

Analisis Keragaman Genetik Klon Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Berdasarkan 4 Marka RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA)

Genetic diversity analysis of oil palm clone based on four RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) markers

Ana Christin Simbolon, Mbue Kata Bangun, Lollie Agustina P. Putri*,
Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan 20155
*Corresponding author: lollie_agustina@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of research was to analyze genetic diversity in oil palm from clone based on RAPD markers (Random Amplified Polymorphism DNA). This research has been conducted at the laboratory of molecular genetics Faculty of Agriculture University of Sumatera Utara and BioMolecular Laboratory SSPL (Socfindo Seed Production and Laboratories), Bangun Bandar, Dolok Masihul, Serdang Bedagai, Sumatera Utara, from March to August 2016. The number of samples were samples of the original palm leaf clones derived from PT. SOCFINDO and have been isolated. There were differences in bands pattern resulted from primer OPD-20, OPD-13, OPH-13, OPN-03. The size of bands was 470 – 2609 bp. Coefficients of genetic diversity and phylogenetic dendrogram obtained using software Darwin5.05 which can only process 28 accessions tested. The analysis showed that accessions palm oil clones were divided into three main groups.

Keywords: clones, genetic diversity, oil palm, random amplified polymorphism DNA.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik pada tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) asal klon berdasarkan marka RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*) dengan primer OPD-20, OPD-13, OPH-13, OPN-03. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Fakultas Pertanian Universitas Sumatera dan Laboratorium Bio Molekuler SSPL (Socfindo Seed Production and Laboratories) Bangun Bandar, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara, pada Maret s/d Agustus 2016. Sebanyak 30 sampel daun kelapa sawit asal klon berasal dari PT. SOCFINDO dan telah diisolasi. Total pola pita yang dihasilkan dari primer OPD-20, OPD-13, OPH-13, OPN-03 adalah 21 pola pita. Ukuran pita yang dihasilkan berkisar 470 – 2609 bp. Koefisien keragaman genetik dan dendrogram filogenetik diperoleh menggunakan software Darwin 5.05 yang hanya dapat memproses 28 aksesori yang diuji dan sebagian aksesori tidak memenuhi persentase yang distandarkan. Analisis tersebut menunjukkan bahwa 28 aksesori klon kelapa sawit terbagi dalam tiga kelompok utama yang menunjukkan terdapat keragaman genetik.

Kata Kunci : kelapa sawit, klon, keragaman genetik, *random amplified polymorphism DNA*

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) adalah 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 (*E. guineensis* Jacq.). Tanaman *E. guineensis* Jacq ini juga dikenal dengan nama, kelapa sawit (Melayu), kelapa sewu (Jawa) (Darnoko dan Sembiring, 2000).

Kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq) merupakan salah satu dari beberapa tanaman

palma penghasil minyak yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan termasuk industri padat karya. Pengusahaan tanaman ini untuk produksi minyak memiliki beberapa keunggulan, antara lain biaya produksi yang relatif murah, hasil per hektar tinggi, umur produktif yang panjang, serta pemanfaatannya beraneka ragam (Lubis 1992).

Tanaman kelapa sawit merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang menduduki posisi penting dalam sektor pertanian umumnya, dan sektor perkebunan khususnya. Hal ini disebabkan karena dari sekian banyak tanaman yang menghasilkan minyak atau lemak, kelapa sawit yang menghasilkan nilai ekonomi terbesar per hektarnya di dunia (Sunarko, 2009).

Kultur jaringan (kuljar) merupakan salah satu metode pemuliaan tanaman yang digunakan untuk perbanyak tanaman kelapa sawit. Perbanyak melalui kultur jaringan memungkinkan terjadinya variabilitas genetik pada planlet yang dihasilkan (Livy, 1988). Hutami *et al.*, (2005) menyatakan bahwa tanaman yang diperbanyak melalui kultur in-vitro dapat menyebabkan variasi somaklonal pada setiap planletnya. Keragaman somaklonal berasal dari keragaman genetik eksplan dan keragaman genetik yang terjadi di dalam kultur in-vitro.

Keragaman genetik yang terjadi di dalam kultur jaringan antara lain disebabkan oleh penggandaan jumlah kromosom (fusiendomitosis), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen, dan sitoplasma. Untuk mengetahui apakahterdapat keragaman genetik pada tanaman nilam hasil in-vitro dengan tetuanya dapat dilakukan melalui bantuan marka molekuler (Hutami *et al.*, 2005).

Penanda molekuler banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik tumbuhan, salah satunya adalah random amplified polymorphic DNA (RAPD). Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi genotipe tumbuhan, karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaan dan analisisnya. Dibandingkan dengan penanda DNA yang lain, seperti restriction fragment length polymorphisms (RFLP) dan simple sequence repeats (SSR), teknik RAPD lebih murah, mudah dilakukan, cepat memberikan hasil, menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak, tidak memerlukan pengetahuan tentang latar

belakang genom yang dianalisis dan mudah memperoleh primer acak yang diperlukan untuk menganalisis genom semua jenis organisme (Tingey *et al.*, 1994). Walaupun metode ini kurang sempurna dan memiliki kelemahan dalam konsistensi produk amplifikasi (Jones *et al.*, 1997), tetapi kelemahan ini dapat diatasi dengan mengoptimalkan ekstraksi, dan kondisi PCR serta pemilihan primer yang tepat.

Informasi parameter genetik sangat diperlukan untuk kegiatan seleksi dan penapisan. Kegiatan seleksi membutuhkan karakter yang tepat agar dapat berjalan efisien. Hasil (produksi minyak) merupakan perhatian yang paling penting dalam program pemuliaan sawit, tetapi hasil merupakan karakter yang diwariskan secara kompleks dan melibatkan beberapa komponen terkait (Putri, *et al.*, 2009).

Variabilitas genetik sangat mempengaruhi keberhasilan suatu proses seleksi dalam program pemuliaan. Perbaikan tanaman pada dasarnya tergantung dari tersedianya suatu populasi, yang terdiri dari individu-individu yang memiliki susunan genetik berbeda dan memiliki adaptasi yang luas serta keefektifan seleksi terhadap populasi tersebut (Ruchjaningsih *et al.*, 2002).

Plasma nutfah kelapa sawit asal klon yang di tanam di Pusat Seleksi Bangun Bandar PT. SOCFINDO, Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, belum pernah diketahui keragaman genetiknya secara molekuler sehingga masih banyak peluang untuk melakukan penelitian. Reaksi berantai polimerase *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah metode amplifikasi suatu sekuen DNA tertentu. PCR merupakan cara yang sensitif, selektif dan sangat cepat untuk memperbanyak sekuen DNA yang diinginkan (Murray *et al.*, 2000).

Empat komponen utama pada proses PCR adalah (1) DNA cetakan, yaitu fragmen DNA yang akan dilipat gandakan, (2) Oligonukleotida primer, yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (15-25 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA. Primer yang digunakan adalah PCR ada dua yaitu oligonukleotida yang mempunyai sekuen yang identik dengan sekuen pada ujung 3' OH rantai DNA cetakan yang lain, (3) *deoxy*

ribo Nukleotida Trifosfat (dNTP), yang terdiri atas dATP dCTP dGTP dTTP dan (4) Enzim DNA polimerase yaitu enzim yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi sintesis rantai DNA. Komponen lainnya yang juga berperan penting adalah senyawa *buffer* (Yuwono, 2006).

Keunggulan PCR (1) Polimerase-DNA dapat diarahkan untuk sintesis wilayah DNA tertentu. Teknik PCR sebenarnya mengeksplorasi berbagai sifat alami replikasi DNA. Dalam proses tersebut, polimerase –DNA menggunakan DNA berserat tunggal sebagai cetakan untuk mensintesis serat baru yang komplementer. Cetakan berserat tunggal dapat diperoleh dengan mudah dilaboratorium melalui pemanasan DNA berserat ganda pendek untuk memulai (*prime*) proses sintesis. Posisi awal dan akhir sintesis DNA pada PCR dapat ditentukan dengan menyediakan suatu oligonukleotida sebagai primer yang menempel secara komplementer pada cetakan sesuai dengan keinginan peneliti dan (2) PCR menghasilkan amplifikasi wilayah DNA tertentu. Serat DNA dapat berfungsi sebagai cetakan untuk mensintesis bila primer oligonukleotida disediakan untuk masing-masing serat. Sepasang primer dapat dipilih yang membatasi “*flanking*” wilayah dari DNA yang ingin diperbanyak sehingga serat DNA yang baru disintesis dimulai dari posisi primer, membentang sampai melewati primer dari serat lainnya (Murray *et al.*, 2000).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Molekuler Fakultas Pertanian Universitas Sumatera dan Laboratorium Biomolekuler Pusat Seleksi Bangun Bandar PT. SOCFINDO, Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2016 sampai bulan Agustus 2016.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari klon kelapa sawit sebanyak 30 individu dari klon BTC 64, yang dikeluarkan oleh Pusat Seleksi Bangun Bandar PT. SOCFINDO, Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara. Bahan kimia yang digunakan adalah *Polyvinylpolypyrrolidone* (PVPP), nitrogen cair, *buffer* ekstraksi *cetyl trimethylammonium*

bromide (CTAB), (2 gr NaCl, 5 gr CTAB, 100 ml aquades), Buffer TAE, buffer TE, KIAA (24ml kloroform : 1ml isoamil-alkohol) HCl p.a, NaOH, Na-EDTA, *isopropanol* dingin, *ethylenediamine tetraacetic* (EDTA), β -mercaptoethanol 2%, etanol 70%, *etanol absolute*, *Benchtop 1kb DNA ladder* (Promega, G7541), *Go Green taq Maste Mix Mix* (Promega, M7122), loading dye, aquades, aquabidest, agarose dan primer OPD-20, OPD-13, OPH-13, OPN- 03 kertas tissue, sarung tangan karet, aluminium foil.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar, alu, mikropipet ukuran 1-10 μ l, 20-100 μ l, 100-1000 μ l, micropipet (warna kristal, kuning dan biru) (Eppendorf Research plus), rak tube, autoklaf, waterbath, magnetik stirer, centrifuge (Tomy MX-Series), freezer, komputer, timbangan elektrik, vorteks (Biosan Basic Plus v-1), *nanospektrofotometer* (Eppendorf), tabung eppendorf 2ml dan 1,5 ml, *chambell well* (bak elektroforesis), *power supplay*, PCR *thermal Cycler* (*Mastercycler nexus*), *UV Transilluminator* Gel documentation (*UVITEC Cambridge 20 UV*), pH meter, alat-alat gelas (beaker gelas, erlenmeyer, dll) *power supply*, alat tulis, pengaduk, kamera, oven, gunting, pinset, spatula, timbangan digital.

Ukuran fragmen basa (pasangan basa=bp) produk PCR ditentukan dengan menggunakan software *UVITEC Cambridge Fire Reader*. Fragmen DNA yang digunakan yaitu 1kb DNA ladder. Dengan menggunakan software *UVITEC Cambridge Fire Reader* maka ukuran pita DNA (base pairs) ini akan berpacuan dari ladder yang kita gunakan. Program ini akan mengukur pita yang muncul berdasarkan ukuran ladder yang digunakan. Pengukuran pola pita yang terbentuk ini dengan pendar cahaya DNA yang terbentuk saat proses elektroforesis dengan sinar UV.

Matriks jarak atau ketidaksamaan genetik untuk semua kombinasi pasangan individu dapat dilakukan dengan dua tipe analisis deskriptif dari keragaman : Suatu jenis analisis Neighbour-Joining Tree (NJtree) berdasarkan Saitou dan Nei (1978) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu. Perhitungan dan analisis deskriptif ini menggunakan software Darwin5.05 (Perrier dan Jacquemoud-collet, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukannya isolasi DNA daun kelapa sawit maka dihasilkan DNA stok sebanyak 30 sampel. Setelah itu dilakukan uji kualitas DNA kelapa sawit asal klon BTC 64, dapat diketahui bahwa hasil dari isolasi DNA dengan metode Orozco- Castillo yang dimodifikasi dengan penambahan *Polyvinylpyrrolidone* (PVPP) dan β -*mercaptoethanol* yang dapat digunakan untuk proses PCR (Orozco- Castillo *et al.*, 1994)

Uji kuantitas DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm, sehingga diperoleh nilai kemurnian dan konsentrasi DNA hasil isolasi. Panjang gelombang 260 nm merupakan serapan maksimum untuk asam nukleat, sedangkan pada panjang gelombang 280 nm merupakan serapan maksimum untuk protein.

Prinsip dasar pada spektrofotometer adalah sampel yang dihasilkan harus jernih dan larut secara sempurna. Tidak ada partikel koloid dan suspensi. DNA yang mengandung basa-basa purin dan pirimidin dapat menyerap cahaya UV. Pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau phenol dapat menyerap cahaya pada 280 nm. Dengan adanya perbedaan penyerapan cahaya UV ini, sehingga kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 (A_{260}/A_{280}) (Fatchiyah, 2011).

Kemurnian DNA yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 0,53 – 2,44. Dari sampel DNA yang diisolasi hanya 10 sampel yang nilai kemurniannya berkisar 1,8 – 2,00 yaitu sampel nomor 11, 14, 17, 21, 24, 25, 26, 28, 29, 30. Hal ini menunjukkan bahwa sampel DNA telah murni. Sampel dengan nilai kemurnian kurang dari 1,8 sebanyak 14 sampel. Hal ini menunjukkan bahwa stok DNA masih banyak mengandung polysakarida. Sampel dengan

kemurnian lebih dari 2,0 sebanyak 6 sampel bahwa sampel ini masih belum murni dan banyak mengandung protein.

Sulandri dan Zein (2003) menyatakan bahwa kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan. Molekul DNA dikatakan murni jika rasio A_{260} dengan A_{280} berkisar 1,8 – 2,0. Jika nilai rasio lebih kecil dari 1,8 maka masih ada kontaminasi protein atau fenol di dalam larutan.

Konsentrasi DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah berkisar 2,2 ng/ μ l – 114,8 ng/ μ l. Konsentrasi paling rendah terdapat pada sampel nomor 6/90, sedangkan konsentrasi paling tinggi terdapat pada sampel nomor 17/77. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ng/ μ l – 25 ng/ μ l dengan pengenceran yang dihitung dan memperhatikan faktor pengenceran.

Menurut Haris *et al.* (2003), konsentrasi DNA berdampak pada kualitas fragmen hasil amplifikasi. Konsentrasi DNA yang terlalu rendah akan menghasilkan fragmen yang sangat tipis pada gel atau bahkan tidak terlihat secara visual, sebaliknya konsentrasi DNA yang terlalu tinggi akan menyebabkan fragmen terlihat tebal sehingga sulit dibedakan antara satu fragmen dengan fragmen lainnya.

Kerusakan stok DNA dapat diakibatkan oleh kurang baiknya penyimpanan di Laboratorium. Kemungkinan pada saat penggunaan tidak menggunakan *ice box* sehingga suhu DNA meningkat yang menyebabkan penurunan konsentrasi DNA. Hal ini sesuai dengan pendapat Andras (1996) yang menyatakan bahwa temperatur penyimpanan DNA yang dianjurkan adalah pada -20 C hingga -4C. DNA (tanpa tambahan) dapat mengalami kerusakan struktur jika berada pada temperature yang tinggi. Hal itu dikarenakan DNA terdiri dari dua jalinan yang dihubungkan dengan ikatan hidrogen, dan ikatan itu sangat rentan untuk rusak pada suhu tinggi

Tabel 1. Persentase pita polimorfis pada empat primer

No	Nama Primer	Total Pola Pita	Jumlah Pita Polimorfik	Jumlah Pita Monomorfik	Persentase Pita Polimorfik (%)
1	OPD 13	4	4	0	100%
2	OPD 20	5	5	0	100%
3	OPH13	5	5	0	100%
4	OPN 03	7	7	0	100%
Rataan		5.25	5.25	0	100%

Pita polimorfik adalah pita yang tidak terdapat pada seluruh sampel. Persentase pita polimorfik yang tinggi menunjukkan tingginya variasi pada setiap aksesori andaliman yang diteliti. Jumlah pita polimorfik hasil amplifikasi berbeda-beda. Semakin banyak pita polimorfik yang dihasilkan akan semakin mudah untuk mengamati adanya variasi (Azizah, 2009). Jumlah pola pita tertinggi terdapat pada primer OPN-03 yang berjumlah 7 pita jumlah pola pita terendah terapat pada primer OPD-13 yang berjumlah 4 pita.

Sebanyak 30 sampel telah dianalisis menggunakan mesin PCR. Hasil amplifikasi PCR menunjukkan bahwa terdapat 1 sampel tidak teramplifikasi pada setiap primer yang diujikan. 1 sampel dari 30 sampel tersebut yaitu sampel dengan kode N (14/82) sampel ke 14 dan no pohon 82.

Pita yang muncul memiliki ukuran basa dan intensitas yang bervariasi. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi. Banyaknya pita yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs homolog pada genom (Williams *et al*, 1990). Fragmen yang tidak muncul disebabkan tidak terjadinya

amplifikasi, mungkin terjadi karena primer yang digunakan tidak sesuai dengan DNA cetakan. Beberapa bukti percobaan menunjukkan bahwa perbedaan satu pasang basa saja cukup menyebabkan ketidaksesuaian cetakan primer yang kemudian mencegah amplifikasi (Williams *et al*, 1990).

Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pola pita yang dihasilkan oleh empat primer yang digunakan memperlihatkan pola pita yang berbeda. Ukuran pita-pita yang dihasilkan bervariasi antara 470 – 2609 bp. Total pola pita dari kelima primer yang tampak sebanyak 21 pita dengan rata-rata 5 pita pada primer dengan pita polimorfik sebanyak 21 dan pita monomorfik sebanyak 0 pita. Persentase pita yang polimorfik sebanyak 100% untuk seluruh primer.

Pada Tabel 1. menunjukkan bahwa jumlah pola pita tertinggi terdapat pada primer OPN-03 yang berjumlah 7 pola pita sedangkan jumlah pola pita terendah terdapat pada primer OPD-13 yang berjumlah 4 pola pita.

Penelitian ini menggunakan klon tanaman kelapa sawit sebagai bahan penelitian karena tanaman klon yang berasal dari perbanyakan *in vitro* dengan teknik kultur jaringan memperlihatkan adanya fenomena tanaman pada fase vegetatif dan generatif.

Tabel 2. Urutan basa empat primer dan sampel DNA yang tidak teramplifikasi

Nama Primer	Urutan Basa (5'-3')	Sampel yang tidak teramplifikasi	Jumlah
OPD 13	ACGCGCATGT	N,P,Q,T,V,W	6
OPD 20	ACCCGGTCAC	A,B,E,J,N,P,Q,S,A3	9
OPH 13	GACGCCACAC	N,P,Q,R,S,T,U,V,W,X,Y,Z,A2	13
OPN 03	GGTACTCCCC	C,N,R	3

Kelemahan pengamatan karakter morfologi membutuhkan waktu yang lama sampai tanaman berbunga dan berbuah. Sebagai contoh tanaman kelapa sawit dengan variasi somaklonal buah mantel yang harus menunggu tanaman berbuah, namun pada penelitian molekuler dapat dilakukan sebelum tanaman berbuah, sehingga dapat digunakan sedini mungkin. Variasi somaklonal dilakukan dengan mengamati karakter fenotipe setiap bagian variasi somaklonal. Menurut Bairu et al. (2011), variasi somaklonal dapat dideteksi dengan beberapa pendekatan yaitu, morfologi, biokimia, dan molekular.

Muncul atau tidaknya pita pada setiap primer berpengaruh terhadap konsentrasi primer yang juga berpengaruh terhadap intensitas produk PCR-RAPD. Menurut Padmalatha dan Prasad (2006) konsentrasi primer yang terlalu rendah atau terlalu tinggi menyebabkan tidak terjadinya amplifikasi. Rasio yang rendah antara primer dan DNA cetakan dapat menyebabkan produk RAPD yang dihasilkan tidak konsisten.

Beberapa dari pita DNA tersebut tidak terbentuk secara sempurna. Pada saat didokumentasikan dengan menggunakan *Geldoc* terlihat pita-pita DNA yang blur (tidak jelas). Hal ini disebabkan pita DNA yang tidak terbentuk secara sempurna. Berdasarkan penelitian Azizah (2009) hasil amplifikasi yang kurang baik dapat disebabkan oleh ketidaksesuaian primer, efisiensi, dan optimasi proses PCR. Primer yang tidak spesifik atau sesuai dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Optimasi PCR juga diperlukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan yang menyangkut suhu denaturasi dan *annealing* DNA dalam mesin PCR. Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya DNA utas ganda sehingga tidak dimungkinkan terjadinya penempelan primer. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi karena primer tidak menempel atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer

menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya. Hal ini menyebabkan teramplifikasi banyak daerah tidak spesifik dalam genom tersebut. Suhu penempelan (*annealing*) ini ditentukan berdasarkan primer.

Beberapa faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan proses elektroforesis dalam analisis ini. Faktor-faktor tersebut diantaranya adalah ukuran molekul DNA, konsentrasi gel agarosa, konformasi DNA, voltase, keberadaan pewarna DNA, komposisi buffer elektroforesis.

Pewarna DNA sangat menentukan tampak atau tidaknya pita DNA saat didokumentasikan dengan *geldoc*. Pada penelitian ini penulis menggunakan *Etidium Bromide* (EtBr) sebagai pewarna. Etidium bromide merupakan sebuah molekul yang dapat mengikat kuat pada DNA. Pewarna DNA digunakan untuk memvisualisasi DNA yang telah dipisahkan pada gel elektroforesis. Etidium mengikat dengan cara menyisip diantara ikatan basa pada untai ganda DNA.

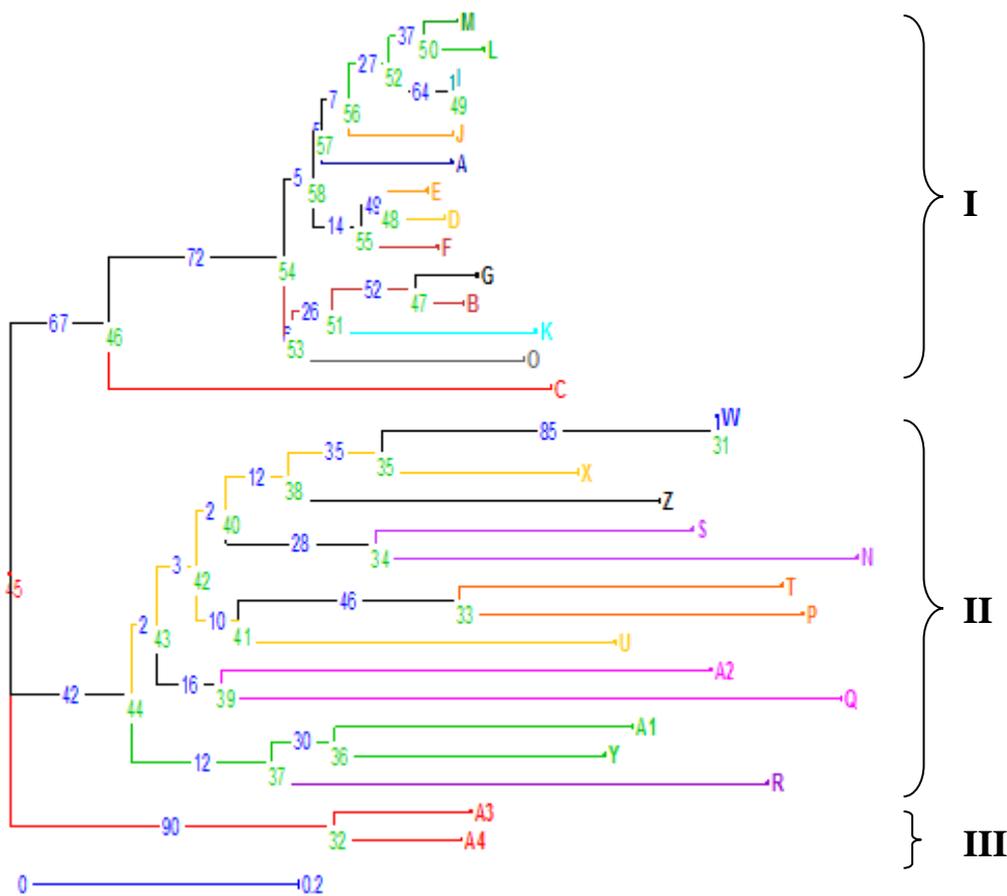
Gel disinari dengan ultraviolet dari bawah maka akan tampak citra berupa pita-pita pada gel yang dapat diamati dan dihitung panjang basepair nya dan discoring sehingga bisa ditentukan kekerabatan antar sampel yang diamati. Yuwono (2006) menyatakan bahwa pita-pita tersebut muncul peranan *Etidium bromide* dalam membantu visualisasi dengan memancarkan sinar ultraviolet.

Buffer TAE (*Tris Acetate EDTA*) merupakan larutan penyangga yang biasa digunakan dalam elektroforesis. Larutan ini berfungsi untuk meneruskan arus listrik sehingga diterima oleh fragmen DNA yang berada pada gel agarose yang terendam pada larutan tersebut (Ogden dan Adams, 1987).

Analisis Hubungan Genetik Klon kelapa sawit

Berdasarkan elektroforesis hasil amplifikasi dengan menggunakan 4 primer, diperoleh data biner berupa skoring untuk menentukan kesamaan hubungan genetik antar individu dalam 30 aksesori klon kelapa sawit. Hasil pengelompokan menggunakan program

Darwin 5.05, diperoleh 3 kelompok besar pada 30 aksesi klon kelapa sawit yang tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Pohon filogenetik 30 aksesi klon kelapa sawit yang dianalisis berdasarkan *Matrix Dissimilarity Simple Matching*.

Data biner hasil skoring amplifikasi 4 primer yang diolah dengan software DARwin dihasilkan filogenetik yang menunjukkan kekerabatan aksesi klon kelapa sawit, dimana 28 aksesi klon kelapa sawit yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Kelompok I terbagi lagi menjadi 2 subkelompok yaitu : subkelompok IA dan Subkelompok IB. Subkelompok IA terdiri dari (M, L, I, J, A, E, D, F, G, B, K, O) dan subkelompok IB terdiri dari (C).

Kelompok II terbagi lagi menjadi 2 subkelompok yaitu subkelompok IIA dan IIB. Subkelompok IIA terdiri atas aksesi (W, X,

Z, S, N, T, P, U, A2, Q), dan subkelompok IIB terdiri dari aksesi (A1, Y, R).Kelompok III terdiri dari terdiri atas aksesi (A3) dan aksesi (A4). Hasil kelompok menunjukkan adanya keragaman genetik.

Gambar 1. menunjukkan bahwa 30 aksesi klon kelapa sawit asal klon memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu Setelah diamati profil filogenik dengan menggunakan 4 primer pada masing- masing individu terlihat bahwa pada kelompok I dengan subkelompok IA memiliki kekerabatan yang dekat atau berasal dari induk yang sama, apabila

kode sampel diurutkan (A,B,D,E,F,G,I,J,K,L, dan M,) akan menghasilkan nomor individu tanaman yang tidak berjauhan (1/61,2/92,4/94,5/95,6/90,7/89,9/83,10/84,11/85, 12/86, dan 13/87) hal ini diduga bahwa kelapa sawit yang berasal dari klon pada PT. SOCFINDO merupakan individu yang memiliki keragaan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zulherman (2009) yang menyatakan bahwa, hasil analisis tingkat kesamaan genetik berdasarkan marka RAPD menunjukkan empat ramet klon pisifera Nigeria yang dianalisis mempunyai tingkat kesamaan genetik 1,00.

SIMPULAN

Persentase polimorfik 30 sampel kelapa sawit pada 4 primer yaitu OPN-03, OPD- 13, OPD- 20, OPH- 13 menghasilkan polimorfisme yang tinggi sebesar 100% dengan ukuran basa fragmen DNA dari 30 sampel yang diamati adalah 470 – 2609 bp. Tanaman kelapa sawit asal klon menunjukkan adanya keragaan pada subkelompok serta memiliki keragaman pada tiap kelompok.

UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh staff dan karyawan PT. Socfin Indonesia atas ketersediaannya mengijinkannya penelitian di SSPL (Socfin Seed Production and Laboratories) Bangun Bandar, Dolok Masihul, Serdang Bedagai-Sumatera Utara.

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Program Penelitian Nomor : 017/SP2H/LT/DRPM/II/2016, tanggal 17 Februari 2016.

DAFTAR PUSTAKA

Andras G. 1996. Effect of temperature on separation efficiency in capillary gel electrophoresis. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol 15 no 5.

Azizah, A. 2009. Perbandingan pola pita amplifikasi DNA daun, bunga dan buah kelapa sawit normal dan abnormal. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor (IPB).

Bairu MW, Aremu AO, and Staden JV. 2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regular* 63:147-173.

Darnoko, D dan Sembiring, T. 2005. Sinergi Antara Perkebunan Kelapa Sawit Dan Pertanian Tanaman Pangan Melalui Aplikasi Kompos Tks Untuk Tanaman Padi. *Pertemuan Teknis Kelapa Sawit 2005: Peningkatan Produktivitas Kelapa Sawit Melalui Pemupukan Dan Pemanfaatan Limbah Pks*. Medan 19-20 April.

Fatchiyah, 2011. Pelatihan analisis fingerprinting DNA tanaman dengan metode RAPD. [Modul]. Laboratorium sentral ilmu hayati Universitas Brawijaya, Malang.

Haris, N., Hajrial. A, Nurita. T.M, dan Agus. P. 2003. Kemiripan genetik klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) berdasarkan metode *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). *Menara Perkebunan* 71(1): 1-15.

Hutami, S., I. Mariska, dan Supriati, Y. 2005. Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman melalui Keragaman Somaklonal. *J. Agro. Biogen*. 2(2):81-88.

Jones, C.J., K.J. Edwards, S. Castagiolo, M.O. Winfield, F. Sala, C. van del Wiel, G. Bredemeijer, B. Vosman, M. Matthes, A. Daly, R. Brettshneider, P. Bettini, M. Buiatti, E. Maestri, A. Malcevski, N. Marmiroli, R. Aert, G. Volckaert, J. Rueda, R. Linacero, A. Vasquez and A. Karp. 1997. A Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of european laboratories. *Molecular Breeding* 3 (5): 382-390.

Livy, W. G. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Lubis, A.U. 1992. Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Indonesia. Pusat Penelitian Perkebunan Marihat – Bandar Kuala. Pematang Siantar.
- Murray, RK, Graner DK, Mayes PA. and Rodwell,V.W . 2000. *Biokimia Harper*. Andry H, Penerjemah; Anna PB, Tiara MN, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Harper's Biochemistry*.
- Ogden, R. C., and Adams, D. A. 1987. Electrophoresis in agarose and acrylamide gels. *Methods Enzymo.* 152. 61-87.
- Orozco-Castillo,K.J. Chalmers, R. Waugh and Powell, W. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffe using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet* 87: 934-940.
- Padmalatha, K. and Prasad, M.N.V. 2006. Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of selected medicinal and aromatic plant of conservation concern from Peninsular India. *Afri. J. Bio.5 (3): 230-234*.
- Putri, L.A.P., Sudarsono, Aswidinnoor, H., dan Asmono, D. 2009. Keragaan Genetik dan Pendugaan Heritabilitas pada Komponen Hasil dan Kandungan β -Karoten Progeni Kelapa Sawit.Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. *J. Agron. Indonesia 37 (2) : 145 – 151*.
- Perrier, X and Jacquemoud-collet, J.P. 2009. Darwin software. <http://cirad.fr/darwin>.
- Ruchjaningsih, A. Imran, M. Thamrin, dan M.Z. Kanro. 2000. Penampilan Fenotipik dan Beberapa Parameter Genetik 8 Kultivar Kacang Tanah pada Lahan Sawah.Zuriat.11(1):8-14.
- Saitou, N., and Nei, M. 1986. The number of nucleotides required to determine the branching Neighbor-joining Method 425 order of three species with special reference to the human-chimpanzee-gorilla divergence. *J. Mol. Evol.* 24: 189-204.
- Sulandri S. and Zein, M.S.A. 2003. Panduan Praktis Laboratorium DNA. Bidang Zoologi LIPI. Bogor.
- Sunarko. 2009. Budidaya dan Pengelolaan Kebun Kelapa Sawit dengan Sistem Kemitraan. Jakarta (ID): Agromedia Pustaka. 178 hlm.
- Tingey, S.V. Rafalski, J.A and Hanafey, M.K. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: Coruzzi, C. and P. Puidormenech (eds.). *Plant Molecular Biology*. Belin: Springer-Verlag.
- Williams, J.G.K. Rubelik, A.R .Livak, J.A. Rafalski and Tingey, S.V.1990. DNA Polymorphism. Amplified by Artitrary Primers are Useful As. Genetic Markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
- Yuwono, T. 2006. Teori Aplikasi Polimerase Chain Reaction. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Zulherman. 2009. Efektivitas Penggunaan Marka RAPD dan SSR Dalam Analisis Keragaman Genetik Sembilan Aksesori Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Psifera asal Nigeria.IPB. Bogor.