

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jenis kelamin menjadi salah satu studi genetik yang menarik pada tanaman *dioecious*. Jenis kelamin betina menjamin keberlangsungan hidup suatu individu, dan juga penting dalam memperbaiki sifat genetik melalui hibridisasi dan seleksi. Tanaman salak merupakan tanaman asli tropik yang banyak ditemukan di Indonesia, selain juga Malaysia, dan Thailand. Sampai saat ini, lebih dari 20 spesies yang sudah diidentifikasi. Dilihat dari aspek pembungaan tanaman salak terdiri dari *monoecious*, *dioecious*, dan hermaprodit. Tanaman salak *monoecious* memiliki bunga jantan dan bunga betina dalam satu tanaman, tanaman salak *dioecious* memiliki bunga jantan dan betina tidak pada satu tanaman, sedangkan salak hermaprodit hanya memiliki satu bunga yang memiliki benang sari dan putik (Soetomo, 2001).

Budidaya tanaman salak *dioecious* seperti Salak Pondoh sangat ditentukan oleh rasio antara tanaman betina dan jantan. Hal ini tentunya merupakan satu permasalahan dalam budidaya tanaman salak. Menurut Schuliling dan Moge (1992), rasio tanaman betina dan jantan di lapangan adalah 4 : 1. Menurut Fajriani *et al.*, (2009), ketersediaan bibit salak dalam jumlah yang banyak untuk penanaman pada lahan penanaman baru petani umumnya menggunakan bibit yang berasal dari biji. Penentuan kelamin tanaman yang berasal dari biji dapat dipastikan setelah tanaman berumur 3 atau 4 tahun. Menurut Yang *et al.*, (2005), identifikasi kelamin tanaman *dioecious* sangat penting, karena tanaman ini bernilai ekonomi untuk menghasilkan biji dan buah.

Salah satu strategi yang dapat dilakukan untuk menentukan kelamin salak yang bertipe *dioecious* adalah dengan pendeteksian secara dini melalui *Marker Assisted Selection* (MAS) terkait sifat atau karakteristik tertentu. Marka yang sering digunakan saat ini sebagai pembeda adalah marka morfologi dan molekuler (isozim, protein, dan DNA). Menurut Renganayaki *et al.*, (2005), penggunaan marka morfologi terkait dengan kelamin tanaman *dioecious* sangat sulit dilakukan. Hadi *et al.*, (2002) menyatakan bahwa, jumlah biji tidak memberikan informasi yang akurat pada tanaman salak *dioecious* seperti Salak Pondoh. Lebih lanjut Fajriani *et al.*, (2009) menjelaskan, penggunaan isozim dapat membedakan kelamin Salak Pondoh. Menurut Jamsari (2007), penggunaan marka isozim dan protein meskipun lebih akurat dibandingkan dengan marka morfologi, tetapi tidak banyak mengalami perkembangan akibat terbatasnya marka yang tersedia. Disamping itu penggunaan marka morfologi dan biokimia seperti isozim sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Menurut Prajianto (2002), marka lain yang dapat digunakan untuk membedakan kelamin Salak Pondoh adalah yang dilakukan berdasarkan bentuk kromosom (karyotipe), tetapi marka tidak aplikatif karena sangat tergantung pada fase pertumbuhan sel, dan membutuhkan keahlian tertentu.

Perkembangan marka DNA pada awal tahun 1980 membawa perubahan secara mendasar dalam bidang biologi molekuler. Seleksi yang akurat terhadap suatu karakter yang diinginkan adalah dengan berdasarkan pada gen pengendali karakter tersebut. Menurut Weising *et al.*, (1994), marka DNA jumlahnya tidak terbatas dan dapat mencakup seluruh genom tanaman, dan tidak dipengaruhi oleh regulasi perkembangan jaringan, sehingga dapat dideteksi pada seluruh jaringan, dan memiliki kemampuan yang tinggi terhadap keragaman antar individu.

Bunga merupakan organ penting bagi perkembangbiakan tanaman yang dikendalikan oleh gen terkait dengan ekspresi kelamin. Menurut Parrish *et al.*, (2004), gen terkait pengendali kelamin terdapat pada satu lokus, multi lokus yang berikatan kuat dalam *autosom*, atau tidak berikatan pada *autosom*, dan beberapa gen yang berada pada kromosom heteromorfik. Penelitian yang dilakukan oleh Durand and Durand (1991) menunjukkan bahwa, kelamin tanaman *dioecious* seperti *Mercurialis annua* dikendalikan oleh tiga gen, sedangkan pepaya dikendalikan 1 gen (Hofmeyr, 1941; dan Storey, 1953).

Marka DNA dapat mengidentifikasi karakteristik tertentu pada tingkat genom dengan akurasi tinggi dan tidak dipengaruhi faktor lingkungan. Menurut Azrai (2005), marka DNA didasarkan pada sifat genetik tanaman. Selanjutnya Jamsari (2007), Agrawal and Shrivastava (2008), serta Mondini *et al.*, (2009) menyatakan bahwa, suatu marka DNA harus memiliki polimorfisme yang tinggi, ditemukan dalam seluruh genom organisme, membutuhkan sedikit DNA sampel, tidak membutuhkan informasi genom dari suatu organisme, memiliki pola pewarisan ko-dominan, sederhana, cepat, dan tidak mahal, serta bersifat reproduibel.

Kajian menggunakan marka DNA dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang telah dilakukan dapat memberikan informasi awal, seperti resistensi terhadap hama dan penyakit, serta kelamin. Hasil penelitian mengenai identifikasi terkait dengan kelamin pada tanaman *dioecious* telah banyak memberikan kontribusi diantaranya asparagus (Brecalé *et al.*, 1993), Jamsari *et al.*, (2004), dan Ii *et al.*, (2012), pepaya (Paranis *et al.*, 2000), *Trichosanthes dioica* (Kumar *et al.*, 2008), ginkgo (Liao *et al.*, 2009). Hal ini tentu penting dan

menjadikan marka molekuler yang digunakan mampu mempercepat seleksi, terutama terkait pembeda kelamin.

Akurasi yang cukup tinggi dari marka DNA terkait kelamin tanaman salak *dioecious* dapat dijadikan sebagai salah satu strategi dalam menentukan kelamin tanaman salak *dioecious* secara dini pada tahap benih atau kecambah. Menurut Mondini *et al.*, (2009), teknik yang berbasis marka DNA bisa dikelompokkan dalam dua kategori ; teknik yang berbasis hibridisasi dan teknik yang berbasis PCR. Teknik hibridisasi adalah *Restriction Fragment Length Polimorphism* (RFLP). Teknik berbasis PCR diantaranya adalah, *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (Williams *et al.*, 1990), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) (Vos *et al.*, 1995), *Simple Sequence Repeat Polymorphism* (SSR) (Becker and Heun, 1995), *Single-Nucleotide Polymorphism* (SNP) (Kruglyak, 1997), *Intron Length Polymorphism* (ILP) (Choi *et al.*, 2004), dan berbagai marka DNA lanjutannya. Penggunaan suatu jenis marka DNA perlu mempertimbangkan tujuan yang ingin dicapai, sumber dana yang dimiliki, fasilitas yang tersedia, kelebihan dan kekurangan marka digunakan.

RAPD merupakan salah satu marka berbasis DNA yang menggunakan PCR dan primer acak yang berukuran 10 nukleotida. Menurut Ii *et al.*, (2012), RAPD menggunakan teknik yang sederhana, tidak memerlukan informasi sekuen dari primer. Menurut Person *et al.*, (1992) dan Kumar *et al.*, (2014), teknik RAPD membutuhkan DNA sedikit (5 – 50 ng/reaksi), dan tanpa radioaktif, namun disisi lain teknik RAPD memiliki kekurangan. Menurut Welsh and Celand (1990), RAPD memiliki reproduktifitas fragmen rendah. Jamsari (2007) juga menambahkan, terjadinya komigrasi dari fragmen yang berbeda dengan berat molekul yang sama. Suhu *annealing* yang rendah dapat mengurangi sensitifitas reaksi. Hal ini

mengakibatkan sulit untuk menginterpretasikan fragmen terkait karakteristik tertentu.

Marka DNA yang ada biasanya tidak dapat memenuhi semua syarat ideal. Fragmen terkait kelamin tanaman *dioecious* dari marka RAPD dapat dikembangkan menjadi marka baru seperti marka *Sequence Characterized Amplified Region* (SCAR). Menurut Paran dan Michelmore (1993), SCAR merupakan fragmen DNA yang diamplifikasi menggunakan primer spesifik yang didisain dari sekuen nukleotida yang berasal dari fragmen RAPD yang terkait karakteristik tertentu. Menurut Jangra *et al.*, (2014), marka SCAR lebih sensitif terhadap kondisi reaksi PCR, lokus spesifik, dan bisa diskor pada gel agarose, suhu *annealing* yang tinggi, dan dapat dilakukan berulang.

Penelitian dengan menggunakan marka SCAR terkait kelamin tanaman *dioecious* telah berhasil dilakukan seperti tanaman asparagus (Jamsari *et al.*, 2004), *Pistacia vera* L., (Yakubov *et al.*, 2005), *P. chinensis* Bunge (Sun *et al.*, 2014). Penggunaan teknik PCR dengan menggunakan marka SCAR yang berasal dari fragmen spesifik dari marka RAPD sebagai pembeda kelamin dapat dikembangkan sebagai suatu sistem penentuan secara dini terkait kelamin tanaman salak *dioecious*.

1.2 Rumusan Masalah

Tanaman salak memiliki tipe bunga *monoecious*, *dioecious*, dan hermaphrodit. Salak Pondoh termasuk tipe *dioecious* yang banyak dibudidayakan. Rasio tanaman betina dan jantan sangat menentukan keberhasilan budidaya. Salah satu kendala budidaya adalah sulit untuk mendapatkan rasio yang ideal antara betina dan jantan (4:1) pada bibit yang berasal dari biji. Tanaman jantan dan betina dapat dipastikan setelah tanaman berumur 3 atau 4 tahun. Strategi

penentuan kelamin secara dini tanaman salak *dioecious* dilakukan berdasarkan karakterisasi morfologi, isozim, dan kromosom. Karakterisasi morfologi dan marka isozim jumlahnya terbatas yang sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Penggunaan kromosom dapat memberikan informasi terhadap perbedaan kelamin jantan dan betina, tetapi tidak aplikatif karena dibatasi oleh waktu dan pertumbuhan sel. Penggunaan marka molekuler (DNA) merupakan salah satu strategi yang mampu memberikan informasi dini terkait kelamin tanaman salak *dioecious*. Fragmen spesifik terkait kelamin pada tanaman salak *dioecious* dari primer RAPD dapat dikembangkan menjadi marka yang dapat digunakan sebagai pembeda kelamin tanaman salak *dioecious* pada tahap dini.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan informasi polimorfisme dari primer RAPD terkait kelamin tanaman salak *dioecious*.
2. Mendapatkan primer RAPD spesifik terkait kelamin tanaman salak *dioecious*.
3. Mendapatkan informasi fragmen spesifik dengan RAPD terkait kelamin tanaman salak *dioecious*.
4. Mendapatkan primer spesifik yang mampu dikembangkan sebagai salah satu strategi dalam penentuan secara dini terkait kelamin tanaman salak *dioecious* dengan tingkat akurasi tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam sistem penentuan secara dini terhadap kelamin tanaman salak *dioecious*, sehingga proses seleksi jenis kelamin dapat dilakukan dengan lebih akurat dan cepat yang sangat membantu proses produksi bibit dalam budidaya tanaman salak *dioecious*.

2. Mempercepat seleksi jenis kelamin akan memperkecil biaya produksi terutama dari aspek tenaga kerja dan biaya pemeliharaan.
3. Ketersediaan sistem deteksi dini jenis kelamin berbasis molekuler akan membuka peluang yang lebih luas terhadap studi aspek genetik penentuan kelamin pada tanaman salak *dioecious*.

