

**IDENTIFIKASI KERAGAMAN MOLEKULER MATERIAL GENETIK KELAPA SAWIT
(*Elaeis guineensis* Jacq.) BERDASARKAN MARKA SSR (Simple Sequence Repeats)**

Identification of Molecular Variants Genetic Materials of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Based on SSR Marker (Simple Sequence Repeats)

Indra Syahputra¹, Lollie A.P.Putri^{2*}, dan M.Basyuni

¹ PT. Socfin Indonesia.

² Program Studi Magister Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan, 20155.

Corresponding author : lolliie_agustina@yahoo.com

ABSTRACT

Oil Palm very important for Indonesia. The plant breeding programs were done to found the best varieties. Identification of molecular variants is the one steps of plant breeding programs. The purpose of this research was to analysis molecular variants of genetic material of oil palm based on 4 SSR markers, there were mCnCIR0038, mEgCIR0894, mEgCIR3292 and mEgCIR3663. DARwin 6.0 was used to analysis of the data. The results of this research showed that genetic molecular variants based on SSR markers was 41.68%.

Keywords : oil palm, SSR, molecular variance

ABSTRAK

Tanaman kelapa sawit adalah tanaman perkebunan yang sangat penting bagi Indonesia. Proses pemuliaan tanaman dilakukan untuk mendapatkan varietas unggul. Identifikasi keragaman molekuler merupakan salah satu langkah dalam proses pemuliaan tanaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman molekuler material genetik tanaman kelapa sawit berdasarkan 4 marka SSR yaitu mCnCIR0038, mEgCIR0894, mEgCIR3292 dan mEgCIR3663. Analisis data dilakukan dengan menggunakan software DARwin 6.0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat keragaman molekuler berdasarkan empat marka SSR yang diuji adalah sebesar 41.68%.

Kata Kunci : kelapa sawit, SSR, keragaman molekuler

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara terbesar produsen kelapa sawit dunia. Industri kelapa sawit merupakan satu-satunya andalan ekspor Indonesia yang memberikan devisa bagi Indonesia sehingga harus dipertahankan

dari kampanye negara-negara maju (KEMENDAG, 2011). Oleh sebab itu perakitan varietas unggul kelapa sawit perlu dilakukan untuk mendapatkan produksi yang lebih tinggi.

Salah satu langkah yang dapat dilakukan untuk mendapatkan tanaman kelapa sawit unggul melalui proses pemuliaan tanaman yang memerlukan material genetik yang beragam. Asmono *et al.* (2005) menyatakan bahwa sumber keragaman genetik dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat dalam proses perakitan varietas baru.

Pemahaman mengenai keragaman genetik dan hubungan dengan materi plasma nutfah kelapa sawit sangat penting dalam menyeleksi materi bahan tanam unggul karena plasma nutfah merupakan sumber gen baru yang sangat penting dalam proses pemuliaan tanaman (Suyekti *et al.*, 2015). Untuk mengidentifikasi keragaman genetik dapat dilakukan melalui pengamatan ditingkat morfologi dan molekuler (Novita, 2013). Identifikasi keragaman secara morfologi (visual) masih belum memberikan informasi yang sesuai dengan harapan (Bahar dan Zen, 1993). Oleh sebab itu

identifikasi keragaman genetik secara molekuler akan dapat meningkatkan hasil yang lebih akurat (Putri, 2010).

Karakterisasi keragaman genetik terhadap sumber plasma nutfah dapat membantu pemulia menyeleksi progenitor dari populasi dasar untuk menyusun program pemuliaan. Keragaman genetik dan jarak genetik yang ditentukan berdasarkan marka molekuler juga dapat membantu dalam pengkayaan basis genetik. Marka molekuler dapat juga bermanfaat untuk mengevaluasi duplikat dan defisiensi khusus dalam bank plasma nutfah sehingga strategi pemeliharaan dan pengelolaan koleksi yang efisien (Zulhermana, 2009).

Salah satu marka yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi keragaman molekuler adalah SSR (*Simple Sequence Repeats*). Penggunaan marka SSR sebagai penanda untuk tanaman sawit telah dilakukan oleh berbagai pihak. Salah satu yang membuktikan hal ini adalah

berdasarkan hasil penelitian oleh Mardziah *et. al.* (2013) tentang pengembangan *screening* protokol *non-radioactive* pada kelapa sawit yang menyimpulkan bahwa SSR sangat sesuai untuk mengkarakterisasi keragaman genetik. Selain itu, Putri *et al.* (2010) juga telah menggunakan marka SSR untuk identifikasi keragaman alel tanaman kelapa sawit Pisifera. Oleh sebab itu, identifikasi keragaman molekuler tanaman kelapa sawit perlu dilakukan untuk memperoleh gambaran sebaran genetik tanaman kelapa sawit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium DNA, *Socfindo Seed Production Laboratory* (SSPL), Bangun

Bandar dengan ketinggian ± 25 m dpl. Penelitian ini dimulai pada bulan Maret - Mei 2016. Bahan Penelitian terdiri atas turunan kelapa sebanyak 10 sampel untuk 5 famili (total 50 sampel) (SL 4662, SL 4556, SL 4543, SL 4544 dan SL 5532) serta 1 sampel dari masing-masing tetua betina dan tetua jantan (total 10 sampel) ke-5 famili dimaksud. Selain itu juga ditambah 2 genotipe pembanding yaitu genotipe X dan Y. Maka jumlah seluruh sampel sebanyak 62 tanaman. Ada 4 marka SSR yang telah digunakan antara lain *mCnCIR0038*, *mEgCIR0894*, *mEgCIR3292* dan *mEgCIR3663*, sekuen nukleotida pada masing-masing primer dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Daftar sekuen nukleotida yang digunakan pada primer SSR

No.	Nama Primer	Forward sequence (5'-3')	Reverse Squence (5'-3')
1.	<i>mCnCIR0038</i>	CAAGTATATGTGTGTGTATGC	ATCTGCTGTTGATTATGG
2.	<i>mEgCIR0257</i>	TGCTTCTTGTCCTTGATAACA	CCACGTCTACGAAATGATAA
3.	<i>mEgCIR3785</i>	AGCCATGAGTGAATCATATC	ACCACGATGTCAATCTCTAT
4.	<i>mEgCIR3663</i>	AGCAAAATGGCAAAGGAGAG	GGTGTGTGCTATGGAAGATCATAGT

Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan terhadap daun kelapa sawit kesatu. Daun yang digunakan adalah daun ke satu dari turunan kelapa sawit di lapang. Prosedur isolasi DNA diadaptasi dari metode CTAB oleh Orozco-Castilo (1994) dengan beberapa modifikasi pada *polynillpolypirrolidane* (PVPP) dan 2-merkptoethanol (Toruan-Mathius dan Hutabarat, 1997), (Asmono, *et al.* 2000).

Analisis SSR

Sebanyak 4 primer (Tabel 1) digunakan untuk proses amplifikasi PCR DNA sampel. Untuk setiap reaksi, 2.5 ng templat DNA dicampur dengan 5 µl buffer PCR (10 mml/L Tris-HCl, 50 mmol/L KCl, 2 mmol/L MgCl₂, 0.001 *glycerol*), 200 µmol/L dNTPs, 0.10 µmol/l primer, 0.1 U Taq DNA polymerase. Amplifikasi PCR dilakukan pada *Eppendorf Mastercycler ep 384* (Eppendorf, Wertbuy, New York, USA). Program running PCR didasarkan

pada penelitian Putri (2010) yang terdiri atas siklus denaturasi awal 4 menit pada suhu 94°C, diikuti 35 siklus denaturasi 94°C, selama 30 detik, tahapan penempelan 52°C selama 1 menit 15 detik, perpanjangan 72°C selama 1 menit 30 detik, dan elongasi akhir pada 72°C selama 8 menit. Setelah proses PCR selesai hasil amplifikasi dielektroforesis dengan elektroforesis Vertikal (*Elektroforesis PAGE*) dengan gel *poliacrylamide* 8% (29 : 1). Elektroforesis vertikal dijalankan dengan 100 volt, 25mA selama 120 menit. Hasil elektroforesis diamati dan didokumentasi dengan *UV-transilluminator* (UV Doc-its) dan *Gel-Doc* (U Doc-its).

Analisis Data

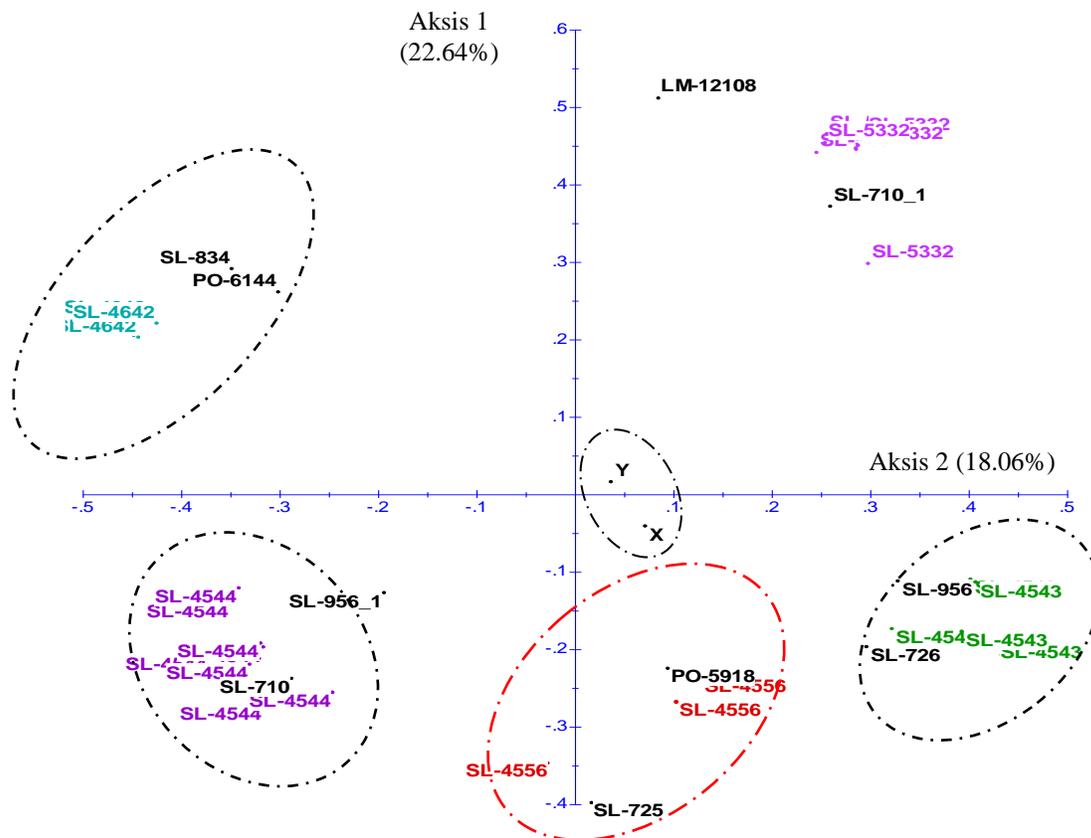
Untuk mengetahui kisaran panjang alel dilakukan dengan melakukan pengamatan pada hasil visualisasi *UV-Tec Cambridge* setelah itu dilakukan pengamatan terhadap nilai keragaman molekuler dengan menggunakan *software*

DARwin Software Versi 6 (Perreira dan Jacquemoud-Collet, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis PCoA dapat telah diperoleh hasil bahwa nilai aksis 1 sebesar 23.23% dan aksis 2 sebesar 18.45%. Dengan demikian maka nilai

keragaman molekuler pada penelitian ini adalah sebesar 41.68 %. Artinya bahwa kemampuan primer untuk membedakan genotipe secara molekuler antara satu individu dengan individu lainnya adalah sebesar 41.68%.



Gambar 1. Analisis faktorial *Principal Coordinates Analysis* (PCoA) pada kelapa sawit material genetik berdasarkan marka SSR

Berdasarkan analisis PCoA dapat diperoleh informasi sebaran pada masing-masing individu. Jika diperhatikan pada Gambar 1. dapat diketahui bahwa primer yang telah digunakan pada penelitian mampu untuk mengelompokkan individu yang diamati sesuai dengan kelompok hasil *crossingnya* masing-masing. Hasil penelitian Putri (2010) menunjukkan nilai keragaman molekuler sebesar 31.64% pada Origin Avros, Ekona, La Me, Ghana dan Nigeria. Hasil penelitian ini memperlihatkan nilai keragaman molekuler yang lebih tinggi. Artinya bahwa kemampuan marka SSR yang telah diuji memiliki kemampuan untuk menunjukkan adanya keragaman molekuler.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Okoye *et al.* (2016) pada tetua yang digunakan oleh NIFOR (*Nigerian Institute for Oil Palm Research*) yang terdiri atas NIFOR dura parents, NIFOR tenera parents dan Deli Dura Nifor menunjukkan nilai keragaman berdasarkan analisis PCoA

sebesar 64.43%. Hal ini berarti nilai keragaman pada penelitian ini lebih rendah. Hal ini dapat dijelaskan bahwa genotipe yang telah mengalami proses persilangan akan mengalami erosi genetik sehingga menghasilkan nilai keragaman yang lebih rendah dari tetua asal.

Syukur *et al.* (2012) menjelaskan bahwa penyerbukan sendiri menyebabkan terjadinya tangkar dalam yang mengakibatkan peningkatan homozigositas dari generasi ke generasi. Hal ini sebagai akibat pasangan gen-gen heterozigot akan bersegregasi menghasilkan genotipe homozigot. Adanya erosi genetik akan dapat mengakibatkan berkurangnya tingkat keragaman genetik. Hal ini dijelaskan oleh Arias *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa jumlah lokus polymorphic akan jauh lebih tinggi pada tipe liar pada populasi. Namun akan terjadi pengurangan alel pada lokus akibat adanya proses persilangan.

Hasil analisis berdasarkan PCoA juga mampu untuk mengidentifikasi pengelompokan setiap genotipe berdasarkan kriteria tertentu. Apakah pengelompokan tersebut bedasarkan letak geografis atau spasial (Sinaga et al. 2015), bedasarkan jenis atau aksesori (Tasma, et al. 2013), bedasarkan karakter spesifik (Nida, et al. 2014), dan bedasarkan populasi tetua (Santoso, et al. 2014).

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada material genetik tanaman kelapa sawit diperoleh hasil bahwa nilai keragaman molekuler bedasarkan empat marka SSR yang diuji adalah sebesar 41.68%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arias, D., Carmenza, M., Leonardo, R., dan Hernan, R. 2012. Genetic similiarity among commercial oil palm materials based on microsatellite markers. *Aronomia Colombiana*. 30 (2) : 188-196.
- Asmono D, Purba, A.R., Yenni, Y., Kohar, M., Zaelanie ,H., Liwang , T dan Beng, A.B., 2005. Peta dan prospek pemuliaan dan industri perbenihan kelapa sawit Indonesia. Simposium Nasional dan Kongres V Simposium Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia, Purwokerto, 25-27 Agustus 2005.
- Asmono, D.P., Toruan-Mathius, N., dan Subronto. 2000. Pemetaan genom pengendali produktivitas minyak pada kelapa sawit. Laporan Riset Unggulan Terpadu (RUT) VII. Kantor Kementerian Negara Riset dan Teknologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta.
- Bahar dan Zen. 1993. Parameter genetik pertumbuhan tanaman, hasil dan komponen hasil jagung. *Zuriat* 4:4-7.
- Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. 2011. Warta Ekspor “Kampanye Negatif Kelapa Sawit Indonesia. Potensi Kelapa Sawit Indonesia. Kiat-Kiat Menghadapi Kampanye Kelapa Sawit”. Ditjen PEN/MJL/54A/VI/2011; Edisi Juni.
- Nida, W.N.M.S., Sobir dan Nurita, T.M. 2014. Genetic diversity Dxp population yield component in oil palm’s paternal half-sib family based on microsatellite markers. *Scientdirect*. 47 : 196-203.
- Novita, L. 2013. Analisis Genetik Karakter Morfo-Agronomi Jarak Pagar Hasil Pemuliaan Berbasis Pendekatan Kuantitatif dan Molekuler. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. IPB. Bogor.
- Okoye, M.N., Michel, I.U., Claude, B., Rajinder, S., dan Crsity.O.O. 2016. Assesmnet of genetic diversity of NIFOR oil palm main breeding parents genotypes using microsatellite markers. *American Journal of Plant Science*. 7: 218-237.
- Perreira dan Jacquemoud-Collet, 2014. Softwere DARwin (*Dissimilarity Analysis Representation for*

- Windows). Diakses dari: <http://darwin.cirad.fr> Last update 2014/10/20.
- Putri, L.A.P. 2010. Pendugaan Parameter Genetik dan Karakterisasi Molekuler Keragaman Genetik dengan Menggunakan Marka Mikrosatelit (SSR) pada Kelapa Sawit. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Putri, L.A.P., Rivallan, R., Zulhermana, Puspitaningrum, Y., Sudarsono, Perrier, X., Asmono, D., dan Billotte, N. 2010. Alelic diversity of 22 Sampoerna Agro's oil palm pisifera based on microsatellite markers. *IOPC Jogjakarta* 1-3 Juni, 2010.
- Santoso, P.J., Djamas, N., Rebinm dan Pancoro. 2014. Analisis diversitas dan paternitas progeny F1 hasil persilangan Arumanis 143 x Mangga Merah menggunakan marka mikrosatelit. *Jurnal Horti*. 24 (3) : 210-219.
- Sinaga, A.O.Y., Putri, L.A.P. dan Siregar, L.A.M. 2015. Analisis keragaman genetik andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Sumatera Utara menggunakan marka RAPD. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 3 (1) : 350-358.
- Sukykti, U., Widyastutui, U., dan Toruan-Mathius, N. 2015. Keragaman Genetik Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Asal Angola Menggunakan Marka SSR. *J. Agron. Indonesia* 43(2):140-146.
- Syukur, M., Sujiprihati, S dan Yunianti, R. 2012. Teknik Pemuliaan Tanaman. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Tasma, I.M., Ahmad, W., Dani, S., Syafaruddin dan Budi. M. 2013. Analisis kekerabatan 50 aksesii kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) asal Kamerun berdasarkan marka mikrosatelit. *Jurnal Agrobiogen* (9) : 19-27.
- Toruan-Mathius, N., dan Hutabarat. 1997. Pemanfaatan teknik penanda molekuler dalam usaha meningkatkan produktivitas tanaman perkebunan. *Warta Puslit Biotek Perkebunan II* (1): 2-9.
- Zulhermana. 2009. Keragaman genetik intra dan interpopulasi kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pisifera asal Nigeria berdasarkan marka *Simple Sequence Repeats* (SSR). [Tesis]. IPB. Bogor.