

VARIASI GENETIK TANAMAN TOMAT DARI BEBERAPA TEMPAT DI SULAWESI BERDASARKAN GEN *MATK*

Eirene N. Lawodi¹⁾, Trina E. Tallei¹⁾, Feky R. Mantiri¹⁾, Beivy J. Kolondam¹⁾

¹⁾Program Studi Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Identification and preservation of genetic diversity of a population is important in conservation. This study aims to determine the *MATK* gene variation among tomato plants from several places in Sulawesi and compare it with the closest relatives in GenBank, as well as create a phylogenetic tree. PCR technique was used to amplify *matK* gene with universal primers. ‘Kinky’ and ‘Apple’ tomatoes were obtained from Minahasa regency of North Sulawesi province. Both have an identical sequence of partial *matK* gene. ‘Cherry’ tomato obtained from North Minahasa regency of North Sulawesi province has a sequence of partial *matK* gene which is identical with ‘cherry’ tomatoes obtained from the district of Poso in Central Sulawesi province. This study implies that both ‘cherry’ tomatoes are the ancestor of both ‘kinky’ and ‘apple’ tomatoes.

Key words : Genetic diversity, *matK* gene, *Lycopersicon esculentum*, phylogenetic tree

ABSTRAK

Identifikasi dan mempertahankan keanekaragaman genetik suatu populasi sangat penting dalam konservasi. Penelitian ini bertujuan menentukan variasi gen *matK* antar tanaman tomat dari beberapa tempat di Sulawesi dan membandingkannya dengan kerabat terdekat di GenBank, serta membuat pohon filogenetik. Teknik PCR digunakan untuk mengamplifikasi gen *matK* dengan primer universal. Tomat ‘keriting’ dan tomat ‘apel’ diperoleh dari kabupaten Minahasa provinsi Sulawesi Utara. Keduanya memiliki urutan sekuens gen *matK* parsial yang identik. Tomat ceri (buah kecil) yang diambil dari kabupaten Minahasa Utara provinsi Sulawesi Utara memiliki urutan sekuens gen *matK* parsial yang identik dengan tomat ceri yang diambil dari kabupaten Poso provinsi Sulawesi Tengah. Penelitian ini menunjukkan bahwa secara evolusi tomat ceri adalah tetua dari tomat apel dan tomat keriting.

Kata kunci : Keanekaragaman genetik, gen *matK*, *Lycopersicon esculentum*, pohon filogenetik

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi memungkinkan para pelaku budidaya untuk melakukan rekayasa terhadap gen tomat biasa menjadi tomat unggul (Hidayati dan Dermawan, 2012). Penggunaan varietas unggul membuat pertanian menjadi monokultur sehingga menyebabkan hilangnya sumber daya genetik yang sebagian besar belum teridentifikasi (Krismawati dan Sabran, 2004).

Keanekaragaman genetik yang tinggi akan sangat membantu suatu populasi beradaptasi terhadap perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan sekitarnya sehingga keanekaragaman genetik perlu dikonservasi. Identifikasi dan mempertahankan keanekaragaman genetik suatu populasi sangat penting dalam konservasi (Damayanti, 2007).

Salah satu standar baru untuk mempelajari keanekaragaman genetik spesies adalah dengan menggunakan sekuens DNA dari gen *rbcL* dan gen *matK* (Kress *et al.*, 2005). Gen *matK* lebih sulit diamplifikasi tetapi memberikan resolusi yang lebih tinggi untuk perbandingan spesies dan relatif beragam dalam satu spesies (Hollingsworth *et al.*, 2011). Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan gen *matK* dan pohon filogenetik dibuat berdasarkan kesamaan sekuens gen *matK*.

Tujuan penelitian ini adalah menentukan variasi dalam sekuens DNA dan matriks kesamaan gen *matK* antar tanaman tomat dari beberapa tempat di Sulawesi, membandingkan sekuens-sekuens gen *matK* tanaman tomat yang diteliti dengan kerabat terdekat di GenBank, dan membuat pohon filogenetik tanaman tomat berdasarkan sekuens gen *matK*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kamera, *axyPrep multisource genomic DNA extraction kit* / *AxyPrep Blood Genomic DNA miniprep kit*, *electrophoresis chamber*, *UV-*

transiluminator. Kit PCR yang digunakan adalah *5X Ready-to-Load Master Mix* (Solis Biodyne).

Proses ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *Multisource Genomic DNA Miniprep Kit* (Axygen) yang dimodifikasi berdasarkan Kolondam (2012). DNA total dari proses ekstraksi DNA dijadikan *template* (cetakan) untuk proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Primer gen *matK* yang digunakan adalah *matK-3F-R* (5'-CGT ACA GTA CTT TTG TGT TTA CGA G-3') dan *matK-1R-F* (5' ACC CAG TCC ATC TGG AAA TCT TGG TTC-3') (Stoeckle *et al.*, 2011). Konfirmasi keberhasilan amplifikasi fragmen gen *matK* dilakukan dengan visualisasi melalui elektroforesis. Fragmen gen *matK* yang berhasil diamplifikasi kemudian dikirim untuk sekuensing.

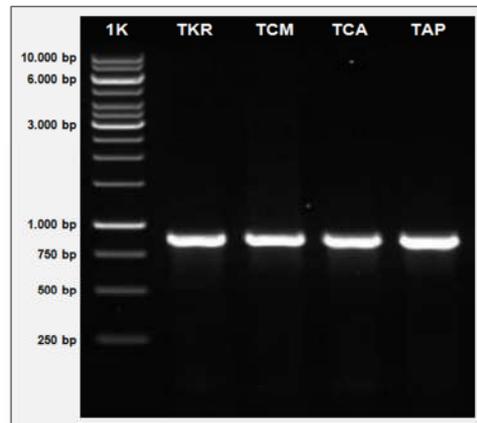
Hasil sekuensing berupa kromatogram DNA disunting menggunakan *software* Geneious v5.6 (Drummond *et al.*, 2012). DNA bagian awal dan akhir dihapus kurang lebih 30 bp. Proses *reverse and complement* dilakukan untuk hasil sekuensing yang menggunakan primer *reverse*, kemudian dipadukan dengan hasil sekuensing primer *forward* menggunakan MUSCLE (*Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation*) yang terintegrasi dalam Geneious. Sekuens kemudian diubah dalam bentuk format FASTA (*fast alignment*) untuk dibandingkan dengan sekuens kerabat terdekat yang diambil dari GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Perbandingan Penjajaran sekuens DNA dilakukan dengan menggunakan *software* Multalin (Corpet, 1998 ; <http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>). Selanjutnya, dibuat pohon filogenetik lewat situs <http://www.phylogeny.fr> (Dereeper *et al.*, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel tomat 'buah kecil' (tomat ceri) diambil di kabupaten Minahasa Selatan Sulawesi Utara (kode sampel "TCA"). Sampel tomat 'buah kecil' juga diambil di kabupaten Poso Sulawesi

Tengah (kode sampel “TCM”). Sampel tomat ‘buah keriting’ (kode sampel “TKR”) dan sampel tomat apel (kode sampel “TAP”), keduanya diambil di wilayah kabupaten Minahasa, Sulawesi

Utara. Berdasarkan ukuran DNA Ladder (1 kb), TKR, TCM, TCA, dan TAP berada pada ukuran di antara 750 dan 1000 bp (Gambar 1).



Gambar 1. Elektroforesis gel hasil PCR dengan sampel tanaman tomat yang diteliti menggunakan primer gen *matK* universal.

Hasil penjajaran keempat sekuens gen *matK* sampel memperlihatkan bahwa perbedaan hanya pada terletak pada satu basa nukleotida (Gambar 2). TKR dan TAP memiliki basa G (Guanin), sedangkan TCM dan TCA memiliki basa T (Timin). Hal ini menunjukkan bahwa TKR dan TAP mempunyai kesamaan sekuens 100%. TCM dan TCA juga memiliki kesamaan sekuens 100%. TKR dan TAP mempunyai kesamaan sekuens 99,9% dengan TCM dan TCA. Persamaan diantara keempat sampel terlihat pada matriks kesamaan (Tabel 1).

Perbedaan satu basa nukleotida pada sekuens gen *matK* ternyata mempengaruhi asam amino yang disandi oleh gen tersebut (Gambar 3). TKR dan TAP yang sama-sama memiliki basa Guanin dalam triplet GTC menyandi asam amino Valin (V) yang bersifat nonpolar. TCM dan TCA yang sama-sama memiliki basa Guanin dalam triplet TTC menyandi asam amino Fenilalanin (F) yang juga bersifat nonpolar.

Sekuens TAP, TKR, TCA, dan TCM dibandingkan dengan empat kerabat terdekat dari GenBank (Gambar 4). Urutan sekuens TCM dan TCA berbeda dengan

enam sekuens lainnya. TKR dan TAP memiliki urutan sekuens yang sama dengan AM087200.3 (*Solanum lycopersicum* cultivar IPA-6 dari Jerman), NC_007898.3 (*Lycopersicon esculentum* cultivar LA3023 dari Amerika Serikat), dan DQ347959.1 (*Lycopersicon esculentum* cultivar LA3023 dari Amerika Serikat). Satu sampel kerabat terdekat dari GenBank yaitu HQ619840 (*Solanum lycopersicum* isolate LegModMO_116), memiliki sekuens yang berbeda dengan TAP, TKR, TCA, TCM, dan ketiga sekuens sampel lainnya dari GenBank. Perbedaannya berjumlah tiga basa nukleotida. Dua kerabat terdekat dari GenBank memiliki marga *Solanum*. Tahun 1753, Linnaeus menempatkan tomat dalam marga *Solanum*, sedangkan Miller yang sejaman dengan Linnaeus, mengklasifikasikan tomat kedalam marga baru yaitu *Lycopersicon*. Mayoritas pakar botani selanjutnya mengikuti pengklasifikasian Miller (Peralta dan Spooner, 2000).

Gen *matK* tanaman selain TCA, TCM, TKR dan TAP pada pohon filogenetik (Gambar 5) diambil dari GenBank. TAP, TKR, *Lycopersicon*

esculentum (kode GenBank DQ347959.1), *Solanum lycopersicum* (AM087200.3), dan *Lycopersicon esculentum* (NC 007898.3) merupakan kelompok monofiletik. Kelompok monofiletik adalah kelompok organisme yang terdiri dari nenek moyang dan semua turunannya yang memiliki hubungan yang sangat dekat (Hidayat dan Pancoro, 2006). TCA dan TCM masuk dalam kelompok tersendiri yang berkerabat dengan tetua dari TAP, TKR, *Lycopersicon esculentum* (DQ347959.1), *Solanum lycopersicum* (AM087200.3), dan *Lycopersicon esculentum* (NC 007898.3). Pohon filogenetik juga memperlihatkan bahwa tomat ceri (TCA dan TCM) secara evolusi lebih tua dari tomat apel (TAP) dan tomat 'buah keriting' (TKR).

Terdapat perbedaan penampakan bentuk buah walaupun TKR dan TAP memiliki urutan basa nukleotida dan urutan asam amino yang identik. Hal ini dapat terjadi karena penampakan bentuk buah merupakan fenotipik. Fenotipik adalah ekspresi genotip yang dapat dipengaruhi oleh lingkungan (Sofro, 1994). Hal ini juga merupakan bukti dari variasi intra spesies.

Variasi morfologi buah merupakan karakteristik prevalen di antara tomat domestik, mulai dari ukuran kecil dan bulat, sampai dengan berukuran besar dengan bentuk yang bervariasi. Fitur morfologi prevalen yang membedakan varietas-varietas hasil domestikasi dari tanaman yang bukan hasil domestikasi adalah bentuk buah yang memanjang. Loki utama yang telah diidentifikasi yang memberikan kontribusi pada bentuk panjang buah tomat adalah *sun*, *ovate*, dan *fs8.1* (Brewer *et al.*, 2007). Kandungan gula dan waktu asimilasi sangat berperan dalam variasi sel dan fenotipe buah tomat (Fanwoua *et al.*, 2012).

Genus *Lycopersicon* terdiri atas sembilan spesies, dan *Lycopersicon esculentum* merupakan satu-satunya yang didomestikasi. *Lycopersicon esculentum* pertama kali didomestikasi oleh bangsa asli Amerika Selatan. Karena domestikasi

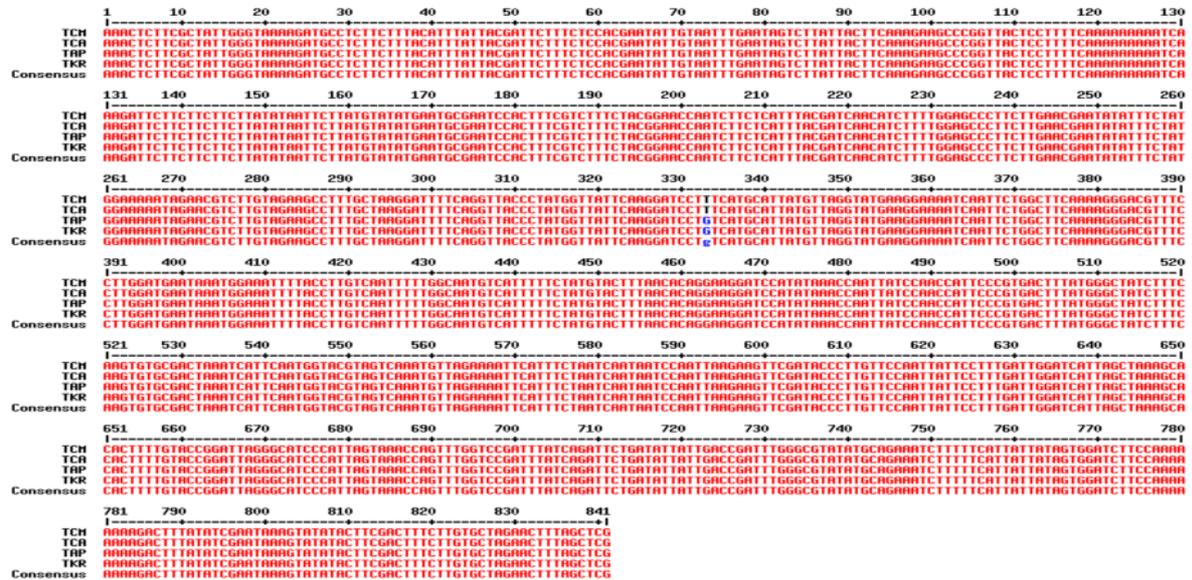
terjadi pada jaman prasejarah, tidak seorang pun mengetahui dengan pasti jalur evolusi bagaimana spesies tomat liar menjadi tanaman dengan buah yang lebih besar dan bentuknya bervariasi. Kemungkinan skenario adalah proses seleksi dilakukan tanpa sengaja dengan mendapatkan mutan yang terkait dengan buah yang lebih besar, dan secara berangsur mutasi buah besar ini mengalami akumulasi sehingga menghasilkan kultivar buah besar seperti tomat buah besar sekarang ini. Hal ini didukung oleh analisis persilangan di antara spesies hasil kultivasi dan isolat liar. Proses domestikasi melibatkan mutasi pada sejumlah loki genetik yang berbeda. Kedelapan genus *Lycopersicon* tipe liar semuanya memiliki buah yang berbentuk bulat dan berukuran kecil-kecil. Tomat hasil kultivasi memiliki banyak variasi bentuk dan ukuran buah tetapi hanya memiliki sangat sedikit variasi genetik pada genomnya. Sebaliknya, tomat tipe liar memiliki banyak sekali variasi pada genomnya akan tetapi memperlihatkan sedikit sekali variasi pada bentuk dan ukuran buahnya (Tanksley, 2004).

Hasil peninjauan dan pohon filogenetik memberikan asumsi bahwa tomat ceri merupakan tomat tipe liar, sedangkan tomat apel dan tomat 'buah keriting' yang sebelumnya peneliti berasumsi merupakan tomat tipe liar, merupakan tomat hasil budidaya. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yaitu Tanksley (2004) yang menjelaskan bahwa tomat tipe liar berbentuk bulat dan berukuran kecil-kecil. Asumsi tomat apel dan tomat 'buah keriting' merupakan tomat hibrida karena ukuran kedua tomat ini yang lebih besar dari tomat ceri.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gen *matK* dapat membedakan variasi antarspesies dan intraspesies. Variasi antarspesies dapat terlihat dari pohon filogenetik, *Lycopersicon* berada pada satu *clade* (warna hijau) dan perbedaan di antara marga *Solanum* lainnya.

Variasi intraspecies juga terlihat dari gambar filogenetik, di dalam warna hijau terdapat dua kelompok biru dan merah, yang menandakan bahwa *Lycopersicon esculentum* dengan berbagai varietas. Variasi intraspecies masih dapat

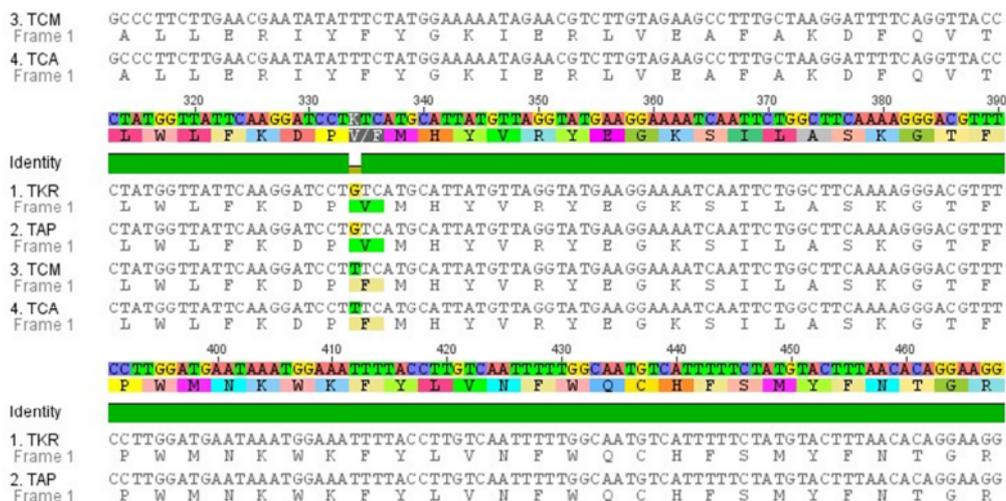
dilihat jika menggunakan sekuens gen *matK* utuh, karena panjang gen *matK* dapat mencapai lebih dari 1000 bp, tetapi dalam penelitian ini hanya menggunakan gen *matK* parsial.



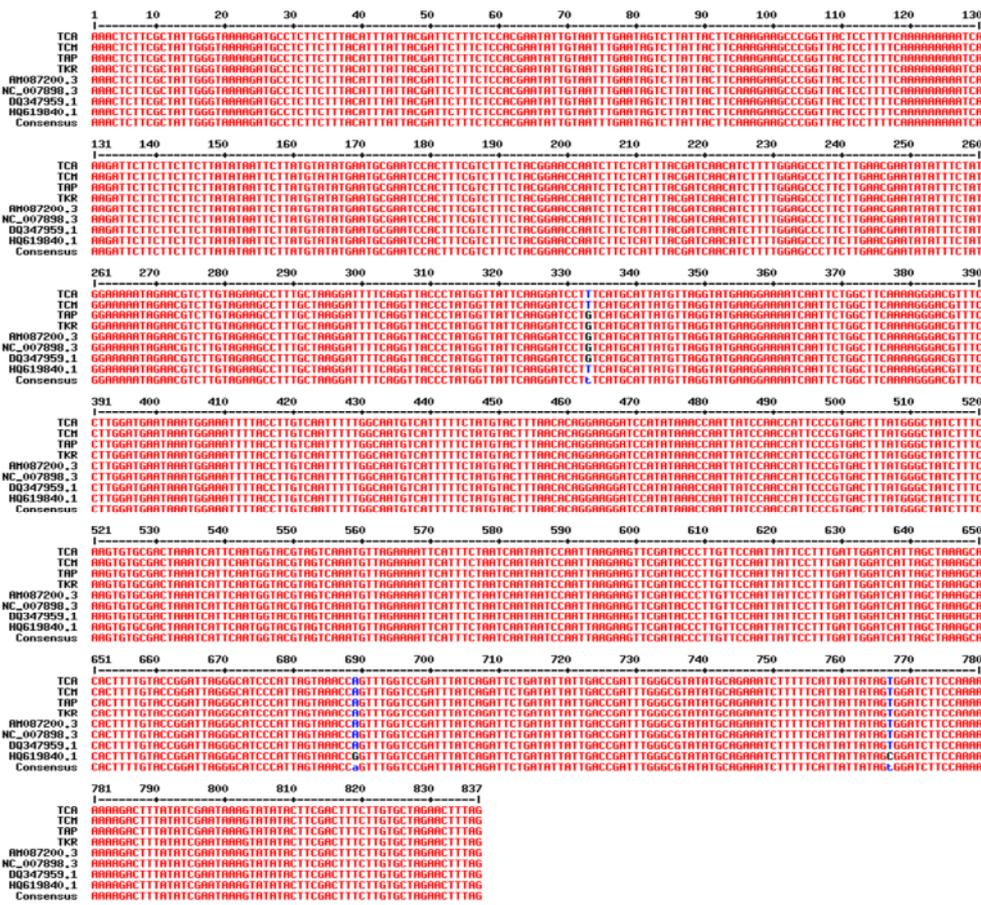
Gambar 2. Penjajaran urutan sekuens gen *matK* tanaman tomat

Tabel 1. Matriks Kesamaan Sekuens Gen *matK* Tanaman Tomat TKR, TAP, TCM, dan TCA

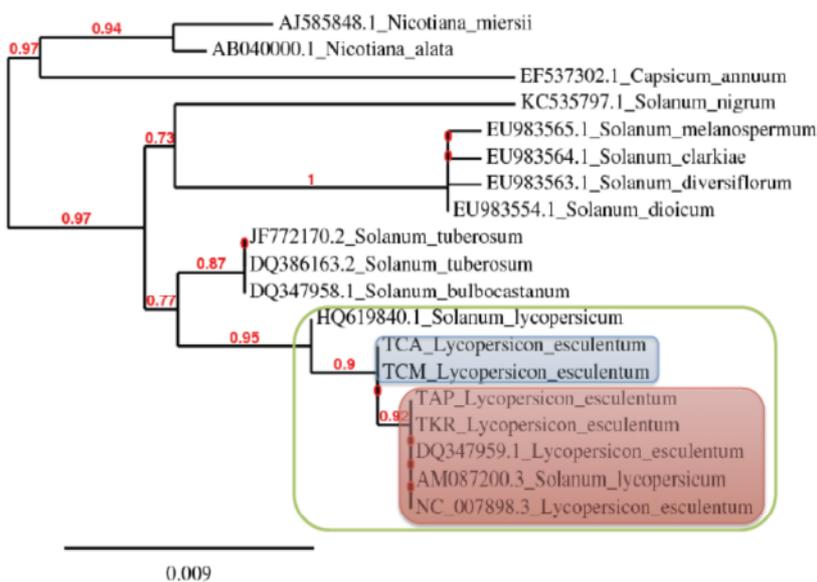
	TKR	TAP	TCM	TCA
TKR	100%	99.9%	99.9%	
TAP	100%	100%	99.9%	
TCM	99.9%	99.9%	100%	
TCA	99.9%	99.9%	100%	



Gambar 3. Perbedaan sekuens asam amino yang disandi oleh gen *matK* tanaman tomat TKR, TAP, TCM, dan TCA



Gambar 4. Penjajaran urutan sekuens *matK* tanaman tomat dengan kerabat terdekat di GenBank



Gambar 5. Pohon filogenetik tanaman tomat dan beberapa kerabatnya dari marga Solanum

PENUTUP

Kesimpulan

1. Tomat ‘buah keriting’ dan tomat apel yang sama-sama diambil dari kabupaten Minahasa provinsi Sulawesi Utara, memiliki kesamaan urutan sekuens yang identik. Tomat ceri yang diambil di kabupaten Minahasa Utara provinsi Sulawesi Utara, juga memiliki urutan sekuens yang identik dengan tomat ceri yang diambil di kabupaten Poso provinsi Sulawesi Tengah. Kedua tomat ceri berbeda satu basa nukleotida pada urutan sekuens dan memiliki kesamaan 99,9% dalam matriks kesamaan dengan tomat keriting dan tomat apel.
2. Kedua tomat ceri tidak memiliki kesamaan sekuens dengan sampel manapun di GenBank. Tomat apel dan tomat ‘buah keriting’ memiliki urutan sekuens yang sama dengan *Solanum lycopersicum* cultivar IPA-6 dari Jerman, *Lycopersicon esculentum* cultivar LA3023 dari Amerika Serikat, dan *Lycopersicon esculentum* cultivar LA3023 dari Amerika Serikat.
3. Pohon filogenetik memperlihatkan bahwa kedua tomat ceri, secara evolusi lebih tua dari tomat apel dan tomat ‘buah keriting’.

DAFTAR PUSTAKA

- Brewer, M.T., J.B. Moysenko, A.J. Monforte, dan E. van der Knaap. 2007. Morphological variation in tomat: a comprehensive study of quantitative trait loci controlling fruit shape and development. *J. Exp. Bot.* 58(6): 1339-1349.
- Corpet, F. 1988. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucl. Acids Res.* 16(22):10881-10890.
- Damayanti, C. 2007. Peranan Studi Genetik dalam Kegiatan Konservasi. <http://vetopia.wordpress.com/2007/11/02/peranan-studi-genetik-dalam-kegiatan-konservasi/> [30 Maret 2013]
- Dereeper A., V. Guignon, G. Blanc, S. Audic, S. Buffet, F. Chevenet, Dufayard J.F., S. Guindon, V. Lefort, M. Lescot, J.M. Claverie, O Gascuel. 2008. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Research.* 1: 36.
- Drummond A.J., B. Ashton, S. Buxton, M. Cheung, A. Cooper, C. Duran, M. Field, J. Heled, M. Kearse, S. Markowitz, R. Moir, S. Stones-Havas, S. Sturrock, T. Thierer, dan A. Wilson. 2012. Geneious v5.6. Biomatters. New Zealand.
- Fanwoua, J., P.H.B. de Visser., E. Heuvelink., G.C. Angenent, X. Yin, L.F.M. Marcellis dan P.C. Struik. 2012. Histological and molecular investigation of the basis for variation in tomato fruit size in response to fruit load and genotype. *Functional Plant Biology* 39(9):754-763.
- Hidayat, T. dan A. Pancoro. 2006. Sistematika dan Filogenetika Molekuler. Kursus Singkat Aplikasi Perangkat Lunak PAUP dan MrBayes untuk Penelitian Filogenetika Molekuler SITH. ITB, Bandung.
- Hidayati, N. dan R. Dermawan. 2012. Tomat Unggul. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hollingsworth, P.M., S.W. Graham, dan D.P. Little. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS ONE* (6): e19254.
- Kress, W. J., K.J. Wurdack, E.A. Zimmer, L.A. Weigt, dan D.H. Janzen. 2005. Use of DNA barcodes to

- identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. 102(23): 8369-8373.
- Krismawati, A. dan E. Sabran. 2004. Pengelolaan sumber daya genetik tanaman obat spesifik kalimantan tengah. *Buletin Plasma Nutfah*. 12(1): 16-23.
- Kolondam, B.J. 2012. Barcode DNA *rbcL* dan *matK* *Aglaonema* (*Aglaonema* sp.), *Anthurium* Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*) dan Anggrek Payus Limondok (*Phaius tancarvilleae*) [tesis]. Program Pascasarjana UNSRAT, Manado.
- Peralta, I.E. dan D.M. Spooner. 2000. Classification of wild tomatoes: a review. *Kurtziana*. 28(1): 45-54.
- Sofro, A.S. 1994. Keanekaragaman Genetik. Penerbit Andi Offset, Yogyakarta.
- Stoeckle, Y.M., C.C. Gamble, R. Kirpekar, G. Young, S. Ahmed, dan D.P. Little. 2011. Commercial teas highlight plant DNA barcode identification successes and obstacles. *Sci Rep*. 1: 42.
- Tanksley, S.D. 2004. The Genetic, Developmental, and Molecular Bases of Fruit Size and Shape Variation in Tomato. *The Plant Cell* 16(1):S181-S189.