

ANALISA KEMURNIAN PROJENI KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) MENGUNAKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)

Rokhana Faizah, Sri Wening, Retno Diah Setiowati, dan Yurna Yenni

Abstrak Kemurnian projeni merupakan salah satu syarat pengendalian mutu persilangan buatan dan produksi benih kelapa sawit. Informasi kemurnian genetik pada projeni sangat diperlukan untuk pengawasan hasil persilangan dan produksi benih komersial kelapa sawit. Untuk itu, diperlukan marka atau penanda yang dapat mendeteksi tingkat kemurnian projeni kelapa sawit tersebut. RAPD merupakan penanda DNA yang dapat digunakan untuk tujuan tersebut. Penanda RAPD bersifat dominan yang tidak dapat membedakan genotipe homozigot dan heterozigot. Tujuan penelitian adalah mengetahui kemurnian genetik projeni kelapa sawit dari koleksi program pemuliaan Pusat Penelitian Kelapa Sawit menggunakan marka RAPD. Bahan tanaman yang digunakan adalah 4 tanaman tetua dan projeni hasil *selfing*nya yang dianalisa dengan melihat profil RAPD tetua dan projeninya dengan mempertimbangkan hukum pewarisan sifat Mendel dan sifat marka RAPD dominan. Terdapat indikasi ketidakmurnian projeni hasil persilangan BO 903 T Self dan adanya indikasi ketidakmurnian projeni tidak ditunjukkan pada persilangan BO 907 T Self, BO 710 T Self, dan BO 5436 D Self.

Kata kunci: kemurnian projeni, RAPD, kelapa sawit.

Abstract Progeny legitimacy is one of conditions for artificial pollination and oil palm seed production. The information is needed for supervision of pollination

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Rokhana Faizah (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia
Email: nana_rfz@yahoo.com

and oil palm seed production. Therefore, it is needed a marker to identify the oil palm progeny legitimacy. RAPD is a DNA marker which could be used. The marker is dominant marker, which can not distinguish homozygote and heterozygote genotype. The aim of this study is to observe the legitimacy of oil palm progenies which were collection of Indonesian Oil Palm Research Institute breeding programme, using RAPD. It was used 4 parents and their selfed progenies, which were analysed based on observation of RAPD profiles of the parents and the progenies, with taking into account Mendelian genetic inheritance and dominant character of RAPD marker. RAPD marker could be used to identify the legitimacy of oil palm progenies of IOPRI's collection. There was indication of illegitimacy of progeny BO 903 T selfed and no indications of illegitimacy of progenies BO 907 T selfed, BO 710 T self and BO 5436 D self.

Keywords: progeny legitimacy, RAPD, oil palm.

PENDAHULUAN

Pengujian keturunan dari hasil penyerbukan buatan tetua-tetua tertentu memerlukan validitas untuk penentuan kemurnian genetik dari lini yang dihasilkan. Kemurnian genetik merupakan syarat pengontrolan kualitas dalam pemuliaan tanaman dan produksi benih. Informasi kemurnian genetik penting dalam pengawasan dan kehomogenan hasil untuk menghindari tingkat ketidakmurnian yang banyak dijumpai sebelumnya pada benih-benih komersil (Arus, 1983) maupun benih-benih pengujian. Kemudian para deskriptor akan membedakan hasil persilangan yang benar (*true type*) atau *off type* (Ballester dan Carmen de Vicente, 1998).

Untuk menjaga kualitas dari kemurnian hasil persilangan, ada beberapa hal yang menjadi faktor penentu, antara lain: 1) saat terjadinya persilangan, pengawasan terhadap terjadinya persilangan antara tetua yang diinginkan harus dilakukan untuk menghindari terjadinya kontaminasi dari tanaman lain yang tidak diketahui asal usulnya, 2) kemungkinan terjadi penyerbukan sendiri pada tetua; terjadinya penyerbukan sendiri di alam dapat mencapai angka 5% dan hal ini harus dihindari dengan cara penyungkupan sebelum terjadinya antesis, 3) vigor dan viabilitas, seberapa besar kemampuan untuk tumbuh dari tetua yang digunakan sangat menentukan kualitas dari hasil persilangan yang akan dihasilkan, selain itu dalam pemilihan terhadap tetua yang akan dijadikan sebagai pohon induk dan pohon bapak, dimana pohon induk dipilih dari kebun induk terpilih dan pohon bapak yang terpilih haruslah telah menunjukkan hasil yang baik pada uji coba dengan pasangannya, dan 4) pengawasan terhadap produksi.

Random amplified polymorphism DNA (RAPD) adalah salah satu marka DNA yang menggunakan prinsip kerja *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mengamplifikasi sekuen DNA tertentu secara in-vitro. Marka RAPD memiliki kelemahan dalam hal keterbatasan kandungan informasi genetik per lokusnya, karena hanya satu alel diamplifikasi sedang alel-alel lainnya dideteksi sebagai alel nul (Rafalsky, 1994). Hal ini menyebabkan marka RAPD bersifat dominan yang tidak dapat membedakan genotipe yang homozigot dan heterozigot. Marka RAPD merupakan marka genetik yang relatif sederhana,

mudah dalam penyiapannya, memberikan hasil lebih cepat dan menghasilkan marker yang relatif tidak terbatas jumlahnya (Asmono *et al.*, 2000).

Marka RAPD telah banyak dimanfaatkan pada kelapa sawit untuk mengidentifikasi penyakit tajuk (Sembiring, 2003), abnormalitas pembungaan (Toruan-Matius *et al.*, 2001), pemetaan awal pohon elit tipe tenera (Setiyo *et al.*, 2000), dan diversitas genetik plasma nutfah origin Binga (Yenni *et al.*, 2002). Verifikasi genotipe tetua dan projeninya dapat membantu membuktikan pedigri/asal usul suatu individu baik dalam persilangan maupun dalam menghasilkan hibrida komersil. Tujuan penelitian adalah mengetahui kemurnian genetik projeni kelapa sawit dari koleksi program pemuliaan Pusat Penelitian Kelapa Sawit menggunakan marka RAPD.

BAHAN DAN METODE

Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Pusat Penelitian Kelapa Sawit.

Bahan dan Alat

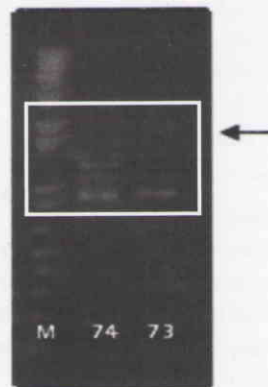
Bahan tanaman yang digunakan adalah material tanaman dari 4 persilangan yang meliputi tanaman 4 tetua dan 8 projeninya dari program pemuliaan Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) (Tabel 1). Bahan analisis terdiri dari bahan ekstraksi DNA, elektroforesis, *PCR mix*, dan stok DNA sampel. Alat

Tabel 1. Daftar sampel yang digunakan untuk analisa kemurnian projeni kelapa sawit.

No.	Female	No. Analisa	Male	No. Analisa	Jumlah projeni	Projeni	No. Analisa	Kebun Percobaan
1.	BO 907 T	53A	BO 907 T	53A	3	13-11-(6) 12-20-(6) 13-13-(6)	55A 57A 59A	MA 18S/2005
2.	BO 710 T	51A	BO 710 T	51A	3	3-2-(1) 4-6-(1) 1-1-(1)	56A 58A 60A	MA 18S/2005
3.	BO 903 T	74A	BO 903 T	74A	1	3-13-(108)	73A	MA 22S/2007
4.	BO 5436 D	50A	BO 5436 D	50A	1	BJ 5579 D	49A	BO 48 S/1993



Gambar 1. Profil RAPD tetua BO 710 T (sampel no. 51) dan 3 projeninya (pohon 3-2-(1), sampel no. 56; 4-6-(1), sampel no.58; dan 1-1-(1), sampel no. 60) yang tidak menunjukkan indikasi ketidakmurnian projeni tersebut. M adalah 1 kb ladder.



Gambar 2. Profil RAPD tetua BO 903 T (sampel no. 74) dan satu projeninya (pohon 3-13-(108); sampel no.73) yang menunjukkan adanya indikasi ketidakmurnian projeni tersebut pada pita DNA yang ditunjukkan tanda panah. M adalah 1 kb ladder.

seleksi primer didasarkan pada tingkat polimorfisme marka RAPD yang tergantung pada 1) perbedaan jumlah dan jenis primer yang digunakan, semakin banyak primer yang digunakan, maka semakin tinggi tingkat polimorfisme yang dihasilkan; dan 2) jenis populasi tanaman yang dianalisa.

Tingkat polimorfisme tertinggi ditunjukkan primer OPG 13 dan terendah OPG 19 dengan rata-rata jumlah polimorfisme keempat primer tersebut adalah 2.75. Setiyo *et al.* (2001) menjelaskan bahwa polimorfisme merupakan variasi alel yang diwariskan sebagai akibat hilang atau merubah ukuran potongan DNA, antara lain karena insersi DNA berukuran besar pada dua situs penempelan primer, delesi bagian genom yang membawa situs penempelan, substitusi nukleotida yang merubah homologi antara primer dan

DNA genom, dan insersi dan delesi fragmen kecil DNA yang dapat merubah ukuran fragmen yang diamplifikasi.

Analisa kemurnian projeni ini merupakan hasil awal pada beberapa persilangan tetua yang terdapat pada program pemuliaan PPKS. Berdasarkan hasil analisa RAPD, tidak ada indikasi ketidakmurnian projeni dengan menggunakan semua primer yang digunakan pada persilangan BO 907 T *Self*, BO 710 T *Self*, dan BO 5436 D *Self*. Indikasi ketidakmurnian projeni ditunjukkan persilangan BO 903 T *Self* menggunakan primer OPH 04. Pengujian terhadap persilangan BO 903 T *Self* dilakukan dengan menggunakan 1 projeni dan menunjukkan indikasi ketidakmurnian pada projeni tersebut. Sehingga, dapat diketahui bahwa turunan dari BO 903 T *Self*

Tabel 4. Analisa kemurnian 8 projeni kelapa sawit dari 4 tetua persilangan menggunakan 4 primer RAPD.

Persilangan	Jenis Primer			
	OPG 02	OPG 10	OPG 19	OPH 04
BO 907 T Self	.	.	+	.
BO 710 T Self	+	+	+	+
BO 903 T Self	+	.	+	-
BO 5436 D Self	+	.	+	+

Keterangan: (+) : tidak ada indikasi ketidakmurnian projeni; (-) : terdapat indikasi ketidakmurnian projeni; (.) : data hilang.

terdapat indikasi ketidakmurnian. Tujuh projeni dari 3 persilangan BO 907 T *Self*, BO 710 T *Self*, dan BO 5436 D *Self* menunjukkan pita yang linear antara tetua dan projeninya. Hal ini menerangkan bahwa projeni yang diuji tidak menunjukkan ketidakmurnian genetik antara tetua dan projeninya.

Berdasarkan hukum Mendel, tanaman yang di selfing (menyerbuk sendiri) akan menghasilkan projeni yang sama dengan tetuanya. Sehingga, kemurnian genetik dapat diketahui berdasarkan postulat tersebut. Dari keempat tetua selfing yang diuji, hanya projeni dari persilangan BO 903 T menunjukkan pita yang berbeda dengan tetuanya (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan ketidakmurnian genetik projeni dari persilangan BO 903 T. Adanya indikasi ketidakmurnian projeni dapat digunakan sebagai salah satu syarat pengontrolan terhadap persilangan buatan program pemuliaan dan produksi benih kelapa sawit. Sebab-sebab yang diduga dapat mengindikasikan ketidakmurnian projeni adalah terjadi kontaminasi pada saat proses persilangan buatan, terjadi penyerbukan polen liar atau yang tidak dikehendaki, proses perkecambahan, dan pembibitan.

Analisa kemurnian projeni kelapa sawit sebaiknya perlu dilakukan dengan menggunakan marka yang lain yang bersifat kodominan. Untuk itu, saat ini sedang dilakukan usaha menggunakan marka lain yang diharapkan dapat mengidentifikasi indikasi ketidakmurnian genetik projeni kelapa sawit. Namun untuk usaha awal, analisa RAPD telah mampu membuktikan indikasi ketidakmurnian projeni kelapa sawit pada persilangan BO 903 T *Self*.

Implikasi indikasi ketidakmurnian genetik projeni kelapa sawit dapat berpengaruh terhadap kualitas program pemuliaan dan jaminan mutu benih yang dihasilkan.

KESIMPULAN

1. Marka RAPD dapat digunakan untuk mendeteksi kemurnian projeni kelapa sawit dari koleksi program pemuliaan Pusat Penelitian Kelapa Sawit.
2. Terdapat indikasi ketidakmurnian projeni hasil persilangan BO 903 T *Self* dan adanya indikasi ketidakmurnian projeni tidak ditunjukkan pada persilangan BO 907 T *Self*, BO 710 T *Self*, dan BO 5436 D *Self*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arus, 1983. *In* Rom. M; M. Bar, A. Rom. M. Pilowsky. and D. Gidoni. 1995. Purity control of f_1 -hybrids through SSR profiling of maternal and hybrids tomato cultivars by RAPD markers. *Plant Breeding* 114: 188-190.
- Asmono, D., N. Toruan-mathius, I.E. Setiyo, dan E. Supriyanto. 2000. Pemetaan pautan genetik pada kelapa sawit dengan menggunakan marka RAPD dan strategi pseudo tescross: Konsep dan hasil pendauluan. *Symposium Perhimpunan Pemuliaan Indonesia, Bogor* 22-23 Agustus 2000.

- Ballester, J. and Carmen De Vicente, M. 1998. Determination of F_1 hybrid seed purity in pepper using PCR-based marker. *Euphytica* 103: 223-226.
- Kaidah, S., Sudarsono, S. Ilyas, dan Toruan-mathius, N. 1999. Analisa keragaman genetik tanaman salak (*Salac* sp.) Indonesia dengan teknik random amplified polymorphic DNA (RAPD). Tesis Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 49p. [Tidak dipublikasikan].
- Orozco-castillo, C., K.J. Chalmers, R. Waug, and Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor Appl genet* 87:934-940.
- Rafalsky, J.A., M.K. Hanafey, S.V. Tingey, and J.G.K. Williams. 1994. Technology for molecular breeding RAPD markers, microsatellite, and machines. In: Gresshorf P.M. (Eds.). *Plant Genomen Analysis*. London CRC Pr.
- Sembinging, N. 2003. Identifikasi penyakit tajuk (crown disease) pada kelapa sawit dengan penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) melalui strategi BSA (Bulk Segregant Analysis). Tesis. Program Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. 78 hal.
- Setiyo, I.E., Sudarsono, dan D. Asmono. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit Sungai Pancur (Rispa). Tesis. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 71p. [Tidak dipublikasikan].
- Setiyo, I.E., Sudarsono, dan D. Asmono. 2000. Pemetaan awal pautan marka RAPD pada pohon elit kelapa sawit tenera. *Penelitian Kelapa Sawit* 8 (1): 1-22.
- Toruan-mathius, N., S.I.I. Bangun, dan Maria-Bintang. 2001. Analisis abnormalitas tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) hasil kultur jaringan dengan teknik Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Menara Perkebunan* 69 (2). Hal 58-70.
- Williams, J.A., I.M. Scott, A.L. Atkin, W.J. Brook, M.A. Russell, and J.B. Bell. 1990. Genetic and molecular analysis of vg^u and vg^w : two dominant vg alleles associated with gene fusions in *Drosophila*. *Genetics* 125: 833-844.
- Yenni, Y., L.F. Budiman, Jayusman, dan D. Asmono. 2002. Diversitas genetik plasma nutfah kelapa sawit tenera origin Binga. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit* 10 (1): 23-30.