

Analisis Keragaman 35 Aksesori Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Asal Kamerun Berdasarkan Karakter Produksi Awal Menggunakan Marka SSR
Diversity Analysis of 35 Oil Palm Accessions (*Elaeis guineensis* Jacq.) Originated from Cameroon Based on Early Production Character by Using SSR Markers

BUDI SANTOSA¹⁾, JOKO PRASETIYONO²⁾, AHMAD DADANG²⁾, DONATA S. PANDIN¹⁾, SOBIR³⁾
MEDDY RACHMADI⁴⁾, ALFRED P. MANAMBANGTUA¹⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Palma

Jalan Raya Mapanget, Kotak Pos 1004, Manado 95001

²⁾ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
Jalan Tentara Pelajar 3A Bogor 16111

³⁾ Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor
Jalan Kampus Dramaga IPB, Bogor

⁴⁾ Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Bandung
E-mail: budi_sandy@yahoo.co.id

Diterima 2 Oktober 2015 / Direvisi 2 Nopember 2015 / Disetujui 31 Nopember 2015

ABSTRAK

Program pemuliaan untuk peningkatan produksi minyak kelapa sawit dapat dilakukan dengan cara melakukan seleksi plasma nutfah, observasi/eksplorasi lapang, maupun introduksi aksesori baru dari luar negeri. Teknologi seleksi kelapa sawit dapat dilakukan secara konvensional dan non-konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi keragaman genetik aksesori kelapa sawit asal Kamerun berdasarkan keragaman karakter morfologi, produksi awal, dengan menggunakan marka molekuler SSR. Penelitian dilakukan di KP Sitiung dan BB Biogen. Sampel yang dipilih adalah aksesori yang memiliki produksi awal tandan buah segar (TBS) minimal 4 kg. Sebanyak 35 aksesori kelapa sawit asal Kamerun dan 20 primer SSR digunakan dalam penelitian ini. Hasil pengamatan karakter morfologi menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan karakter morfologi diantara 35 tanaman kelapa sawit yang produksi awalnya ≥ 4 kg TBS. Produksi awal kelapa sawit berkisar antara 4 - 9,5 kg TBS per tandan dengan koefisien keragaman rendah, yaitu $< 20\%$. Berdasarkan analisis 20 primer SSR dihasilkan enam pita dengan kisaran 4-12 alel. Jumlah alel dominan sangat mendominasi dibanding dengan alel jarang maupun alel sedang. Nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) yang diperoleh sebagian bernilai negatif, 11 primer (55%) bernilai positif. Primer MEgcl3639 menghasilkan nilai PIC tertinggi (0,65), sedangkan nilai PIC terendah pada primer MEgcl0046 (-0,48). Berdasarkan analisis UPGMA aksesori 35 kelapa sawit terbagi ke dalam dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari 34 aksesori pada tingkat kesamaan genetik 42,5 - 67,5%, dan kelompok II, yaitu satu aksesori (D91.4). Aksesori D91.4 memiliki komposisi genetik yang sangat berbeda dengan kelompok I, dapat digunakan sebagai calon tetua persilangan. Perlu penelitian lebih detail pada aksesori D91.4 ini untuk pengamatan karakter kadar minyak, ketebalan cangkang, daging buah, dll.

Kata kunci : Kelapa sawit, Kamerun, produksi awal, SSR.

ABSTRACT

Oil palm breeding programs to increase oil palm production can be done by under going selection in the germplasm collection, observation/exploration in the field and introduction from abroad. The technology can also be done by conventional or non-convention always. This study aimed to obtain information about genetic diversity of palm accessions originated from Cameroon based on the diversity of morphology and early production characters by using SSR molecular markers. Selected samples were those that had early production of fresh fruit bunches (FFB) of at least 4 kg. The research were held in Sitiung Field Station and ICABIOGRAD. Accessions used were oil palm accessions originated from Cameroon as many as 35 accessions, where as microsatellite primers used were as many as 20 SSR primers. The observation result of morphological characters showed that 35 oil palm accessions with production level of $\geq 4,00$ kg of FFB were not statically different. Initial production of oil palm accession were ranged from 4,00 to 9,50 kg FFB per cluster with low diversity coefficient of $< 20\%$, which indicating high level of genetic uniformity. Molecular analysis by using 20 SSR primers resulted in number of bands up to six, with a range of 4-12 alleles. Dominant alleles were more dominant as compared to rare or medium alleles. Some of *Polymorphism Information Content* (PIC) values were obtained negative, and only 11 primers (55%) showed positive PIC value. In this study, the primer MEgcl3639 produced the highest PIC value (0.65), while the lowest value was obtained on the primer MEgcl0046 (-0,48). Based on the UPGMA analysis, 35 oil palm accessions were divided into two groups. The first group was comprised by 34 accessions with

similarity of 42,5 – 67,5%, where as group II was comprised by one accession (D91.4). Accession D91.4 has a genetic composition that is very different the group I, can be used as a prospective parent for crosses. More detailed research is needed on this D91.4 accessions such as oil content, shell thickness, thickness of fruit, etc.

Keywords: Oil palm, Cameroon, early production, SSR.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan tanaman perkebunan penghasil minyak nabati. Di Indonesia kelapa sawit memegang peranan penting antara lain untuk memenuhi kebutuhan minyak nabati dalam negeri, penghasil devisa negara dari sektor perkebunan, sumber mata pencaharian petani yang bergerak dalam bidang perkebunan, dan sebagai bahan baku untuk bioenergi yang ramah lingkungan (Mathius *et al.*, 2005).

Program pemuliaan untuk peningkatan produksi minyak kelapa sawit dapat dilakukan dengan melakukan seleksi aksesori kelapa sawit yang ada di dalam plasma nutfah, observasi/eksplorasi lapang maupun introduksi dari luar negeri. Untuk menghasilkan varietas kelapa sawit yang unggul perlu dilakukan karakterisasi secara konvensional maupun non-konvensional dengan teknik bioteknologi. Salah satu pendekatan bioteknologi pada pemuliaan kelapa sawit yang saat ini sudah diaplikasikan adalah teknologi marka molekuler, dimana marka mikrosatelit atau *simple sequence repeat* (SSR) masih digunakan sampai saat ini. SSR adalah sekuen berulang yang sederhana (lebih dari dua basa) biasanya melimpah dalam genom satu spesies (Temnykh *et al.*, 2000). Marka ini masih populer sampai sekarang untuk studi kekerabatan karena berlimpah jumlahnya, mudah dalam aplikasi dan bisa dilakukan secara otomatis dalam menentukan ukuran pita secara akurat. Sistem otomatisasi ini memungkinkan penggabungan hasil dari beberapa laboratorium (Prasetyono dan Tasliyah, 2004).

Karakterisasi secara konvensional berdasarkan penampilan agronomi atau fenotipe sangat sulit untuk membedakan antar aksesori tanaman kelapa sawit karena lingkungan tumbuh sangat berpengaruh terhadap tanaman seperti yang dilakukan oleh Miftahorrahman *et al.* (2007) pada enam aksesori kelapa Dalam asal Provinsi Gorontalo, Maskromo (2007) Kelapa Dalam di BPT berasal dari empat kecamatan di Bali, dan Tenda dan Kumaunang (2007) terhadap Kelapa Dalam yang berasal dari lima desa di Provinsi Jawa Timur. Evaluasi keragaman genotipik berdasarkan informasi keragaman genetik berbasis agromorfologi untuk saat ini dirasakan kurang memadai. Oleh karena itu, karakterisasi secara genetik dapat dilakukan menggunakan marka

untuk meningkatkan efisiensi dalam menganalisis kekerabatan memetakan gen dan melakukan seleksi pada tanaman sebagaimana dilakukan pada kelapa sawit (Sayekti *et al.*, 2015).

Karakterisasi secara molekuler pada kelapa atau kelapa sawit menggunakan marka telah banyak dilakukan oleh para peneliti. Mathius *et al.* (2005) dapat membedakan genotipe normal dan abnormal pada klon kelapa sawit menggunakan 10 primer AFLP. Selain itu upaya untuk memisahkan genotipe Kelapa Dalam Mapanget (DMT) dan Dalam Tenga (DTA) menggunakan 10 primer RAPD (Pandin, 2009). Keragaman genetik terhadap 12 aksesori Kelapa Dalam yang ditanam di Kebun Percobaan Mapanget menggunakan tiga primer SSR (Kamaunang dan Maskromo, 2007). Keragaman genetik tanaman kelapa yang berasal dari empat pulau, yaitu: Mognog, Falalop, Asor, dan Fassarai mempunyai keragaman genetik yang tinggi berdasarkan analisis menggunakan marka SSR (Katsuyuki *et al.*, 2003), Ting *et al.* (2010) juga telah menyusun data base plasma nutfah kelapa sawit dengan menggunakan marka SSR.

Pada komoditas tanaman perkebunan penggunaan marka mikrosatelit juga berhasil mengevaluasi variabilitas genetik 42 genotipe kakao tetua persilangan menggunakan 40 primer RAPD (Mathius *et al.*, 1997). Hasil analisis integritas genetik planlet pisang Baranang dan Nangka yang telah di sub kultur sebanyak 10 kali (12 bulan setelah sub kultur) memberikan integritas genetik yang masih stabil (Mathius dan Hutabarat, 1997). Hasil penelitian Haris *et al.* (2003) menggunakan 10 primer AFLP menunjukkan bahwa kemiripan genetik sepuluh klon karet yang mempunyai persamaan latar belakang genetik sebesar 85,5%. Analisis keragaman genetik kelapa sawit yang berasal dari plasma nutfah telah dilakukan oleh beberapa peneliti menggunakan SSR seperti Tasma *et al.* (2013), Tasma dan Arumsari (2013), Zaki *et al.* (2010), Zaki *et al.* (2012), Arias *et al.* (2012).

Pada saat ini di Kebun Percobaan Sitiung, Sumatera Barat terdapat 959 aksesori kelapa sawit yang berasal dari Kamerun yang sudah ditanam sejak tahun 2011. Koleksi tersebut merupakan salah satu sumber plasma nutfah yang dapat digunakan sebagai materi untuk kegiatan pemuliaan tanaman kelapa sawit. Dengan pemanfaatan marka molekuler diharapkan dapat membantu para pemulia untuk mempercepat

seleksi dan menghasilkan varietas baru kelapa sawit yang lebih baik sesuai dengan kebutuhan konsumen.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi keragaman genetik aksesori kelapa sawit asal Kamerun berdasarkan keragaman karakter morfologi, produksi awal, dengan menggunakan marka molekuler SSR.

BAHAN DAN METODA

Penelitian ini dilaksanakan di KP. Sitiung dan Balai Besar Biogen pada bulan Pebruari sampai September 2015. Materi yang digunakan adalah 35 aksesori kelapa sawit asal Kamerun yang terpilih berdasarkan bobot tandan buah segar yang melebihi 4 kg yang berada di KP. Sitiung. Pohon yang terpilih diamati karakter agronomisnya, dan diambil daunnya untuk dianalisis secara molekuler. Daftar aksesori yang digunakan disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Aksesori kelapa sawit asal Kamerun yang digunakan.

Table 1. Oil palm accessions from Cameroon used.

No.	Kode aksesori <i>Accesion code</i>	No. Aksesori <i>Accesion no.</i>	No. Pohon <i>Plant no.</i>
1	D3.7	D3	7
2	D14.8	D14	8
3	D12.6	D12	6
4	D7.10	D7	10
5	D2.1	D2	1
6	D2.3	D2	3
7	T23.3	T23	3
8	D18.2	D18	2
9	D20.7	D20	7
10	D21.6	D21	6
11	D21.7	D21	7
12	D21.8	D21	8
13	D21.9	D21	9
14	D21.10	D21	10
15	D22.6	D22	6
16	D24.6	D24	6
17	D29.8	D29	8
18	D43.7	D43	7
19	D94.8	D94	8
20	D93.2	D93	2
21	D91.4	D91	4
22	D91.6	D91	6
23	D91.10	D91	10
24	D90.8	D90	8
25	D89.10	D89	10
26	D71.8	D71	8
27	D65.2	D65	2
28	D65.4	D65	4
29	D65.10	D65	10
30	D63.2	D63	2
31	D59.9	D59	9
32	D6.1	D6	1
33	D96.6	D96	6
34	D96.8	D96	8
35	D80.6	D80	6

Untuk kegiatan analisis molekuler digunakan 20 pasang primer mikrosatelit (SSR) yang dipilih berdasarkan publikasi yang dilaporkan oleh Billote *et al.* (2005). Daftar primer yang digunakan disajikan pada Tabel 2.

Metode Penelitian

Karakter morfologi dan produksi awal

Karakter morfologi dan produksi awal kelapa sawit asal Kamerun diamati berdasarkan metode IBPGR (1989) meliputi antara lain: a. Tanaman berduri atau tidak berduri, b. Permukaan daun mengkilat atau tidak, c. Susunan daun berselang-seling atau tidak, dan bobot tandan buah segar umur 3,5 tahun.

Analisis molekuler

Ekstraksi dan Isolasi Daun Kelapa Sawit

Isolasi DNA menggunakan metode CTAB (Doyle dan Doyle, 1990) dan 35 sampel daun kelapa sawit asal Kamerun. Satu lembar daun kelapa sawit dipotong kecil menggunakan gunting, kemudian dihaluskan dengan menambahkan nitrogen cair sampai halus. Setelah halus, bubuk daun kelapa sawit dimasukkan ke dalam tabung mikro yang sudah diberi label. Ekstraksi daun kelapa sawit dilakukan dengan menambah bufer ekstraksi yang mengandung CTAB (Tris-HCl 100 mM (pH 8,0), NaCl 1,4 M, EDTA 20 mM (pH 8,0), *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) 2% (w/v), dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) 2% (w/v) sebanyak 750 μ l dan dicampur. Larutan kemudian ditambahkan dengan β -mercaptoethanol sebanyak 5 μ l di lemari asam, dicampur hingga merata. Selanjutnya campuran dipanaskan ke dalam *water bath* pada suhu 65°C selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 750 μ l Kloroform: isoamil alkohol (24:1) dan dicampur. Kemudian campuran disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Supernatan hasil sentrifuse diambil dan dipindahkan ke dalam tabung mikro yang kosong. Supernatan kemudian ditambah isopropanol sebanyak 750 μ l dan disentrifuse kembali dengan kecepatan 1.2000 rpm selama 5 menit. Cairan yang diperoleh dari hasil sentrifuse kemudian dibuang, dan tersisa pellet DNA yang diinginkan. Setelah kering, pellet dicuci dengan etanol 70% sebanyak 200 μ l dan dikeringkan kembali. Kemudian ditambahkan dengan 200 μ l bufer TE dan dipanaskan pada *water bath* dengan suhu 65°C hingga larut. Setelah larut konsentrasi DNA diukur menggunakan Nanodrop.

Tabel 2. Daftar primer SSR yang digunakan untuk analisis molekuler.

Table 2. List of SSR primers used for molecular analysis.

No.	Nama Primer Primer name	Urutan Primer (5'-3') Primer sequence (5'-3')	
1.	mEgCIR3847	F: CGTTAGTGTGCGCTTATTATG	R: AAATGAGGAAGCGTAAC
2.	mEgCIR3574	F: AGAGACCCTATTTGCTTGAT	R: GACAAAGAGCTTGTCACAC
3.	mEgCIR3869	F: CCAATGCAGGGGACATT	R: GAAGCCAGTGGAAAGATAGT
4.	mEgCIR3519	F: CCACTGCTTCAAATTTACTAG	R: GCGTCCAAAACATAAATCAC
5.	mEgCIR3639	F: ACGTTTTGGCAACTCTC	R: ACTCCCCTCTTTGACAT
6.	mEgCIR0046	F: AGCCTTAGTATTTTGTTGAT	R: CCTCTGATTTGTCCTTTTGG
7.	mEgCIR3389	F: GTCCATGTGCATAAGAGAG	R: CTCTTGGCATTTCAGATAC
8.	mEgCIR3543	F: GTTCCCTGACCATCTTTGAG	R: GTCGGCGATTGATTAGATTC
9.	mEgCIR2144	F: ACAAGGCTCTTCAAGAGAT	R: CCACTGCCAACACTAGTAC
10.	mEgCIR2590	F: GTAGTTAAGGGACTTGTAGTC	R: AAGTCTCTTGTGCTGATACA
11.	mEgCIR3260	F: AGGGCAAGTCATGTTTC	R: TATAAGGGCGAGGTATT
12.	mEgCIR0521	F: GTGACTTTGGGCTGAAT	R: ACAGCATCTCCAACCTCTATC
13.	mEgCIR0326	F: GCTAACACAGGCCAAAAACA	R: AAGCCGCACTAACATACACATC
14.	mEgCIR 0800	F: GTGGGACAATTGAAAGGGAAGT	R: CCAGCTGCCAAATGTTGTAG
15.	mEgCIR 2347	F: ATTTTGCATGTGTTGAGAGC	R: CAACCAATTGCACCCTAAAG
16.	mEgCIR 0059	F: TGCAGGGGATGCTTTTATT	R: CCCTTAATTCCTGCCTTATT
17.	mEgCIR 2813	F: GCTTTGTTGCAGTTTGACTA	R: GTTTAGGATGTTGCGTGAT
18.	mEgCIR 0195	F: CCCACCACCCCTAGCTTCTC	R: ACCCCGGTCCAAATAAAAATC
19.	mEgCIR 0555	F: TACCATCACTGACCAATAAC	R: GTCTTTCTTGCTAACTACAC
20.	mEgCIR 2188	F: CGAAGTTGTTGGACATG	R: TTCCATCACAGGAGATATAG

Running PCR

Volume total *cocktail* yang digunakan sebanyak 10 ml, terdiri dari 1 µl 10× bufer PCR, 1 µl 10 mM dNTPs, 1 µl 5 µM primer F dan R, 1 unit Taq DNA polimerase, dan 2 µl 5 ng DNA. Program pada mesin PCR Bio-Rad T-100 diatur sesuai dengan suhu primer yang digunakan. *Running* PCR berlangsung selama kurang lebih 2 jam, dengan suhu denaturasi 94°C selama 1 menit, diikuti 35 siklus, yakni denaturasi 94°C selama 45 detik, penempelan primer 49°C selama 45 detik, dan perpanjangan primer 72°C selama 45 detik, diikuti perpanjangan primer terakhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

Running Elektroforesis

Sebanyak 3 µl DNA hasil PCR dimasukkan ke dalam sumur gel poliakrilamid 8%. *Running elektroforesis* diatur pada suhu 80 V selama waktu 110 menit. Setelah selesai *running*, kaca dilepas dari tangki, dan dibuka perlahan. Gel diambil secara perlahan kemudian direndam dalam larutan EtBr (0,5 µg/ml) pada mesin *shaker* selama 7 menit. Setelah itu dicuci dengan air pada mesin *shaker* selama 15 menit. Kemudian dilihat pada mesin UV transmisi biorad untuk mengetahui pita DNA hasil PCR, kemudian divisualisasi dibawah sinar UV dan didokumentasi menggunakan alat Chemidoc™ EQ Bio-Rad).

Skoring Hasil Elektroforesis

Jumlah pita, jumlah alel, jumlah alel dominan, jumlah alel jarang, dan jumlah alel sedang, dan nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) dihitung dalam program Excell. Jumlah pita merupakan jumlah pita yang dihasilkan dalam satu aksesori untuk satu primer. Jumlah alel merupakan jumlah pola pita (berdasarkan ukuran pita) yang dihasilkan oleh satu primer. Jumlah alel dominan merupakan jumlah alel yang sama (ukurannya sama) yang dimiliki oleh lebih dari 30% aksesori. Jumlah alel jarang merupakan jumlah alel yang sama (ukurannya sama) yang dimiliki oleh kurang dari 5% aksesori. Jumlah alel sedang merupakan jumlah alel yang sama (ukurannya sama) yang dimiliki oleh 5–30% aksesori. Nilai PIC mengikuti rumus yang dideskripsikan oleh Hildebrand *et al.* (1992) :

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

- PIC = Polymorphism Information Content
- I = alel ke-i pada marka ke-j.
- N = jumlah alel pada marka ke-j
- P = frekuensi alel

Pita-pita hasil amplifikasi diskor sebagai data biner dengan nilai 1 (bila ada pita) dan 0 (bila tidak ada pita). Selanjutnya data ini digunakan untuk mengelompokkan aksesori kelapa sawit yang diuji melalui analisis kluster SAHN (menggunakan koefisien Dice dan metode UPGMA) pada program NTSYS pc. 2.1 (Rohlf, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

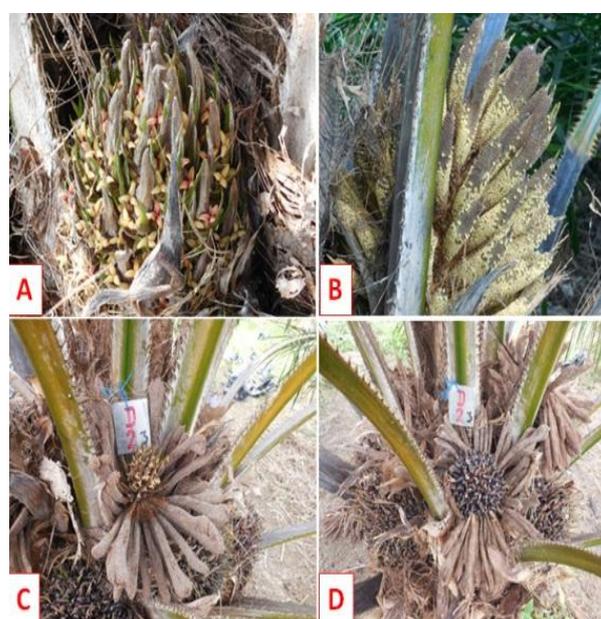
Pengamatan karakter morfologi dan produksi awal

Aksesori plasma nutfah kelapa sawit yang terdapat di KP. Sitiung, pada umumnya susah dibedakan baik antar aksesori maupun inter aksesori dalam pengamatan karakter morfologi tanaman. Hasil pengamatan (Tabel 3) 35 tanaman kelapa sawit yang produksi awalnya $\geq 4,0$ kg tandan buah segar (TBS) per tandan pada beberapa karakter morfologi kelapa sawit asal Kamerun memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan karakter tanaman berduri, permukaan daun mengkilat, warna daun hijau dan susunan daun berselang-seling. Produksi awal kelapa sawit berkisar antara 4,00 - 9,50 kg TBS per tandan dengan koefisien keragaman rendah, yaitu $< 20\%$. Karakter morfologi yang menunjukkan perbedaan adalah susunan dahan (jarang-rapat), ukuran dahan (kecil-sedang), warna dahan bervariasi, yaitu hijau, kuning, kuning kehijauan, hijau kekuningan, kuning kemerahan, dan hijau kemerahan. Antar dan inter aksesori (D21 dan D91) kelapa sawit terdapat perbedaan pada karakter bobot tandan buah segar walaupun secara statistik tidak berbeda, demikian juga untuk karakter susunan dahan, ukuran dahan, dan warna dahan.

Hasil pengamatan pada musim kemarau yang panjang minimal tiga bulan terhadap pembentukan bunga betina dan jantan menunjukkan bahwa bunga betina yang dihasilkan berkisar 2-16 dengan koefisien keragaman genetik 41,8%, sedangkan bunga jantan yang dihasilkan berkisar 0-8 dengan koefisien keragaman 60,05%. Produksi bunga jantan maupun betina 35 aksesori kelapa sawit asal Kamerun memiliki koefisien keragaman genetik yang tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa keragaman genetik masih tinggi.

Bunga kelapa sawit menurut jenisnya ada tiga yaitu bunga betina, jantan, dan hermaprodit. Pada waktu tanaman kelapa sawit masih muda, bunga betina lebih banyak dibandingkan bunga jantan pada kondisi normal, sedangkan bunga hermaprodit jarang terbentuk (Mangunsoekarjo dan Semangun 2008). Hasil pengamatan (Tabel 3)

yang dilakukan pada waktu musim kemarau panjang (lebih dari tiga bulan) khusus untuk bunga menunjukkan bahwa beberapa aksesori kelapa sawit yang tidak tahan terhadap cekaman kekeringan diduga dapat menghasilkan bunga jantan lebih banyak atau hampir sama dengan bunga betina seperti aksesori D71.8, D21.10, dan D2.1. Selain itu, aksesori kelapa sawit yang toleran/tahan cekaman kekeringan menghasilkan bunga betina jauh lebih banyak dari bunga jantan atau hanya menghasilkan bunga betina saja seperti aksesori D43.7, D20.7, dan D91.6. Aksesori D2.3 menghasilkan tiga jenis bunga yaitu betina, jantan, dan hermaprodit akibat cekaman kekeringan seperti Gambar 1.

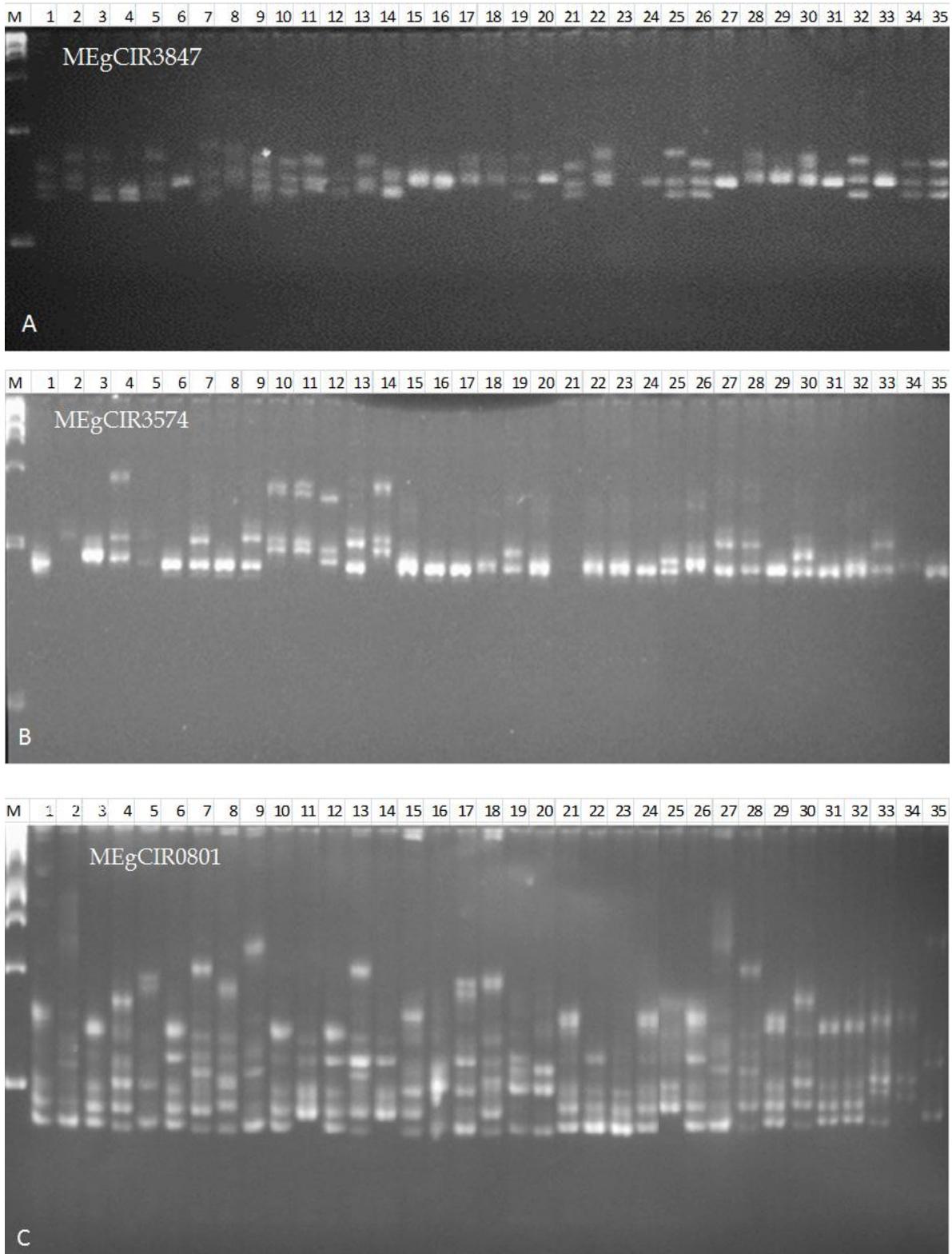


Gambar 1. Bunga kelapa sawit di KP. Sitiung, tahun 2015. A = Bunga betina, B = Bunga jantan, C = Bunga Hermaprodit, D = Buah/bunga hermaprodit.

Figure 1. Oil palm flowers at Sitiung field station in the year of 2015. A = female flowers, B = male flowers, C = Hermaphrodite flowers, D = Fruit/hermaphrodite flowers.

Analisis Molekuler

Dari 20 primer yang digunakan untuk mengamplifikasi 35 aksesori kelapa sawit telah dihasilkan banyak pita dan alel. Beberapa hasil amplifikasi DNA kelapa sawit dapat dilihat dalam Gambar 2. Berdasarkan gambar tersebut terlihat banyak pita yang posisinya sama dimiliki oleh hampir semua aksesori artinya bahwa aksesori yang memiliki posisi atau ukuran pita yang sama diduga memiliki gen yang sama.



Gambar 2. Beberapa hasil amplifikasi 35 aksesi kelapa sawit asal Kamerun menggunakan primer SSR. M = Ladder DNA 100 bp, 1-35 = aksesi kelapa sawit, dimana urutan sampel merujuk pada Tabel 1. menggunakan primer A. MEGCIR3847, B. MEGCIR3574, dan C. MEGCIR0801.

Figure 2. Some of amplification result thirty five of oil palm from Cameroon using SSR primers. M = 100 bp DNA Ladder, 1 - 35 = oil palm accecions, which the number follow on Table 1. By using primers: A. MEGCIR33847, B. MEGCIR3574, and C. MEGCIR0801.

Jumlah alel yang dihasilkan mencerminkan pola pita yang dihasilkan dari masing-masing aksesi kelapa sawit tersebut. Jumlah alel yang diperoleh kemungkinan berhubungan dengan tingkat resolusi separasi DNA yang digunakan. Pada analisis kekerabatan kelapa sawit asal Kamerun yang menggunakan marka mikrosatelit dengan metode separasi menggunakan gel agarosa atau gel metafora, jumlah alel yang dihasilkan kurang dari 10 (Tasma *et al.*, 2013; Tasma dan Arumsari, 2013).

Berdasarkan penghitungan pita-pita yang dihasilkan (Tabel 4) terlihat jumlah pita sampai enam pita, dengan kisaran alel yang dihasilkan 4–12 alel. Pada penggunaan alat deteksi marka SSR yang semi otomatis, alel-alel yang dihasilkan bisa mencapai 15–75 alel, walaupun pita yang dihasilkan hanya 1–5 saja (Tasliyah *et al.*, 2013). Walaupun demikian variasi sampel yang digunakan juga mempengaruhi variasi alel. Semakin beragam sampel yang digunakan maka semakin banyak variasi alel yang dihasilkan. Pada penelitian ini jumlah alel dominan masih sangat mendominasi variasi alel dibanding dengan alel jarang ataupun alel sedang. Alel dominan ini dapat didefinisikan sebagai alel yang selalu muncul di setiap aksesi. Pada penelitian Tasliyah *et al.* (2013), alel yang mendominasi justru alel jarang (<5%). Alel dominan ini pada akhirnya akan mempengaruhi nilai PIC. Hal ini terlihat dari nilai PIC yang diperoleh sebagian besar bernilai negatif, hanya 11 primer saja (55%) yang bernilai positif.

Nilai PIC yang rendah ini juga menunjukkan variasi aksesi yang digunakan tidak terlalu besar. Barangkali karena asal aksesi semuanya dari Kamerun menyebabkan tidak banyak variasi alel yang dihasilkan. Pada penelitian dengan menggunakan kelapa sawit dari berbagai negara yang tersebar di Afrika, walaupun hanya menggunakan 16 primer, alel yang dihasilkan sampai 209 alel, dengan rata-rata 13,1 alel/primer (Bakoumé *et al.*, 2015). Pada penelitian ini primer MEgcl3639 menghasilkan nilai PIC tertinggi (0,65), sedangkan nilai PIC terendah diperoleh pada primer MEgcl0046 (-0,48).

Nilai PIC pada mulanya dipakai oleh Botstein *et al.* (1980) pada saat membuat peta keterpautan pada manusia menggunakan marka RFLP. Menurutnya, nilai PIC ini dapat diterjemahkan sebagai nilai yang menginformasikan tingkat polimorfisme suatu marka yang digunakan. Dengan kata lain, semakin tinggi nilai PIC maka marka tersebut dianggap unik dan berbeda pada setiap individu yang digunakan, demikian pula semakin rendah nilai PIC berarti marka tersebut tidak spesifik atau hampir semua individu mengandung sekuen dari marka tersebut. Pada awalnya, rumus yang digunakan juga masih panjang, yang kemudian disederhanakan (Hildebrand *et al.*, 1992) seperti yang diuraikan pada bagian bahan dan metode. Kriteria nilai PIC menurut Botstein *et al.* (1980) adalah sangat informatif ($PIC > 0,5$), informasi sedang ($0,5 > PIC > 0,25$) dan kurang

Tabel 4. Tabulasi alel-alel yang dihasilkan dari 20 primer SSR.

Table 4. Tabulation alleles produced from 20 SSR primers.

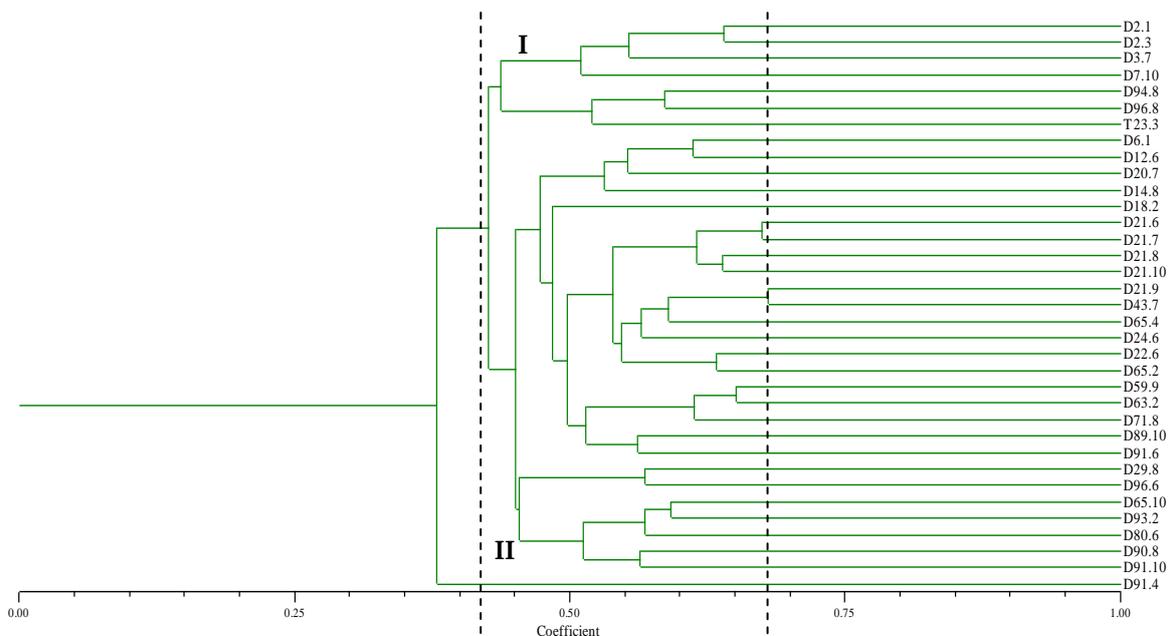
No.	Primer <i>Primer</i>	Jumlah pita <i>Band number</i>	Jumlah alel <i>Allel number</i>	Jumlah alel dominan (>30%) <i>Dominant allel number</i>	Jumlah alel jarang (<5%) <i>Rare allel number</i>	Jumlah alel sedang (5-30%) <i>Medium allel number</i>	Nilai PIC <i>PIC value</i>
1.	Megcl3847	0–3	5	2	0	3	0,16
2.	MEgcl3574	0–4	5	1	0	4	0,39
3.	MEgcl3869	0–6	6	4	1	1	-0,05
4.	MEgcl3639	0–3	5	2	0	3	0,65
5.	MEgcl0046	0–5	5	4	1	0	-0,48
6.	MEgcl3890	0–5	5	3	0	2	-0,06
7.	MEgcl3543	0–3	7	0	1	6	0,07
8.	MEgcl2144	1–4	4	1	0	3	-0,16
9.	MEgcl3555	0–3	7	3	0	4	0,33
10.	MEgcl3260	0–4	5	3	0	2	-0,08
11.	MEgcl0801	0–5	12	3	0	9	-0,35
12.	MEgcl0800	0–5	5	4	0	1	-0,02
13.	MEgcl0882	0–2	4	1	0	3	0,54
14.	MEgcl0059	0–4	7	1	4	0	0,49
15.	MEgcl0195	1–5	8	5	0	3	-0,45
16.	MEgcl3755	0–5	7	4	0	3	0,23
17.	MEgcl0878	0–4	4	3	0	1	0,05
18.	MEgcl3672	0–6	11	2	0	9	0,25
19.	MEgcl2427	0–3	7	1	1	5	0,56
20.	MEgcl3534	0–5	7	4	0	3	-0,42
	Kisaran	0–6	4–12	0–5	0–4	0–9	-0,48–0,65
	Rataan		6,3	2,68	1,6	3,61	0,04

informatif ($PIC < 0,25$). Hildebrand *et al.* (1992) membatasi $PIC > 0,7$ bersifat sangat informatif, sedangkan yang berada pada kisaran 0,44-0,7 memiliki kriteria sedang. Pada penelitian ini dengan menggunakan perhitungan rumus tersebut masih diperoleh nilai PIC yang negatif. Pada kasus-kasus seperti itu ada yang menyarankan untuk membuat perhitungan dendrogram nilai PIC yang kecil ($< 0,25$ sampai negatif) dibuang saja karena menunjukkan marka yang tidak informatif, atau memberikan hasil yang jelek. Namun, dalam penelitian ini seluruh alel yang terjadi baik bernilai PIC positif atau negatif tetap digunakan dalam perhitungan analisis kekerabatan.

Berdasarkan analisis kelompok dengan menggunakan koefisien Dice dan metode UPGMA, 35 aksesori kelapa sawit asal Kamerun terbagi ke dalam dua kelompok. Kelompok I diisi oleh 34 aksesori dengan tingkat kesamaan genetik 42,5% - 67,5%, sedangkan kelompok II hanya satu aksesori (D91.4). Pada penelitian Tasma *et al.* (2013) dendrogram yang mengelompokkan 50 aksesori kelapa sawit asal Kamerun (berbeda aksesori dengan yang digunakan untuk penelitian ini) menggunakan 12 primer dihasilkan tingkat kesamaan genetik 18-96%, sedangkan pada Tasma dan Arumsari (2013) yang juga menggunakan aksesori 49 aksesori kelapa sawit asal Kamerun dengan 20 primer dihasilkan tingkat kesamaan genetik 52-87%. Hasil dari kedua penelitian tersebut menunjukkan

ada dua kelompok, dimana kelompok I diisi oleh banyak aksesori, sedangkan kelompok II diisi oleh hanya satu atau beberapa aksesori saja. Hal ini sama dengan hasil penelitian ini. Hasil penelitian Sayekti *et al.* (2015) menggunakan 27 aksesori (136 individu kelapa sawit) asal Angola (Barat laut, Barat, Utara, Tengah, dan Selatan) yang ditanam di kebun Palapa, Riau terbagi dalam tiga kelompok, dimana setiap kelompok terdiri atas campuran kelima daerah penyebaran. Hal ini menunjukkan aksesori kelapa sawit yang digunakan mulai tersebar mulai pada tingkat kesamaan genetik 67,5% (Gambar 3).

Pada penelitian ini membuktikan bahwa walaupun memiliki nomor pohon asal sama, tapi dari biji yang berbeda (berbeda kode aksesori) tidak selalu identik 100%, menunjukkan kelapa sawit memiliki mekanisme penyerbukan silang. Misal, pada kode aksesori 91.4, 91.6, dan 91.10 walaupun berasal dari satu pohon asal (berbeda biji), namun pada dendrogram tersebut nomor 91.4 mengelompok terpisah dengan 91.6 dan 91.10. Demikian pula aksesori 91.6 dan 91.10 juga memisah berbeda kelompok, walaupun masih di dalam satu kelompok besar. Ketiga aksesori ini tidak mengelompok dalam satu kelompok. Hal ini menunjukkan pohon nomor 91 diserbuki oleh bunga jantan kelapa sawit dari pohon lain yang memiliki jarak genetik yang jauh dengan nomor 91 tersebut. Bisa jadi serbuk sari yang dibawa oleh perantara (angin



Gambar 3. Dendrogram yang disusun menggunakan hasil amplifikasi dari 20 primer SSR pada 35 aksesori kelapa sawit asal Kamerun dengan menggunakan metode pengelompokan UPGMA dengan koefisien Dice.

Figure 3. Dendrogram built by using amplification result of twenty SSR primers on thirty five of oil palm accessions originated from Cameroon using UPGMA clustering method with Dice coefficient.

atau serangga) berasal dari pohon yang berbeda-beda sehingga biji-biji dalam satu pohon memiliki susunan genom yang berbeda-beda pula. Aksesori 91.4 ini dapat dipilih sebagai tetua persilangan (tetua betina) dengan kelapa sawit kelompok Pisifera karena menunjukkan perbedaan genetik yang jauh dari kelompok lain. Komposisi genetik aksesori 91.4 ini banyak berbeda dengan aksesori lainnya. Komposisi genetik yang berbeda jauh akan memberikan peluang mendapatkan hasil yang lebih baik apabila disilangkan dengan aksesori lain. Penelitian lebih detil juga perlu dilakukan pada aksesori 91.4 ini, misalnya kandungan minyak, ketebalan cangkang, ketebalan daging buah, dll.

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan morfologi, aksesori kelapa sawit asal Kamerun memiliki keragaman genetik rendah pada peubah bobot tandan buah segar. Tiga puluh lima aksesori kelapa sawit asal Kamerun terbagi ke dalam dua kelompok, dimana kelompok I diisi 34 aksesori, sedangkan kelompok II hanya satu aksesori, yakni D91.4. Aksesori kelapa sawit D91.4 memiliki perbedaan genetik yang tinggi dibanding dengan aksesori kelapa sawit yang lain dan dapat dijadikan calon tetua untuk persilangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) TA 2015 No: 44.57/HM.230/I.1.3.2015.K. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Dr. Karden Mulya, Kepala Balai Besar Biogen, yang telah memberikan ijin penggunaan fasilitas Laboratorium Biologi Molekuler untuk kegiatan penelitian ini. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Muhammad Rizky Aliansyah (Mahasiswa Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa) dan Lathifah Amaliah (Mahasiswa Departemen Biokimia, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor) yang telah banyak membantu dalam kegiatan di laboratorium. Selain itu juga disampaikan kepada Dr.Ir. Ismail Maskromo, M.Si (peneliti Balit Palma, Manado), atas saran dan masukannya di dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Arias, D., C. Montoya, H. Romero. 2012. Molecular characterization of oil palm (*Elaeis*

guineensis Jacq.) materials from Cameroon. Plant. Genet. Res. 11:1-9.

- Bakoumé, C., R. Wickneswari, S. Siju, N. Rajanaidu, A. Kushairi, and N. Biilotte. 2015. Genetic diversity of the world's largest oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) field genebank accessions using microsatellite markers. Genet. Resour. Crop Evol. 62:349-360.
- Billotte, N., N. Marseillac, A.M. Risterucci, B. Adon, P. Brottier, F.C. Baurens, R. Singh, A. Herrán, H. Asmadi, C. Billot, P. Amblard, T. Durrand-Gasselin, B. Courtois, D. Asmono, S.C. Cheah, W. Rohde, E. Ritter, and A. Charrier. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor. Appl. Genet. 110: 754-765.
- Botstein, D., R.L. Whie, M. Skolnick, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32:314-331.
- Doyle, J.J. and Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
- Haris, N., H. Aswidinnoor, N. T. Mathius, dan A. Purwantara 2003. Kemiripan genetik klon karet (*Hevea brasillensis* Muell. Arg.) berdasarkan metode *Amplified Fragment Length Polymorphisms* (ALFP). Menara Perkebunan 71(1):1-14.
- Hildebrand, E., D.C. Torney, and R.P. Wagner. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. Los Alamos Science 20:100-102.
- International Board for Plant Genetic Resources. 1989. Descriptor for oil palm. Rome.
- Kamaunang, J., dan I. Maskromo. 2007. Keragaman genetik plasma nutfah kelapa Dalam (*Cocos nucifera* L) di Kebun Percobaan Mapanget berdasarkan penanda DNA SSRs. Buletin Palma 33:18-27.
- Katsuyuki, I., H. Megumi, K. Noriyuji, N. Hiroshi, O. Michio, T. Katsuo, and T. Shigeto 2003. Genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera* L.) in Yap State. The Progress Report of the 2000-2001 Survey of the Reseach Project Social Homeostasis of Small Islands in an Islands zone. Kagoshima University Research Center for the Pacific Islands. Occasional Papers Section2, Report 2 (39):45-49.
- Mangoensoekarjo, S., dan H. Semangun. 2008. Manajemen agrobisnis kelapa sawit. Gajah Mada University Press. 605 h.
- Maskromo, I. 2007. Identifikasi blok penghasil tinggi dan potensi benih Kelapa Dalam di Provinsi Bali. Bul. Palma32:29-36.

- Mathius, T.N, and T. Hutabarat. 1997. Anaysis of genetic integrity of banana plantlets from *in vitro* culture by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Menara Perkebunan* 69(2):17-25.
- Mathius, N. T., T. Hutabarat, dan D. Suhendi 1997. The use of RAPD to evaluate genetic variability of hybrid parent in *Theobroma cacao* L. plants. *Menara Perkebunan*. 65(2):53-63.
- Mathius, N.T., E. Yuniastuti, R. Setiamiharja, dan M.H. Karmana. 2005. Analisis genotip normal dan abnormal pada klon kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dengan *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). *Menara Perkebunan*. 73(1):10-22.
- Miftahorrachman, M. Tulalo, dan E.T. Tenda. 2007. Kekerabatan antar enam aksesori plasma nutfah kelapa asal Provinsi Gorontalo. *Buletin Palma*. 33:28-36.
- Pandin, D.S. 2009. Keragaman genetik kultivar Kelapa Dalam Mapanget (DMT) dan Dalam Tenga (DTA) berdasarkan penanda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). *Buletin Palma*. 36:17-29.
- Prasetyono, J. dan Tasliah. 2004. Marka mikrosatelit: marka molekuler yang menjanjikan. *Buletin AgroBio* 6(2):41-47.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.1. User Guide. Department of Ecology and Evolution State University of New York, USA.
- Sayekti, U., U. Widyastuti, dan N.T. Mathius. 2015. Keragaman genetik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) asal Angola menggunakan marka SSR. *J. Agron. Indonesia* 43(2):140 - 146
- Tasliah, H. Rijzaani, Tri Zulchi P.H., S. Yuriyah, Rebin, Ma'sumah, dan T. S. Silitonga. 2013. Analisis keragaman genetik 161 aksesori mangga Indonesia menggunakan marka mikrosatelit. *J. AgroBiogen* 9(3):125-135.
- Tasma, I.M., A. Warsun1, D. Satyawan1, Syafaruddin, dan B. Martono. 2013. Analisis kekerabatan 50 Aksesori kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) asal Kamerun berdasarkan marka mikrosatelit. *J. Agro Biogen* 9(1):19-27.
- Tasma, I.M. dan S. Arumsari. 2013. Analisis diversitas genetik aksesori kelapa sawit Kamerun berdasarkan marka SSR. *J. Littri* 19(4):194-202.
- Temnykh, S., W.D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hanck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii, S.R. McCouch. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100: 697-712.
- Tenda, E.T., dan J. Kamaunang. 2007. Keragaman fenotipik kelapa Dalam di Kabupaten Pacitan, Tulungagung, dan Lumajang, Jawa Timur. *Buletin Palma*. 32:22-28.
- Ting N-C, N. M. Zaki, R. Rosli, E-T. L. Low, M. Ithnin, S-C. Cheah, S-G Tan and R. Singh. 2010. SSR mining in oil palm EST database: application in oil palm germplasm diversity studies. *J. Genet.* 89(2):135-145.
- Zaki, N.M., I. Ismail, R. Rosli, T.N. Chin, R. Singh. 2010. Development and characterization of *Elaeis oleifera* microsatellite markers. *Sains Malays.* 39:909-912.
- Zaki, N.M., R. Singh, R. Rosli, I. Ismail. 2012. *Elaeis oleifera* genomic-SSR markers: exploitation in oil palm germplasm diversity and cross-amplification in Arecaceae. *Int. J. Mol. Sci.* 13:4069-4088.