

IDENTIFIKASI AWAL KELAPA SAWIT INTRODUKSI DENGAN MARKA RAPD

Eva S. Bayu¹, Isman Nuriadi¹, Yusuf Husni¹, Syaffrudin Ilyas¹, A.R. Purba², dan Lollie A.P. Putri¹

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU, Jl. Prof. A. Sofyan no.3 Medan-20155

²Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), Jl. Brigjend Katamso no 51 Medan-20158

ABSTRACT

The objective of this research was to study genetic diversity of introduction oil palm from Cameroon. RAPD analysis using 3 primers was done at Universitas Sumatera Utara. OPO-20 was monomorphism marker, meanwhile OPH-06 and OPN-03 were polymorphism marker.

Key words: Introduction oil palm, RAPD analysis, polymorphism and monomorphism.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) saat ini telah menjadi komoditas perkebunan strategis dan sangat penting di Indonesia. Hal ini didukung oleh potensi sumber daya lahan, sumber daya manusia dan potensi tanaman kelapa sawit serta letak geografisnya. Kelapa sawit sebagai komoditas andalan di masa depan memerlukan bahan tanaman yang memiliki keunggulan baik dalam hal sifat primer produktivitas minyak maupun dalam hal sifat sekunder seperti kualitas minyak dan komponen minor minyak sawit (Asmono *et al.*, 1999). Peningkatan peran kelapa sawit tidak terlepas dari kontribusi pemuliaan tanaman dalam mendukung penyediaan bahan tanaman unggul. Usaha merakit bahan tanaman kelapa sawit unggul sangat ditentukan oleh ketersediaan bahan dasar plasma nutfah dan variabilitas genetiknya.

Keragaman genetik menempati posisi penting dalam program pemuliaan, karena optimalisasi dan maksimalisasi sifat-sifat tertentu akan dapat dicapai jika cukup peluang untuk melakukan seleksi gen untuk sifat yang diinginkan juga merupakan syarat mutlak untuk pengembangan kultivar. Introduksi beberapa plasma nutfah dari *center of origin*, seperti Afrika dan Amerika Selatan dilakukan untuk memperkaya keragaman genetik kelapa sawit.

Kajian terhadap koleksi plasma nutfah yang diintroduksi dari Zaire (populasi Binga) pada tahun 1989 masih sangat terbatas (Jayusman *et al.*, 2001). Beberapa penelitian yang telah dilakukan pada tanaman kelapa sawit dengan menggunakan marka AFLP (Purba *et al.*, 2000), dengan marka RFLP (Maizura *et al.*, 2006), dengan marka RFLP dan AFLP (Barcelos *et al.*, 2002), dengan marka SSR (Cochard *et al.*, 2008; Billotte *et al.*, 2001; Billotte *et al.*, 2005; Ratnam *et al.*, 2006; Bakoume *et al.*, 2007) dengan isozim (Hayati *et al.*, 2004), dengan marka RAPD (Setiyo, 2001; Setiyo *et al.*, 2004; Setiyo *et al.*, 2005) dan dengan marka SSR (Putri *et al.*, 2010).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan mengetahui keragaman genetik plasma nutfah kelapa sawit tetua hasil introduksi dengan menggunakan lokus-lokus marka RAPD guna pengembangan dan perakitan bahan tanaman unggul kelapa sawit.

BAHAN DAN METODE

Semua kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur jaringan Fakultas Pertanian dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Isolasi, Penetapan Kemurnian dan Konsentrasi DNA Genom Asal Daun

Ekstraksi DNA dari daun kelapa sawit dilakukan sesuai dengan prosedur standard Sambrook *et al.* (2001) dan Orozco-Castillo *et al.* (1994) dilakukan menurut metode CTAB yang dimodifikasi khususnya penambahan antioksidan *polivinilpolipirolidon* (PVPP) (Toruan-Matius *et al.*, 1996) dan *merkaptotanol* selama melakukan penggerusan contoh dan ke dalam buffer ekstrak dan tanpa nitrogen cair. Sebanyak 0,3 g daun digerus sampai halus di dalam mortar dengan penambahan buffer CTAB 2%.

Pemurnian DNA genom dilakukan dengan menggunakan campuran kloroform : isoamilalkohol (24 : 1), disentrifusi dengan mesin Eppendorf 5415D pada kecepatan 11.000 rpm selama 5 menit. Pemurnian dilakukan dua kali sampai terbentuk emulsi. Cairan bagian atas ditambahkan dengan 1 ml isopropanol dingin dan dikocok perlahan-lahan sampai terbentuk benang-benang halus berwarna putih. Pelet DNA yang diperoleh dari hasil sentrifusi dikering-anginkan dengan membalikkan tabung selama 5 menit, pada suhu kamar. Pelet yang dihasilkan dicuci dengan 5 ml alkohol dingin 70%, disentrifusi dan peletnya dilarutkan dalam 5 ml Tris EDTA (TE). Pencucian dilakukan beberapa kali, selanjutnya DNA dilarutkan dalam 1 ml larutan TE di tabung Eppendorf dan disimpan pada suhu -20°C.

Amplifikasi dengan Teknik PCR

DNA daun kelapa sawit diamplifikasi dengan metode PCR menggunakan primer acak RAPD. Komposisi master mix yang digunakan adalah Go Green Taq (Promega) dan primer acak dan berbagai suhu penempelan (*annealing*). Hasil amplifikasi dengan metode PCR dapat diketahui dari elektroforesis DNA menggunakan gel agarose (Invitrogen) 1,4% di dalam buffer TAE 1X.

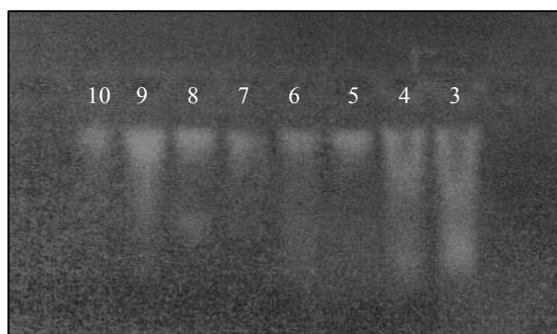
Untuk amplifikasi, 2 µl ekstrak DNA ditambahkan ke 12,5 µl *reaction mix*, 9,5 µl *nuclease free water* dan 1 µl primer acak. AB Biosystem thermocycler diprogram sebagai berikut: sesudah 2 menit pemanasan pada 94°C, amplifikasi DNA dilakukan pada 45 siklus dari 1 menit denaturasi pada 94°C, 1 menit pada 36-37°C, dan 2 menit *extensión* pada 72°C. Empat puluh lima siklus diakhiri sesudah 4 menit *extensión* pada 72°C dan didinginkan hingga 4°C. Fragmen DNA dari hasil amplifikasi dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis 1,4% agarose yang diberi pewarnaan ethidium bromida, selama 80 menit dengan voltase 50 V. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV-transiluminator dan didokumentasi dengan kamera digital.

HASIL DAN PEMBAHASAN

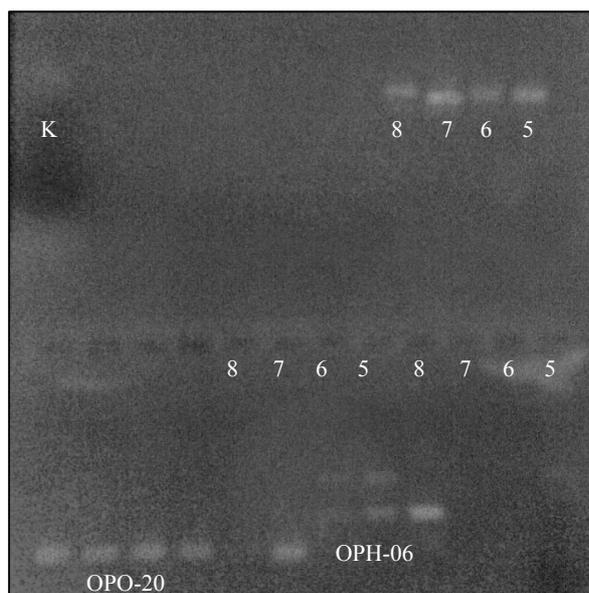
Semua hasil isolasi DNA dilihat pada elektroforesis untuk uji kualitas. Hasil cukup baik dan dipakai untuk DNA templat pada reaksi PCR berikutnya. Dari 10 sampel yang diisolasi hanya 4 sampel yang telah digunakan dan telah dicoba dengan 2 primer yaitu OPO 20 dan OPN-3, yaitu sampel Adolina 5, 6, 7, dan 8.

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa meskipun isolasi DNA tanpa nitrogen cair, namun masih dapat diperoleh DNA yang dapat digunakan pada reaksi PCR.

Hasil running PCR untuk primer OPN-03, OPH-06 dan OPO-20 telah dilaksanakan pada ke empat sampel DNA nomor sampel Adolina 5, 6, 7, dan 8. Profil PCR dari primer OPO-20 menunjukkan pita-pita yang mirip satu dengan yang lainnya, sehingga hasil sementara menunjukkan bahwa



Gambar 1. Uji kualitas DNA sampel Adolina 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10.



Gambar 2. Profil hasil PCR dengan primer OPN-03 (atas), OPH-06 (bawah kanan) dan OPO-20 (bawah kiri) untuk sampel Adolina 5, 6, 7, dan 8. M (marker).

OPO-20 ini merupakan primer yang monomorfik untuk populasi sampel yang digunakan. Primer OPN-03 dan OPH-06 merupakan primer yang diduga polimorfik untuk sampel yang digunakan.

KESIMPULAN

Primer OPO-20 merupakan primer yang monomorfik, sedangkan primer OPN-03 dan OPH-06 merupakan primer yang polimorfik untuk sampel yang digunakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana dengan bantuan Dana PNBP Universitas Sumatera Utara tahun 2012 dan bahan tanaman kelapa sawit introduksi dari Kamerun diperoleh atas izin dari PPKS Medan.

DAFTAR PUSTAKA

- Hayati, A.R., R. Wickneswari, I. Maizura, N. Rajanaidu. 2004. Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germplasm collection from Africa : implication for improvement and conservation of genetic resources. *Theor. Appl. Genet.* 108:1274-1284.
- Jayusman, L.F. Budiman, D. Asmono. 2001. Studi keragaman genetik *Elaeis guineensis* Jacq. Intrapopulasi Binga dengan menggunakan random amplified polymorphic DNA (RAPD). Kongres IV dan Simposium Nasional Peripi. Yogyakarta, 23-24 Oktober 2001.
- Oroczo-Castillo, C., K.J. Chalmers, R. Waugh, W. Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87:934-940.
- Purba, A.R. *et al.* 2000. A new aspect of genetic diversity in Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) revealed by isoenzyme and AFLP markers and its consequences for breeding. *Theor. Appl. Genet.* 101:956-961.
- Putri, L.A.P. 2010. Pendugaan parameter genetik dan karakterisasi molekuler keragaman genetik dengan marka mikrosatelit pada kelapa sawit. Disertasi. Sekolah Pascasaerjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Setiyo, I.E. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit Sungai Pancur (RISPA Sekolah Pascasaerjana Institut Pertanian Bogor).
- I.E, Putri L.A.P., Arif, M. 2004. Pemuliaan kelapa sawit berbantuan marka molekuler untuk peningkatan kandungan asam oleat. Hal 90-102. Prosiding Seminar Nasional dan Pra Kongres PBBMI. Yogyakarta, 2 Oktober 2004.
- Setiyo, I.E., L.A.P. Putri, P. Aryani, D. Asmono. 2005. Konstruksi peningkatan kerapatan peta pautan genetik berdasarkan marka RAPD pada populasi backcross BC1 *E. oleifera* dan *E. guineensis*. hal 1-9. Prosiding Seminar Nasional dan Pra Kongres PBBMI. Pekanbaru 30 Nov-1 Des 2005. (OP-02).
- Toruan-Mathius, N., T. Hutabarat. 1997. Pemanfaatan teknik penanda molekuler dalam usaha meningkatkan produktivitas tanaman perkebunan. *Warta Puslit Biotek Perkebunan* II(1):2-9.