kualitas DNA diketahui dengan membandingkan hasil migrasi DNA total bersama DNA standar λ HindIII pada gel agarose menggunakan elektroforesis horizontal. DNA yang berkualitas baik adalah fragmen DNA yang berukuran besar.

Analisis Mikrosatelit (Simple Sequence Repeats)

Dalam penelitian ini digunakan pasangan primer mikrosatelit (SSR) yang telah menghasilkan polimorfik yang jelas pada kelapa. Sebanyak 5 primer SSR (Tabel 1) dikembangkan oleh RIVERA *et al.* (1999) dan 14 primer SSR (Tabel 2) dikembangkan oleh COGENT (*The International Coconut Genetic Network*), CIRAD (*Centre de Cooperation Internationale en Recherche Agronomique pour le Developpement*, 2002). Reaksi PCR yang digunakan dengan total volume 25 ul adalah 1 x buffer PCR (10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, pH 8,3), 200 µM dNTP, 20 pmol forward primer dan 20 pmol reverse primer, 1 U Taq polymerase, dan 10 ng DNA. Program PCR yang digunakan adalah 94°C selama 5 menit untuk pre PCR, 94°C 40 detik untuk denaturasi, 52°C – 54°C selama 1 menit untuk pelekatan primer (annealing), 72°C selama 1 menit pemanjangan primer (extension), dan 72°C selama 10 menit untuk post PCR. Pita produk amplifikasi dipisahkan menggunakan gel polyacrilamide 6% dalam 1 x buffer TBE dan divisualisasikan menggunakan pewarnaan perak (*silver staining*).

Tabel 1. Nama 5 primer SSR dan urutan basa nukleotida (RIVERA *et al.*, 1999)

Table 1. Name and sequence of 5 SSR primers (RIVERA *et al.*, 1999)

Nama Name	Urutan basa Sequence
CNZ 05	Forward (5' – 3') CTTATCCAAATCGTCACAGAG
	Reverse (5' – 3') AGGAGAAGCCAGGAAAGATTT
CNZ 09	Forward (5' – 3') ATCTACCAGTGTGGCTCTCTC
	Reverse (5' – 3') ACCAGGAAAAAGAGCGGAGAA
CNZ 18	Forward (5' – 3') ATGGTTCAGCCTTAATAAAC
	Reverse (5' – 3') GAACTTTGAAGCTCCCATCAT
CNZ 21	Forward (5' – 3') ATGTTTTAGCTTCCACATGAA
	Reverse (5' – 3') TCAAGTTCAAGAAGACCTTTG
CNZ 51	Forward (5' – 3') CTTTAGGGAAAAAGGACTGAG
	Reverse (5' – 3') ATCCATGAGCTGAGCTTGAAC

Tabel 2. Nama 14 primer SSR dan urutan basa nukleotida (CIRAD, 2002)

Table 2. Name and sequence of 14 SSR primers (CIRAD, 2002)

Nama Name	Urutan basa Sequence
CnCir A3	Forward(5'-3') AATCTAAATCTACGAAAGCA
	Reverse (5' – 3') AATAATGTGAAAAAGCAAAG
CnCir A9	Forward (5' – 3') AATGTTTGTGCTTTGTGCGTGTGT
	Reverse (5' – 3') TCCTAATTTTTCTCCCTTCCTCA
CnCirC3'	Forward (5' – 3') AGAAAGCTGAGAGGGAGGATT
	Reverse (5' – 3') GTGGGCATGAAAAGTAAC
CnCirC7	Forward (5' – 3') ATAGCATATGTTTTCTCT
	Reverse (5' – 3') TGCTCCAGCGTTCATCTA
CnCir E2	Forward (5' – 3') TCGCTGATGAATGCTTGCT
	Reverse (5' – 3') GGGGCTGAGGGATAAACC
CnCirE10	Forward (5' – 3') TTGGGTCCATTCTTCTCTCATC
	Reverse (5' – 3') GCTCTTTAGGGTTTCGTTTCTTAG
CnCirE12	Forward (5' – 3') TCACGAAAAAGATAAAAACC
	Reverse (5' – 3') ATGGAGATGGAAGAAGAAAGG
CnCir F2	Forward (5' – 3') GGTCTCTCTCCCTCCTTATCTA
	Reverse (5' – 3') CGACGACCCAAAACCTGAACAC
CnCirH4'	Forward (5' – 3') TTAGATCTCTCCCAAAG
	Reverse (5' – 3') ATCGAAAGAACAGTCACG
CnCir H7	Forward (5' – 3') GAGATGGCATAACACCTA
	Reverse (5' – 3') TGCTGAAGCAAAAAGAGTA
CnCir F2	Forward (5' – 3') GGTCTCTCTCCCTCCTTATCTA
	Reverse (5' – 3') CGACGACCCAAAACCTGAACAC
CnCirG11	Forward (5' – 3') AATATCTCCAAAATCATCGAAAG
	Reverse (5' – 3') TCATCCCACACCTCCTCT
CnCirH4'	Forward (5' – 3') TTAGATCTCTCCCAAAG
	Reverse (5' – 3') ATCGAAAGAACAGTCACG
CnCir H7	Forward (5' – 3') GAGATGGCATAACACCTA
	Reverse (5' – 3') TGCTGAAGCAAAAAGAGTA

Elektroforesis Gel

Setiap produk PCR dicampur dengan 3 x STR loading dye (98% formamide yang mengandung 10 MM EDTA, 0,01% [w/v] Xylene cyanol, dan 0,01% [w/v] *Bromophenol Blue*). Panaskan gel PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) menggunakan buffer 1 x TBE hingga suhu 50°C-55°C. Produk PCR yang telah dicampur dengan STR loading dye didenaturasi pada 94°C selama 5 menit dan segera diisikan pada setiap baris PAGE sebanyak 3.5 µl. Selama proses elektroforesis pertahankan kuat arus tetap konstan 75 W dan suhu ±50°C selama 45 – 90 menit bergantung primer yang digunakan. PAGE mengandung 6% Polyacrylamide /Bis-acrylamide perbandingan 19 : 1,7 M urea, dan 1 x TBE (90 mM Tris-borate, 2mM EDTA).

Pewarnaan Gel PAGE dengan Silver Staining (CRESTE *et al.*, 2001).

Pewarnaan DNA dilakukan dengan merendam kaca yang telah ditemplei gel poliakrilamid berisi DNA dalam larutan fiksasi berisi campuran 10% ethanol dan 1,5% etanol 99% selama 10 menit. Gel kemudian dicuci dengan aquades selama 1 menit. Lalu gel direndam larutan asam nitrit selama 3 menit. Selanjutnya gel dicuci digoyang dengan aquades selama 1 menit. Pewarnaan dilanjutkan dengan merendam gel dengan larutan perak nitrat (0,2%) selama 20 menit. Gel dibilas 2 kali dengan aquades masing-masing 30 detik. Kemudian gel direndam dalam sebagian larutan developer (30 g/l Na2CO3 dan 0,54 ml 37% formaldehid dalam kondisi dingin) tahap pertama sampai larutan berwarna gelap. Larutan tahap pertama yang berwarna gelap dibuang dan diganti dengan larutan developer tahap kedua sampai pita-pita DNA muncul. Untuk menghentikan reaksi pewarnaan gel direndam dalam larutan asam asetat 5% selama 5 menit, dan selanjutnya dicuci dengan aquades selama 5 menit. Semua tahapan proses di atas mesin penggoyang dan larutan yang digunakan dalam kondisi dingin. Sebelum gel dikering-anginkan ditiriskan dahulu, setelah itu gel diamati.

Skoring Ada dan Tidak Penanda

Pita hasil PAGE yang merupakan fragmen-fragmen DNA polimorfik diskor berdasarkan ada dan tidaknya suatu pita DNA pada setiap sampel untuk setiap primer. Pita yang muncul diberi skor 1 dan yang tidak diberi skor 0.

Genotipa pita SSR

Karena pita-pita yang dihasilkan melalui SSR bersifat kodominan yang dapat membedakan genotipe homozigot dari heterozigot maka data biner yang dihasilkan kemudian dibuat data genotipenya. Karakteristik genotipe pita-pita SSR setiap pohon (individu) dilakukan menggunakan angka. Setiap pita yang dihasilkan diinterpretasikan sebagai alel, dan dibuat tabel data genotipe.

Pelacakan Tetua

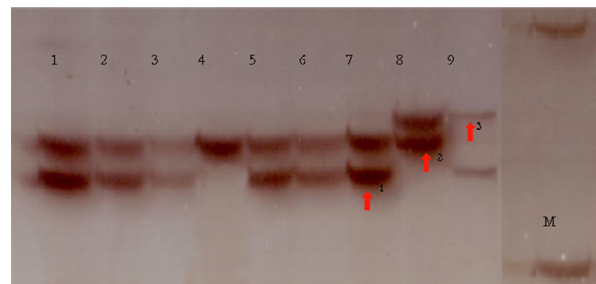
Analisis hubungan tetua dan zuriatnya menggunakan program komputer CERVUS Ver.2.0 (MARSHALL, 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Mikrosatelit (SSR) dan Pembuatan Data Genotipa

Dari 19 primer (lokus) SSR yang digunakan ternyata hanya 15 primer di antaranya dapat dipakai untuk melacak tetua dari populasi kelapa DMT-32. Hasil analisis SSR DNA kelapa DMT-32 S2, DMT-32 S3, dan DMT-32 S4 menggunakan 15 primer menunjukkan polimorfisme dengan ukuran alel berbeda, setiap primer terdiri atas 3-6 alel sehingga seluruhnya berjumlah 60 alel. Setiap individu pohon memiliki 1-2 pita yang merupakan tipikal bagi penanda SSR yang bersifat kodominan bagi organisme diploid (Gambar 1). Pita yang muncul diberi skor 1 dan yang tidak diberi skor 0 untuk pembuatan data biner. Pita-pita DNA dengan data biner dibuat dalam simbol genotipe menggunakan angka dari kelapa DMT-32 S2, DMT-32 S3, dan DMT-32 S4. Data genotipe tersebut digunakan dalam melacak tetua dari kelapa DMT-32 S3 dan DMT-32 S4. Pelacakan dilakukan berdasarkan pola pewarisan alel dari setiap lokus dari tetua kepada zuriatnya. Untuk memudahkan pelacakan tetua digunakan program Cervus 2,0.

Hasil visualisasi PAGE setiap lokus (primer) SSR yang digunakan diamati dengan memberi nomor setiap pita yang muncul mulai dari ukuran paling kecil sampai paling besar. Untuk pembuatan data biner, setiap pita yang telah diberi nomor diamati pada setiap individu apakah muncul atau tidak, jika muncul diberi skor 1 dan tidak dengan skor 0. Berdasarkan data biner dibuat data genotipe.



Keterangan : 1-9 = nomor pohon
 ↑ 1-3 = posisi pita nomor 1, 2, dan 3
 M = penanda
 Note : 1-9 = palm number
 ↑ 1-3 = position of band no. 1, 2, and 3
 M = marker

Gambar 1. Pola pita Primer SSR CnCirA3 pada kelapa DMT-32 S2
 Figure 1. Band pattern of CnCirA3 SSR Primer in Mapanget Tall Coconut (DMT-32 S2)

Sebagai contoh pada individu DMT-32 S2 No.1, memiliki pita no.1 dan 2 sehingga genotipenya adalah 1-2 artinya untuk lokus SSR CnCirA3 untuk DMT-32 S2 No.1 memiliki genotype heterozigot, sedang pada individu DMT-32 S2 No.4, hanya memiliki pita No.2 sehingga genotipenya 2-2 artinya untuk lokus ini DMT-32 S2 No.4 bersifat homozigot. Contoh Pembuatan Data Biner dan Data Genotipe individu berdasarkan pita-pita SSR pada Gambar 1 seperti Tabel 3 dan Tabel 4.

Pelacakan Tetua

Pada pelacakan tetua betina dan jantan tanaman kelapa DMT-32, mula-mula dilakukan pelacakan tetua betina dengan membandingkan genotipe zuriat dengan genotipe generasi tetuanya. Perbandingan dilakukan terhadap setiap primer yang digunakan. Setelah tetua betina diketahui kemudian dianalisis untuk mengetahui tetua jantan dari setiap individu generasi zuriat dengan generasi tetuanya. Pelacakan tetua jantan dilakukan dengan membandingkan genotipe zuriat dengan genotipe tetua betina yang telah diketahui dengan individu tetua yang memiliki genotipe paling sesuai sebagai pasangan tetua.

Hasil penelusuran tetua menggunakan program Cervus 2.0 menunjukkan bahwa sebanyak 21 zuriat DMT-32 S3 dapat dilacak tetuanya dengan tingkat kesesuaian 95% dan 19 zuriat lainnya pada tingkat kesesuaian 80%. Sedangkan pada DMT-32 S4 sebanyak 23 zuriat dapat dilacak tetuanya pada tingkat kesesuaian 95% dan 15 lainnya pada tingkat kesesuaian 80%. Hasil penelusuran menunjukkan pula bahwa semua individu DMT-32 S2 menjadi tetua dari zuriat DMT-32 S3, sedangkan pada generasi S3 beberapa nomor pohon tidak menjadi tetua dari zuriat DMT-32 S4. Hasil ini dapat dipahami karena sebelum dilakukan penyerbukan pada setiap generasi,

Tabel 3. Contoh data biner primer (lokus) SSR CnCirA3 pada DMT-32 S2

Table 3. Pattern of biner data of CnCirA3 SSR Primer in Mapanget Tall Coconut (DMT-32 S2)

		No. pohon Palm number								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pita	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1
Band	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1

Tabel 4. Contoh data genotipe primer (lokus) CnCirA3 pada DMT-32 S2

Table 4. Pattern of genotype data of CnCirA3 SSR Primer in Mapanget Tall Coconut (DMT-32 S2)

		No. pohon Palm number								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Genotipe	1	1	1	2	1	1	1	2	1	
Genotipe	2	2	2	2	2	2	2	3	3	

diseleksi terlebih dahulu pohon-pohon yang berproduksi tinggi. Nomor-nomor pohon yang berproduksi rendah tidak digunakan sebagai tetua. Pada DMT-32 S2 semua pohon masih berproduksi >100 butir per pohon per tahun sehingga semuanya digunakan sebagai tetua untuk DMT-32 S3. Sedangkan pada DMT-32 S3 beberapa pohon di antaranya berproduksi rendah sehingga tidak digunakan sebagai tetua untuk generasi DMT-32 S4.

Hasil pelacakan tetua DMT-32 S3 dan DMT-32 S4 menggunakan program Cervus 2.0 disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6. Hasil pelacakan tetua dari DMT-32 S3 memperlihatkan bahwa ada 3 individu yang benar-benar hasil penyerbukan sendiri dari satu pohon yaitu DMT-32 S3 No.25 dan No.39 keduanya zuriat dari DMT-32 S2 No.8, dan satu pohon yaitu DMT-32 S3 No.26 merupakan zuriat dari DMT-32 S2 No.3. Hasil pelacakan tetua dari DMT-32 S4 menunjukkan bahwa ada 5 individu yang benar-benar merupakan hasil penyerbukan dan zigot dengan pollen yang

Tabel 5. Pelacakan Tetua betina dan jantan Kelapa DMT-32 generasi S3 berdasarkan 15 lokus mikrosatelit (SSR)

Table 5. Male and female parents analysis of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) S3 generation based on 15 microsatellite (SSR) loci

Generasi S3	Tetua betina Female parent	Tetua jantan Male parent	Ket.	Generasi S3	Tetua Betina Female parent	Tetua jantan Male parent	Ket.
S3-1	S2-7	S2-9	*	S3-21	S2-9	S2-8	
S3-2	S2-2	S2-6	*	S3-22	S2-1	S2-4	
S3-3	S2-7	S2-5	*	S3-23	S2-1	S2-5	
S3-4	S2-8	S2-3	*	S3-24	S2-2	S2-9	
S3-5	S2-5	S2-3	*	S3-25	S2-8	S2-8	*
S3-6	S2-1	S2-4		S3-26	S2-3	S2-3	*
S3-7	S2-2	S2-6	*	S3-27	S2-8	S2-4	*
S3-8	S2-1	S2-9		S3-28	S2-8	S2-5	
S3-9	S2-3	S2-5		S3-29	S2-8	S2-7	*
S3-10	S2-5	S2-8		S3-30	S2-7	S2-9	
S3-11	S2-3	S2-1		S3-31	S2-2	S2-8	
S3-12	S2-7	S2-1	*	S3-32	S2-4	S2-7	
S3-13	S2-8	S2-5		S3-33	S2-5	S2-7	*
S3-14	S2-3	S2-9	*	S3-34	S2-3	S2-2	*
S3-15	S2-3	S2-7	*	S3-35	S2-2	S2-6	
S3-16	S2-6	S2-3	*	S3-36	S2-2	S2-7	*
S3-17	S2-7	S2-1		S3-37	S2-7	S2-3	*
S3-18	S2-2	S2-9	*	S3-38	S2-5	S2-3	
S3-19	S2-2	S2-8	*	S3-39	S2-8	S2-8	
S3-20	S2-8	S2-5		S3-40	S2-1	S2-4	*

Keterangan : * Sesuai pada taraf 95% S2 dan S3 = hasil penyerbukan generasi kedua dan ketiga Angka dibelakang S2 dan S3= nomor pohon

Note : * Matching at 95% level S2 and S3 = second and third generation of DMT-32 No. after S2 and S3 = number of palm of each generation

Tabel 6. Pelacakan Tetua betina dan jantan Kelapa DMT-32 generasi S4 berdasarkan 15 lokus mikrosatelit (SSR)

Table 6. Male and female parents analysis of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) S4 generation based on 15 microsatellite (SSR) loci

Generasi S4	Tetua betina Female parent	Tetua jantan Male parent	Ket	Generasi S4	Tetua betina Female parent	Tetua jantan Male parent	Ket
S4-1	S3-28	S3-12		S4-20	S3-34	S3-8	
S4-2	S3-28	S3-26		S4-21	S3-33	S3-14	
S4-3	S3-8	S3-32	*	S4-22	S3-28	S3-28	*
S4-4	S3-34	S3-33	*	S4-23	S3-12	S3-35	
S4-5	S3-1	S3-18	*	S4-24	S3-1	S3-3	
S4-6	S3-4	S3-28	*	S4-25	S3-8	S3-32	*
S4-7	S3-32	S3-10	*	S4-26	S3-28	S3-12	
S4-8	S3-28	S3-28	*	S4-27	S3-5	S3-36	*
S4-9	S3-28	S3-12	*	S4-28	S3-11	S3-32	*
S4-10	S3-28	S3-28		S4-29	S3-10	S3-6	*
S4-11	S3-32	S3-32		S4-30	S3-35	S3-35	*
S4-12	S3-4	S3-8	*	S4-31	S3-28	S3-4	
S4-13	S3-3	S3-14	*	S4-32	S3-33	S3-36	
S4-14	S3-33	S3-1	*	S4-33	S3-34	S3-5	*
S4-15	S3-23	S3-35		S4-34	S3-35	S3-26	
S4-16	S3-23	S3-6	*	S4-35	S3-4	S3-34	
S4-17	S3-18	S3-1	*	S4-36	S3-1	S3-14	*
S4-18	S3-18	S3-5	*	S4-37	S3-3	S3-14	*
S4-19	S3-34	S3-1	*	S4-38	S3-3	S3-21	

Keterangan : * Sesuai pada taraf 95%
S3 dan S4 = DMT-32 generasi ketiga dan keempat
Angka dibelakang S3 dan S4= nomor pohon dari masing-masing generasi

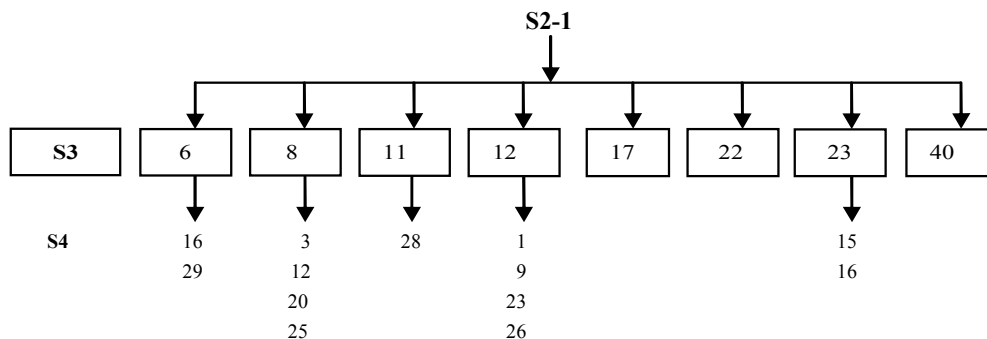
Note : * Matching at 95% level
S3 and S4 = third and fourth generation of DMT-32
No. after S3 and S4 = number of palm of each generation

berasal dari pohon tertentu yaitu DMT-32 S4 No.8, No.10, dan No.22 zuriat dari pohon DMT-32 S3 No.28, DMT-32 S4 No.11 zuriat dari DMT-32 S3 No.32, dan DMT-32 S4 No.30 zuriat DMT-32 S3 No. 35.

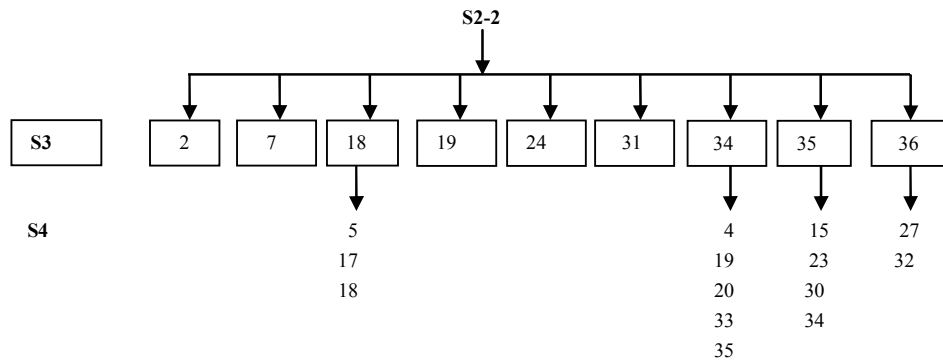
Berdasarkan hasil pelacakan menggunakan program Cervus 2.0 pada Tabel 5 dan Tabel 6, maka dapat dibuat silsilah dari setiap nomor pohon pada populasi kelapa DMT-32 generasi S2 kedua seperti pada Gambar 2 sampai dengan Gambar 10.

Dari Gambar 2, dapat dilihat bahwa DMT-32 S2 nomor 1 merupakan tetua dari 8 individu DMT-32 S3, yang 5 nomor pohon merupakan tetua dari DMT-32 S4 yaitu No.6, No.8, No.11, No.12 dan No.23. Tiga nomor pohon yang lain yaitu No.17, No.22, dan No.40 tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4. DMT-32 S2 No.6 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.16 dan No.29. DMT-32 S2 No.8 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.3, No.12, No.20, dan No.25. DMT-32 S2 No.11 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.28. DMT-32 S2 No.12 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.1, No.9, No.23, dan No.26. DMT-32 S2 No.23 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.15, dan No.16. Dengan demikian DMT-32 S2 No.1 merupakan kakek atau nenek dari 13 individu DMT-32 S4.

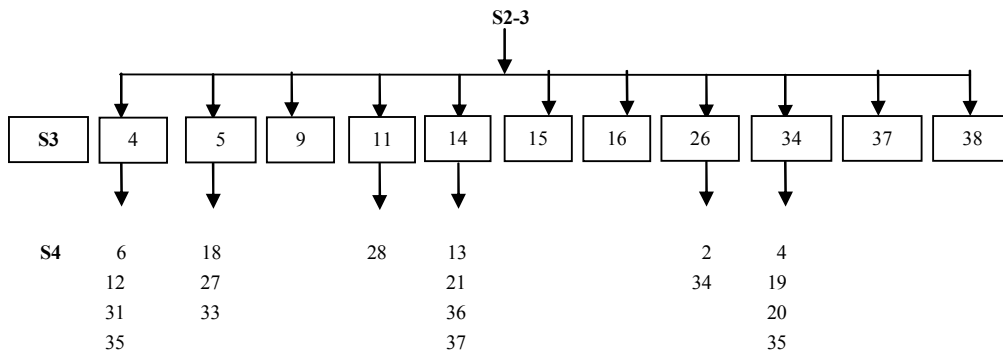
Gambar 3, memperlihatkan bahwa DMT-32 S2 No. 2 adalah tetua dari 9 individu DMT-32 S3 yaitu pohon No.2, No.7, No.18, No.19, No.24, No.31, No.34, No.35, dan No. 36. Empat nomor diantaranya yaitu pohon No.18, No.34, No.35, dan No.36 adalah tetua dari DMT-32 S4 sedangkan 5 nomor pohon yang lain tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4. DMT-32 S3 No.18 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.5, No.17, dan No.18. DMT-32 S3 No.34 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.4, No.19, dan No.20, No.33, dan No.35. DMT-32 S3 No.35 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.15, No.23, No.30 dan No.34. DMT-32 S3 No.36 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.27, dan No.32. Dengan demikian menjadi kakek



Gambar 2. Zuriat dari individu pohon nomor 1, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.1)
Figure 2. Progeny of individu number 1 of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) second generation (DMT-32 S2 No.1)



Gambar 3. Zuriat dari individu pohon nomor 2, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.2)
 Figure 3. Progeny of individu number 2 of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) second generation (DMT-32 S2 No.2)



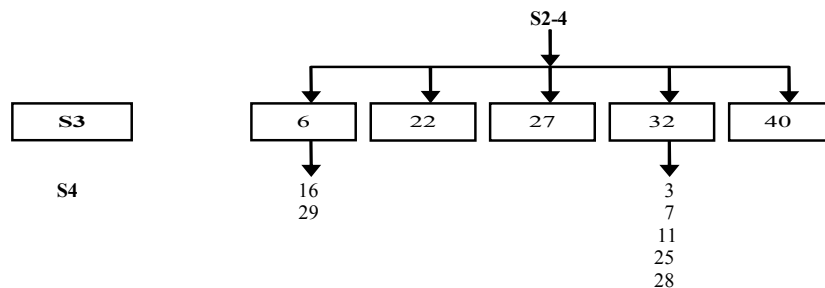
Gambar 4. Zuriat dari individu pohon nomor 3, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.3)
 Figure 4. Progeny of individu number 3 of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) second generation (DMT-32 S2 No.3)

atau nenek dari 14 individu DMT-32 S4. Lima nomor pohon yang tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4 adalah pohon No.2, No.7, No.19, No.24, dan No.31.

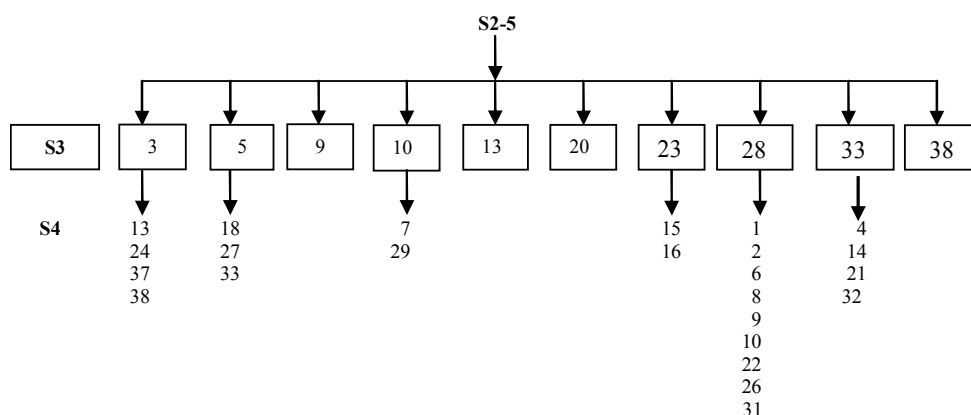
Gambar 4, menunjukkan bahwa DMT-32 S2 No.3 merupakan tetua dari 11 individu DMT-32 S3 yaitu pohon No.4, No.5, No.9, No.11, No.14, No.15, No.16, No.26, No.34, No.37, dan No. 38. Enam nomor pohon di antaranya menjadi tetua dari DMT-32 S4 dan 5 nomor pohon tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4. DMT-32 S3 No.4 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.6, No.12, No.31 dan

No.35. DMT-32 S3 No.5 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.18, No.27, dan No.33. DMT-32 S3 No.11 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.28. DMT-32 S3 No.14 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.13, No.21, No.36 dan No.37. DMT-32 S3 No.26 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.2 dan No.34. DMT-32 S3 No.34 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.4, No.19, No.20 dan No.35. Dengan demikian DMT-32 S2 No.3 adalah kakek dan atau nenek dari 18 individu DMT-32 S4.

Gambar 5, memperlihatkan bahwa DMT-32 S2 No.4 memiliki 5 progeny dan yaitu DMT-32 S3 pohon No.6, No.22, No.27, No.32, dan No.40. Hanya DMT-32 S3 No.6



Gambar 5. Zuriat dari individu pohon nomor 4 generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.4)
 Figure 5. Progeny of individu number 4 of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) second generation (DMT-32 S2 No.4)

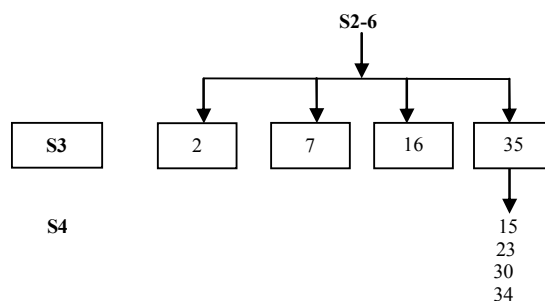


Gambar 6. Zuriat dari individu pohon nomor 5, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.5)
 Figure 6. Progeny of individu number 5 of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) second generation (DMT-32 S2 No.5)

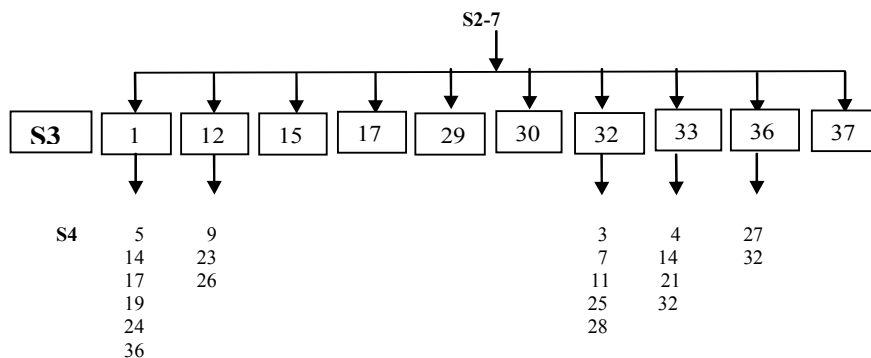
dan DMT-32 S3 No.32 yang menjadi tetua dari DMT-32 S4. DMT-32 S3 No.6 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.16, dan No.29. DMT-32 S3 No.32 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.3, No.7, No.11, No.25, dan No.28.

Gambar 6 menunjukkan DMT-32 S2 No.5 merupakan tetua dari 10 individu DMT-32 S3 yaitu pohon No.3, No.5, No.9, No.10, No.13, No.20, No.23, No.28, No.33, dan No.38. Empat di antaranya tidak menjadi tetua

dari DMT-32 S4 yaitu pohon No.9, No.13, No.20, No.38. DMT-32 S3 No.3 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.13, No.24, No.37, dan No.38. DMT-32 S3 No.5 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.18, No.27, dan No.33. DMT-32 S3 No.10 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.7, dan No.29. DMT-32 S3 No.23 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.15, dan No.16. DMT-32 S3 No.28 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.1, No.2, No.6,



Gambar 7. Zuriat dari individu pohon nomor 6, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.6)
 Figure 7. Progeny of individu number 6 of Mapanget Tall Coconut (DMT-32) second generation (DMT-32 S2 No.6)



Gambar 8. Zuriat dari individu pohon nomor 7, generasi penyerbukan kedua (DMT 32 S2 No. 7)
 Figure 8. Progeny of individu number 7 of Mapanget Tall Coconut (DMT 32) second generation (DMT 32 S2 No.3)

No.8, No.9, No.10, No.22, No.26, dan No.31. DMT-32 S3 No.33 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.4, No.14, No.21, dan No.32. Dengan demikian DMT-32 S2 No.5 adalah kakek atau nenek dari 24 individu DMT-32 S4.

Dari Gambar 7 dapat dilihat bahwa dari DMT-32 S2 No.6 memiliki 4 progeny yaitu DMT-32 S4 pohon No.2, No.7, No.16 dan No.35. Hanya DMT-32 S3 No.35 yang menjadi tetua dari 4 individu DMT-32 S4 yaitu pohon No.15, No.23, No.30 dan No.34.

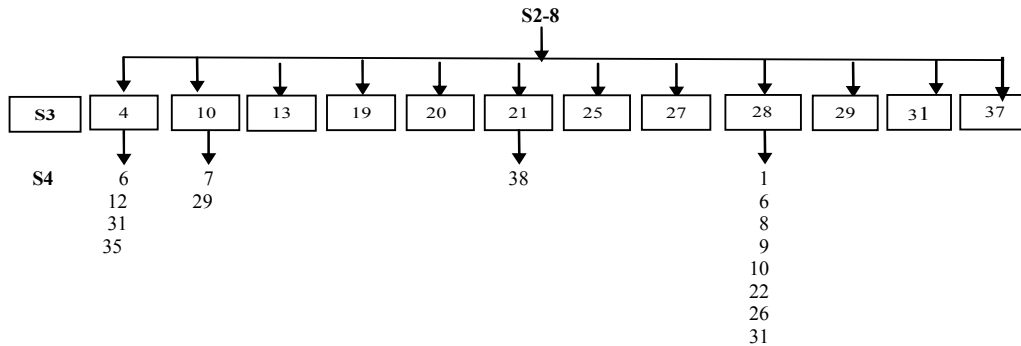
Dari Gambar 8, terlihat bahwa DMT-32 S2 No.7 merupakan tetua dari 10 progeny DMT-32 S3. Lima (5) individu DMT-32 S3 yaitu pohon No.1, No.12, No.32, No.36, dan No.37 merupakan tetua dari 20 individu DMT-32 S4. DMT-32 S3 No.1 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.5, No.14, No.17, No.19, No.24 dan No.36. DMT-32 S3 No.12 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.9, No.23, dan No.26. DMT-32 S3 No.32 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.3, No.7, No.11, No.25 dan No.28. DMT-32 S3 No.33 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.4, No.14, No.21, dan No.32. DMT-32 S3 No.36 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.27, dan No.32. Lima individu lainnya yaitu pohon No.15, No.17, No.29, No.30, dan No.37 tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4.

Gambar 9 memperlihatkan bahwa DMT-32 S2 No.8 memiliki 12 progeny pada DMT-32 S3 yaitu pohon No.4, No.10, No.13, No.19, No.20, No.21, No.25, No.27, No.28, No.29, No.31, dan No.37.

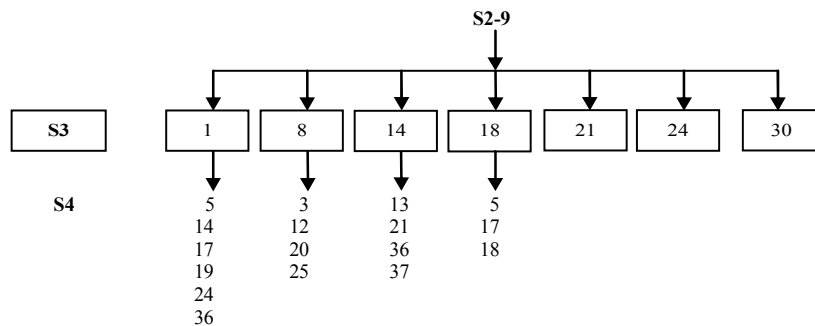
No.29, No.31, dan No. 37. Empat individu di antaranya adalah tetua dari 15 individu DMT-32 S4. DMT-32 S3 No.4 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.6, No.12, No.31, dan No.35. DMT-32 S3 No.10 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.7, dan No.29. DMT-32 S3 No.21 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.38. DMT-32 S3 No.28 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.1, No.6, No.9, No.10, No.22, No.26, dan No.31. Delapan individu lainnya tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4.

Dari Gambar 10 dapat dilihat bahwa DMT-32 S2 nomor 9 merupakan tetua dari 7 individu DMT-32 S3 yaitu pohon No.1, No.8, No.14, No.18, No.21, No.24, dan No.30. DMT-32 S3 No.1 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.5, No.14, No.17, No.19, No.24, dan No.36. DMT-32 S3 No.8 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.3, No.12, No.20, dan No.25. DMT-32 S3 No.14 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.13, No.21, No.36, dan No.37. DMT-32 S3 No.18 adalah tetua dari DMT-32 S4 pohon No.5, No.17, dan No.18. Tiga dari turunan DMT-32 S2 No.9 tidak menjadi tetua dari DMT-32 S4. DMT-32 S2 No. 9 merupakan kakek dan atau nenek dari 17 individu pohon DMT-32 S4.

Dengan diketahuinya silsilah masing-masing individu pohon kelapa DMT-32 hasil penyerbukan generasi ketiga (DMT-32 S3) dan keempat (DMT-32 S4), maka peneliti kelapa yang akan mempelajari sifat-sifat tertentu



Gambar 9. Zuriat dari individu pohon nomor 8, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.8)
 Figure 9. Progeny of individu number 8 of DMT-32 second generation (DMT-32 S2 No.8)



Gambar 10. Zuriat dari individu pohon nomor 9, generasi penyerbukan kedua (DMT-32 S2 No.9)
 Figure 10. Progeny of individu number 9 of DMT-32 second generation (DMT-32 S2 No.9)

yang berkaitan dengan DNA (gen tertentu) seperti produksi, ketahanan terhadap hama dan penyakit, kekeringan, protein, dan asam lemak dapat memanfaatkan informasi ini.

KESIMPULAN

Sebanyak 15 primer dari 19 primer mikrosatelit (SSR) yang diuji dapat digunakan dalam melacak tetua kelapa DMT-32, dan berhasil digunakan untuk melacak tetua dari kelapa DMT-32 generasi S3 dan DMT-32 generasi S4. Semua individu DMT-32 S2 menjadi tetua dari individu-individu DMT-32 S3, tetapi tidak semua individu DMT-32 S3 menjadi tetua DMT-32 S4. Pada DMT-32 S3 ada 3 individu yang benar-benar hasil penyerbukan dengan polen sendiri yaitu DMT-32 S3 No.25 dan No.39 keduanya zuriat dari DMT-32 S2 No.8, dan DMT-32 S3 No.26 merupakan zuriat dari DMT-32 S2 No.3. Pada DMT-32 S4 ada 5 individu yang benar-benar merupakan hasil penyerbukan dengan polen sendiri yaitu DMT-32 S4 No.8, No.10, dan No.22 zuriat dari pohon DMT-32 S3 No.28, dan DMT-32 S4 No.11 zuriat dari DMT-32 S3 No.3, serta DMT-32 S4 No.30 zuriat dari DMT-32 S3 No.35.

DAFTAR PUSTAKA

- CIRAD (*CENTRE FOR INTERNATIONAL COOPERATION IN AGRICULTURAL RESEARCH FOR DEVELOPMENT*). 2002. A Laboratory Manual. Coconut Microsatellite Kit. Training session, April 15-24, Cirad, Montpellier, France. pp.11.
- CRESTE, S., TULLMAN - NETO A, and FIGUERA. A, 2001. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Mol Bio Rep.* 19:299-306.
- CAVALLI-SFORZA, L.L and W.F. BODMER. 1971. The Genetics of Human Populations. W.H. Freeman, San Fransisco.
- DOEBLEY, P. 1990. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. *Bioscience.* 40:443-448
- HERRAN, A., L. ESTIOKO, D. BECKER, M.J.B RODRIGUEZ, W. ROHDE, and E. RITTER. 2000. Linkage mapping and QTL analysis in coconut. *Theor. Appl. Genet.* 101:292-300.
- LEBRUN P, N'CHO YP, SEGUIN M, GRIVET L and L. BANDOUIN 1998. Genetic diversity in Coconut (*Cocos nucifera* L.) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Euphytica* 101:103-108
- LEBRUN, P., L. BAUDOUIN, R. BOURDEIX, J.L. KONAN, J.H.A BARKER, C. ALDAM, A. HERRAN, and E. RITTER 2001. Construction of a linkage map of the Rennel Island Tall coconut type (*Cocos nucifera* L.) and QTL analysis for yield characters. *Genome.* 44:962-970
- MASKROMO, I. 2005. Kemiripan Genetik Populasi Kelapa Berbuah Kopyor Berdasarkan karakter Morfologi dan Penanda DNA SSRs (*Simple Sequence Repeats*). Tesis Magister. Institut Pertanian Bogor. pp.38.
- MARSHALL T.C. 2001. Cervus Ver. 2.0. University of Edinburgh, UK.
- NOVARIANTO, H., MIFTAHORRACHMAN, H. TAMPAKE, H.T. LUNTINGAN. 1989. Efek silang dalam kelapa Dalam Mapanget. *Pemberitaan Puslitbangtri.* Bogor.14(4): 147-157.
- NOVARIANTO, H., T. ROMPAS, and S.N. DARWIS. 1998. Coconut breeding programme in Indonesia. p. 29-41. *In: P.O. Batugal, and V.R. Rao (Eds). Coconut Breeding.* IPGRI.
- PERERA, L., J.R RUSSELL, J. PROVAN, J.W MCNICOL, and W. POWELL. 1998. Evaluating genetic relationship between indigenous coconut (*Cocos nucifera* L.) accession from Sri Lanka by means of AFLP profiling. *Theor. Appl. Genet.* 96:545-550.
- PERERA, L., J. R. RUSSELL, J. PROVAN, and W. POWELL. 2000. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). *Genome.* 43:15-21
- POWELL, W., M. MORGANTE, C. ANDRE, M. HANAWEY, J. VOGEL, S. TINGEY, and A. RAFALSKI. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding.* 2:225-238.
- RIVERA, R., K. J. EDWARDS, J.H.A. BARKER, G. M. ARNOLD, G. AYAD, T. HODGKIN and A. KARP. 1999. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. *Genome.* 42:668-675.
- ROHDE, W., A. KULLAYA, J. RODRIGUEZ, and E. RITTER. 1995. Genome analysis of *Cocos nucifera* L. by PCR amplification of spacer sequences separating a subset of copia-like EcoRI repetitive elements. *J. Genet. and Breed.* 49:170-186.
- SAMBROOK, J., FRITSCH E. F, and T. MANIATIS. 1989. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory, CSH, New York, Servedio, MR and Kirkpatrick M. 1997. The effect of gene flow on reinforcement. *Evolution.* 51(6): 1764-1772.
- SZEWE-MCFADDEN, A K., S KRESOVICH, S M BLIEK, S E MITCHELL, and J. R. MCFERSON. 1996. Identification of polymorphic conserved simple sequences repeats (SSRs) in cultivar Brassica species. *Theor. Appl. Genet.* 93:534-538.
- TEULAT, B., C. ALDAM, R. TREHIN, P. LEBRUN, J.H.A. BARKER, G.M. ARNOLD, A. KARP, L. BAUDOUIN, and F. ROGNON. 2000. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) population from across the geographic range using sequence-tagged micro-

DONATA S. PANDIN *et al.* : *Pelacakan tetua populasi kelapa dalam Mapanget No.32 (DMT-32) menggunakan analisis aliran gen (Gene Flow)*

satellite (SSRs) and AFLPs. *Theor. Appl. Genet.*
100:764-771.