Jurnal Penelitian Kelapa Sawit, 2001, 9 (2 -3) : 91 - 102

APLIKASI TEKNIK RAPD UNTUK ANALISIS DIVERSITAS GENETIK TANAMAN KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Indro E.Setiyo, Sudarsono*) dan Dwi Asmono

ABSTRAK

Teknik biologi molekuler yang berbasis pada marka RAPD diterapkan pada tanaman kelapa sawit untuk mempelajari diversitas genetik populasi melalui pendugaan frekuensi alel, heterosigositas dan kemiripan gen. Pen elitian laboratorium dilakukan di Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan (UPBP) Bogor dan Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan. Sebanyak 70 individu tanaman hasil persilangan dua pohon tetua elite (PA 131 D x RS 3 T) dianalisis menggunakan 19 jenis primer oligonukleotida yang terbukti polimorfis pada kedua tetua. Data biner pita RAPD dianalisis berdasarkan konsep genetika populasi dan dibantu dengan perangkat lunak NTSYSpc versi 2.01. Hasil menunjukkan bahwa h eterosigositas amatan kelompok dura (0.631) relatif lebih rendah daripada kelompok tenera (0.647). Simpangan keseimbangan Hardy-Weinberg yang biasa dinyatakan sebagai koefisien tangkar-dalam menunjukkan kelebihan heterosigot. Pada tingkat kemiripan genetik 75%, populasi percobaan bisa dikategorikan ke dalam 7 kelompok dan 5 individu tunggal yang tidak berkelompok. Beberapa kelompok tersusun hanya dari tipe dura dan/atau tenera, dan sisanya merupakan kelompok campuran antara dura dan tenera dalam komposisi yang berimbang. Lima individu yang tidak berkelompok ditunjukkan oleh tipe kelapa sawit dura. Pada tingkat kemiripan genetik seperti ini, untuk tujuan koleksi in situ populasi dapat disusutkan hingga 70%.

Kata kunci: *Elaeis guineensis, RAPD, diversitas genetic*

ABSTRACT

Technique of molecular biology based on RAPD markers was applied on oil palm for studying the genetic diversity of population through estimation of allelic frequency, heterozygosity and gene similarity. Laborat ory experiment was carried out in Bogor Biotechnology Research Unit for Estates Crops and in Indonesian Oil Palm Research Institute. As many as 70 palms derived from crosses of two elite parent palms (PA 131 D x RS 3 T) were analyzed using 19 oligonucleotide primers that show polymorphism in both parents. Binary data of RAPD bands was analyzed following the concept of population genetics and facilitated by NTSYSpc version 2.01 software. The results of experiments indicate that observed heterozygosity of dura group (0.631) was relatively lower than that of tenera group (0.647). Deviation of Hardy-Weinberg that commonly called by coefficient of inbreeding indicate heterozygote excess. On the 75% level of genetic similarity, the population could be categorized into 7 groups and 5 ungrouped single individuals. Several groups were composed of only type of dura and/or tenera, and remaining is mixed groups between dura and tenera in balanced composition. Five individual ungrouped palms were showed by oil palm type dura. In such level of genetic similarity, the population size could be reduced up to 70%.

Key words: *Elaeis guineensis, RA PD, genetic diversity*

---

*) Tenaga Pengajar Program Pascasarjana IPB, Bogor.

PENDAHULUAN

Perhatian terhadap gangguan hama dan penyakit kelapa sawit pada akhir-akhir Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) sebagai salah satu komoditas ekspor andalan telah memberikan kontribusi yang sangat nyata pada perekonomian Indonesia. Dalam satu dekade terakhir ini luas areal tanaman meningkat lebih dari tiga kali lipat. Hingga tahun 2000, areal perkebunan kelapa sawit seluas 3.2 juta hektar menghasilkan 6.5 juta ton minyak sawit mentah (CPO). Devisa yang dihasilkan dari ekspor minyak sawit pada tahun 1997 mencapai US $ 1.740,355 juta. Volume ekspor diperkirakan akan terus meningkat sejalan dengan perkembangan produksi. Menurut Jalani (5) produksi minyak sawit Indonesia diperkirakan akan mencapai 12,6 ton pada 2010 mengungguli produksi Malaysia yang mencapai 12,0 ton.

Besarnya kemajuan produksi minyak sawit nasional tidak terlepas dari peran para pemulia kelapa sawit dalam penyediaan bahan tanaman unggul. Mulai 1970-an program pemuliaan di Indonesia berkonsentrasi pada perakitan varietas hibrida tipe tenera melalui persilangan antara pohon induk elit dura dan pohon bapak pisifera. Skema seleksi didasarkan dua metode: *family and individual palm selection* (FIPS) dan *reciprocal recurrent selection* (RRS). Pada 1985, Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan sebagai gabungan dari Balai Penelitian Perkebunan Medan dan Marihat telah merilis 8 jenis varietas hibrida (DxP) unggul. Tanaman hibrida mampu menghasilkan minyak sawit 30% lebih tinggi daripada tipe kelapa sawit sebelumnya.

Sejauh ini, parameter seleksi dalam program pemuliaan lebih berdasar pada pengamatan karakter yang bertumpu pada penampilan fenotipik morfologi maupun fisiologis tanaman. Misalnya, dalam perakitan hibrida unggul, karakter yang dikombinasikan adalah jumlah tandan yang sedikit dan besar dengan jumlah tandan yang banyak tapi relatif kecil. Untuk mempercepat perolehan kemajuan genetik, pengamatan karakter seperti ini memiliki banyak kelemahan, terutama pada lamanya pengamatan dan besarnya pengaruh ragam lingkungan. Karenanya, identifikasi dan karakterisasi varietas ataupun plasma nutfah menggunakan teknik-teknik baru yang berbasis biokimia dan biomolekuler (DNA) menjadi penting di masa mendatang. Beberapa keunggulan parameter terakhir ini, seperti tingginya tingkat polimorfisme dan cakupan genomik telah mendorong untuk mengintegrasikannya pada pemuliaan klasik di PPKS, akhir-akhir ini. Teknik biologi molekuler yang pertama kali dikembangkan di PPKS Medan adalah *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Teknik RAPD sangat efisien dan sederhana dalam persiapannya. Prinsip kerjanya terletak pada reaksi polimerisasi berantai (*polymerase chain reaction*, PCR) menggunakan primer oligonukleotida acak tunggal dan dalam deteksi polimorfisme pita tidak dipakai radioisotop.

Makalah ini ditulis untuk menguraikan beberapa hasil penelitian

aplikasi teknik RAPD untuk analisis kemiripan genetik antar individu dan keragamannya yang dihitung berdasarkan frekuensi alel dan heterosigositas genetik. Lebih jauh, dari studi seperti ini diharapkan mampu mendorong program pembentukan *core population* plasma nutfah kelapa sawit. Di sam ping itu, pemakaian marka molekuler akan meningkatkan efektifitas dan efisiensi seleksi individu, baik dalam program perakitan varietas unggul maupun seleksi ortet guna perbanyakan tanaman secara klonal.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman

Populasi tanaman percobaan yang digunakan adalah kelapa sawit *E. guineensis* hasil persilangan tetua ibu PA 131D (BO 2499) dan tetua bapak RS 3T (BO 903) sebanyak 70 pohon. Dari bagian daun pelepah kesatu dan/atau pelepah tombak diambil contoh untuk diisolasi DNA genomik dan analisis RAPD. Populasi hasil persilangan tersebut ditanam pada 1992 (kode BJ 28S) di Kebun Percobaan Bah Jambi, PT. Perkebunan Nusantara IV, Sumatera Utara.

Analisis RAPD dan skrining primer

Analisis RAPD dikerjakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan (UPBP) Bogor dan Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan. Penelitian berlangsung dari Agustus 1999 sampai dengan Oktober 2000. Teknik RAPD mencakup kegiatan isolasi DNA genomik total dari jaringan daun, reaksi penggandaan DNA menggunakan primer nukleotida acak, elektroforesis gel agarose horisontal dan dokumentasi gel yang divisualisasi pada uv-transiluminator. Uraian ringkas untuk masing-masing tahap tersebut disajikan pada tulisan sebelumnya (15).

Skrining primer dimaksudkan untuk memilih primer-primer yang menunjukkan pita polimorfisme. Polimorfisme pita diamati penampilannya pada kedua tetua populasi dan contoh individu keturunannya. Hanya primer yang polimorfis yang digunakan lebih lanjut dalam penggenotipan seluruh individu populasi percobaan, untuk kemudian analisis keragaman genetik hanya didasarkan pada pita fragmen RAPD yang polimorfik.

Pensekoran dan analisis data

Berdasarkan hasil skrining dipilih primer sebanyak 19 jenis untuk menggenotip 70 individu populasi tanaman. Sebagian besar primer terpilih menunjukkan pola kemunculan pita yang mengikuti hukum segregasi Mendel (14). Pita DNA yang tampak pada satu individu disekor sebagai angka satu, sedang pita yang sama yang tidak muncul pada individu lainnya disekor sebagai angka nol. Pensekoran demikian biasa disebut sebagai bentuk penyajian data biner. Fragmen pita marka diidentifikasi dengan notasi menurut kode nama primer (Operon Technology) dan perkiraan besaran pasang basa (pb) fragmen sesuai dengan 1 kb DNA *ladder*.

Frekuensi alel dan keragaman gen pada tiap-tiap lokus RAPD dianalisis baik secara langsung maupun tidak

langsung menurut konsep genetika populasi yang terkoreksi (1, 8). Pita DNA yang tampak dianggap sebagai lokus yang heterosigot sedang pita yang tidak tampak sebagai lokus homo-sigot. Keragaman gen pada satu lokus (disebut juga heterozigositas, H) didefinisikan bila populasi berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg dan dirumuskan sebagai berikut:

$$H = 1 - \Sigma p_i^2 \quad \ldots\ldots\ldots \quad (1),$$

Σ menyatakan penjumlahan frekuensi alel pada lokus tersebut dan p_i menunjukkan frekuensi populasi dari alel ke-i pada satu lokus dalam contoh acak populasi (12). Pada tanaman menyerbuk silang, Nei (8) merumuskan penduga tak bias H dalam persamaan :

$$H = 2n (1 - \Sigma p_i^2)/(2n-1) \ldots\ldots (2),$$

n menyatakan banyaknya individu contoh populasi. Perbedaan yang ditemukan antara nilai heterosigositas harapan (He) dan amatan (Ho) mencerminkan simpangan dari keseimbangan Hardy-Weinberg. Simpangan tersebut biasa dirumuskan dalam koefisien tangkar-dalam (*inbreeding*), F yaitu F = 1- (Ho/He).

Jarak genetik atau tingkat kemiripan genetik antar individu ditentukan dari koefisien kemiripan (S_{ij}) yang diajukan oleh Nei dan Li (9) atau lazim dikenal sebagai koefisien Dice yaitu $S_{ij} = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$. N_{ij} menyatakan banyaknya pita positif yang dimiliki bersama oleh individu i dan j. N_i dan N_j menunjukkan banyaknya fragmen yang muncul pada individu i dan j. Dalam analisis tersebut kesesuaian negatif, yang disekor 0-0, tidak difaktorkan dalam perhitungan kemiripan (6). Dari hasil perhitungan koefisien kesamaan tersebut, individu dikelompokkan secara berhierarki berdasarkan metode UPGMA. Hasil pengelompokan disajikan dalam bentuk dendogram menurut tingkat kemiripan individu. Keseluruhan analisis kemiripan genetik ini dilakukan dengan bantuan program komputer NTSYSpc versi 2.02 (13).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Segregasi karakter ketebalan cangkang

Secara sederhana, tanaman kelapa sawit tipe dura dapat dikenal melalui cangkang buah yang tebal (2-5 mm) sedang tipe tenera pada cangkang buah yang tipis (1-2 mm). Dalam percobaan ini, persilangan tetua elit dura dan tenera menghasilkan progeni dengan karakter ketebalan cangkang bersegregasi pada nisbah 50% tipe dura dan 50% tenera dari total populasinya. Hal ini menegaskan bahwa sifat cangkang buah diwariskan dan dikendalikan oleh satu lokus gen mayor (monogenik) dengan dua alel yang berekspresi kodominan. Variasi ketebalan yang terlihat pada masing-masing tipe tanaman disebabkan oleh perkembangan lignifikasi cangkang yang dikendalikan oleh banyak gen (poligenik).

Analisis RAPD dan skrining primer

Hasil isolasi DNA genomik yang memiliki kemurnian tinggi dengan kuantitas sesuai dengan kebutuhan memungkinkan untuk melakukan teknik RAPD secara lebih handal. Waugh (15)

menyatakan bahwa faktor ko-ekstraksi pengkontaminasi DNA dan interferensi amplifikasi akan mempengaruhi *reproducibility* profil RAPD. Dala m percobaan ini umumnya pola pita fragmen RAPD menunjukkan konsistensi yang cukup tinggi antara hasil ekspresi pita pada tahap skrining primer dan tahap penggenotipan individu populasi percobaan.

Kemurnian DNA yang lebih tinggi diperoleh melalui proses pencucian yang berulang-ulang dan perbaikan efektivitas kerja enzim ribonuklease. Pencucian hasil ekstraksi menggunakan kloroform dan isopropanol dimaksudkan untuk menghilangkan kontaminan seperti fenolik, karbohidrat ataupun protein. Proses sentrifusi yang tepat akan mengendapkan molekul kontaminan dan menghindarkan terjadinya pencampuran kembali dengan supernatan. Sedang RNase yang efektif mampu mendegradasi lebih baik molekul RNA yang turut terisolasi. Sementara itu kehilangan material yang mungkin terjadi selama proses pekerjaan lebih berpengaruh pada variasi konsentrasi DNA.

Skrining primer menjadi tahap yang kritis dalam penentuan frekuensi alelik secara langsung. Karena dari tahap an ini, secara cepat dapat diketahui pola pewarisan karakter fenotipik pita RAPD melalui perunutan fragmen pada kedua tetuanya dan beberapa contoh individu progeni. Di samping itu, tahap ini akan meningkatkan efektifitas dan efisiensi waktu penandaan dan meminimalkan biaya akhir analisis RAPD. Beberapa contoh hasil skrining disajikan pada Gambar 1. Hasil percobaan menunjukkan bahwa dari 169 primer yang diskrining ditemukan 96 primer (57%) yang menampakkan pita DNA polimorfis. Angka ini relatif lebih besar daripada yang dilaporkan oleh Moretzsohn *dkk.* (7) sebesar 35%. Kese luruhan jenis primer yang diskrining disajikan pada Tabel 1. Tabel menunjukkan bahwa seluruh primer menghasilkan 874 pita

Keterangan :
No 1 = palm 26-10
No 2 = palm 26-20
No 3 = palm 27-19
No 6 = palm 08-05
No 7 = tetua BO 2499D
No 8 = tetua 83-48-75T
M = Marker

Gambar 1. Penampilan pita RAPD dari tahap skrining primer

Tabel 1. Ekspresi fragmen RAPD pada individu percobaan menurut kelompok primer

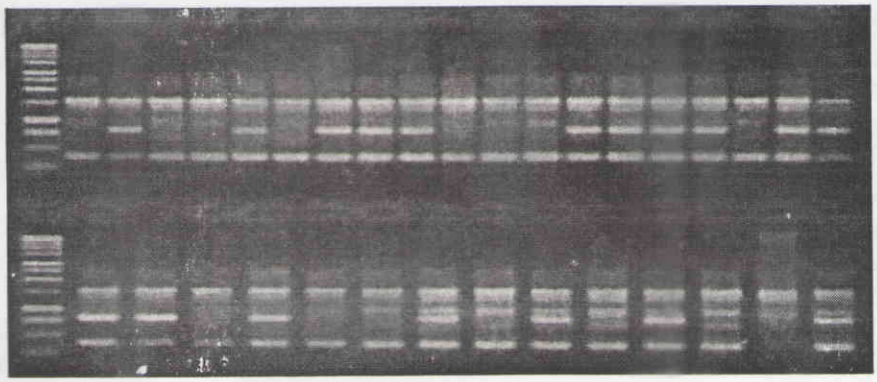
No	Jenis primer	Jumlah primer	Jumlah lokus tampak	Jumlah lokus polimorfik	Fragmen muncul pada tetua (D-T)
1	ABI	6	40	6	5 - 1
2	OPB	3	28	6	3 - 3
3	OPC	20	124	17	11 - 6
4	OPD	20	117	24	13 -11
5	OPH	20	121	19	12 - 7
6	OPI	20	104	18	10 - 8
7	OPJ	20	85	12	8 - 4
8	OPM	20	91	17	10 - 7
9	OPN	20	82	12	6 - 6
10	OPO	20	82	21	13 - 8
	Total	169	874	152	91 -61

tampak atau rata-rata 5.2 pita per primer. Pada tanaman kelapa ditunjukkan angka rata-rata sebesar delapan pita tampak per primer (4). Banyaknya pita DNA yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog dengan sekuens primer pada genom.

Pensekoran lokus marka

Primer dalam percobaan ini, sebanyak 19 jenis dipilih dari beberapa primer yang menghasilkan pita polimorfis. Dasar pemilihannya lebih kepada banyak dan ketajaman intensitas pita polimorfis yang tampak di tetua tenera. Pita-pita marka RAPD, sebanyak 24 lokus polimorfis yang dihasilkan oleh primer terpilih tersebut, juga disiapkan untuk konstruksi peta pautan genetik (14). Dari penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa komposisi lokus polimorfis dan monomorfis dari 19 primer terpilih adalah 35% dan 65%. Polimorfisme dipahami sebagai penemuan variasi lokus yang di wariskan, dan dihasilkan oleh beberapa peristiwa yang menghilangkan atau mengubah ukuran fragmen, seperti (i) insersi DNA berukuran besar pada dua situs penempelan primer sehingga ukuran basa atau jarak amplifikasi menjadi terlalu besar untuk dideteksi, (ii) delesi bagian genom yang membawa situs penempelan, (iii) substitusi nukleotida yang mengubah homologi antara primer dan DNA genom dan (iv) insersi atau delesi fragmen kecil DNA yang dapat mengubah ukuran fragmen yang diamplifikasi.

Persentase pita RAPD polimorfik pada beberapa penelitian keragaman genetik menunjukkan rata-rata tiap populasi sebesar 69% pada kelapa (4) dan 56% pada kelapa sawit (12). Faktor-faktor yang mungkin menyebabkan perbedaan ini adalah jumlah dan jenis dari primer dan populasi yang digunakan. Berdasarkan tipe populasi yang



Gambar 2. Profil pita RAPD dalam populasi percobaan hasil amplifikasi PCR menggunakan primer OPO-11

digunakan, Rajanaidu *dkk.* (12) menunjukkan selang persentase polimorfik, 8 – 94%, yang lebih lebar daripada Hayati *dkk.* (4), 62 – 76%.

Penggenotipan 70 pohon dari populasi percobaan dilakukan berdasarkan 24 lokus RAPD yang selalu muncul pada tetua bapak tenera dan tidak muncul pada tetua ibu dura. Lokus marka tersebut memiliki ukuran antara 315 dan 2000 bp dengan rataan 988±182 bp. Intensitas pita marka RAPD bervariasi antara rendah (OPO-16) sampai tinggi (OPO-20). Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi DNA genom dalam reaksi atau kemungkinan munculnya fragmen yang berkomigrasi. Banyaknya primer nukleotida yang menempel pada genom dan meningkatnya konsentrasi DNA genom dalam reaksi menyebabkan semakin banyak fragmen yang diamplifikasi di dalam genom, yang terlihat berupa semakin tajamnya intensitas pita yang dihasilkan.

Keragaman genetik

Keragaman genetik populasi biasa dianalisis melalui perhitungan frekuensi alelik, heterosigositas dan kemiripan (jarak) genetik antar individu. Penelusuran frekuensi alelik lebih sering diinterpretasikan dari marka alel yang berperilaku kodominan (8). Hal ini dikarenakan oleh kemudahan relatif dalam membedakan antara konstitusi individu heterosigot dan homosigot pada pita DNA yang muncul. Pemakaian marka yang berperilaku dominan seperti RAPD untuk menentukan frekuensi alelik umumnya sangat terbatas. Kesulitan akan muncul bila marka RAPD tidak diketahui pola pewarisannya. Untuk mengatasi hal tersebut, Clark dan Lanigan (1) menyusun penduga tak langsung melalui nilai koreksi terhadap frekuensi pita RAPD yang muncul berdasarkan frekuensi pita yang tidak muncul. Pada percobaan ini lokus pita RAPD yang digunakan untuk analisis populasi merupakan lokus yang dipelajari polimorfismenya pada kedua

tetua populasi dan pola pewarisan lokus. Pada kondisi demikian konstitusi heterosigositas lebih mudah dikenali secara langsung.

Bila dua tipe kelapa sawit yang muncul pada populasi percobaan dianggap sebagai contoh dari populasi yang berbeda, maka nilai heterosigositas gen masing-masing tipe dapat ditentukan. Pada Tabel 2 disajikan hasil pendugaan frekuensi alelik dan heterosigositas harapan (He) dan heterosigositas amatan (Ho) pada masing-masing lokus. Tabel menunjukkan bahwa simpangan terbesar diperoleh dari lokus yang diinterpretasikan sebagai heterosigot homogen, yaitu lokus N03_750 dan O06_812. Hasil perhitungan nilai F yang negatif menunjukkan kelebihan (*excess*) heterosigot sebagai akibat terjadinya reproduksi eksogami (2).

Pemakaian hanya lokus yang polimorfik dalam memperkirakan keragaman genetik tentu akan memberikan nilai dugaan yang lebih tinggi daripada sekaligus melibatkan lokus yang monomorfik dari primer yang sama. Pad a populasi yang berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg, heterosigositas harapan maksimum yang diperkirakan dari sistem lokus dua alel dicapai pada 0,50 yaitu bila $p_1 = p_2 = 0,50$. Pembedaan individu-individu pohon akan semakin efektif bila pita RAPD polimorfik yang digunakan terkait dengan beberapa sifat yang dikehendaki. Lebih jauh kondisi seperti ini lebih memudahkan dalam mengenali individu plasma nutfah harapan dan merakit varietas hibrida unggul.

Dengan anggapan bahwa tipe dura termasuk dalam populasi Deli dan tipe tenera sebagai populasi Afrika dalam arti luas, maka rerata heterosigositas harapan dura (0,370) yang lebih tinggi daripada tenera (0,319) menunjukkan konsistensinya dengan hasil penelitian sebelumnya menggunakan marka isoenzim (3). Di sisi lain, penelitian dengan AFLP yang menunjukkan bahwa heterosigositas populasi Deli lebih rendah daripada populasi Zaire (termasuk di dalamnya keturunan SP 540 T) (11) memiliki konsistensi dengan nilai heterosigositas amatan, yaitu Ho dura dan Ho tenera berturut-turut sebesar 0,631 dan 0,647. Perkawinan campuran negatif antara individu yang dilakukan oleh pemulia kelapa sawit dapat menyebabkan proporsi heterosigot populasi dura cenderung tinggi.

Dengan anggapan bahwa tipe dura termasuk dalam populasi Deli dan tipe tenera sebagai populasi Afrika dalam arti luas, maka rerata heterosigositas harapan dura (0,370) yang lebih tinggi daripada tenera (0,319) menunjukkan konsistensinya dengan hasil penelitian sebelumnya menggunakan marka isoenzim (3). Di sisi lain, penelitian dengan AFLP yang menunjukkan bahwa heterosigositas populasi Deli lebih rendah daripada populasi Zaire (termasuk di dalamnya keturunan SP 540 T) (11) memiliki konsistensi dengan nilai heterosigositas amatan, yaitu Ho dura dan Ho tenera berturut-turut sebesar 0,631 dan 0,647.

Perkawinan campuran negatif antara individu yang dilakukan oleh pemulia kelapa sawit dapat menyebabkan proporsi heterosigot populasi dura cenderung tinggi.

Tabel 2. Frekuensi alelik dan heterosigositas genetik marka RAPD pada setiap lokus

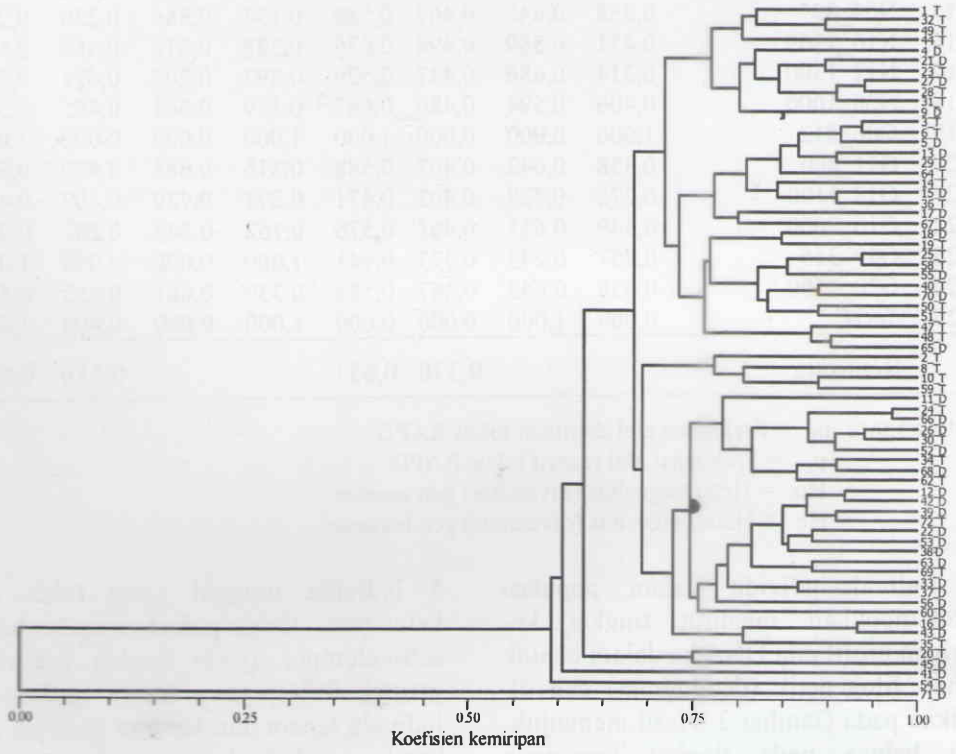
No	Lokus	Dura				Tenera			
		p_1	p_2	He	Ho	p_1	p_2	He	Ho
1	B07_1116	0,244	0,756	0,374	0,429	0,244	0,756	0,374	0,429
2	C02_500	0,252	0,748	0,383	0,441	0,339	0,661	0,455	0,563
3	C07_561	0,707	0,293	0,420	0,914	0,522	0,478	0,506	0,771
4	D03_405	0,391	0,609	0,483	0,629	0,138	0,862	0,242	0,257
5	D03_617	0,172	0,828	0,289	0,314	0,345	0,655	0,459	0,571
6	D05_1000	0,214	0,786	0,342	0,382	0,293	0,707	0,421	0,500
7	D05_1500	0,314	0,686	0,437	0,529	0,363	0,637	0,470	0,594
8	D16_530	0,391	0,609	0,483	0,629	0,465	0,535	0,505	0,714
9	D16_749	0,324	0,676	0,444	0,543	0,439	0,561	0,500	0,686
10	M04_1750	0,358	0,642	0,467	0,588	0,271	0,729	0,402	0,469
11	M20_1000	0,829	0,171	0,288	0,971	1,000	0,000	0,000	1,000
12	M20_1450	0,829	0,171	0,288	0,971	1,000	0,000	0,000	1,000
13	N03_750	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000
14	N09_735	0,580	0,420	0,494	0,824	0,605	0,395	0,486	0,844
15	N09_857	0,358	0,642	0,467	0,588	0,134	0,866	0,236	0,250
16	N10_1369	0,431	0,569	0,498	0,676	0,388	0,612	0,482	0,625
17	N12_1300	0,314	0,686	0,437	0,529	0,293	0,707	0,421	0,500
18	N20_1000	0,406	0,594	0,489	0,647	0,339	0,661	0,455	0,563
19	O06_812	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000
20	O11_800	0,358	0,642	0,467	0,588	0,315	0,685	0,439	0,531
21	O13_1100	0,272	0,728	0,402	0,471	0,271	0,729	0,402	0,469
22	O16_2000	0,349	0,651	0,461	0,576	0,152	0,848	0,262	0,281
23	O19_315	0,757	0,243	0,373	0,941	1,000	0,000	0,000	1,000
24	O20_1500	0,358	0,642	0,467	0,588	0,339	0,661	0,455	0,563
25	*ShOP*	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000
	Rata-rata			0,370	0,631			0,319	0,647

Keterangan: p_1 = Frekuensi alel dominan lokus RAPD
p_2 = Frekuensi alel resesif lokus RAPD
Ho = Heterosigositas (diversitas) gen amatan
He = Heterosigositas (diversitas) gen harapan

Individu-individu dalam populasi dikelompokkan menurut tingkat kemiripan profil pita DNA ke dalam bentuk pohon filogenetik (dendogram) dan disajikan pada Gambar 3. Hasil menunjukkan bahwa pada tingkat kemiripan genetik 75%, populasi percobaan dapat dikelompokkan menjadi 7 kelompok dan 5 individu tunggal yang tidak berkelompok. Kelompok I membentuk 2 sub-kelompok (pada tingkat kemiripan genetik 80%): yang hanya terdiri atas individu tenera dan lainnya tersusun dari kombinasi dura dan tenera pada nisbah 1:1. Kelompok II dan V cenderung tersusun dari dura dan tenera dalam

komposisi yang berimbang. Sedang kelompok III terdiri atas individu tenera yang dua kali lebih banyak daripada dura. Kelompok IV hanya terdiri atas individu tenera dan hal ini konsisten hingga tingkat kemiripan 70%. Akhirnya, kelompok VI dan VII bisa dinyatakan sebagai kelompok yang sebagian besar terdiri atas individu dura. Dem ikian pula, lima individu yang tidak berkelompok pada tingkat kemiripan genetik 75% juga ditunjukkan oleh tipe kelapa sawit dura. Kecenderungan pemisahan individu dura ini konsisten dengan nilai heterosigositas amatan dura yang lebih tinggi daripada tenera (Tabel 2). Dengan asu msi bahwa pada tingkat kesamaan 75% terjadi pemisahan karakter yang signifikan maka seleksi maupun koleksi plasma nutfah dapat ditingkatkan efisiensinya (penyusutan) hingga sekitar 70%.

Lebih jauh, pemahaman yang baik terhadap analisis bentuk dendogram ini akan menghantarkan pada studi evolusi genetik populasi untuk mengetahui perubahan gen alelik pada suatu populasi. Hal ini biasa dikerjakan dengan membandingkan tipe-tipe tanaman yang sama dari generasi sebelumnya dengan memakai marka alelik. Seperti diketahui bahwa dalam program seleksi RRS dan FIPS, setiap tetua dilakukan silang diri dan silang rekombinasi. Silang diri yang



Gambar 3. Dendogram kemiripan individu populasi pemetaan berdasarkan 24 lokus marka RAPD

lebih sering dilakukan dari generasi ke generasi memungkinkan terjadinya fiksasi gen sehingga mengarah pada genotipe yang lebih homosigot. Penyilangan individu dari dua atau lebih origin populasi yang memiliki homosigositas yang tinggi atau persilangan rekombinasi akan meningkatkan heterosigositas populasi. Perubahan gen alelik yang pada gilirannya akan mempersempit atau memperluas keragaman populasi juga dapat terjadi karena kegiatan seleksi yang dilakukan saat pembentukan populasi.

Karakterisasi keragaman genetik terhadap sumber plasma nutfah dapat persilangan yang lebih lengkap. Informasi molekuler diversitas dan jarak juga dapat membantu dalam pengkayaan (*enrichment*) basis genetik. Marka juga bermanfaat untuk mengevaluasi redundansi dan defisiensi khusus dalam bank plasma nutfah sehingga menghasilkan data yang efisien pada strategi koleksi, pemeliharaan dan pengelolaan. Data marka dapat digunakan untuk membangun koleksi inti (*core collection*) untuk meminimalkan jumlah pemeliharaan keturunan yang tidak perlu dalam bank plasma nutfah dan memudahkan akses pemulia terhadap bank ini. Di samping itu, karakterisasi molekuler akan membantu menseleksi pohon-pohon yang dapat digunakan sebagai ortet guna memperbanyak hibrida unggul atau plasma nutfah secara klonal. Manfa at marka semakin tinggi bila hubungan antara lokus marka dan karakter kuantitatif yang bernilai ekonomis telah dibangun dengan baik. Karenan ya penelitian ke arah tersebut menjadi penting di masa mendatang.

membantu pemulia menseleksi progenitor dari populasi dasar untuk menyusun program pemuliaan. Populasi dasar dibangun dengan persilangan individu atau galur unggul yang bertujuan memaksimumkan jarak genetik dengan demikian merekombinasi gen atau kompleks gen yang *coadapted* dalam kombinasi baru. Pada tahap ini sifat-sifat morfo-fisiologis biasanya dapat digunakan untuk membangun ukuran keragaman genetik. Kombinasi marka yang demikian memberikan gambaran pengelompokan genotipe dan rencana

KESIMPULAN

Heterosigositas dua kelompok tanaman kelapa sawit yaitu dura dan tenera dianalisis berdasarkan lokus RAPD yang pola pewarisannya dipelajari. Berdasarkan 24 lokus RAPD ditunjukkan bahwa rata-rata heterosigositas amatan dura (0,631) lebih rendah daripada tipe tenera (0,647). Simpangan keseimbangan Hardy-Weinberg yang dinyatakan sebagai koefisien *inbreeding* (F) menunjukkan nilai yang negatif atau disebut kelebihan (*excess*) heterosigot, yaitu sebesar – 0,713 pada populasi hasil persilangan tetua dura dan tenera. Mengikuti perhitungan koefisien kemiripan genetik Dice dan pengelompokan individu berhierarki dengan metode UPGMA, diketahui bahwa pada tingkat kemiripan genetik 75%, populasi percobaan bisa dikategorikan ke dalam 7 kelompok dan 5 individu tunggal yang tidak berkelompok. Beberapa kelompok tersusun hanya dari tipe dura dan/atau tenera, dan

sisanya merupakan kelompok campuran antara dura dan tenera dalam komposisi yang berimbang. Lima individu yang tidak berkelompok ditunjukkan oleh tipe kelapa sawit dura. Pada tingkat kemiripan genetik seperti ini, untuk tujuan koleksi in situ populasi dapat disusutkan hingga 70%. Lebih lanjut, metode konstruksi dendogram diversitas genetik menggunakan marka molekuler akan menarik bila diterapkan untuk studi evolusi genetik populasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. CLARK, A.G. and C.M.S. LANIGAN. 1993. Prospects for estimating nucleotide divergence with RAPDs. Molec. Biol. Evol. 10: 1096-1111.
2. GONZALEZ-CANDELAS, F. and C. PALACIOS. 1994. An alyzing molecular data for studies of genetic diversity. Analysis of molecular marker data. Joint Plant Breeding Symposia Series 5-6 August. ASHC, CSSA, Corvalis, Oregon. pp : 55-81.
3. GHEQUIÈRE, M. 1984. P olymorph-isme enzymatique chez le palmier à hüile. I. Controle genetique de neuf systemes enzymatiques. Oleagineux 39 : 561-574.
4. HAYATI, P.K.D., A. HARTANA, SUHARSONO dan H. ASWI-DINNOOR. 2000. Keanekara-gaman genetika kelapa 'Genjah Jombang' berdasarkan random amplified polymorphic DNA. Hayati 7 : 35-40.
5. JALANI, B.S. 1998. Oil palm research and development in Malaysia: progress and trends. The Planter 74: 73-92.
6. MARQUARD, R.D., E.P. DAVIS and E.L. STOWE. 1997. Genetic diversity among witchhazel cultivars based on randomly amplified polymorphic DNA markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122: 529-535.
7. MORETZSOHN, M.C., C.D.M. NUNES, M.E. FERREIRA and D. GRATTAPAGLIA. 2000. RAPD linkage mapping of the shell thickness locus in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor. Appl. Genet. 100: 63-70.
8. NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89 : 583-590.
9. NEI, M. and W. LI. 1979. Mathe-matical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76 : 5269-5273.
10. OTT, J. 1991. Analysis of human genetic linkage. Revised edition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London. 325 p.
11. PURBA, A.R., J.L. NOYER, L. BAUDOUIN, X. PERRIER, S. HAMON and P.J.L. LAGODA. 2000. A new aspe ct of genetic diversity of Indonesian oil palm (*Elaeis guineesis* Jacq.) revealed by isoenzyme and AFLP markers and its consequences for breeding. Theor. Appl. Genet. 101 : 956-961.
12. RAJANAIDU, N., I. MAIZURA and S.C. CHEAH. 2000. Screening of oil palm natural populations using RAPD and RFLP molecular markers. Intl. Symposium on Oil Palm Genetic Resources and Utilization. pp: AA1-AA28.
13. ROHLF, F.J. 1998. NTSYSpc Nu-merical taxonomy and multi-variate analysis system. User guide. Applied Bio-statistics Inc., New York.
14. SETIYO, I.E., SUDARSONO dan D. ASMONO. 2000. Pemetaan awal pautan marka RAPD pada pohon elit kelapa sawit tenera. J. Penelitian Kelapa Sawit, 8: 1-22.
15. WAUGH, R. 1997. RAP D analysis: use for genome characterization, tagging traits and mapping. p: 305-333. In M.S. Clark (ed.). Plant Molecular Biology – A Laboratory Manual. Ch apter 6. Springer-Verlag, Berlin- Heidelberg.