

Analisis Keanekaragaman Genetik dan Diferensiasi Jati Jawa dan Madura berdasarkan Marka Mikrosatelit untuk Mendukung Fingerprinting Jati

**(Genetic Variety Analysis and Differentiation of Java and Madura Teak
Based on Microsatellite Marker for Supporting Fingerprinting of Teak)**

Munisyatul Millah¹⁾, Noor Aini Habibah^{1,2)} dan Endah Suwarni³⁾

¹⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Lt 1 Jl. Raya Sekaran Gunungpati – Semarang 50229 Telp/Fax (024) 8508033

²⁾ Penulis untuk korespondensi, e-mail : nooraini.habibah@yahoo.com

³⁾Dosen Lapangan Perum Perhutani Cepu

Abstract

Analysis fingerprinting teak is supported by information about teak's character molecularly. The information is gotten by analyzing 3 primary microsatellite in 46 teak samples that produce total 18 kinds of alel averagely 6 alel per locus. Genetics variety level is shown by Observed Heterozigosity (Ho), Expected Heterozygosity (He), Polimorfism Information Content (PIC) and Genetics Differentiation Coefficient successively 0.5122; 0.6221; 0.5818; and 0.0629. Kinship connection through dendogram analysis produces coefficient resemblance 0.3-1.00 that form 2 groups. However it has not shown inclination of forming group based on origin grows yet. Genetics differentiation analysis indicates different genetics in a population is higher then it is between populations. Analysis result has not found specific alel yet but has found 12 specific genotype that is potential for analyzing fingerprinting if it relates to important useful genes.

Keywords: microsatellite teak, DNA fingerprinting

Pendahuluan

Jati merupakan salah satu jenis tumbuhan kayu di Indonesia yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Kebutuhan masyarakat terhadap kayu jati semakin meningkat dari tahun ke tahun karena kayunya memiliki struktur yang indah (Chasani 2007), kekuatan yang cukup tinggi, awet, sedikit menyusut, sedikit bercabang, berbatang lurus dan silindris (Febrianto *et al.* 2000). Jumlah polinator yang beragam pada area hutan jati memungkinkan terjadi penyerbukan silang antara varietas dan generasi yang berbeda (Pane 1980). Keadaan tersebut menyebabkan heterosigositas muncul

pada keturunan jati yang akan memperbesar variasi fenotipe maupun genotipe. Perbedaan varietas jati selain karena faktor genetika, kondisi lingkungan seperti iklim yang berbeda juga sangat mempengaruhi tingkat keanekaragaman genetika jati. Penyebab keanekaragaman atau varietas diketahui ada tiga faktor yaitu perbedaan lingkungan tempat tumbuh, perbedaan genetika dan interaksi antara keduanya (Zobel *et al.* 1984). Keberadaan keanekaragaman genetika jati perlu dipertahankan, bahkan harus diperluas agar bahan untuk pembentukan varietas unggul selalu tersedia.

Oleh karena itu diperlukan informasi tentang karakterisasi DNA jati untuk mempelajari keanekaragaman genetik, hubungan filogenetika dan DNA *fingerprinting*. Karakterisasi DNA jati dapat dilakukan menggunakan marka molekuler, salah satunya melalui analisis marka mikrosatelit.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler, Perum Perhutani Cepu dan Laboratorium Genetika dan Molekuler, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jati yang berasal dari koleksi Kebun Benih Klonal (CSO) yang ada di Jawa khususnya CSO Clangap dan CSO Ngawi serta jati dari Area Produksi Benih Madura. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi dalam 5 kelompok yaitu bahan untuk isolasi DNA, bahan amplifikasi PCR, bahan pembuatan gel agarose, bahan pembuatan gel poliakrilamid dan bahan untuk *silver staining*. Penelitian ini menggunakan 3 primer mikrosatelit yaitu primer Tg-AC28, Tg-ATC02 dan Tg-AAG10.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah isolasi DNA jati menggunakan metode CTAB yang telah dimodifikasi (Doyle dan Doyle 1987) kemudian dicek pada elektroforesis horizontal menggunakan gel agarose. DNA genom selanjutnya diamplifikasi dengan tiga primer mikrosatelit menggunakan mesin PCR. Proses amplifikasi dilakukan dengan cara mencampur 10 ng DNA *template*, 2 mM MgCl₂, 200 iM dNTPs, 0,2-1 iM untuk setiap primer, enzim *Taq polimerase* dan buffer 1X sehingga jumlah total mix PCR dalam tabung PCR 0.2 ml adalah 12.5 µl, kemudian dimasukkan ke dalam *Thermal Cycler Chain Reaction* dengan kondisi suhu denaturasi awal 94°C selama 4 menit, denaturasi akhir pada 94°C selama 30 detik, *annealing* pada 55°C selama 30 detik (suhu bergantung primer), *elongasi* pada 72°C selama 1 menit dan ekstensi pada 72°C selama 5 menit.

Proses PCR berlangsung selama 35 siklus. Keberhasilan PCR diuji melalui elektroforesis dengan gel agarose 0,8%.

Template hasil PCR di uji lagi melalui elektroforesis vertikal menggunakan gel poliakrilamid 6%. Larutan akrilamid 6% dibuat dengan mencampurkan larutan akrilamid 30% 100 ml, TBE 5x 100 ml, urea 210 g dan deion sampai 500 ml, kemudian disaring dengan kertas Whatman dan disimpan dalam botol gelap pada 4°C. Gel poliakrilamid 6% disiapkan dengan mencampur larutan urea akrilamid 6% 35 ml, TEMED 59 µl dan amonium persulfat (APS) 10% 140 µl. Larutan poliakrilamid dituangkan dengan cepat (agar tidak terbentuk gelembung) di antara rongga kedua plat kaca yang telah dibersihkan dengan etanol, plat kaca pertama dan kedua masing-masing telah dilapisi dengan larutan perekat (Bind silane) dan antirekat (Sigmacote). Bagian punggung sisir yang rata dimasukkan di antara dua plat, kemudian didiamkan selama satu jam sampai menjadi gel. Kedua plat yang sudah berisi gel dirakit dengan seperangkat alatnya, kemudian sisir dilepaskan secara hati-hati. Bagian dalam plat kaca diisi buffer TBE 1x kira-kira 1 cm dari permukaan alat. Kotak bagian bawah diisi dengan 300 ml buffer TBE 1x, alat pengukur suhu ditempelkan di plat bagian luar untuk memantau suhu gel selama elektroforesis.

Pre run dilakukan pada 60 watt (1500 volt 60mA) selama 1 jam. Pada waktu yang bersamaan, setiap sampel DNA PCR dicampur dengan 5 µl *loading dye*, kemudian didenaturasi pada 94°C selama 5 menit dan segera dimasukkan dalam box es. Sampel DNA PCR yang telah didenaturasi sebanyak 4 µl dimasukkan ke dalam sumur gel secara cepat. Elektroforesis dilakukan bersama DNA standar 100 bp menggunakan arus konstan (60 watt) sampai warna yang kedua dari *loading dye* mencapai sisi gel paling bawah (sekitar 2 jam). Setelah elektroforesis selesai, kedua plat kaca dilepas kemudian plat kaca yang ditempati gel segera dilakukan proses berikutnya yaitu proses *silver staining*

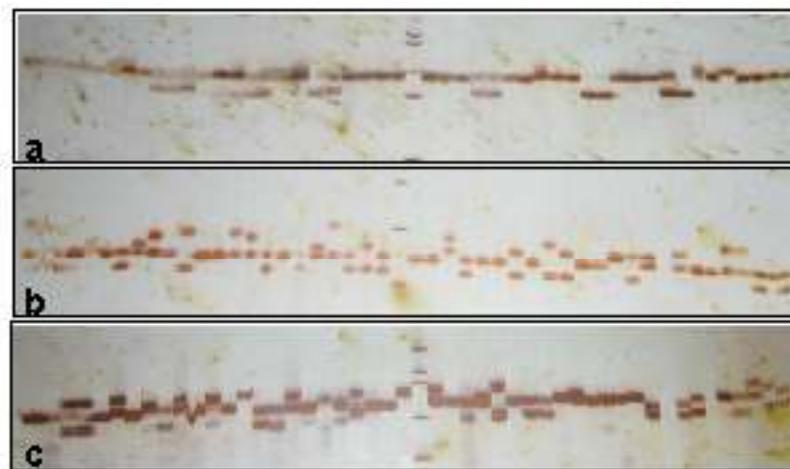
(pewarnaan perak) dengan mengikuti metode yang telah digunakan Retnoningsih (2009).

Data yang diperoleh kemudian digunakan untuk menganalisis keanekaragaman genetika, diferensiasi genetika dan hubungan kekerabatan. Keanekaragaman genetika dianalisis menggunakan rumus frekuensi alel dan *Expected Heterozygosity* (H_e) (Nei 1987), *Observed Heterozygosity* (H_o) (Lowe *et al.* 2004), dan *Polimorfism Information Content* (PIC) Anderson *et al.* (1993).

Diferensiasi genetika dianalisis menggunakan rumus Nei (1987) dan Lowe *et al.* (2004) meliputi keanekaragaman genetika dalam populasi (H_s), keanekaragaman genetika

18 dengan rata-rata 6 alel per lokus. Ketiga lokus dapat mendeteksi alel pada setiap kultivar dengan jumlah yang bervariasi. Kultivar yang mempunyai satu alel disebut homozigot, sedangkan dua alel atau lebih disebut heterozigot.

Analisis berdasarkan hasil amplifikasi ketiga mikrosatelit pada gel poliakrilamid disajikan pada Tabel 1. Hasil amplifikasi mikrosatelit pada PAGE bervariasi antara lain muncul pita-pita meragukan (tidak jelas), pita semu dan tidak muncul pita (Gambar 2), sehingga visualisasi pita pada PAGE diperlukan ketelitian. Pita yang meragukan dapat berasal dari kontaminasi pita di samping



Gambar 1. Profil pita lokus (a) Tg-AC28, (b) Tg-ATC02, dan (c) Tg-AAG10

antar populasi (D_{ST}), dan total keanekaragaman genetika (H_T).

Hubungan kekerabatan dianalisis melalui analisis similaritas menggunakan program NTSYSpc (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Sistem*) versi 2.01d (Rohlf 1998).

Hasil dan Pembahasan

Visualisasi pada *Polyacrilamid Gel Electroforesis* (PAGE) untuk primer Tg-AC28, Tg-ATC02 dan Tg-AAG10 pada 46 sampel DNA jati Jawa dan Madura (Gambar 1) menghasilkan total jenis alel

kanan dan kiri. Pita-pita semu muncul kemungkinan karena mutasi akibat kesalahan replikasi pada saat amplifikasi (PCR), sehingga muncul dua pita yang dua pita yang sebenarnya satu pita. Dalam hal ini mutasi terjadi karena penambahan atau pengurangan basa pada saat proses ampifikasi (*Slippage mutation*) (Lai *et al.* 2003). Pita yang tidak jelas dapat terjadi karena kontaminasi terutama urea pada permukaan sumur gel poliakrilamid. Sedangkan pita yang tidak muncul dapat disebabkan oleh kegagalan amplifikasi mikrosatelit, antara lain molekul DNA *double strand* yang tidak dapat terdenaturasi menjadi

Tabel 1. Hasil analisis berdasarkan amplifikasi mikrosatelit pada gel poliakrilamid

No	Karakter	Tg-AC28	Tg-ATCO2	Tg-AAG10
1	Suhu <i>annealing</i>	57°C	55°C	55°C
2	Jenis alel	4	6	8
3	Jumlah total alel	57	77	71
4	Sampel yang terdeteksi :			
	a. satu pita	30 (Jawa&Madura)	17 (Jawa&Madura)	21 (Jawa&Madura)
	b. dua pita	16 (Ngawi&Madura)	27 (Jawa&Madura)	25 (Jawa&Madura)
	c. tiga pita	-	2 (Ngawi)	-
5	Estimasi panjang alel	200 bp	208 bp	243 bp
6	Spesifik	Pada CSO Clangap hanya mendeteksi alel B	Mendeteksi individu yang mempunyai 3 alel	Mendeteksi variasi alel tertinggi

memperpanjang daerah yang ditempel primer untuk menyempurnakan daerah target (Lai *et al.* 2003), dan kemungkinan urutan basa nukleotida dari primer tersebut bukan merupakan komplemen dari basa nukleotida pada cetakan DNA target. Hal ini menyebabkan primer-primer tersebut tidak dapat mengamplifikasi fragmen DNA (Hartati *et al.* 2007).

Keberhasilan amplifikasi mikrosatelit pada jati dipengaruhi oleh kualitas DNA genom, primer, konsentrasi larutan dan kondisi suhu pada siklus PCR terutama pada suhu *annealing* (Brown 1991). DNA genom jati untuk mikrosatelit sebenarnya tidak

(arabinogalaktan, dekstran, gum guar, gum *locust bean*, inulin, manan, dan pati) karena mikrosatelit hanya mengamplifikasi pada daerah target (Prana dan Hartati 2003). Hal itu berbeda apabila DNA genom mengandung kontaminan polisakarida yang bersifat asam (karagenan, dekstran sulfat, gum ghatti, pektin, dan silan), karena menyebabkan DNA tidak teramplifikasi (Pandey *et al.* 1996). Struktur polisakarida yang mirip dengan asam nukleat (DNA) menyebabkan polisakarida dapat mengendap bersama asam nukleat dan menghambat kerja enzim *Taq polimerase* (Wilkins dan Smart 1996, Porebski *et al.* 1997). Selain itu DNA yang terlalu pekat juga

Tabel 2. Jumlah alel, nilai heterosigositas dan tingkat polimorfisme 3 lokus mikrosatelit pada tanaman jati asal Jawa dan Madura

No	Karakter	Tg-AC28	Tg-ATCO2	Tg-AAG10
1	Suhu <i>annealing</i>	57°C	55°C	55°C
2	Jenis alel	4	6	8
3	Jumlah total alel	57	77	71
4	Sampel yang terdeteksi :			
	a. satu pita	30 (Jawa&Madura)	17 (Jawa&Madura)	21 (Jawa&Madura)
	b. dua pita	16 (Ngawi&Madura)	27 (Jawa&Madura)	25 (Jawa&Madura)
	c. tiga pita	-	2 (Ngawi)	-
5	Estimasi panjang alel	200 bp	208 bp	243 bp
6	Spesifik	Pada CSO Clangap hanya mendeteksi alel B	Mendeteksi individu yang mempunyai 3 alel	Mendeteksi variasi alel tertinggi

Tabel 3. Genotipe spesifik yang dideteksi oleh lokus Tg-AC28, Tg-ATC02 dan Tg-AAG10

No	Populasi	Lokus	Jumlah alel		Ho	He	PIC
			Monomorfik	Polimorfik			
1	Jawa	Tg-AC28	29	10	0.2564	0.3833	0.3784
		Tg-ATC02	15	24	0.6154	0.6166	0.6088
		Tg-AAG10	20	19	0.4872	0.7987	0.7886
		Rata-rata			0.4530	0.5995	0.5919
2	Madura	Tg-AC28	6	1	0.1428	0.5605	0.4395
		Tg-ATC02	2	5	0.7143	0.5825	0.5409
		Tg-AAG10	1	6	0.8571	0.7912	0.7347
		Rata-rata			0.5714	0.6447	0.5717
		Total rata-rata			0.5122	0.6221	0.5818

u

u

No	Sampel	Tg-AC28	Tg-ATC02	Tg-AAG10
1	CSO Clangap	-	BD	-
2	CSO Ngawi	-	BF&CF	AH, AF, BD, BE, EH & FG
3	APB Madura	-	-	BG, DH & FH

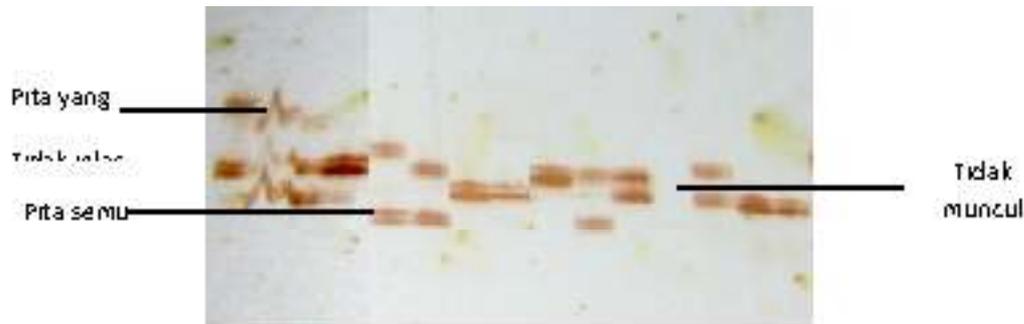
pada daerah target (Qiagen 2001).

Suhu *annealing* terlalu tinggi menyebabkan penempelan primer lemah dan produk DNA yang dihasilkan sedikit, sehingga hasil visualisasi DNA tipis. Suhu *annealing* yang terlalu rendah menyebabkan penempelan primer tidak spesifik dan menempel di sembarang tempat sehingga daerah target tidak teramplifikasi namun banyak dihasilkan produk non spesifik dan visualisasi DNA tebal atau smear (Kantety *et al.* 1995).

Pemilihan primer sangat diperlukan untuk mendukung keberhasilan proses amplifikasi dan dapat menghasilkan produk amplifikasi yang diinginkan. Dasar pemilihan primer yang baik dapat ditentukan dari (1) panjang primer sekitar 20-30 nukleotida, (2) komposisi basa yang terdiri atas 40-60% GC (Sulandari dan Zein 2003), (3) Penentuan temperatur *annealing* 5°C lebih rendah dari T_m, sedangkan T_m berkisar 50-60°C (Courtois 2002), (4) Pemilihan basa C atau G pada ujung 3' yang bertujuan agar dikenali enzim

sesama primer agar tidak menurunkan konsentrasi larutan, sehingga terjadi kompetisi dengan daerah target (Solihin 2000).

Visualisasi pita yang bagus diperoleh dari hasil amplifikasi yang sempurna dan didukung oleh PAGE, proses elektroforesis dan pewarnaan perak yang tepat. Gel poliakrilamid bersifat lebih sensitif dari pada gel agaros dan dapat mendeteksi perbedaan 1 pasang basa (Ambionet 2004), sehingga pita-pita semu hasil kesalahan PCR (*Slippage mutation*) dapat terdeteksi pada PAGE. Hambatan visualisasi pita DNA pada elektroforesis adalah penggunaan buffer yang tidak tepat. Penggunaan buffer yang terlalu asam menyebabkan arus migrasi DNA lebih lambat, karena kekuatan ion buffer mempengaruhi migrasi DNA (Toha 2004). Hal yang berpengaruh pada proses pewarnaan perak adalah suhu larutan dan waktu pada setiap tahapan pewarnaan. Suhu dingin diperlukan pada larutan *developer* karena berfungsi mengubah ion-ion silver agar segera



Gambar 2. Profil pita yang muncul pada gel poliakrilamid

mengendap menjadi silver metalik berwarna coklat. Perpindahan plat dari larutan *washing* (deion) ke larutan *developer* tidak boleh melebihi 5-10 detik, karena menyebabkan kualitas pita DNA rendah atau pita tidak muncul (Ambionet 2004).

Nilai keanekaragaman genetika dapat ditunjukkan melalui jumlah dan frekuensi alel, genotipe serta nilai heterosigositas. Koleksi jati di Kebun Benih Klonal atau CSO merupakan koleksi pohon-pohon plus jati dari berbagai daerah sehingga jenis individu jati lebih bervariasi oleh karena itu semakin besar jumlah individu yang dianalisis maka kemungkinan semakin besar pula jenis alel yang ditemukan (Jetse *et al.* 2002). Struktur genetika populasi jati Jawa dan Madura dapat ditentukan dari susunan frekuensi alel dan genotipe. Berdasarkan jumlah alel, lokus Tg-AAG10 lebih bervariasi dibandingkan lokus Tg-AC28 dan Tg-ATC02. Frekuensi jenis alel tertinggi pada lokus Tg-AC28, Tg-ATC02, dan Tg-AAG10 adalah alel B (76.9%), E (57.69%), dan D (43.8%), sedangkan terendah adalah alel C, A, dan F masing-masing sebesar 2.5%.

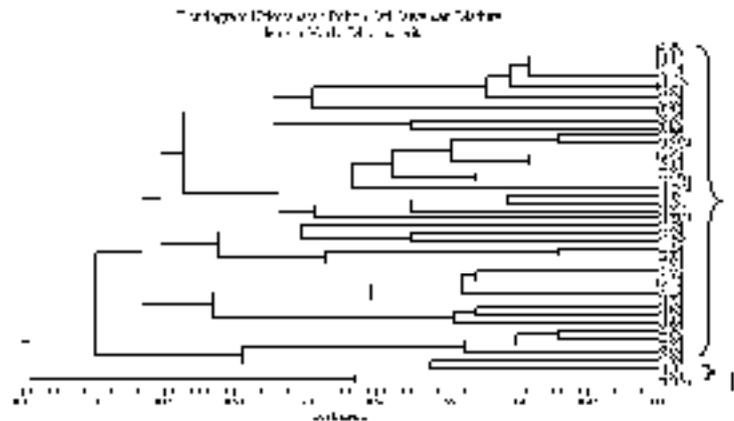
Setelah jenis-jenis alel dideteksi, kemudian ditentukan susunan genotipe homosigot dan heterosigot masing-masing individu Hasil analisis 3 lokus mikrosatelit terdeteksi 37 macam genotipe. Lokus Tg-AC28 mendeteksi 6 macam genotipe (3 homosigot dan 3 heterosigot). Lokus Tg-ATC02 mendeteksi 12 macam genotipe (2 homosigot dan 10 heterosigot), sedangkan

lokus Tg-AAG10 mendeteksi paling banyak, yaitu 19 macam genotipe 5 di antaranya homosigot.

Susunan genotipe penting diketahui untuk mempelajari pola pewarisan sifat pada tingkat populasi yang diperoleh dari kontribusi genetik melalui perkawinan dan proses adaptasi dan untuk menghindari genotipe-genotipe penting menjadi punah. Tingkat keanekaragaman genetika ditunjukkan dengan nilai *Observed Heterozygosity* (H_o), *Expected Heterozygosity* (H_e) dan *Polimorfisme Information Content* (PIC).

Nilai H_o dan PIC tertinggi dan terendah disajikan pada Tabel 2. Nilai PIC pada lokus Tg-AC28 rendah karena prosentase genotipe homosigot lebih banyak dari genotipe heterosigot, namun hasil perhitungan PIC (0.3784) menunjukkan bahwa lokus ini masih bersifat polimorfik dan dapat digunakan untuk analisis. Suatu lokus dikatakan polimorfik jika nilai polimorfisme lokus $d > 0.95$ dan monomorfik jika nilainya > 0.95 (Nei 1987). Nilai rata-rata PIC yang cukup tinggi (0.5818) menunjukkan bahwa jati merupakan tanaman yang lebih banyak berkembang biak melalui reproduksi seksual dengan cara penyerbukan silang (Boer 2007).

Tingkat heterosigositas yang tinggi disebabkan oleh sumber aksesori yang bervariasi, dalam penelitian ini sumber aksesori berasal dari koleksi jati berbagai daerah dalam Kebun Benih Klonal (Clonal Seed Orchard). Tanaman berkayu seperti jati yang mempunyai sistem penyerbukan melalui perkawinan silang



Gambar 3. Dendrogram jarak genetika populasi jati Jawa

(*out crossing*) pada umumnya juga mempunyai variabilitas besar (Hamrick *et al.* 1990) sehingga heterosigositas dalam penelitian ini menunjukkan tingkat yang tinggi.

Jenis alel yang terdeteksi pada CSO populasi Jawa lebih banyak dari pada APB populasi Madura, namun hal itu tidak berpengaruh terhadap hasil perhitungan heterosigositas karena perhitungan heterosigositas melibatkan jumlah sampel. Oleh karena itu rata-rata heterosigositas tidak dipengaruhi oleh jenis alel yang terdeteksi dan rata-rata pada kedua populasi termasuk tinggi. Rata-rata H_o lebih kecil dari H_e pada kondisi kesetimbangan Hardy-Weinberg yang berarti ada indikasi kecenderungan dalam jangka waktu yang lama terjadi defisit heterosigositas pada setiap populasi, sehingga struktur genotipe akan mengarah pada peningkatan homozigot (Boer 2007). Meningkatnya homozigot dalam jangka panjang akan menimbulkan depresi *inbreeding* yang tidak menguntungkan bagi perkembangan jati.

Analisis hubungan kekerabatan menghasilkan dendrogram jarak genetika antara populasi jati dengan koefisien kemiripan antara 0.30-1.00 (Gambar 3). Semakin besar nilai koefisien maka hubungan kekerabatan maupun jarak geografis suatu populasi semakin dekat dan membentuk satu sub kelompok (Hartati *et al.* 2007), namun pada penelitian ini menunjukkan kecenderungan

yang berbeda, dalam hal ini kelompok APB Madura dan kelompok Jawa CSO Clangap tidak membentuk 1 sub kelompok daerah asal menyebar merata pada masing-masing sub kelompok.

Beberapa kultivar mempunyai koefisien kemiripan 100%, yang dapat terjadi karena pada penelitian ini terbatas hanya menggunakan 3 lokus, padahal lokus mikrosatelit berjumlah banyak dan tersebar di dalam genom tanaman (Solihin 2005). Analisis pada banyak lokus perlu dilakukan untuk memastikan kemiripan tersebut dan untuk mendapatkan pengelompokan provenan yang akurat.

Nilai diferensiasi genetika (G_{ST}) dapat ditunjukkan melalui nilai rata-rata keanekaragaman genetika antara populasi (D_{ST}), dalam populasi (H_S) dan nilai total keanekaragaman genetika. H_T masing-masing sebesar 0.0391; 0.5817 dan 0.6208. Nilai G_{ST} yang kecil menggambarkan tingkat keanekaragaman populasi total yang tinggi karena semakin tinggi keanekaragaman populasi total maka nilai koefisien diferensiasi genetika (G_{ST}) semakin rendah (Nei 1987). Nilai diferensiasi genetika dapat digunakan untuk mempelajari keanekaragaman genetika baik dalam populasi maupun antara populasi. Nilai H_S (0.5817) jauh lebih besar dari nilai D_{ST} (0.0391) yang mengindikasikan perbedaan genetika di dalam populasi lebih tinggi dibanding antar populasi. Penelitian lain pada

jati Jawa dan Sulawesi juga menunjukkan keanekaragaman genetika dalam populasi lebih tinggi dari pada keanekaragaman antara populasi dengan perbedaan genetika (G_{ST}) sebesar 0.1051 (Chasani 2007). Hasil analisis penelitian ini tidak terdeteksi alel spesifik, namun dideteksi 12 genotipe spesifik (Tabel 3) yang dapat menjadi ciri khas dari suatu tanaman tertentu (*fingerprinting*) apabila berkaitan dengan gen-gen penting yang bermanfaat (Santoso *et al.* 2006).

Analisis sidik jari pada jati bermanfaat untuk memudahkan karakterisasi plasma nutfah, untuk membuat pangkalan data (*database*) sebagai sumber pertukaran informasi dan sebagai langkah pemanfaatan dan perlindungan tanaman (Santoso *et al.* 2006).

Simpulan

Keanekaragaman genetika pada 46 sampel jati yang dianalisis menggunakan 3 lokus mikrosatelit dapat ditunjukkan dengan nilai H_o , H_e dan PIC berturut-turut 0.5122; 0.6221; 0.5818. Selain itu juga dianalisis melalui hubungan kekerabatan menghasilkan dendrogram dengan koefisien kemiripan antara 0.3-1.00 yang membentuk dua kelompok.

Koefisien D_{ST} sebesar 0.0629 yang menunjukkan tingkat keanekaragaman genetika yang tinggi, karena semakin rendah koefisien diferensiasi genetika maka tingkat keanekaragaman genetika semakin tinggi. Nilai H_s (0.5817) lebih besar dari nilai D_{ST} (0.0391), hal itu mengindikasikan perbedaan genetika di dalam populasi lebih tinggi dibanding antar populasi. Dari analisis mikrosatelit belum ditemukan alel spesifik, namun ditemukan 12 genotipe spesifik yang dapat menjadi ciri khas apabila berkaitan dengan gen-gen penting sehingga berpotensi untuk analisis *fingerprinting*.

Daftar Pustaka

Ambionet. 2004. Teknik Dasar Molekular untuk Pemuliaan Tanaman. Dalam: *Lokakarya* 19-23 Juli 2004. Bogor: Badan

- Penelitian dan Pengembangan Pertanian Ambionet Indonesia
- Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD, and Sorrels ME. 1993. Optimizing Parental Selection for Genetic Linkage Maps. *Genome* 36 : 181-186
- Brown TA 1991. *Pengantar Kloning Gen*. Soemiati AM dan Praseno (Penerjemah). Yogyakarta : Yayasan Esesntia Medica
- Boer D. 2007. Keragaman dan Stuktur Genetik Populasi Jati Suawesi Tenggara Berdasarkan Marka Mikrosatelit. *Disertasi*. Bogor : IPB
- Chasani A R. 2007. Studi Keanekaragaman Genetika dan Hubungan Kekerabatan Provenan Jati (*Tectona grandis* linn.f.) Menggunakan Penanda DNA. *Abstrak Jurnal Tesis Program Studi Bioteknologi*. Yogyakarta; Universitas Gajah Mada
- Courtois B. 2002. *Microsatellite Markers*. Cirad-Biotrop
- Doyle JJ dan Doyle JL. 1987. A Rapid Isolation Procedure from Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19 : 11-15
- Febrianto F, Syafii W, dan Barata A. 2000. Keawetan Alami Kayu Jati (*Tectona grandis* Linn. F) pada Berbagai Kelas Umur. *Jurnal Teknologi Hasil Hutan*, Fakultas Kehutanan IPB 8 (2) : 25-33
- Hamrick JL. 1989. *Isozyme and The Analysis of Genetic Structure in Plant Population*. In : ED. Soltis and Soltis, P.S (Eds). *Isozyme in Plant Biology* Dioscorides Press. Oregon pp.87-105
- Hartati D, Anto K, Taryono, Endang S, dan Widyatmoko A. 2007. Pendugaan Keragaman Genetik di Dalam dan Antar Provenan Pulaui (Alastonia Scholars (L.) R. Br.) Menggunakan Penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 1 (2): 1-8
- Jetse J, Bandelj D, Javornik B. 2002. Elavan New Microsatellites for hp (*Humulus lupulus* L.). *Mol Ecol Notes* 2: 540-546
- Kantety RV, Zeng X, Bennetzen JL, dan Zehr BE. 1995. Assessment of Genetic Diversity In Dent and Popcorn Inbred

- Lines Using Intersimple Sequence Repeat Amplification. *Mol. Breed I*: 365-373
- Lai Y, Deepali S, Norman A, and Fengzhu S. 2003. The Mutation Process of Microsatellites During the Polymerase Chain Reaction. *Journal of Computational Biology* 10 (2): 143-155
- Lowe A, Haris S dan Ashton P. 2004. *Ecological Genetics : Design, Analysis, and Application*. Blacwell Publishing. United Kingdom
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetika*. New York : Columbia University Press.
- Pandey RN, Adams RP dan Flournoy LE. 1996. Inhibition of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) by Plant Polysaccharides. *Plant Molec Biol reporter* 14: 15-22
- Pane I. 1986. *Pemuliabiakan Ternak Sapi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama
- Porebski S, Bailey LG dan Baum BM. 1997. Modification of CTAB DNA Extraction Protocol for Plants Containing High Polysaccharide and Polyphenol Components. *Plant Molec Biol reporter* 15: 8-15
- Prana TK dan Hartati NS. 2003. Identifikasi Sidik Jari DNA Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan Teknik RAPD: Skrining Primer dan Optimasi Kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia* 5 (2) : 107-112
- Qiagen. 2001. *Hotstar Taq PCR Handbook*. Germany : Qiagen.
- Retnoningsih A. 2009. Molecular Based Classification and Phylogenetic Analysis of Indonesian Banana Cultivars. *Disertasi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Rohlf. F J. 1998. *NTSYSpc : Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Sistem Version 2.0* . User Guide. Exeter Software Applied Biostatistics. Inc New York.
- Santoso TJ, Dwinita W, Utami, dan Endang MS. 2006. Analisis Sidik Jari DNA Plasma Nutfah Kedelai Menggunakan Marka SSR. *Jurnal Agrobiogen* 2 (1): 1-7
- Solihin DD. 2000. *Cara Mendesain Primer untuk Produk PCR yang Diharapkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Hal 3
- Solihin DD. 2005. Prinsip-prinsip dalam Teknologi Biologi Molekuler. *Pelatihan Singkat Teknik Biologi Molekuler : Eksplorasi Sumberdaya Genetik dengan Menggunakan Marka Molekuler*. Bogor 12-17 Desember 2005
- Toha AHA. 2004. *Ensiklopedia Biokimia and Biologi Molekuler*. Manukwari: Universitas Negeri Papua
- Zobel B and Talbert J. 1984. *Applied Forest Tree Improvement*. Canada: John Wiley and Sons