

Visualisasi Hasil Amplifikasi DNA Origin Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Plasma Nutfah PT. Socfindo Berdasarkan Tiga Primer SSR

*Visualization of Amplified DNA of Origin of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Germplasm PT. Socfindo Based on Three SSR Primers*

Rini Anggreini, Eva Sartini Bayu*, Hot Setiado

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan 20155

*Corresponding author: evagirsang61@gmail.com

ABSTRACT

*The oil palm plant is a one-piece plant included in *Palmae*'s family. Molecular marking applications can be used to improve efficiency in analyzing genetic relationship, gene mapping, and marker-assisted selection (MAS) in oil palm plants. This study aims to determine the visualization of the amplification of DNA of Origin of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Germplasm PT. Socfindo Based on Three SSR (Simple Sequence Repeats) Primers. The material analyzed is the 14 origin of oil palm originating from the germplasm of PT. Socfindo. The results showed the size of DNA bands that varied from 138 bp to 308 bp. The lowest band size was found on the FR-0782 primers, namely 138-211 bp and the polymorphic percentage was 60%.*

Key words: oil palm, molecular markers, SSR markers

ABSTRAK

Tanaman kelapa sawit merupakan tanaman berkeping satu yang termasuk dalam famili *Palmae*. Aplikasi marka molekuler dapat digunakan untuk meningkatkan efisiensi dalam menganalisis kekerabatan genetik, pemetaan gen, dan *marker-assisted selection* (MAS) pada tanaman kelapa sawit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui visualisasi hasil amplifikasi DNA origin kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) plasma nutfah PT. Socfindo menggunakan 3 primer SSR (*Simple Sequence Repeats*). Materi yang dianalisis merupakan 14 stok origin kelapa sawit yang berasal dari plasma nutfah PT. Socfindo. Hasil penelitian menunjukkan ukuran pita DNA yang bervariasi berkisar antara 138 bp sampai 308 bp. Ukuran pita paling rendah ditemui pada primer FR-0782 yaitu 138-211 bp dan persentase polimorfik sebesar 60%.

Kata kunci: kelapa sawit, marka molekuler, marka SSR

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa sawit merupakan tanaman berkeping satu yang termasuk dalam famili *Palmae*. Nama genus *Elaeis* berasal dari bahasa Yunani *Elaoin* atau minyak sedangkan nama species *guineensis* berasal dari kata

Guinea, yaitu tempat di mana seorang ahli bernama Jacquin menemukan tanaman kelapa sawit pertama kali di pantai Guinea. Salah satu dari beberapa tanaman golongan *palm* yang dapat menghasilkan minyak adalah kelapa sawit. Tanaman *Elaeis guineensis* Jacq ini juga

dikenal dengan nama, kelapa sawit (Melayu), kelapa sewu (Jawa) (Darnoko *et al.*, 2000).

Luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia dari tahun ke tahun mengalami kenaikan yang disertai dengan kenaikan nilai produksi CPO (*Crude Palm Oil*). Pada tahun 2016 luas areal tanaman kelapa sawit Indonesia mencapai 11.914.449 ha dan produksi 33.229.381 ton. Hingga akhir tahun 2017 sendiri, baik luas areal maupun produksi total nasional diestimasi akan mengalami kenaikan masing-masing menjadi 12.307.667 ha dan 35.359.384 ton (Ditjenbun, 2016).

Informasi hubungan genetik antara individu dan di antara spesies mempunyai kegunaan penting bagi perbaikan tanaman. Salah satu kegiatan penting yang memerlukan analisis keragaman genetik yaitu pemuliaan tanaman. Dalam program pemuliaan tanaman, pendugaan hubungan genetik sangat berguna untuk mengelola plasma nutfah, identifikasi kultivar, membantu seleksi tetua untuk persilangan, serta mengurangi jumlah individu yang dibutuhkan untuk pengambilan sampel dengan kisaran keragaman genetik yang luas (Toruan *et al.* 1997).

Secara umum, teknik marka molekuler memberikan kontribusi dalam identifikasi plasma nutfah, konservasi, pemilihan tetua untuk program seleksi, kontruksi peta pautan genetik dan seleksi sifat penting tanaman kelapa sawit. Keunggulan dari marka DNA ini yaitu dapat memberikan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak, konsisten dan tidak dipengaruhi lingkungan (Putri, 2010).

Analisis keragaman genetik dapat dilakukan melalui analisis hasil elektroforesis DNA. Pita-pita DNA yang terbentuk menunjukkan polimorfisme sehingga dapat diketahui posisi-posisi tertentu dalam pohon filogeni. Beberapa program statistik khusus digunakan untuk membantu analisis ini yaitu NT-Sys dan Treecon. Untuk membedakan satu organisme dengan organisme lain digunakan bobot molekul dari pita-pita yang terbentuk. Penggunaan cara ini akan merujuk pada kesepakatan biner seperti jika ada pita pada

suatu posisi berat molekul dianggap bernilai 1 sedangkan jika tidak ada bernilai 0 (Suryanto, 2003).

Marka SSR untuk kelapa sawit pertama kali dikembangkan oleh CIRAD Perancis. Berdasarkan hasil analisis data multivariat Bilotte *et al.* (2001) melaporkan kemampuan marka SSR yang sangat efisien untuk menunjukkan struktur keragaman genetik genus *Elaeis* sesuai dengan daerah asalnya. Berdasarkan tingkat variabilitas aleliknya yang tinggi, marka SSR dapat menjadi perangkat yang sangat bermanfaat untuk kajian genetik genus *Elaeis*, antara lain untuk identifikasi plasma nutfah dan pemetaan genetik intra atau interspesifik.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah koleksi Stock DNA asal penelitian Putri (2016) sebanyak 14 sampel yang berasal dari pusat seleksi Bangun Bandar PT. SOCFINDO, Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Berdagai, Sumatera Utara. Bahan kimia yang digunakan adalah Primer SSR, *Polyvinylpyrrolidone* (PVPP), nitrogen cair, buffer ekstraksi *cetyl trimethylammonium bromide* (CTAB), buffer ekstraksi CTAB (2 gr NaCl, 5 gr CTAB, 100ml aquades), Buffer TAE, Buffer TE, KIAA (24 ml klorofom : 1ml isoamil – alcohol) HCl p.a, NaOH, Na-EDTA, isopropanol dingin, *ethylenediamine tetraacetic* (EDTA), β -*mercaptoethanol* 2%, etanol 70%, etanol absolute, DNA marker 100bp Ladder, Go taq Green Master Mix, loading dye, aquades, aquabidest, agarose dan primer, kertas tissue, sarung tangan karet, aluminium foil.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet ukuran 1-10 μ l, 20-100 μ l, 100-1000 μ l, tip pipet (warna kristal, kuning dan biru) rak tube, autoklaf, waterbath, magnetik stirer, centrifuge, freezer, komputer, timbangan elektrik, vortex, cetakan agarose, tabung *eppendorf* 2ml dan 1,5 ml, *chambell well* (bak elektroforesis), *power*

supplay, PCR (*Therma Cycler*) *UV Transilluminator*, Gel-Doc (*UV Cambridge*), pH meter, alat-alat gelas (beaker gelas, erlenmeyer dan gelas ukur), alat tulis, pengaduk , kamera, gunting, pinset, spatula, timbangan digital.

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan 3 Primer SSR . Sebelum *running* PCR dilakukan pengenceran DNA dengan mengambil 9 µl stok DNA dan ditambah 15 µl ddH₂O sehingga diperoleh 24 µl aliquot DNA. Kemudian dilakukan pengenceran primer yaitu tube primer di sentrifuge selama 5 menit setelah itu ditambahkan ddH₂O sesuai ukuran molar. Dibuat aliquot primer yaitu dengan mengambil 10-15 µl stok primer.

Bak elektroforesis disiapkan dan diisi dengan TBE 0,5x sebanyak 300 ml. Kemudian cetakan gel yang sudah kering dimasukkan ke dalam bak, cetakan gel dipastikan terendam dalam *buffer*. Kemudian *load ing buffer* disiapkan dalam parafilm dan dicampurkan dengan sampel. Sampel dimasukkan ke dalam sumur-sumur elektroforesis sebanyak 4 µl lalu dijalankan alat elektroforesis dengan menghubungkannya dengan *power supply*.

Ukuran fragmen basa (pasangan basa = bp) produk PCR ditentukan dengan menggunakan UVITEC *Cambridge FireReader*, fragmen DNA yang digunakan sebagai standart ukuran yaitu 100 bp + (*Invitrogen*) DNA *ladder*, data gambar hasil elektroforesis yang dimasukkan kedalam program akan dideteksi muncul tidaknya band dan dinilai berdasarkan *marker value* yang telah dimasukkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Materi genetik yang digunakan untuk analisis berasal dari 14 sampel Origin Kelapa Sawit Plasma Nutfah yang telah diisolasi dan dalam bentuk DNA stok.

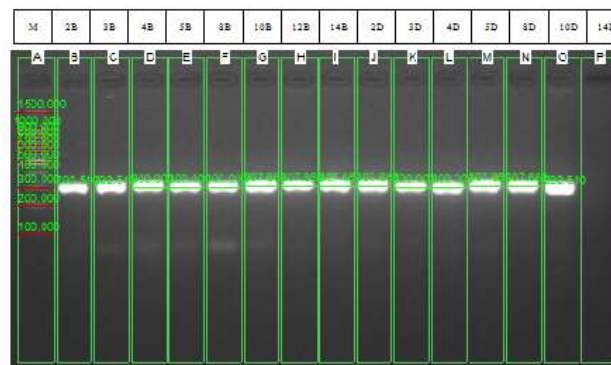
Sebanyak 14 stok sampel DNA tanaman kelapa sawit di amplifikasi dengan mesin PCR menggunakan 3 primer SSR yaitu

FR-0782, FR-0783 dan FR-3542 kemudian dielektroforesis dengan menggunakan agarose sebanyak 2,5%, voltase sebesar 60 V selama 120 menit.



Gambar 1. Elektroforesis hasil amplifikasi produk PCR DNA Origin Kelapa Sawit dengan Primer FR-0782

Primer FR 0782 mampu menunjukkan amplifikasi pada 14 DNA origin kelapa sawit yang diuji. Pola pita bersifat heterozigot, jumlah pita sebanyak 2 dan ukuran pita sekitar 178 bp dan 148 bp. Persentase polimorfis sebesar 100%. Visualisasi primer FR 0782 dapat dilihat pada Gambar 1.

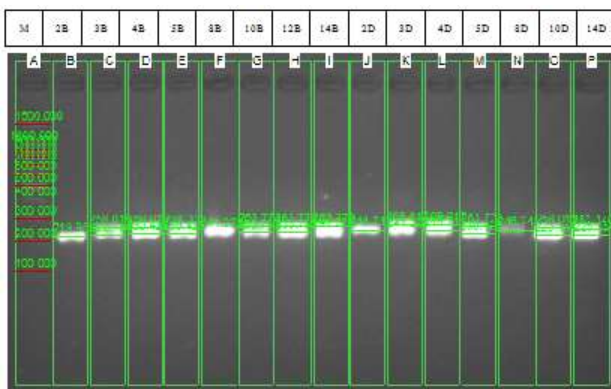


Gambar 2. Elektroforesis hasil amplifikasi produk PCR DNA Origin Kelapa Sawit dengan Primer FR-0783

Primer FR 0783 mampu menunjukkan amplifikasi pada 14 DNA origin kelapa sawit yang diuji. jumlah pita sebanyak 1 dan ukuran pita sekitar 301 bp. Persentase polimorfis sebesar 0%. Visualisasi primer FR 0783 dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Persentase polimorfik pita yang muncul dari tiga primer SSR

No..	Nama Primer	Ukuran Pita (bp)	Σ Pita	Σ Pita Polimorfik	Σ Pita Monomorfik	% Polimorfik
1.	FR 0782	138-211	2	2	0	100%
2.	FR 0783	292-308	1	0	1	0%
3.	FR 3543	219-270	2	1	1	50%
	Total		5	3	2	150%
	Rata-Rata		1,67	1	0,67	60%



Gambar 3. Elektroforesis hasil amplifikasi produk PCR DNA Origin Kelapa Sawit dengan Primer FR-3543

Primer FR 3543 mampu menunjukkan amplifikasi pada 14 DNA origin kelapa sawit yang diuji. Pola pita bersifat heterozigot, jumlah pita sebanyak 2 dan ukuran pita sekitar 219 bp dan 270 bp. Persentase polimorfis sebesar 100%. Visualisasi primer FR 0782 dapat dilihat pada Gambar 3.

Amplifikasi 14 aksesori origin kelapa sawit 3 Primer SSR menunjukkan polimorfisme yang tinggi. Hasil pengamatan jumlah fragmen DNA dan persentase polimorfik setiap primer dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pola pita yang dihasilkan oleh ketiga primer yang digunakan memperlihatkan pola pita yang hampir sama. Ketiga primer yang digunakan menghasilkan jumlah pola pita sebanyak 1-2 pita DNA per primer. Ukuran pita-pita DNA yang dihasilkan bervariasi antara 138 bp sampai dengan 308 bp. Total

pola pita dari ketiga primer yang tampak sebanyak 5 pita dengan pita polimorfik sebanyak 3 pita dan pita yang monomorfik sebanyak 2 pita. Persentase rata-rata pita yang polimorfik sebesar 60% untuk seluruh primer. Hal ini dikarenakan marka SSR yang digunakan sangat efektif sebagai penanda molekuler, yaitu memiliki sekuens DNA yang cukup pendek dan bersifat kodominan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri (2010) bahwa marka SSR (*Simple Sequence Repeat*) merupakan salah satu penanda DNA yang menggunakan prinsip kerja reaksi polimerisasi berantai dengan menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Setiap primer yang digunakan akan dihasilkan pita yang polimorfis yang mampu menetapkan variabilitas genetik populasi.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ukuran pita yang muncul dari 3 primer yang digunakan berbeda-beda. Ukuran pita berkisar 138 – 308 bp. Ukuran pita paling rendah ditemui pada primer FR-0782 yaitu 138-211 bp. Ferreira dan Grattapaglia (1996) menyatakan bahwa jumlah pasang basa yang dapat teramplifikasi pada DNA genom tanaman berkisar antara 200-2000 bp bahkan terkadang mencapai 5000 bp hal ini berbeda terjadi pada penelitian ini yakni ukuran DNA hasil amplifikasi berkisar 138-308 bp, perbedaan ini dapat disebabkan perbedaan jenis tanaman dan konsentrasi cetakan DNA. Ukuran pola pita yang beragam ini disebabkan oleh perbedaan urutan basa nukleotida dan interaksi antara 3 primer yang digunakan dengan cetakan DNA. Hal ini sesuai dengan pernyataan Setiyo (2001) yang

menyatakan bahwa perbedaan jumlah pita yang dihasilkan setiap primer disebabkan perbedaan urutan basa nukleotida primer atau interaksi primer dengan DNA cetakan.

SIMPULAN

Hasil amplifikasi DNA kelapa sawit dengan menggunakan 3 primer SSR (FR-0782, FR-0783 dan FR-3543) menghasilkan 5 pita, 3 pita diantaranya bersifat polimorfis (60%). Ketiga primer yang digunakan menghasilkan jumlah pola pita sebanyak 1-2 pita DNA per primer. Ukuran fragmen berkisar antara 138 bp hingga 308 bp. Ukuran fragmen pita pada primer FR 0782 berkisar 138-211 bp, pada primer FR 0783 berkisar 292-308 bp, dan pada primer FR 3543 berkisar 219-270 bp. Perlu dilakukan pengujian dengan primer SSR lainnya dan primer Spesifik untuk menambah informasi molekuler yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Darnoko, D, Cheryan, M. 2000. Kinetics of Palm Oil Transesterification in a Batch Reactor. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77: 1263- 1267.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017. Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta.
- Ferreira, M. E. dan D. Grattapaglia. 1996. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 2nd ed. Embrapa-Cenargen, Brasília.
- Putri L A P. 2010. *Pendugaan Parameter Genetik dan Karakterisasi Molekuler Keragaman Genetik Dengan Marka Mikrosatelit (SSR) Pada Kelapa Sawit.. Disertasi*. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Putri, L. A. P., M. Basyuni, E. S. Bayu. 2016. Pengembangan, peningkatan mutu genetik dan produksi bahan tanaman kelapa sawit unggul berbasis aplikasi teknologi genomik. *Laporan Tahunan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi*. hlm 91. (Tidak dipublikasikan).
- Setiyo, I. E. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit sungai pancur (RISPA). *Tesis*. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Suryanto, D. 2003. *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. FMIPA USU, Medan.
- Toruan-Mathius, N., T. Hutabarat, U. Djulaicha, A.R. Purba, and T. Hutomo. 1997. Identification of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Dura, Pisifera, and Tenera by RAPD markers. *Proc. IBC*. 97: 237 – 248