

IDENTIFIKASI PENANDA ISOZIM PER-7, PER-8, DAN RAPD OB17₃₇₅ PADA KELAPA GENJAH SALAK (GSK) DAN BEBERAPA HASIL SILANGANNYA DENGAN KELAPA DALAM

Semuel D. Runtunuwu¹⁾²⁾ dan Eddy F Lengkong¹⁾

ABSTRACT

Runtunuwu, S.D. and E.F. Lengkong. 2005. Identification of Isozyme Markers (PER-7, PER-8, and RAPD OB17₃₇₅) of Dwarf Salak Coconut (GSK) and its Tall Hibrids. *Eugenia 11 (1) : 8-17.*

The objective of this research was to identify PER-7 and PER-8 isozymes, and OB17₃₇₅ RAPD as molecular markers for resistance to NF *Phytophthora* disease in Genjah Salak (GSK) dwarf coconut and its several hybrids with Tall coconut at The Research Institute for Coconut and Palmae (RICP) Manado. Coconut resistance to NF *Phytophthora* disease was determined based on disease lesion size of inoculated coconut fruits at 7 days after inoculation. PER-7 and PER-8 isozymes marker were identified using horizontal starch gel electrophoresis, and OB17₃₇₅ RAPD marker was identified based on polymerase chain reaction (PCR) using kit B number 17 primer (Operon Technologies, California). PER-7 isozyme marker could be used to select GSK x DTA (Dalam Tenga) and GSK x RLT (Rennell Tall) hybrid coconuts that resistant to NF *Phytophthora* disease. PER-7 isozyme without OB17₃₇₅ markers (PER-7/-) could be used to select resistant GSK x WAT (West African Tall) hybrid coconut to the disease.

Keywords : Isozymes, RAPD, Molecular marker, *Phytophthora* disease, coconut

PENDAHULUAN

Gugur buah (GB) dan busuk pucuk (BP), yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* Butler, merupakan salah satu penyakit yang penting pada tanaman kelapa di Indonesia. GB *Phytophthora* menggugurkan buah kelapa sebelum buah matang panen sedangkan BP *Phytophthora* mematikan tanaman kelapa dewasa. Penyakit ini mulai menjadi masalah serius di Indonesia setelah terjadi ledakan serangan di enam propinsi pusat pengembangan tanaman kelapa Hibrida PB-121 (Novarianto *et al.* 1994).

Program pemuliaan ketahanan tanaman ini terhadap penyakit tersebut meliputi beberapa kegiatan, yaitu menyeleksi

individu pohon kelapa yang berproduksi tinggi dan individu pohon kelapa yang tahan GB *Phytophthora*, menyilang hasil seleksi tersebut, dan menyeleksi hasil silangan.

Balai Penelitian Tanaman Kelapa (BALITKA) dan Palma Lain Mapanget mendapatkan kelapa hibrida hasil silangan antara kelapa Genjah Salak (GSK) lebih tahan penyakit *Phytophthora* dibandingkan dengan kelapa hibrida hasil silangan antara beberapa kelapa tipe Genjah lainnya dengan tetua kelapa tipe Dalam yang sama (Mangindaan *et al.* 2000).

Di pihak lain, Runtunuwu *et al.* (1999) mendapatkan diantara 238 pohon kelapa GSK di Loka Penelitian Pola Tanam Kelapa (LOLITKA) Pakuwon terdapat

¹⁾ Lab. Genetika dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian UNSRAT Manado, 95115

²⁾ Lab. Fisiologi Tanaman Fakultas Pertanian UNSRAT Manado, 95115

226 pohon kelapa tahan sedangkan 12 pohon kelapa lainnya rentan terhadap GB *Phytophthora*. Selanjutnya secara molekular, pohon kelapa GSK yang tahan dan yang rentan penyakit tersebut dapat dibedakan oleh penanda isozim peroksidase (PER) dan RAPD (*Random amplified polymorphic DNA*). Isozim PER-7 ditemukan pada kelapa yang tahan, sedangkan isozim PER-8 dan RAPD OB17₃₇₅ ditemukan pada kelapa yang rentan penyakit (Runtunuwu *et al.* 2000).

Tujuan penelitian ini adalah untuk (1). Mengidentifikasi penanda isozim PER-7, PER-8, dan RAPD OB17₃₇₅ pada kelapa GSK dan beberapa hasil silangannya dengan kelapa Dalam di BALITKA Mapanget dan (2). Mengetahui pemanfaatan penanda molekular tersebut dalam menyeleksi kelapa hibrida yang tahan terhadap GB *Phytophthora*.

METODE PENELITIAN

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah 1). Kelapa Genjah Salak (GSK)^(*), 2). Kelapa Dalam Tenga (DTA)^(*), 3). Kelapa Dalam Sawarna (DSA)^(*), 4). Kelapa *Rennell Tall* (RLT)^(*), 5). Kelapa *Polynesian Yellow Tahiti* (PYT)^(*), 6). Kelapa *West African Tall* (WAT)^(*), 7) Kelapa GSK x DTA^(*), 8). Kelapa GSK x DSA^(*), 9) Kelapa GSK x RLT^(*), 10). Kelapa GSK x PYT^(*), dan 11). Kelapa GSK x WAT^(*), yang ditanam di Balai Penelitian Kelapa dan Palma Lain (BALITKA) Mapanget^(*) dan di PTPN IV Unit Halmahera Utara di Boyong Atas ^(*). Masing-masing kultivar dianalisis 10 pohon kelapa, kecuali kelapa PYT hanya 3 pohon untuk pembandingan saja, karena polen yang digunakan untuk menyerbuki kelapa GSK langsung diambil dari Tahiti. Sedangkan inokulum yang digunakan adalah isolat *Phytophthora palmivora* Co5 Pakuwon.

Pengujian Ketahanan Individu Pohon Kelapa terhadap GB *Phytophthora*

Ketahanan kelapa hibrida dan tetuanya yang dianalisis isozim dan RAPD-nya telah diketahui ketahanannya terhadap BP *Phytophthora* (Mangindaan *et al.* 2000). Tetapi ketahanannya terhadap GB *Phytophthora* belum tentu sama, oleh karena itu ketahanannya terhadap penyakit tersebut perlu diuji. Metode pengujian yang digunakan adalah metode inokulasi dengan pelukaan buah kelapa di laboratorium (Pohe 1992). Luas bercak penyakit (LBP) diamati pada hari ketujuh setelah buah kelapa inokulasi. LBP yang relatif kecil dikategorikan tahan, sedangkan LBP yang relatif besar dikategorikan rentan penyakit (Runtunuwu *et al.* 1999).

Analisis Isozim

Analisis pola pita isozim peroksidase dilakukan menggunakan metode elektroforesis gel pati horisontal mengikuti Novarianto *et al.* (1992). Enzim diekstrak dari daun kelapa muda dalam buffer ekstrak yang mengandung 10 mM L-asam askorbat, 10 mM L-sistein, 3 % triton X-100 (v/v), 250 mg PVP-40, dan 0,1 M Na₂HPO₄ pH 7 (Horry, 1989). Setelah gel dicetak, enzim diambil menggunakan potongan kertas serap Whatman 3MM dan disisipkan pada bagian tengah lempengan gel lalu dielektroforesis menggunakan buffer elektroforesis yang mengandung 50 mM asam sitrat monohidrat dan 150 mM Tris pH 6,0 (Horry 1989). Elektroforesis dilakukan selama 8 jam pada 200 V. Setelah dielektroforesis, enzim diwarnai sesuai Wendel dan Weeden (1989). Data yang diperoleh diterjemahkan ke dalam bentuk zimogram.

Analisis RAPD (*Random amplified polymorphic DNA*).

Ekstraksi DNA total kelapa dilakukan menggunakan buffer ekstrak CTAB [100 mM Tris-HCl pH 8, 20 mM EDTA, 2 % CTAB (b/v), dan 2 % β -merkaptotanol (v/v) yang ditambahkan pada saat digunakan] (Rohde *et al.* 1995). Kuantitas dan kualitas DNA yang diekstraksi ditentukan berdasarkan nilai absorbansi A_{260} dan A_{280} (Sambrook *et al.* 1989).

Amplifikasi PCR (*polymerase chain reaction*) DNA total tanaman kelapa dilakukan menggunakan primer Operon kit B nomor 17 dengan reaksi PCR sesuai protokol Promega dengan sedikit perubahan. Volume final reaksi dibuat sebanyak 40 μ l, yang mengandung 1x buffer PCR, 200 μ M dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP), 2,5 mM $MgCl_2$, 1 u *Tag* DNA polimerase, 5 pMol primer, dan 50 ng DNA total. Amplifikasi menggunakan mesin PCR *GeneAmp PCR System 2400 Thermal Cycler*, Perkin Elmer, dengan kondisi PCR sebagai berikut: (1) Pra-PCR 94°C/5 menit, (2) Denaturasi DNA 94°C/1 menit, (3) Pelekatan primer 37.0°C/1 menit, (4) Pemanjangan DNA 72°C/2 menit, (5) Post-PCR 72°C/3 menit. Tahap 2 – 4 dilakukan sebanyak 40 siklus. DNA hasil amplifikasi PCR dielektroforesis dalam 0,8 % gel agaros selama 2 jam 30 menit pada 70 V. Setelah direndam dalam 0,5 μ g/ml larutan etidium bromida, gel direndam dalam air untuk menghilangkan sisa etidium bromidanya. Polimorfisme pola pita DNA yang diamplifikasi diamati dan difoto di

atas lampu transilluminator UV (Sambrook *et al.* 1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketahanan Individu Pohon Kelapa Terhadap GB *Phytophthora*

Luas bercak penyakit (LBP) buah kelapa Genjah Salak (GSK) dan beberapa hasil silangannya dengan kelapa Dalam di BALITKA Mapanget, yang diinokulasi dengan isolat *Phytophthora palmivora* Co5 Pakuwon beragam. Nilai LBP terkecil (0,5 cm²) ditemukan pada kelapa RLT dan PYT, sedangkan terbesar (99,5 cm²) ditemukan pada kelapa WAT. Kelapa RLT dan PYT walaupun mempunyai LBP terkecil tetapi sebaran nilainya luas, berturut-turut 0,5 cm² – 50,3 cm² dan 0,5 cm² – 79,3 cm². Kelapa GSK, yang dilaporkan tahan GB *Phytophthora* (Runtuuwu *et al.* 1999), walaupun nilai LBP terkecilnya lebih besar dari LBP terkecil kelapa RLT dan PYT (0,5 cm²) tetapi sebarannya lebih sempit, yaitu 4,0 cm²– 29,0 cm². Sebaliknya, kelapa WAT yang dilaporkan rentan terhadap penyakit tersebut (Renard 1992) mempunyai nilai LBP paling besar (99,5 cm²) juga dengan nilai LBP terkecilnya yang cukup besar (55,8 cm²). Dengan demikian individu-individu pohon kelapa yang mempunyai LBP \leq 29,0 cm² dikategorikan tahan, sedangkan individu-individu pohon kelapa yang mempunyai LBP $>$ 29,0 cm² dikategorikan rentan terhadap penyakit GB *Phytophthora*.

Tabel 1. Kisaran LBP dan Ketahanan Terhadap GB *Phytophthora* Populasi Kelapa GSK dan Beberapa Hasil Silangannya dengan Kelapa Dalam (*The Range of LBP and Resistance to GB Phytophthora Population of GSK Coconut and its Several Tall Hybrids*)

No	Populasi kelapa	Kisaran LBP	Ketahanan	
			Tahan	Rentan
	Tetua	... cm ² pohonPohon ..
1.	Genjah Salak (GSK)	2,0 – 29,0	10	0
2.	<i>West African Tall</i> (WAT)	55,0 – 99,5	0	10
3.	Dalam Sawarna (DSA)	10,0 – 78,7	5	5
4.	Dalam Tenga (DTA)	4,0 – 27,0	10	0
5.	<i>Rennel Tall</i> (RLT)	0,5 - 50,3	9	1
6.	<i>Polynesian Yellow Tall</i> (PYT)	0,5 - 79,3	2	1
	Hibrida			
7.	GSK x DTA	10,3 - 35,8	10	0
8.	GSK x DSA	6,7 - 55,5	6	4
9.	GSK x WAT	15,0 - 59,0	6	4
10.	GSK x RLT	1,5 - 23,8	10	0
11.	GSK x PYT	5,0 - 36,8	8	2

Keterangan : LBP = Luas bercak penyakit.

Berdasarkan kriteria tersebut di atas, maka populasi kelapa GSK, DTA dan silangan GSK x RLT dan GSK x DTA tergolong tahan, sedangkan kelapa WAT tergolong rentan. Selanjutnya, ketahanan terhadap GB *Phytophthora* populasi kelapa lainnya beragam diantara individu pohon di dalam populasinya (Tabel 1).

Melihat ketahanan terhadap GB *Phytophthora* pohon kelapa tetua dan hasil silangannya, ada beberapa hal yang menarik untuk dipelajari lebih lanjut. Silangan kelapa GSK yang tahan dengan kelapa WAT yang rentan (GSK x WAT) menghasilkan 6 pohon kelapa tahan dan 4 pohon kelapa rentan penyakit. Silangan kelapa GSK yang tahan dengan kelapa RLT (9 pohon tahan dan 1 pohon rentan) (GSK x RLT) menghasilkan semuanya (10 pohon) tahan penyakit. Hal yang serupa terlihat juga pada silangan lainnya. Hal tersebut terjadi mungkin karena persilangan dilakukan secara *bulk*. Polen dari beberapa pohon tetua jantan dicampurkan jadi satu lalu digunakan untuk menyerbuki

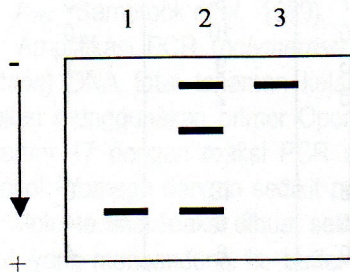
tetua betina (kelapa GSK), juga bisa karena individu pohon kelapa yang dianalisis tidak sama dengan individu pohon kelapa yang disilangkan oleh BALITKA Mapanget (Novariant dan Mangindaan 2000. Komunikasi pribadi). Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan persilangan harus dilakukan secara individu pohon.

Pola Pita Isozim PER Kelapa dan Ketahanannya Terhadap GB *Phytophthora*

Hasil analisis isozim peroksidase (PER) menunjukkan umumnya (87 %) individu pohon kelapa mempunyai penanda PER-7, sedangkan sebahagian kecil (11 % dan 2 %) individu pohon kelapa, berturut-turut mempunyai penanda PER-8 dan PER-9. Penanda PER-9 adalah pola pita isozim peroksidase yang baru. Zimogram ketiga penanda isozim PER tersebut di atas seperti disajikan pada Gambar 1.

Pada populasi kelapa tetua, penanda PER-7 ditemukan pada kelapa GSK, DSA, DTA, RLT, dan PYT, sedangkan pe-

nanda PER-8 dan PER-9 ditemukan hanya pada kelapa WAT. Pada kelapa hasil silangan, penanda PER-7 ditemukan pada semua kombinasi silangan, sedangkan penanda PER-8 ditemukan hanya pada hasil silangan GSK x WAT, sebaliknya PER-9 tidak ditemukan pada hasil silangan GSK x WAT (Tabel 2).



Gambar 1. Penanda Isozim Peroksidase (PER) Kelapa. 1. PER-7, 2. PER- 8, dan 3. PER-9 (Isozyme Markers Peroxidase (PER) of Coconut)

Keberadaan penanda isozim PER pada kelapa tua dan kelapa hasil silangan dihubungkan dengan ketahanannya terhadap GB *Phytophthora* beragam. Penanda PER-7 ditemukan pada individu pohon kelapa GSK dan DTA yang tahan. Sedangkan pada populasi kelapa lainnya, penanda tersebut ditemukan baik pada individu pohon kelapa yang tahan maupun yang rentan penyakit. Penanda PER-8 dan PER-9 ditemukan pada kelapa WAT yang rentan penyakit (Tabel 2).

Ditemukannya isozim PER-8 pada populasi kelapa WAT yang rentan terhadap GB *Phytophthora* sesuai dengan hipotesis Runtunuwu *et al.* (2000) bahwa penanda rentan PER-8 pada populasi kelapa GSK di LOLITKA Pakuwon diduga berasal dari silangan terbuka kelapa Hibri-

da PB-121 yang rentan terhadap *Phytophthora*, yang tumbuh di sekitar kelapa GSK di Pagilaran (sumber benih kelapa GSK di LOLITKA Pakuwon). Sifat rentan terhadap penyakit tersebut diwarisi dari kelapa Hibrida PB-121 yang rentan penyakit, yaitu kelapa WAT.

Penanda RAPD OB1₃₇₅ dan ketahan kelapanya terhadap GB *Phytophthora*

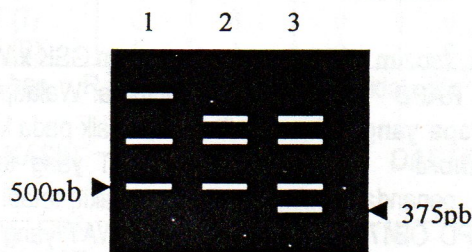
Hasil analisis RAPD dari enam populasi kelapa tua dan lima kelapa hibridanya menunjukkan bahwa penanda RAPD OB1₃₇₅ (Gambar 2) ditemukan pada populasi kelapa WAT, RLT dan PYT, sedangkan pada populasi kelapa GSK, DSA, dan DTA penanda ini tidak ditemukan (Tabel 2).

Pada populasi kelapa tua, penanda RAPD OB1₃₇₅ ditemukan pada populasi kelapa WAT yang rentan, sebaliknya kelapa RLT ditemukan pada yang tahan, sedangkan kelapa PYT ditemukan pada yang tahan dan rentan penyakit. Pada kelapa hasil silangan, penanda RAPD tersebut ditemukan pada silangan GSK x WAT dan GSK x PYT yang rentan, sedangkan pada silangan GSK x RLT ditemukan pada yang tahan.

Ditemukannya penanda RAPD OB1₃₇₅ pada populasi kelapa WAT yang rentan terhadap GB *Phytophthora* juga sesuai dengan hipotesis Runtunuwu *et al.* (2000) bahwa penanda rentan RAPD OB1₃₇₅ pada populasi kelapa GSK di LOLITKA Pakuwon diduga berasal dari silangan terbuka kelapa Hibrida PB-121 yang rentan penyakit *Phytophthora*, yang tumbuh di sekitar kelapa GSK di Pagilaran (sumber benih kelapa GSK di LOLITKA Pakuwon). Sifat rentan penyakit tersebut diwarisi dari kelapa Hibrida PB-121 yang rentan *Phytophthora*, yaitu kelapa WAT.

Tabel 2. Ketahanan Kelapa Terhadap GB *Phytophthora* dan Keberadaan Penanda Isozim Peroksidase (PER) (*Coconut Resistance to GB Phytophthora and Isozyme Marker Peroxidase (PER)*)

No	Populasi Kelapa	Fenotipe	PER		
			7	8	9
Tetua					
1.	GSK	Tahan	10	0	0
2.	DSA	Tahan	5	0	0
3.	DSA	Rentan	5	0	0
4.	DTA	Tahan	10	0	0
5.	WAT	Rentan	0	8	2
6.	RLT	Tahan	9	0	0
7.	RLT	Rentan	1	0	0
8.	PYT	Tahan	2	0	0
9.	PYT	Rentan	1	0	0
Hibrida					
10.	GSK x DSA	Tahan	9	0	0
11.	GSK x DSA	Rentan	1	0	0
12.	GSK x DTA	Tahan	10	0	0
13.	GSK x WAT	Tahan	5	0	0
14.	GSK x WAT	Rentan	2	3	0
15.	GSK x RLT	Tahan	10	0	0
16.	GSK x PYT	Tahan	8	0	0
17.	GSK x PYT	Rentan	2	0	0



Gambar 2. Penanda RAPD OB17₃₇₅ pada kelapa 1. Penanda ukuran DNA 1 kb DNA ladder. 2. Tidak ada penanda (-). 3. Ada penanda (+). Tanda panah adalah pita DNA berukuran 375 pb (pasangan basa) (RAPD OB17₃₇₅ Marker on Coconut 1. DNA 1 kb Marker DNA Ladder. 2. Without Marker (-). 3. With Marker (+). The Arrow Sign is 375 DNA Band (base pair))

Ditemukannya penanda RAPD OB17₃₇₅ pada populasi kelapa WAT yang rentan terhadap GB *Phytophthora* juga sesuai dengan hipotesis Runtunuwu *et al.* (2000) bahwa penanda rentan RAPD OB17₃₇₅ pada populasi kelapa GSK di LOLITKA Pakuwon diduga berasal dari si-

langan terbuka kelapa Hibrida PB-121 yang rentan penyakit *Phytophthora*, yang tumbuh di sekitar kelapa GSK di Pagilaran (sumber benih kelapa GSK di LOLITKA Pakuwon). Sifat rentan penyakit tersebut diwarisi dari kelapa Hibrida PB-121 yang rentan *Phytophthora*, yaitu kelapa WAT.

Tabel 3. Ketahanan Kelapa Terhadap GB *Phytophthora* dan Keberadaan Penanda RAPD OB17₃₇₅ (*Resistance of Coconut to GB Phytophthora and RAPD OB17₃₇₅ Marker*)

No	Populasi Kelapa	Fenotipe	RAPD OB17 ₃₇₅	
			+	-
	Tetua			
1.	GSK	Tahan	0	10
2.	WAT	Rentan	10	0
3.	DTA	Tahan	0	10
4.	DSA	Tahan	0	5
5.	DSA	Rentan	0	5
6.	RLT	Tahan	4	5
7.	RLT	Rentan	0	1
8.	PYT	Tahan	2	0
9.	PYT	Rentan	1	0
	Hibrida			
10	GSK x DTA	Tahan	0	10
11.	GSK x DSA	Tahan	0	6
12.	GSK x DSA	Rentan	0	4
13.	GSK x WAT	Tahan	0	5
14	GSK x WAT	Rentan	2	3
15.	GSK x RLT	Tahan	1	9
16.	GSK x PYT	Tahan	0	8
17.	GSK x PYT	Rentan	1	1

Keterangan : + = Ada, - = Tidak ada.

Penggunaan Penanda Isozim PER-7, PER-8, PER-9 dan RAPD OB17₃₇₅ Dalam Menyeleksi Kelapa yang Tahan Terhadap GB *Phytophthora*

Kalau keberadaan penanda isozim PER-7, PER-8, dan RAPD OB17₃₇₅ dihubungkan dengan ketahanan terhadap GB *Phytophthora* individu pohon kelapa tetua dan hasil silangannya (Tabel 3), maka penanda isozim PER-7 dapat digunakan untuk menyeleksi kelapa hasil silangan GSK x DTA dan GSK x RLT yang tahan penyakit. Penanda ini ditemukan pada individu pohon kelapa yang tahan penyakit, baik pada kelapa tetua maupun pada kelapa hasil silangan.

Selanjutnya, penanda isozim PER-7 tanpa penanda RAPD OB17₃₇₅ (PER-7/-) dapat digunakan untuk menyeleksi kelapa

hasil silangan GSK x WAT yang tahan GB *Phytophthora*. Walaupun penanda PER-7 ditemukan baik pada kelapa hasil silangan GSK x WAT yang tahan maupun yang rentan penyakit, tetapi kelapa hasil silangan GSK x WAT yang rentan mempunyai penanda PER-7 dan penanda RAPD OB17₃₇₅ (PER7/+), sedangkan kelapa hasil silangan yang tahan mempunyai penanda PER-7 tetapi tidak mempunyai penanda RAPD OB17₃₇₅ (PER7/-). Selanjutnya, penanda isozim PER-7 tanpa penanda RAPD OB17₃₇₅ (PER-7/-) dapat digunakan untuk menyeleksi kelapa hasil silangan GSK x WAT yang tahan GB *Phytophthora*. Walaupun penanda PER-7 ditemukan baik pada kelapa hasil silangan GSK x WAT yang tahan maupun yang rentan penyakit, tetapi kelapa hasil silang-

an GSK x WAT yang rentan mempunyai sil silangan yang tahan mempunyai penanda PER-7 dan penanda RAPD OB17₃₇₅ (PER7/+), sedangkan kelapa ha- penanda PER-7 tetapi tidak mempunyai penanda RAPD OB17₃₇₅ (PER7/-).

Tabel 4. Ketahanan Kelapa Tetua dan Hasil Silangannya Terhadap GB *Phytophthora* dan Keberadaan Penanda PER-7, PER-8, PER-9, serta RAPD OB17₃₇₅ (*Resistance of Coconut to GB Phytophthora and PER-7; PER-8; PER-9 and RAPD OB17₃₇₅ Markers*)

No.	Populasi Kelapa	Penanda Isozim PER/RAPD OB17 ₃₇₅					
		7/+	7/-	8/+	8/-	9/+	9/-
	Tetua						
1.	GSK (T)	0	10	0	0	0	0
2.	DSA (T)	0	5	0	0	0	0
3.	DSA (R)	0	5	0	0	0	0
4.	DTA (T)	0	10	0	0	0	0
5.	WAT (R)	0	0	8	0	2	0
6.	RLT (T)	4	5	0	0	0	0
7.	RLT (R)	0	1	0	0	0	0
8.	PYT (T)	2	0	0	0	0	0
9.	PYT (R)	1	0	0	0	0	0
	Hibrida						
10.	GSK x DSA (T)	0	6	0	0	0	0
11.	GSK x DSA (R)	0	4	0	0	0	0
12.	GSK x DTA (T)	0	10	0	0	0	0
13.	GSK x WAT (T)	0	5	0	0	0	0
14.	GSK x WAT (R)	2	0	1	2	0	0
15.	GSK x RLT (T)	1	9	0	0	0	0
16.	GSK x PYT (T)	0	8	0	0	0	0
17.	GSK x PYT (R)	1	1	0	0	0	0

Keterangan ; T = Tahan , R = Rentan , + = Ada , - = Tidak ada

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada: 1). DCRG-URGE DEPDIKNAS Tahun 2000/2001 yang telah menyediakan dana penelitian, 2). Direktur PSIH-IPB Bogor yang telah mengizinkan peneliti melakukan magang penelitian di laboratorium Biologi Tumbuhan PSIH IPB, Bogor, dan 3). kepada Dr. Ir. Alex Hartana sebagai pembimbing. Peneliti mengucapkan terima kasih juga kepada Kepala BALITKA Mapanget dan Kepala PNTP IV Unit Halmahera Utara di Boyong Atas atas bantuan materi tanamannya

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, W.T. 1983. Application of isozymes in tree breeding, p. 381-399. In S.D. Tanksley and T.J. Orton (eds). *Isozymes in Plant Genetics and breeding. Part A.* Elsevier. Amsterdam.
- Agwanda, C. O., P. Lashermes, P. Trouslot, Marie-Christine, and A. Charrier. 1997. Identification of RAPD marker for resistance to coffee berry disease, *Colletotrichum kahawe*, in arabica coffee. *Euphytica* 97 : 241-248.

- Alcazar, M. D., C. Egea, A. Espin, and E. Candela. 1995. Peroxidase isoenzymes in the defense response of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *Physiol. Plant* 94:736 – 742.
- Concibido-Manohar, E. C. and R. G. Abad. 1992. Notes on the incidence of *Phytophthora* infection on coconut cultivars in The Pippines, p. 85 – 92. Workshop Proceeding Coconut *Phytophthora*. CEC-BALITKA-CIRAD. 26-30 October 1992. Manado.
- Haley, S. D., P. N. Miklas, J. R. Stavelly, J. Byrum, and J.D. Kelly. 1993. Identification of RAPD marker linked to a major rust resistance gene block in common bean. *Theor. Appl. Genet.* 86: 505 – 512.
- Horry, J. P. 1989. The genetic structure of wild and cultivated bananas as perceived through isozymes variation, p. 8 – 9. In J.P. Horry (ed). *Chimiotaxonomie et Organization Genetic dans Le Genre Musa*. Universite De Paris-SUD, Centre D'Orsay.
- Manganaris, A. G., F. H. Alston, N. F. Weeden, H. S. Aldwinckle, H. L. Gustafson, and S. K. Browan. 1994. Isozyme locus *pgm-1* is tightly linked to a gene (*Vf*) for scab resistance in apple. *J. mer. Soc. Hort. Sci.* 119(6): 1286 – 1288.
- Mangindaan, H. F., Miftahorrachman, dan H. Novianto. 2000. Ketahanan beberapa kelapa hibrida terhadap penyakit busuk pucuk. *J. Penelitian Tan. Industri* 5 (2) : 46 – 50.
- Miklas, P. N., J. R. Stavelly, and J. D. Kelly. 1993. Identification and potential use of a molecular marker for rust resistance in common bean. *Theor. Ppl. Genet.* 84: 745–749.
- Naqvi, N. I., J. M. Bonman, D. J. Mackill, R. J. Nelson, and B. B. Chattoo. 1995. Identification of RAPD marker linked to a major blast resistance gene in rice. *Molec. Breed.* 4: 341 – 348.
- Novacky, A. and H. Wheeler. 1969. Victorin-induced changes of peroxidase isoenzymes in oats. *Phytopathology* 60: 467 –471.
- Novianto, H., T. Sudaryono, dan A. Hartana. 1992. Prosedur analisis isozim pada tanaman kelapa. BALITKA. Manado. *Buletin Balitka* 16 : 1 – 13.
- Novianto, H., T. Rompas, and S. N. Darwis. 1994. Coconut breeding programme in Indonesia, p. 28 – 41. In P.A. Batugal and V.R. Rao. (eds). *Coconut Breeding COGENT-IPGRI*.
- Pohe, J. 1992. Components of coconut susceptibility to *Phytophthora heveae* in Cote-d'Ivoire, p. 111 – 116. In Coconut *Phytophthora* Workshop Proceeding. Manado, 26– 30 Oct' 1992 Manado. CEC-BALITKA-CIRAD
- Quilic, G., J. L. Renard, and H. Ghesquiere. 1984. *Phytophthora heveae* of coconut: Role in bud rot and nutfall. *Oleagineux* 39 (10): 483 – 485.

- Reuveni, R., M. Shimoni, Z. Karchi, and J. Kuc. 1992. Peroxidase activity as a biochemical marker for resistance of muskmelon (*Cucumis melo*) to *Pseudoperonospora cubensis*. *Phytopathology*. 82(7): 749 – 753.
- Runtunuwu, S. D., M. S. Sinaga, dan A. Hartana. 1999. Seleksi ketahanan tanaman kelapa di LOLITKA Pakuwon terhadap gugur buah (*Phytophthora palmivora* Butler). *J. HPT* 5 (2) : 5 – 9.
- Runtunuwu, S. D., A. Hartana, Suharsono, M. Sinaga. 2000. Penanda molekuler sifat ketahanan kelapa terhadap *Phytophthora* penyebab gugur buah. *Hayati* 7 (4): 101 – 105.
- Rohde, W. A. Kullaya, J. Rodrigues, and E. Ritter. 1995. Genom analysis of *cocos nucifera* L. by PCR amplification of spacer sequences separating a subset of *copialike* *EcoRI* repetitive elements. *J. Genet. Breed.* 49: 179 – 186.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning. A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Lab. CSH, New York.
- Tingey, S. V., J. A. Rafalski, and J. G. K. Williams. 1992. Genetic analysis with RAPD markers, Applications of RAPD technology to plant breeding. *Proc. Joint Symp. CSSA/ASHS/AGA*, 1 Nov. 1992 p. 3 – 8.
- Weeden, N. F. and R. Providenti. 1988. A marker locus *Adh-1* for resistances to pea enation mosaic virus in *Pisum sativum*. *J. Hered.* 79(2): 128 – 131.
- Weeden, N. F. and J. F. Wendel. 1989. Genetics of plant isozymes, p. 45 – 72. *In* D. E. Soltis *et al.*, (eds). *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press. Portland, Oregon.
- Yoseph, T and K. Radha. 1975. Role of *Phytophthora palmivora* in bud rot of coconut. *Plant Dis. Rep.* 5 (12) : 1014 – 1017.