

ANALISIS AWAL KERAGAMAN MOLEKULAR KELAPA SAWIT (*Elaies guineensis* Jacq.) MENGGUNAKAN LIMA PRIMER SSR (*Simple Sequences Repeats*)

First Analysis of Molecular Variants in Palm Oil (*Elaies guineensis* Jacq.) Used Five Primer of SSR (*Simple Sequences Repeats*)

Arnen Pasaribu^{1*}, Lollie Agustina P.Putri², Suryanto²

¹ PT. Socfin Indonesia

² Program Studi Magister Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan, 20155.

*Corresponding author: pasaribu30@gmail.com

ABSTRACT

Molecular variance is very important. Information was resulted from analysis in molecular level can to advantage as a first step to manage of breeding programs. The aim of this research was to determine molecular variance in palm oil based on SSR primer using FR0465, FR391, FR304, FR0350 and FR3693 primers. The research was conducted at Terpadu Laboratory, Faculty of Medicines, North Sumatera University from September 2015 to February 2016. Gen Alex ver. 6.501, Power Marker 3.25 and software DARwin Software Versi 6 were used to calculate and analysis. The result of this research showed that value of molecular variants of Palm Oil (*E. guineensis*) was 62.43%, polymorphic information content (PIC) was 0.338. Measure of fragment about 120 bp – 496 bp. FR02350 has a highest number of allele and value of expected heterozygote (H_e) was 0.685.

Keywords : Palm oil, molecular variants, SSR

ABSTRAK

Keragaman molekuler merupakan salah satu hal yang penting. Informasi yang dihasilkan dari pengamatan ditingkat molekuler dapat dimanfaatkan sebagai langkah awal untuk menyusun program pemuliaan tanaman. Tujuan penelitian untuk mengetahui keragaman molekuler tanaman kelapa sawit berdasarkan primer SSR dengan menggunakan primer *FR0465*, *FR391*, *FR304*, *FR0350* dan *FR3693*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara pada Bulan Bulan September 2015 sampai dengan Februari 2016. Perhitungan dan analisis molekuler dilakukan dengan menggunakan Gen Alex ver. 6.501, *Power Marker* 3.25 dan *software* DARwin Software Versi 6. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman molekuler kelapa sawit (*E.guineensis*) sebesar 62.43%, kandungan informasi polimorfisme (PIC) sebesar 0.338. Ukuran fragmen yang dihasilkan berskisar antara 120 bp – 496 bp. Jumlah alel tertinggi terdapat pada primer *FR0350* dengan nilai heterozigositas harapan (H_e) sebesar 0.685.

Kata kunci : Kelapa sawit, keragaman molekuler

PENDAHULUAN

Kelapa sawit.) adalah salah satu komoditas unggulan nasional. Saat ini, Indonesia merupakan salah satu negara

penghasil minyak sawit dunia. Produksi minyak sawit Indonesia meningkat dari 15,19 juta ton pada tahun 2011 menjadi 17,39 juta ton pada tahun 2013 (BPS, 2014). Permasalahan umum perkebunan

sawit rakyat adalah rendahnya produktivitas dan produksi. Produktivitas kebun sawit rakyat rata-rata 16 ton TBS per ha, sementara potensi produksi bila menggunakan bibit unggul bisa mencapai 30 ton TBS per ha. Produktivitas CPO (*Crude Palm Oil*) perkebunan rakyat hanya mencapai rata-rata 2,5 ton CPO per ha dan 0,33 ton minyak inti sawit per ha, di perkebunan negara rata-rata menghasilkan 4,82 ton CPO perhektar dan 0,91 ton PKO per hektar dan perkebunan swasta rata-rata menghasilkan 3,48 ton CPO per hektar dan 0,57 ton PKO per hektar (Deptan, 2008).

Program pelestarian plasma nutfah dalam rangka perbaikan genetik tanaman sangat bergantung pada sumber keragaman genetik. Identifikasi keragaman tersebut sangat penting dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat genetik sehingga dapat digunakan sebagai informasi awal dalam proses pemuliaan tanaman. Pengamatan visual dengan memilih fenotipe yang baik belum memberikan hasil yang memuaskan (Bahar dan Zen, 1993). Keragaman tanaman dapat dikaji melalui pendekatan morfologi, biokimia dan molekuler. Namun, penanda morfologi memiliki kelemahan karena dipengaruhi oleh lingkungan. Penanda lain yang dapat memberikan hasil lebih akurat adalah marka molekuler melalui

pengamatan pada tingkat polimorfisme DNA (Novita, 2013).

Keragaman plasma nutfah tanaman secara lebih luas menggunakan marka molekuler dapat memberikan hasil yang lebih cepat, efektif, dan akurat dibandingkan dengan karakterisasi berdasarkan ciri-ciri morfologi. Karakterisasi menggunakan marka molekuler dapat dilakukan pada stadium awal, bahkan dapat dilakukan pada benih (Dua Lembang *et al.* 2010).

Marka SSR merupakan salah satu marka yang paling banyak digunakan untuk pemetaan genetik, analisis keragaman dan studi evolusi. Keunggulan penanda SSR dibandingkan dengan marka lainnya antara lain bersifat kodominan, polimorfisme tinggi, lokus tersebar merata dalam genom, dan dalam jumlah yang sangat banyak dan berbasis PCR sehingga hanya diperlukan DNA dalam jumlah yang sedikit (Putri, 2010). SSR merupakan salah satu marka molekuler yang berupa urutan di-nukleotida sampai tetra-nukleotida yang berulang dan berurutan. SSR merupakan marka genetik yang bermanfaat karena bersifat kodominan, dapat mendeteksi keragaman alel pada tingkat tinggi, serta mudah dan tidak terlalu mahal untuk dianalisis dengan menggunakan PCR (Sugiono, 2010).

Penelitian terkait dengan penggunaan marka SSR telah banyak dilakukan oleh penelitian terdahulu. Hal ini menunjukkan bahwa marka SSR merupakan salah satu marka yang mudah untuk diaplikasikan. Penelitian terkait dengan penggunaan marka SSR telah banyak diaplikasikan untuk berbagai kegiatan molekuler. Penggunaan marka SSR sebagai penanda untuk tanaman sawit telah banyak dilakukan. Mardziah *et. al.* (2013) mengembakan penapisan protokol *non-radioaktif* pada kelapa sawit yang menyimpulkan bahwa SSR sangat sesuai untuk mengkarakterisasi keragaman genetik.

Akresi diversitas genetik tinggi dan berada pada klaster berbeda potensial digunakan sebagai calon tetua dalam program pemuliaan kelapa sawit. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Taeprayon *et al.* (2015) untuk mengidentifikasi latar belakang genetik terhadap tiga populasi hasil persilangan di Thailand dengan menggunakan marka SSR menunjukan adanya keragaman serta dikelompokkan menjadi empat kelompok.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini akan dilaksanakan pada Bulan September 2015 sampai dengan Februari 2016 di Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan. Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini merupakan daun muda berusia tiga Minggu Setelah Tanam (MST) yang berasal dari benih kelapa sawit DxP Unggul Socfindo (L) sebanyak 30 individu.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas nitrogen cair, buffer CTAB, buffer TAE, buffer TE, buffer TBE, *chloroform isoamilakohol* (KIAA) dengan perbandingan 24 : 1, NaCl, NaOH, Na-EDTA, HCl, isopropanol dingin, *β-mercaptoetanol*, agaros (promega V3121), primer oligonukleotida, *Master mix* (promega M7122), *Ladder invitrogen* ukuran 100 bp dan lima primer SSR. Adapun susunan basa-basa nukleotida dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Susunan basa nukleotida pada lima primer SSR

| No. | Primer SSR | 5'-3' Forward Primer | 5'-3' Referse Primer |
|-----|------------|-------------------------|-----------------------|
| 1. | FR0465 | TCCCCACGACCCATTC | GGCAGGAGAGGCAGCATTC |
| 2. | FR391 | TTCATCGCCTTCCCCTCTG | CCCGACCTAATCCAACATC |
| 3. | FR304 | CCACAAACAATCCAAGCAAGT | TGGCATAACACGAAAGCATAA |
| 4. | FR0350 | AAATCCTAAATCCTAAACTC | TCTACCTGTACTGGTGACAA |
| 5. | FR3693 | CCCATCATCTGCTCAGGATAGAC | ACCCTCTCCTCTTGGGAAGA |

Alat-alat yang digunakan antara lain tisu, timbangan digital, *hot plate* (biosan), mortar, centrifuge (*Eppendorf* 5415), vortex, freezer, PCR tube 0.2 ml dan 1.5 ml, mikropipet ukuran 1-50 μ l, 100-500 μ l, pinset, sarung tangan karet, tips pipet (putih, kuning dan biru), *autoclave*, kamera, *water bath*, pH meter elektrik, perangkat elektroforesis (*power supply*, *well*, dan *chamber*) pengaduk magnetik, alat-alat gelas (gelas ukur, gelas beker, erlemeyer), elektroforesis (Power PAC 3000, biorad), PCR (*Thermal cycler*) *applied biosystem*, Gel Doc (*UV cambridge*), *hand seal*, *pirex*, masker dan alat tulis.

Isolasi DNA dilakukan terhadap daun benih kelapa sawit yang masih muda (3 MST). Prosedur isolasi DNA dimodifikasi dari metode CTAB oleh Orozco-Castilo (1994) dengan modifikasi pada *polynillpolypirrolidone* (PVPP) dan *2-merkptoethanol* (Toruan-Mathius et al. 1997), (Asmono et al. 2000).

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan mesin PCR berdasarkan penelitian Putri (2010). Program amplifikasi terdiri atas siklus *predenaturasi* 4 menit pada suhu 94°C, diikuti 35 siklus *denaturasi* 94°C, selama 30 detik, tahapan *annealing* 52°C selama 1 menit 15 detik, *extension* 72°C selama 1 menit 30 detik, dan *post extension* pada

72°C selama 8 menit dan kondisi akhir PCR 4°C.

Analisis data dilakukan berdasarkan atas data skoring hasil gel agarose. Data molekuler diukur dengan menggunakan Gel Doc (*UV cambridge*). Perhitungan jumlah alel efektif per lokus (Na), *observed heterozigosity* (Ho) dan *expected heterozigosity* (He) digunakan Gen Alex ver. 6.501 (Peakall dan Smouse, 2012). Nilai *polymorphic information content* (PIC) primer SSR dihitung dengan menggunakan software *Power Marker* 3.25 (Liu, 1998). Botsein et al. (1980) mengklasifikasikan nilai PIC menjadi 3 kelas yaitu : PIC > 0.5: sangat informatif ; 0.25 > PIC < 0.5: sedang PIC < 0.25. Untuk menghitung nilai keragaman molekuler dilakukan dengan menggunakan *Principal Coordinates Analysis* (PCoA) menggunakan software DARwin Software Versi 6 (Perreira dan Jacquemoud-Collet, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan ditingkat molekuler dengan menggunakan primer SSR dapat dilakukan dengan menganalisis jumlah alel, jumlah alel efektif, nilai heterozigositas dan nilai informasi polimorfisme. Peubah-peubah ini akan dapat memberikan informasi terkait dengan keragaman genetik pada tanaman .

Tabel 2. Profil hasil elektroforesis SSR pada amplifikasi 30 DNA kelapa sawit Varietas DXP Unggul Socfindo

| Primer | Ukuran Alel (bp) | N | Na | Ne | I | Ho | He | PIC |
|---------|------------------|----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| FR 0465 | 175, 212 | 30 | 2 | 1.946 | 0.679 | 0.833 | 0.486 | 0.368 |
| FR304 | 120 | 30 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | # |
| FR391 | 278, 308 | 30 | 2 | 1.979 | 0.688 | 0 | 0.495 | 0.372 |
| FR0350 | 168,197,275,354 | 29 | 4 | 3.174 | 1.224 | 0.828 | 0.685 | 0.623 |
| FR 3693 | 289, 496 | 29 | 2 | 1.035 | 0.087 | 0.034 | 0.034 | 0.033 |
| Rataan | - | 29 | 2.2 | 1.827 | 0.536 | 0.565 | 0.425 | 0.349 |

Keterangan : Rata-rata jumlah alel (Na), jumlah alel efektif (Ne), indeks informasi (I), heterosigositas teramati (Ho), heterozigositas harapan (He) dan kandungan informasi polimorfisme (PIC) pada lima primer SSR , # : tidak adanya polimorfisme

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa jumlah alel berkisar antara 1 – 4 alel, semakin banyak alel yang dihasilkan maka akan menunjukkan keragaman. Hartati *et al.* (2010) menjelaskan bahwa keberadaan alel menunjukkan adanya keragaman. Jika dibandingkan dengan rata-rata alel *origin central* tanaman kelapa sawit didapatkan hasil bahwa rata-rata jumlah alel pada penelitian ini lebih rendah. Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Putri (2010) pada *origin Yangambi* sebesar 3.50, *Origin Nigeria* 4.50, dan *Origin Ekonia* 3.85 dan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tasma dan Arumsari (2013) di dapatkan rata-rata jumlah alel kelapa sawit asal Kamerun sebesar 8.75. Rendahnya rata-rata alel pada penelitian ini dapat disebabkan oleh adanya proses pemuliaan tanaman sehingga menghasilkan jumlah alel yang lebih kecil. Boekume *et al.* (2009)

menjelaskan bahwa keberadaan jumlah alel pada populasi liar menunjukkan penurunan yang disebabkan oleh adanya proses seleksi. Mangoendidjojo (2003) menyatakan bahwa jika suatu genotipe secara terus menerus mengalami penyerbukan dan pembuahan sendiri akan tampak bahwa proporsi homozigot akan bertambah sedangkan proporsi heterozigot akan menurun.

Ne menunjukkan jumlah alel efektif yang merupakan kebalikan dari nilai homozigositas. Semakin tinggi nilai Ne, maka semakin banyak jumlah individu yang bersifat heterozigot. Jumlah alel efektif tertinggi terdapat pada primer FR0350 sedangkan terendah terdapat pada primer FR046, rata-rata alel efektif untuk primer SSR adalah 1.831. Penelitian terkait dengan jumlah alel yang telah dilakukan oleh penelitian-penelitian sebelumnya dengan menggunakan varietas komersial menunjukkan tidak adanya

perbedaan. Hal ini ditunjukkan oleh penelitian Nida (2014) yang memperoleh jumlah rata-ran alel sebesar 2.80; Maizura *et al.* (2009) memperoleh sebesar 1,90 dan Allou *et al.* (2008) memperoleh sebesar 1.75.

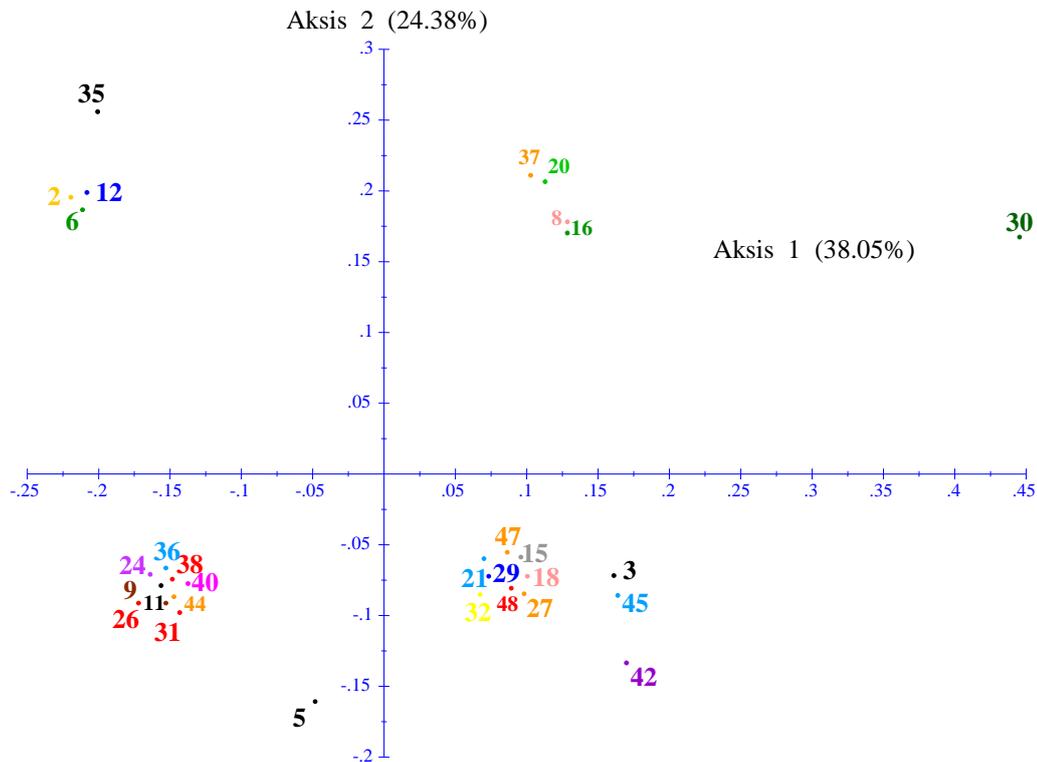
Identifikasi genetik terhadap individu kelapa sawit yang berasal dari *origin center*-nya akan menunjukkan nilai H_o lebih rendah dibandingkan dengan nilai H_e . Hal ini dibuktikan oleh Zulkifli *et al.* (2007) yang mengamati *E.guineensis* di sebelas negara sumber plasma nutfah kelapa sawit diperoleh rata-ran H_o sebesar 0.398 dan H_e sebesar 0.503, selanjutnya Putri (2010) melihat pada origin kelapa sawit yaitu Avros, Nigeria, Ekona, Ghana, Yangambi, Lá Mè menunjukkan nilai rata-ran H_o sebesar 0.401 dan H_e 0.503, hal yang sama juga dijumpai pada Noorhiza *et al.* (2012) mengamati pada beberapa daerah penghasil kelapa sawit yaitu Colombia, Costa Rica, Panama, Honduras, Deli dura, Nigeria menunjukkan nilai rata-ran H_o sebesar 0.192 dan nilai rata-ran H_e sebesar 0.279 dan Rajanaidu (2015) mengamati di beberapa daerah sumber plasma nutfah kelapa sawit negara Amerika Latin yaitu Colombia, Brazil, Peru dan Ecuador menunjukkan nilai rata-ran H_o sebesar 0.431 dan H_e sebesar 0.501.

Akan tetapi, nilai H_o akan lebih tinggi dibandingkan dengan nilai H_e jika identifikasi genetik tersebut dilakukan pada varietas komersial atau pada individu kelapa sawit yang berasal hasil persilangan atau telah melalui tahapan pemuliaan sehingga telah terjadi tekanan akibat seleksi. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai rata-ran H_o (0.565) lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai rata-ran H_e (0.425). Hal yang sama juga terdapat pada Nida (2014) yang menunjukkan nilai rata-ran H_o sebesar 0.826 dan H_e sebesar 0.576, Nida *et al.* (2014) menunjukkan nilai rata-ran H_o sebesar 0.8575 dan H_e sebesar 0.615.

Berdasarkan primer SSR digunakan pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa rata-ran PIC pada primer SSR sebesar 0.349, nilai PIC tertinggi pada primer SSR adalah pada primer FR0350 dengan nilai PIC sebesar 0.623 sehingga primer FR0350 dikategorikan termasuk primer yang sangat informatif sedangkan nilai PIC terendah teridentifikasi pada primer FR304. Nilai PIC menunjukkan tingkat keinformatifan primer untuk menunjukkan adanya keragaman genetik pada suatu individu. Secara umum nilai PIC pada keseluruhan primer SSR yang digunakan termasuk kelas sedang ($0.25 > PIC < 0.5$). Penentuan kriteria PIC tersebut berdasarkan Botesin *et al.* (1980).

Analisis faktorial PCoA menunjukkan bahwa aksis 1 dan aksis 2 mampu menjelaskan nilai keragaman molekuler pada lima primer SSR yang digunakan pada 30 DNA kelapa sawit var

DxP Unggul Socfindo sebesar 62.43%. Hasil analisis *Principal Coordinates Analysis* (PCoA) yang dibentuk pada marka SSR dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Analisis faktorial *Principal Coordinates Analysis* (PCoA) aksis 1 (horizontal) dan aksis 2 (vertikal) yang dianalisis berdasarkan *matrix dissimilarity simple matching* dengan menggunakan Marka SSR

Berdasarkan hasil analisis molekuler dengan menggunakan marka penanda genetik telah teridentifikasi keberadaan genotipe yang memiliki karakter genetik yang berbeda dengan genotipe-genotipe lainnya. Genotipe No.30 tersebut menunjukkan sebaran yang jauh berbeda jika dibandingkan dengan genotipe yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan karakter pada genotipe ini jika dibandingkan dengan

varietas DxP Unggul lainnya. Jarak genetik individu No.30 memiliki perbedaan yang cukup jauh dibandingkan dengan genotipe-genotipe lainnya.

Perbedaan tersebut dapat terjadi karena kemunculan adanya mutasi, perpasangan alel secara bebas (rekombinasi) dan migrasi gen sehingga mengakibatkan munculnya benih yang menunjukkan sifat berbeda sehingga menunjukkan individu memiliki tingkat

keragaman yang tinggi. Elrod dan Satansfield (2007) menjelaskan bahwa keragaman genetik muncul disebabkan oleh adanya mekanisme mutasi, perpasangan alel secara bebas dan adanya migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain. Selain hal tersebut dapat juga dapat disebabkan oleh ketidakstabilan genetik yang diakibatkan oleh adanya kerusakan DNA yang menyebabkan perubahan dalam struktur dasar dan fungsi rantai DNA. Corvianindya dan Aurkari (2001) menyebutkan bahwa ketidakstabilan genetik dapat terjadi pada tingkat kromosom dan nukleotida sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan DNA (*DNA damage*) sehingga meningkatkan kecepatan mutasi yang mengubah struktur dasar dan fungsi rantai DNA.

Hal tersebut dapat dijadikan sebagai materi genetik untuk menambah kekayaan plasma nutfah kelapa sawit dan sebagai bahan informasi untuk perencanaan strategi pemuliaan tanaman kelapa sawit selanjutnya. Hal ini dijelaskan oleh Putri (2010) yang menjelaskan bahwa dari segi konservasi plasma nutfah, pola sebaran distribusi alel-alel, keberadaan alel spesidik dan distribusi variasi genetik dapat digunakan sebagai kriteria genetik untuk melindungi genotipe-genotipe yang berbeda dalam gen bank dan dapat digunakan sebagai

pengetahuan yang ekstensif tentang material pemuliaan.

SIMPULAN

Lima primer SSR yang telah digunakan untuk mendeskripsikan keragaman molekuler kelapa sawit (*E.guineensis*) DxP Unggul Socfindo sebesar 62.43%, kandungan informasi polimorfisme (PIC) sebesar 0.338. Ukuran fragmen yang dihasilkan berskisir antara 120 bp – 496 bp. Jumlah alel tertinggi terdapat pada primer FR0350 dengan nilai heterozigositas harapan sebesar 0.685.

DAFTAR PUSTAKA

- Allou, D., Adon, B., dan Sangare, A. 2008. Molecular variability from two selections of BRT10 population in an inbreeding program of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Cote d'Ivoire. *Afr. J. Biotechnol.*, 7(20): 3550-3553.
- Asmono, D. 2007. Perlindungan varietas kelapa sawit. Disampaikan pada Seminar Nasional Hasil Penelitian yang Dibiayai oleh Hibah Kompetitif dan Sosialisasi HKI/PVT dalam rangka Purnabakti Prof. Dr. Ir. Jajah Koswara. IPB Darmaga-Bogor. 16 (1) :11-12.
- Bahar, H. dan Zen, S. 1993. Parameter genetik pertumbuhan tanaman, hasil dan komponen hasil jagung. *Zuriat*.4 : 4-7.
- Bakoume, C., Wickneswari, R., Raijanaidu, N., Kushairi, A., Amblard, P. and Billotte, N. 2009. Allelic diversity of natural oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) populations detected by

- microsatellite markers. Implication in conservation. *Rev. Palmas* 28(1), 149-158.
- Botesiin D, White R.L, Skolnick M, dan Davis R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331.
- [BPS]. 2014. Poduksi perkebunan besar menurut jenis tanaman, Indonesia (Ton). Diakses dari : http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=3&tabel=1&daftar=1&id_subyek=54¬ab=2. [13 Desember 2004].
- Corvianindya, Y.R. dan Aerkari, E.I. 2001. Studi molekuler pada instabilitas genetik : mekanisme kerusakan DNA proses perbaikannya. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia (JKGUI)*. 8 (3) : 44-50.
- [Deptan] Departemen Pertanian. 2008. Teknologi budidaya kelapa sawit. balai besar pengkajian teknologi pertanian. badan penelitian dan pengembangan pertanian. seri buku inovasi. 1. ISBN:978-979-1415-32-3.
- Dualembang, E. Yunus, M. dan Azrai. 2010. Karakterisasi genetik koleksi plasma nutfah sorgom (*Sorgum bicolor* L. Moensch) Berbasis Marka SSR (Simple Sekuen Repeats). *Jurnal Penelitian*. 1 : 1-14.
- Elrod, S. dan Stansfield, W. 2007. *Genetika*. (Daming Tyas W. Pentj). Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Hartati, Sumadi, Subandriyo dan Hartatik, T. 2010. Keragaman morfologi dan diferensiasi genetik sapi Peranakan Ongole di peternakan rakyat. *JITV* 15: 72-80.
- Liu, B.H. 1998. *Statistical genomics, linkage mapping, and QTL analysis*. CRC Press. New York. p.45-83.
- Maizura I, Rajanaidu, N., Zakri A, dan Cheah, S.C. 2009. Assessment of genetic diversity in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) using restriction fragment length polymorphism (RFLP). *Genet. Resour. Crop Evol.* 53(1): 187-195.
- Mangoenwidjojo., W. 2003. *Dasar-dasar pemuliaan tanaman*. Penerbit Kanisius. Jakarta.
- Mardziah, A. Rahimah, M., Ting, N.C. dan Rajinder, S. 2013. Development of a non-radioaktve screening protocol of various genetic background of oil palm. *Trans. Malaysia Soc. Plant Physiol.* 1:135-138.
- Nida, W.N.M.S. 2014. Genetic Diversity of DxP Population yield componer in oil palm's paternal half-sib family based on microsatellite markers. *Energy Procedia*. 47: 196-203.
- Nida, W.N.M.S. 2014. Keragaman genetik dan identifikasi penanda spesifik karakter produksi pada progeni dan tetua kelapa sawit dengan menggunakan marka SSR. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Noorhariza, M.Z., Ismanizan, I., Rozana, R., Ting, N.C., dan Rajinder, S. 2010. Development and characterization of *elaeis oleifera* microsatellite markers. *Journal of Sains Malaysiana*. 39 (6): 909-912.
- Novita, L. 2013. Analisis genetik Karakter Morfo-Agronomi Jarak Pagar Hasil Pemuliaan Berbasis Pendekatan Kuantitatif dan Molekuler. [Tesis] Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Peakall dan Smouse. 2012. *Introduction to population genetic analysis. GenAlex Genetic Analysis in Excel*. Based on material provided at the national graduate workshop An Introduction to Genetic Analysis for Populations Studies offered by Rod Peakall and Peter

- Smouse at the Australian National University, Canberra, Australia, July 2009.
- Perreira dan Jacquemoud-Collet, 2014. Software DARwin (Dissimilarity Analysis Representation for Windows). Diakses dari: <http://darwin.cirad.fr>Last update 2014/10/20.
- Putri, L.A.P. 2010. Pendugaan Parameter Genetik dan Karakterisasi Molekuler Keragaman Genetik dengan Menggunakan Marka Mikrosatelit (SSR) pada Kelapa Sawit. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rajanaidu, N., 2015. Oil Palm Breeding for Past 50 Years. [Conferencia Internacional Sobre Palma de Aceite-18th International Oil Palm Conference]. 22-25 September. 2015. Diakses dari http://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/M1_2_4%20Mejoramiento%20gen%C3%A9tico%20ultimos%2050%20a%C3%B1os%20N_%20Rajanaidu.pdf .pada tanggal 08 Maret 2015. Pkl. 09.30 WIB. reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
- Sugiono, M. 2010. Marka mikrosatelit sebagai alternatif uji buss dalam perlindungan varietas tanaman padi.buletin plasma nutfah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. 16 : 1-7.
- Taerayoon, P., Tanya, P., Lee,S. dan Srinives, P. 2015. Genetic background of three commercial oil palm breeding populations in Thailand revealed by SSR markers. *Australian Journal of Crop Science.* 9(4) : 281-288.
- Tasma, M. dan Arumsari, S. 2013. Analisis diversitas aksesi kelapa sawit kamerun berdasarkan marka SSR. *Jurnal Litri* 19 (4) : 194-202. ISSN. 0853-8212.
- Toruan-Mathius, N., Hutabarat, T. 1997. Pemanfaatan teknik penanda molekuler dalam usaha meningkatkan produktivitas tanaman perkebunan. *Warta Biotek Perkebunan II* (1):2-9.
- Zulkifli, Y., Maizura, L. dan Rajinder, S. 2007. Genetic diversity of elaeis guineensis germplasm using EST-SSRs. *Advanced Biotechnology & Breeding Centre, Malaysia Palm Oil Board, Bandar Baru Bangi, Selangor, Malaysia.*