

**Keragaman Molekuler Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)  
Varietas MTG (*Moderat Tahan Gano*) Berdasarkan Primer SSR (Simple Sequence Repeats)**

*Molecular Diversity of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) MTG Variety (Moderate Tahan Gano) Based on SSR Primer (Simple Sequence Repeats)*

**Rika Hardianti, Lollie Agustina P.Putri\*, Mbue Kata Bangun**

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU, Medan 20155

\*Corresponding author : lollie\_agustina@yahoo.com

**ABSTRACT**

The aim of the research was to analyze molecular diversity of oil palm MTG variety (Moderate Tahan Gano) with SSR primer. This research was conducted in Plant Tissue Culture Laboratory of Agriculture, University of Sumatera Utara and Bio Molecular Laboratory of SSPL (Socfindo Seed Production and Laboratories) Bangun Bandar, Dolok Masihul, Serdang Bedagai- Sumatera Utara, from February to September 2016. Individuals were observed as many as 27 samples of oil palm crop varieties MTG issued by PT. Socfin Indonesia using SSR primer. Dendogram formation program conducted with the help of Darwin 6.0.13. The results showed that the percentage of polymorphic 100% and analysis of phylogenetic dendogram divided into 3 main groups consisting of two sub-groups of 27 samples analyzed.

---

Keywords: molecular diversity, MTG variety, oil palm, SSR primer.

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Keragaman molekuler tanaman Kelapa Sawit Varietas MTG (*Moderat Tahan Gano*) dengan primer SSR. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara dan Laboratorium Bio Molekuler SSPL (Socfindo Seed Production and Laboratories) Bangun Bandar, Dolok Masihul, Serdang Bedagai Sumatera Utara, dimulai dari bulan Februari sampai September 2016. Individu yang diamati sebanyak 27 sampel tanaman Kelapa Sawit Varietas MTG yang dikeluarkan oleh PT. Socfin Indonesia menggunakan primer SSR. Pembentukan dendogram dilakukan dengan bantuan program DARwin 6.0.13. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase polimorfik 100 % dan analisis filogenetik dendogram terbagi menjadi 3 kelompok utama yang terdiri dari 2 sub kelompok dari 27 sampel yang dianalisis.

---

Kata Kunci : kelapa sawit, keragaman molekuler, primer SSR, Varietas MTG.

**PENDAHULUAN**

Kelapa sawit merupakan tanaman komoditas perkebunan yang cukup penting di Indonesia dan masih memiliki prospek pengembangan yang cukup cerah.

Komoditas kelapa sawit, baik berupa bahan mentah maupun hasil olahannya, menduduki peringkat ketiga penyumbang devisa non migas terbesar bagi negara setelah karet dan kopi (Sastrosayono, 2003).

Menurut Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kelapa Sawit (2015) produksi kelapa sawit sebesar 29.344.479 ton angka sementara pada tahun 2014 dan pada tahun 2015 sebesar 30.948.931 ton angka estimasi. Industri ini juga berkontribusi dalam pembangunan daerah, sebagai sumber daya penting untuk pengentasan kemiskinan melalui budidaya pertanian dan pemrosesan selanjutnya (Laporan World Growth, 2011). Berdasarkan Angka Sementara (ASEM) 2011 dari Direktorat Jenderal Perkebunan, luas areal kelapa sawit di Indonesia cenderung meningkat selama tahun 2000-2011 Perkebunan Besar Swasta (PBS) mendominasi luas areal kelapa sawit, diikuti oleh Perkebunan Rakyat (PR) dan Perkebunan Besar Negara (PBN). Tahun 2011 luas areal kelapa sawit Indonesia mencapai 8,91 juta ha, dengan rincian luas areal PBS sebesar 4,65 juta ha (52,22%), luas areal PR sebesar 3,62 juta ha (40,64%), dan luas areal PBN sebesar 0,64 juta ha (7,15%) (PUSDATIN, 2013).

Minyak kelapa sawit untuk industri bahan makanan, dan non-bahan makanan, juga mempunyai potensi yang cukup besar untuk industri kosmetik dan industri farmasi. Karena mempunyai sifat sangat mudah diabsorpsi oleh kulit, minyak kelapa sawit banyak dipakai untuk pembuatan shampo, krim (cream), minyak rambut, sabun cair, lipstik, dan lain-lain (Mangoensoekarjo dan Semangun, 2008).

Dengan adanya nilai ekonomi yang tinggi pada kelapa sawit, kontribusi produksi kelapa sawit diproyeksikan akan meningkat secara signifikan pada tahun-tahun mendatang. Pusat Kebijakan Ekonomi Makro (2012) menjelaskan Hilirisasi kelapa sawit memberi manfaat dalam peningkatan pendapatan petani dan masyarakat, menciptakan nilai tambah di dalam negeri, penyerapan tenaga kerja, pengembangan wilayah industri, proses alih teknologi, dan untuk ekspor sebagai penghasil devisa. Dengan begitu,

peningkatan produksi kelapa sawit tersebut terus diupayakan, salah satunya melalui program pemuliaan tanaman. Menurut Mangoensoekarjo dan Semangun (2008), melalui program-program pemuliaan yang mutakhir, potensi ini dapat ditingkatkan lagi.

Kementerian Pertanian pada bulan Agustus 2013 telah merilis kelapa sawit varietas DxP Socfindo Moderat Tahan Gano. Menurut Prof. Dr. Meity Suradji Sinaga, varietas ini bukan vareitas yang "total resisten" terhadap serangan penyakit ganoderma, tetapi "moderat tahan" yang berarti masih bisa terserang, namun tingkat serangannya jauh di bawah rata-rata serangan pada varietas lain (Arisanti, 2013).

Indonesia membutuhkan Sumber Daya Genetik kelapa sawit yang kaya dan beragam sebagai bahan baku untuk perakitan varietas unggul baru yang mampu mendukung pertumbuhan industri kelapa sawit, seperti aspek ketersediaan sumber daya genetik, eksplorasi sumber daya genetik baru untuk perluasan keragaman genetik (Kementerian Riset dan Teknologi, 2008). Keragaman genetik berbasis informasi agromorfologis untuk mengevaluasi keragaman genotipik, saat ini dirasakan sudah tidak memadai lagi. Oleh sebab itu aplikasi marka molekuler sudah menjadi satu keharusan untuk meningkatkan efisiensi dalam menganalisis kekerabatan, pemetaan gen, dan *Marker-Assisted Selection* (MAS).

*Simple Sequence Repeat* (SSR) populer digunakan sebagai marka molekuler karena bersifat kodominan. Lokus mikrosatelit juga bersifat spesifik (satu lokus setiap pasangan primer) dengan kandungan informasi polimorfik yang cukup tinggi. Analisis keragaman genetik pada aksesori plasma nutfah kelapa sawit telah dilakukan menggunakan marka SSR (Tasma dan Arumsari, 2013).

Ketersediaan plasma nutfah yang cukup besar dan informasi keragaman

genetik merupakan modal dasar untuk merakit kultivar yang superior. Lokus mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeats* (SSR) diyakini merupakan penanda molekuler yang efektif untuk memperoleh informasi keragaman genetik (Putri, 2010).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara dan Laboratorium Bio Molekuler SSPL (Socfindo Seed Production and Laboratories) Bangun Bandar, Dolok Masihul, Serdang Bedagai Sumatera Utara, dimulai dari bulan Februari sampai September 2016.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun muda kelapa sawit varietas MTG (*Moderat Tahan Gano*) sebanyak 27 sampel yang dikeluarkan oleh Pusat Seleksi Bangun Bandar PT. SOCFINDO, Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara. Bahan kimia yang digunakan adalah *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB),  $\beta$ -merkaptoethanol, Nitrogen Cair, *Polyvinylpyrrolidone* (PVPP), (CTAB 5 % : NaCl 2.0 gr, CTAB 5.0 gr, dan aquades 100 ml), *Kloroform Isoamil-alkohol* 24 : 1 (KIAA), isopropanol dingin, alkohol 70%, aquades, ethanol absolute, *agarose LE Analytical Grade* (Promega V3121), Go Tag Green Master Mix (Promega, M7122), tube 2 ml, tube 1,5 ml, tube 0,2 ml, buffer TE, buffer TAE 10X, buffer TBE 10x, nuclease free water, DNA marker 100bp Ladder dan loading dye serta Primer FR SSR-1, FR 3745, FR 0779 dan FR 0783 (Billotte *et al.* 2005)

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar, aluminium foil, pastle, pipet mikro *Eppendorf* (0,5 – 10  $\mu$ l, 20 – 200  $\mu$ l, 100 – 1000  $\mu$ l), tips white, yellow, blue (1 ml, 200  $\mu$ l, 10  $\mu$ l), tube (2 ml, 1,5 ml, 100  $\mu$ l), rak tube,

*waterbath* (Grant SUB Aqua 12 Plus), magnetic stirer, sentrifuge (*Tomy MX 307* (ECO)), freezeer, computer, *spektrofotometer* (*Biospektrofotometer eppendorf*), *timbangan elektrik* (*Precisa XT 32000*), erlenmeyer, microwave, cetakan agarose, PCR (*eppendorf MasterCyle Nexus Gradient*) dan (*labcyler SensQuest*), UV Transilluminator (UVP), *Gel-Doc* (UV-Cambridge), *power supply* (*ms major science MP-300 V*) dan (*consort EV 245*) dan alat tulis.

Isolasi DNA menggunakan  $\beta$ -mercaptoethanol dan Polyvinilpyrrolidone (PVPP) pada saat ekstraksi. Pengujian integritas DNA secara kualitatif dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 2% sehingga diperoleh 27 sok DNA (Orozco-Castillo *et al.* 1994)..

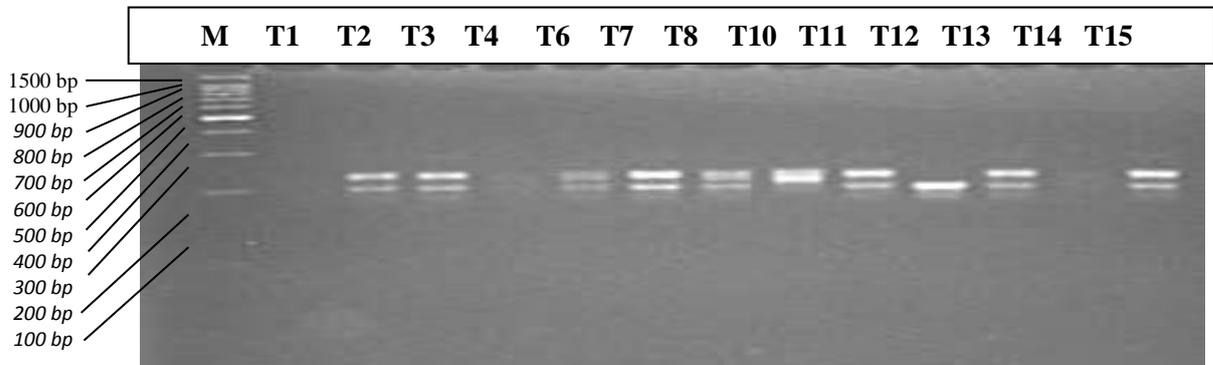
Sebanyak 4 primer marka SSR FR SSR-1, FR 3745, FR 0779 dan FR 0783. Reaksi PCR dilakukan dengan tahap sebagai berikut : satu siklus denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit, kemudian diikuti oleh 30 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 52°C selama 1 menit 15 detik. Dan eksistensi pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik dilanjutkan dengan eksistensi akhir pada suhu 72°C selama 8 menit (Putri, 2010). Hasil amplifikasi kemudian diseparasi dengan elektroforesis gel agarose 4% dalam buffer TBE selama 4 jam 50 volt, kemudian divisualisasikan dengan UV transiluminator.

Profil pita diterjemahkan ke dalam data biner. Pita yang muncul diberi kode 1 (ada), dan 0 (tidak ada) kemudian dianalisis oleh software DARwin. Matriks jarak ketidaksamaan genetik untuk semua kombinasi pasangan individu dapat dilakukan dengan *Neighbour-Joining Tree* (NJtree) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu (Perrier dan Jacquemoud- Colled, 2006).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

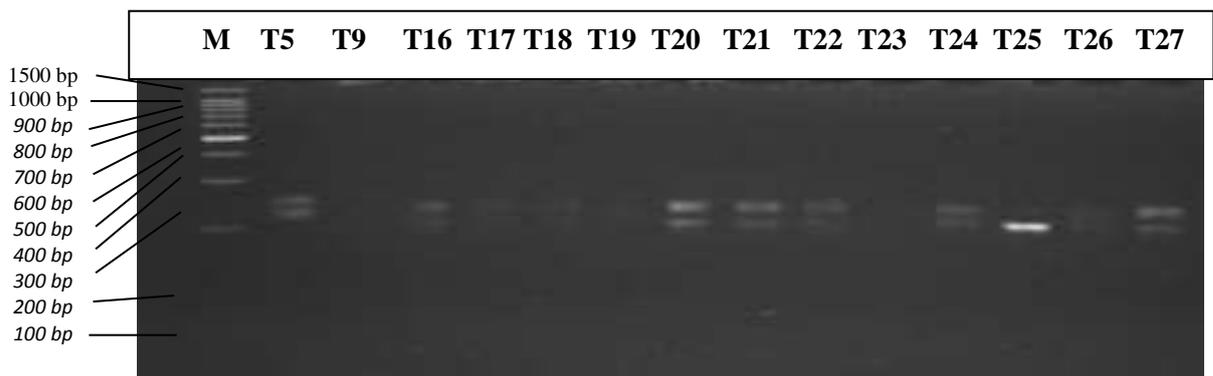
Hasil elektroforesis dengan menggunakan primer SSR dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Elektroforegram amplifikasi pada Gambar 1 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa sampel yang tidak teramplifikasi pada primer SSR-1 sebanyak 4 sampel yaitu sampel (T1, T9, T14, dan T23) Chen (2000) menyatakan bahwa konsentrasi DNA genom merupakan faktor terpenting dalam reaksi amplifikasi. Konsentrasi DNA yang terlalu tinggi dapat meningkatkan kontaminan yang mengganggu reaksi amplifikasi.

Pada saat amplifikasi, konsentrasi DNA dapat mempengaruhinya, semakin tinggi konsentrasi DNA dapat meningkatkan kontaminan yang mengganggu reaksi amplifikasi, menurut Bardakci, (2001) bahwa Keberhasilan teknik ini ditentukan oleh ada tidaknya situs penempelan primer, kemurnian DNA dan keutuhan DNA cetakan. Sampel yang teramplifikasi sebanyak 23 sampel yaitu (T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T10, T11, T12, T13, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T24, T25, T26, dan T27).



Gambar 1. Profil elektroforegram amplifikasi 27 DNA kelapa sawit varietas MTG dengan primer FR SSR-1.

Keterangan : M= *Marker ladder* 100 bp, T1-T15 (DNA Kelapa Sawit varietas MTG)

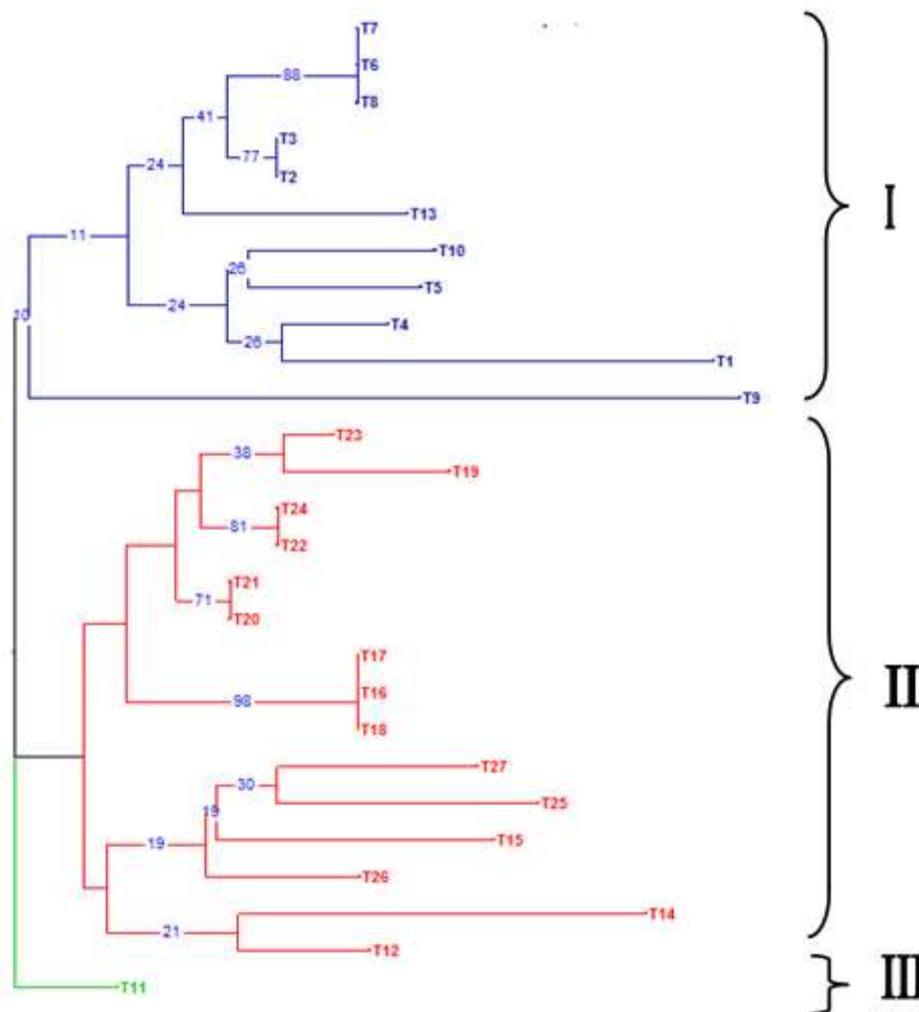


Gambar 2. Profil elektroforegram amplifikasi 27 DNA kelapa sawit varietas MTG dengan primer FR SSR-1.

Keterangan : M= *Marker ladder* 100 bp, T5, T9, T16-T27 (DNA Kelapa Sawit varietas MTG).

Tabel 1. Persentase pita polimorfik untuk 4 primer

No.	Nama Primer	Ukuran Pita (bp)	Total Pita	Jumlah Pita Polimorfik	Jumlah Monomorfik	Persentase Pita Polimorfik (%)
1.	FR SSR-1	193-251,0	5	5	0	100%
2.	FR 3745	250-297,0	3	3	0	100%
3.	FR 0783	234,8-300	5	5	0	100%
4.	FR 0779	238,7-391,0	3	3	0	100%
TOTAL			16	16	0	400%
Rata-Rata			4	4	0	100%



Gambar 3. Pohon filogenetik dendrogram *Neighbour-joining* dari 27 tanaman kelapa sawit varietas MTG berdasarkan *Matrix Dissimilarity Simple Matching*.

Persentase polimorfis yang tinggi sebesar 100 % dan monomorfik 0 dengan total pita sebanyak 16 dengan rata-ratanya 4 pita. Ukuran pita pada keempat primer bervariasi dimulai 193 bp sampai dengan 391. Primer SSR-1 berukuran 193 bp – 251 bp. Tingkat polimorfisme (PIC) diperlukan untuk memilih marka yang dapat membedakan antar galur /tetua yang digunakan. Kuantifikasi PIC adalah jumlah alel yang dapat dihasilkan oleh suatu marka dan frekuensi dari tiap alel dalam set genotipe yang diuji. Persentase polimorfis dapat dilihat pada Tabel 1.

Pita-pita DNA yang kemudian diterjemahkan kedalam bentuk data binari yaitu dengan memberi angka 1 bila terdapat pita dan angka 0 bila tidak terdapat pita. Hal ini sesuai dengan Siagian (2014) yang menyatakan bahwa data binari dari pita-pita yang telah diskoring dianalisis dengan menggunakan *software* DARwin 6.0.13 sehingga didapatkan dendogram.

Pada penelitian ini profil filogenetik dendogram dapat diketahui bahwa sebanyak 27 sampel varietas MTG terbagi menjadi tiga kelompok utama (*cluster*) pada Gambar 3. Kelompok pertama (I) sebanyak 11 sampel yang kemudian terbagi lagi menjadi subkelompok IA dan subkelompok IB. Kelompok kedua (II) dengan total 15 sampel terbagi atas subkelompok IIA dan IIB. Terdapat 1 sampel untuk kelompok ketiga (III) , menurut William *et al.* (1990) dendogram merupakan pohon filogenetik yang menggambarkan pengelompokan sampel dengan *Operational Taxonomic Unit* (OTU) yang berderet rata secara vertical pada satu sisi pohon.

Kelompok I dibagi atas subkelompok IA dan IB yaitu untuk IA (T7, T6, T8, T3, T2, T13, T10, T5, T4, dan T1) dan IB (T9). Kelompok II dibagi atas subkelompok IIA dan IIB dimana untuk IIA terdiri dari (T23, T19, T24, T22, T21, T20, T18, T17, dan T16) sedangkan IIB

(T27, T25, T15, T26, T14, T12). Kelompok III terdiri dari sampel (T11). 27 sampel DNA yang dianalisis menunjukkan kergaman yang tinggi karena menyebarkan pada 3 kelompok,

## SIMPULAN

Amplifikasi produk PCR yang menggunakan primer SSR menunjukkan bahwa pita yang di dapat bervariasi dengan tingkat polimorfisme sebesar 100 % dan monomorfisme sebesar 0. Hasil dendogram yang didapat setelah dianalisis oleh *software* DARwin 6.0.13, sampel di kelompokkan ke dalam 3 kelompok utama yang masing-masing terbagi lagi dalam 2 subkelompok dari seluruh sampel yang digunakan yaitu 27 sampel DNA.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh staf dan karyawan/ pihak PT. Socfin Indonesia atas ketersediaannya mengizinkan dilaksanakannya penelitian di laboratorium Bio Molekuler SSPL Bangun Bandar, Dolok Masihul, Serdang Bedagai Sumatera Utara.

Penelitian ini dibiayai oleh dana BPPTN Universitas Sumatera Utara Tahun Anggaran 2016, sesuai dengan surat Perjanjian Penugasan Dalam Rangka Pelaksanaan Penelitian BPPTN Universitas Sumatera utara Tahun Anggaran 2016 Nomor : 6049/UN5.1R/PPM/2016, tanggal 19 Juli 2016.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arisanti Y. 2013. Benih Sawit Unggul PT. Socfin Indonesia DXP Socfindo Moderat Tahan Gano. Diakses dari <http://www.ditjenbun.pertanian.go.id>. Pada tanggal 15 februari 2016.
- Bardacki F. 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turk. J. Biol.* 25 :185-196.

- Billotte N N. Marseillac A M. Risterucci B. Adon P. Brotteir F C. Baurens R. Singh A. Herran H. Asmady and Billot C. 2005. Microsatellite-Based High Density Linkage Map in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor. Appl. Genet.* 110: 754– 765.
- Kementerian Riset dan Teknologi. 2008. Lokakarya Kajian Koleksi Sumber Daya Genetik Kelapa Sawit. <http://www.ristek.go.id>.
- Laporan World Growth. 2011. Manfaat Minyak Sawit bagi Perekonomian Indonesia. [http://www.worldgrowth.org/assets/files/Palm\\_Oil.pdf](http://www.worldgrowth.org/assets/files/Palm_Oil.pdf).
- Mangoensoekarjo S dan Semangun H. 2008. Manajemen Agrobisnis Kelapa Sawit. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Orozco–Castillo K J. Chalmers R. Waugh and Powell W. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87. 934 –940.
- Perrier X dan Jacquemoud- Colled J.P. (2006). DARwin Software. <http://darwin.cirad.fr/Darwin>.
- PUSDATIN (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian ). 2013. Informasi Ringkas Komoditas Perkebunan (Kelapa Sawit) , No. 01/01/I, 7 Januari 2013.
- Pusat Kebijakan Ekonomi Makro. 2012. Laporan Kajian Nilai Tambah Produk Pertanian. Kementerian Keuangan Republik Indonesia, Badan Kebijakan Fiskal. Jakarta.
- 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.
- Sastrosayono S. 2003. Budidaya Kelapa Sawit. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Siagian G B. 2014. Analisis Keragaman Genetik Plasma Nutfah Aren Sulawesi Tenggara dengan Menggunakan Marka RAPD. Fakultas Pertanian, USU, Medan.
- Tasma I M dan Arumsari S. 2013. Analisis Diversitas Genetik Aksesori Kelapa Sawit Kamerun Berdasarkan Marka SSR. *Jurnal Litri* 19(4) : 194 – 202. ISSN 0853-821.
- William J G K. Kubelik A R. Livak K J. Rafiski J A and Tingy S V. 1990. DNA Polymorphic Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Marker. *Nucleid Acid Research* 18 : 6531 – 1653.