



PAPER – OPEN ACCESS

Pengamatan Tingkat Variasi Genetik dengan Menggunakan Teknik DNA Profiling pada Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)

Author : Arnen Pasaribu
DOI : 10.32734/anr.v1i1.99
Electronic ISSN : 2654-7023
Print ISSN : 2654-7015

Volume 1 Issue 2 – 2018 TALENTA Conference Series: Agricultural & Natural Resources (ANR)



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



Pengamatan Tingkat Variasi Genetik dengan Menggunakan Teknik *DNA Profilling* pada Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphism *DNA* (RAPD)

Arnen Pasaribu^{a*}, Lollie Agustina P.Putri^a

Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesia

pasaribu30@gmail.com

Abstrak

Proses pemuliaan tanaman merupakan langkah awal dalam mendapatkan varietas unggul tanaman kelapa sawit. Pengamatan terhadap variasi genetik perlu dilakukan untuk menyusun program pemuliaan tanaman. Teknik *DNA profiling* dapat dilakukan untuk mendeteksi variasi genetik ditingkat molekuler. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan keragaman molekuler berdasarkan marka RAPD. Metode penelitian dilakukan dengan mengamati persentase filogenetik analisis dan *PCoA analysis*. Adapun hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi membentuk tiga kluster dan berdasarkan analisis *PCoA* menunjukkan tingkat keragaman molekuler sebesar 43.65%.

Kata Kunci: Kelapa sawit; DNA Profilling; PIC; PCoA

1. Pendahuluan

Tanaman kelapa sawit merupakan salah satu tanaman yang bernilai strategis karena tanaman kelapa sawit sebagai salah satu sumber devisa negara Indonesia terbesar. Berdasarkan data BPS (2014) sumbangan sumber devisa negara Indonesia dari tanaman kelapa sawit mencapai 17.464,9 juta US\$\$ lebih tinggi daripada komoditas tanaman perkebunan lain, misalnya tanaman karet yang hanya mencapai 6.609,6 juta US\$. Selain itu, tanaman kelapa sawit juga dapat diolah menjadi berbagai produk olahan, sejauh ini ada 120 jenis produk olahan yang dapat dihasilkan dari tanaman kelapa sawit [7].

Perakitan varietas baru tanaman kelapa sawit unggul terus dilakukan dengan melalui serangkaian proses pemuliaan tanaman yang terencana dan berkesinambungan. Proses pemuliaan tanaman tidak lepas dari identifikasi karakter tertentu. Proses identifikasi tersebut biasanya dilakukan dengan melakukan pengamatan secara visual yaitu dengan melakukan observasi terhadap karakter penotipik tanaman. Novita [9] menjelaskan bahwa pengamatan dengan cara ini memiliki beberapa kelemahan yaitu diperlukan waktu yang lama dalam pengerjaan, bersifat subjektif dan hasil yang sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Kelemahan tersebut dapat diatasi dengan penggunaan analisis molekuler, salah satunya dengan melakukan pengamatan ditingkat DNA. Pengamatan ditingkat DNA dapat dilakukan dengan teknik *DNA profiling* [13]. Teknik ini merupakan salah satu teknik untuk menggambarkan bagaimana pola pita yang dihasilkan oleh suatu individu.

Pola pita yang dihasilkan oleh setiap individu berbeda-beda walaupun memiliki tingkat kekerabatan yang rendah. Istino [6] menyebutkan bahwa pola pita tersebut dapat dijadikan sebagai penanda untuk mencirikan sifat tertentu sehingga setiap individu memiliki pita yang spesifik. Implikasi *DNA profiling* dapat dilakukan berdasarkan marka *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD). Penanda ini sudah banyak diterapkan pada berbagai analisis ditingkat molekuler, khususnya untuk mengamati tingkat kekerabatan genetik makhluk hidup. Kelebihan dari marka ini adalah efektif, efisien, relatif ekonomis dan dapat memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi [4]. Penggunaan marka RAPD selain dapat menunjukkan adanya keragaman juga dapat dipergunakan untuk mendeteksi benih abnormal [5][10] dan juga dapat digunakan untuk identifikasi benih dura dan pisifera [12]. Selain itu juga RAPD juga telah diterapkan untuk mendeteksi keragaman pada ganoderma [8].

Berdasarkan hal tersebut maka teknik *DNA profiling* berdasarkan marka RAPD perlu dilakukan untuk mendapatkan keragaman molekuler pada tanaman kelapa sawit komersial berdasarkan persentase polimorfisme (PIC), dendrogram filogenetik dan analisis *principal coordinat*. Hasil penelitian ini akan memberikan informasi awal terkait dengan material breeding untuk proses pemuliaanm tanaman di masa mendatang.

2. Bahan dan Metode

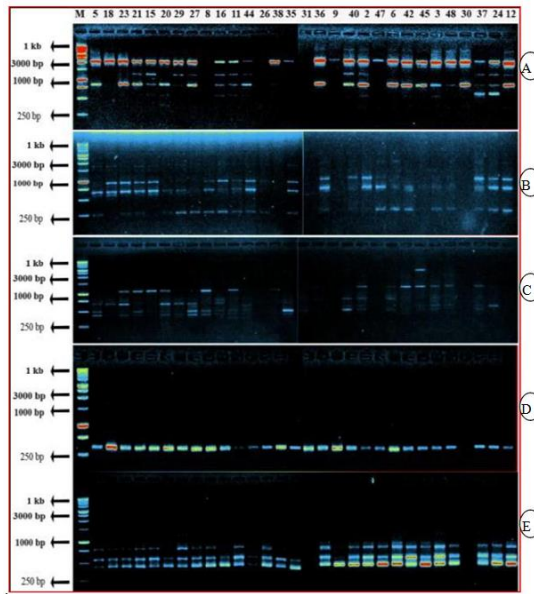
Penelitian ini dilakukan dari Bulan September sampai dengan Oktober, 2015 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan. Bahan tanaman merupakan salah satu kelapa sawit komersial, jumlah bahan tanaman yang digunakan pada penelitian sebanyak 30, DNA Bench Top 1kb DNA ladder, buffer CTAB, buffer TAE 1 X, nitrogen cair, *choloroform isoamilalkohol* (KIAA) perbandingan (24:1), β -*mercaptoethanol*, *agarose-promega* V3121 dan *master mix (promega M7122)*. Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas mesin PCR-AB *Applied Biosystem Veriti 96 thermal cycler*, gel documentation-UV *Cambridge* dan satu set alat elektroforesis- *biorad*.

Primer RAPD yang digunakan dalam teknik *DNA profiling* terdiri atas empat primer yaitu OPH-12 (5' TGTCATCCCC 3'), OPD-16 (5' AGGGCGTAAG 3'), OPI-20 (5' AAAGTGCGGG 3'), OPC-7 (5' GTCCCCGACGA 3') dan OPC-12 (5' TGTCATCCCC 3'). Metode isolasi DNA adalah Orozco-Castilo (1994) dengan beberapa modifikasi. Program PCR berdasarkan Setiyo (2001) sebanyak 45 siklus yang terdiri atas predenaturasi 94°C selama 2 menit, denaturasi 94°C selama 1 menit, anneling 34°C selama 1 menit dan ekstensi 72°C selama 2 menit dan final ekstension 72°C selama 10 menit.

Hasil elektroforesis kemudian didokumentasikan dengan menggunakan gel dokumentasi *UVTec Cambridge*. Pita DNA hasil dokumentasi diubah kedalam data biner dimana jika pita muncul di beri kode (1) dan jika tidak muncul diberi kode (0) dengan menggunakan *microsoft excel 2007*, kemudian dihitung nilai keragaman molekuler berdasarkan analisis principal koordinat dan dendrogram filogenetik berdasarkan metode Neighbour Joining-Tree yang diolah dengan *DARwin Software* Versi 6 [12].

3. Hasil dan Pembahasan

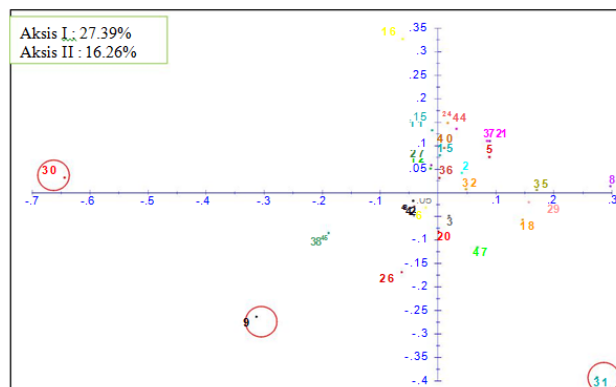
Setiap individu yang memiliki tingkat kekerabatan sempit, belum tentu memiliki tingkat kekerabatan yang dekat secara genetik, sehingga pengamatan ditingkat genetik perlu dilakukan untuk melihat adanya perbedaan secara genetik melalui pengamatan pada pola pita pada tingkat molekuler. Penggunaan teknik molekuler dapat dilakukan untuk mengetahui tingkat keragaman pada makhluk hidup ditingkat DNA. Bathusha [2] menjelaskan bahwa untuk mendeteksi DNA polimorfisme dapat dilakukan dengan menggunakan teknik *DNA profiling*. Adapun hasil pola pita *DNA profiling* pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 : Pola pita DNA *profiling* tanaman kelapa sawit komersial berdasarkan marka RAPD Keterangan : M : DNA Bench Top 1kb DNA ladder; A: primer OPH-12, B: primer OPD-6, C : primer OPI-20, D : primer OPC-12 dan E : primer OPC-7.

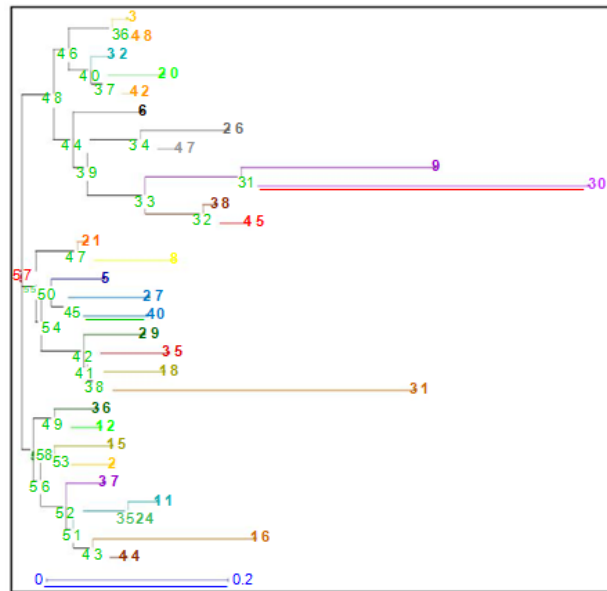
Penggunaan teknik *DNA profiling* terbukti mampu menunjukkan keberagaman pada kelapa sawit komersial yang telah diuji. Setiap pita yang muncul merepresentasikan keberadaan suatu alel pada individu yang diuji. Pita yang muncul pada suatu individu belum tentu muncul di individu yang lain. Hal inilah yang dijadikan sebagai tolak ukur dalam pengamatan pada tingkat molekuler. Semakin banyak jumlah pita yang muncul namun tidak muncul pada individu yang lain, maka pita tersebut dapat menunjukkan adanya keragaman. Keberhasilan primer dalam menunjukkan adanya perbedaan dilihat berdasarkan ada atau tidaknya pita yang teramplifikasi, semakin banyak jumlah pita yang muncul namun tidak muncul di individu lain maka semakin tinggi kemampuan primer tersebut untuk menunjukkan adanya perbedaan genetik.

Kemampuan primer yang diuji untuk melihat adanya perbedaan dan seberapa besar perbedaan molekuler yang dihasilkan dapat dianalisis dengan melakukan perhitungan pada nilai keragaman molekuler. Perhitungan nilai keragaman molekuler dapat diduga dengan menggunakan analisis *PCOA*. Analisis ini telah biasa digunakan untuk melihat tingkat keragaman molekuler berdasarkan pengujian primer [12]. Adapun hasil analisis *PCOA* pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar. 2. Nilai keragaman molekuler berdasarkan PCoA (*Principal Coordinat Analysis*) pada DNA *profiling* kelapa sawit komersial berdasarkan marka RAPD.

Berdasarkan hasil analisis nilai keragaman molekuler (*PCOA*) pada tanaman kelapa sawit yang diuji adalah sebesar 43.65% (Gambar 2.). Nilai keragaman molekuler tersebut menunjukkan seberapa besar sebaran individu yang diuji. Jika diperhatikan pada Gambar 2. dapat dilihat bahwa ada beberapa individu yang terpisah jauh dengan genotipe-genotipe lainnya, adapun individu yang dimaksud adalah individu No.30, No.9 dan No.31. Ketiga individu tersebut menyebar secara terpisah dengan ke-27 individu lainnya. Hal ini berarti bahwa ketiga individu yang diuji tersebut memiliki perbedaan genetik yang berbeda jika dibandingkan dengan individu lainnya. Setiap individu yang diuji pada penelitian ini akan mengelompok sesuai dengan jarak genetiknya masing-masing. Untuk mengkonfirmasi hasil analisis *PCOA* tentang gambaran hubungan 30 individu kelapa sawit yang diuji dapat dilakukan analisis filogenetik (Gambar 3).



Gambar. 3. Dendrogram filogenetik kelapa sawit komersial berdasarkan marka RAPD

Berdasarkan dendrogram filogenetik dapat diketahui bahwa 30 individu kelapa sawit komersial yang diuji telah membentuk 3 kluster utama. Hasil penelitian Yurna [15] pada 2 famili kelapa sawit tenera origin binga menunjukkan penggunaan marka RAPD pada analisis filogenetik terbagi kedalam 5 kelas sedangkan Odenore [11] membentuk 2 kluster. Individu yang berbeda dengan individu lainnya dapat dilihat pada individu No.30, No.9, dan No.31. Individu yang berbeda menunjukkan keberadaan jarak jenetik terjauh. Bila dikaitkan dengan proses pemuliaan tanaman, maka semakin jauh jarak genetiknya maka akan meningkatkan keberhasilan proses seleksi. Acquuah [1] menjelaskan tingkat kekerabatan dapat mempengaruhi keberhasilan dalam persilangan selanjutnya Zulhermana [16] menyebutkan bahwa semakin jauh jarak genetik suatu individu maka akan meningkatkan keberhasilan untuk persilangan sehingga hal ini akan dapat dijadikan sebagai gambaran awal untuk kegiatan persilangan selanjutnya.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa populasi membentuk tiga kluster dan berdasarkan analisis *PcoA* menunjukkan tingkat keragaman molekuler sebesar 43.65%.

Referensi

- [1] Acquaah, G. (2007). *Principles of plant genetics and breeding*. Blackwell Publishing. 350 Main Street, Malden, MA 02148-5020, USA.
- [2] Batasha, S. (2013). The application of IRAP markers in the breeding of papaya. [Dissertation]. Institute of Biological Science. Faculty of Science. University of Malaya. Kuala Lumpur.
- [3] BPS. (2014). Ekspor Impor Komoditas Perkebunan. Diakses dari :<https://www.bps.go.id/linkTabelStatistik/view/id/1026> pada tanggal 13 Agustus 2016. Pkl. 11.08..
- [4] Guneeeren, G., Akyuz, B., and Ertugrul, O. (2010). Use of RAPD-PCR for genetic analyses on the native cattle breeds in Turkey. *Journal of Ankara Univ Vet Fak Derg*.57:167-172.
- [5] Hetharine, H. (2010). Deteksi perubahan genetik pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Abnormal dengan Teknik RAPD. *Jurnal Budidaya Pertanian*. 6(2) : 45-50.
- [6] Istino, F., Jamsari, Suliansyah, I. and Gustian. (2012). Studi hubungan karakter morfologi, anatomi, dan molekuler terkait potensi kadar katekin pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.). Artikel Disertasi Universitas Andalas. 5-25.
- [7] Kemenkeu. (2012). Laporan kajian nilai tambah produk pertanian. Kementerian Keuangan Republik Indonesia. Badan Kebijakan Fiskal. Pusat kebijakan ekonomi makro. Jakarta.
- [8] Lattifah, Z., Harikrishna, K., Tan, S.G., Faridah, A., dan Ho. Y.N. (2005). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) of ganoderma from infected oil palm and coconut stumps in Malaysia. *Asia Pacific of Molecular and Biotechnology*. 13 (1) : 23-34.
- [9] Novita, L. (2013). Analisis genetik Karakter Morfo-Agronomi Jarak Pagar Hasil Pemuliaan Berbasis Pendekatan Kuantitatif dan Molekuler. [Tesis] Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- [10] Nurita, T.M., Bangun, S.I.I., and Maria, B. (2001). Analisis abnormalitas tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) hasil kultur jaringan dengan Teknik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). *Jurnal Menara Perkebunan*. 69(2): 58-70.
- [11] Odenore, V.D., Eke, C.R., Asemoto, O., and Shittu, H.O. (2015). Determination of phylogenetic relationship among oil palm (*Elaeis guineensis*) varieties with Random Amplified Polymorphic DNA. *European International Journal of Science and Technology*. Vol. 4.No.2.155-160.
- [12] Perreira and Jacquemoud-Collet. (2014). Software DARwin (*Dissimilarity Analysis Representation for Windows*). Diakses dari: <http://darwin.cirad.fr> Last update 2014/10/20.
- [13] Satish, D.K. and Mohankumar, C. (2007). RAPD marker for identifying oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). parental varieties (Dura and Pisifera) and the hybrid tenera. *Indian Journal of Biotechnology*.3 : 354-358.
- [14] Weishing, K., Hilde, N., Kristen, W., and Gunter, K. (2005). *Dna Fingerprinting in Plants, Principles, Methods, and Application*. Second Edition. CRC Press. Taylor & Francis Group.
- [15] Yurna, Y., Lalu, F.B., Jayusman, and Dwi, A. (2002). Diversitas genetik plasma nutfah kelapa sawit tenera oringin binga. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*. 10 (1) : 23-30.
- [16] Zulhermana. (2009). Keragaman genetik intra dan interpopulasi kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pisifera asal Nigeria berdasarkan marka *Simple Sequence Repeats* (SSR). [Tesis]. IPB. Bogor.