

DIVERSITAS GENETIK PLASMA NUTFAH KELAPA SAWIT TENERA ORIGIN BINGA

Yurna Yenni, Lalu Firman Budiman, Jayusman¹, dan Dwi Asmono

ABSTRAK

Evaluasi keragaman genetik dilakukan pada plasma nutfah kelapa sawit populasi Binga. Pola pita hasil Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) digunakan untuk mempelajari keragaman genetik 24 individu dari 12 famili pada populasi tersebut. Sejumlah 21 primer digunakan dalam proses RAPD, yaitu OPR-11, OPG-01, OPG-05, OPD-03, OPD-05, OPD-15, OPH-02, OPH-09, OPM-04, OPM-16, OPM-20, OPN-03, OPN-10, OPN-12, OPN-20, OPO-06, OPO-11, OPO-13, OPO-16, OPO-19, dan OPO-20. Kesamaan genetik antar individu di dalam populasi diduga berdasarkan data RAPD dengan menggunakan koefisien Dice. Eksplorasi data lebih lanjut dilakukan dengan analisis gerombol (cluster) dengan metode Unweighted Pair-Group Method Arithmetic (UPGMA). Seluruh analisis data dibantu program Numerical Taxonomy System (NTS) versi 2.02. Dendrogram pada nilai kesamaan genetik 36% menghasilkan lima kelompok.

Kata kunci: kelapa sawit, keragaman genetik, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

ABSTRACT

Evaluation on morphologic-agronomic characters and genetic diversity was done on Binga oil palm population. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) was used to generate data for genetic diversity analysis of 24 palms derived from 12 families within Binga population. A total of 21 primers was used for RAPD analysis: OPR-11, OPG-01, OPG-05, OPD-03, OPD-05, OPD-15, OPH-02, OPH-09, OPM-04, OPM-16, OPM-20, OPN-03, OPN-10, OPN-12, OPN-20, OPO-06, OPO-11, OPO-13, OPO-16, OPO-19, and OPO-20. Genetic similarity between palms within population was calculated from RAPD data as Dice coefficient. Further data exploration was done by cluster analysis with Unweighted Pair-Group Method Arithmetic (UPGMA) method. All data analysis was facilitated by Numerical Taxonomy System (NTS) program version 2.02. Evaluation on morphologic-agronomic characters indicated good performances of some families within Binga population. Among others, family 1673 has slow plant growth increment, 49 cm year. Family 1670 has high fresh fruit bunch weight, high bunch number, and high kernel content (greater than 10%). Families 1677 and 1680 have oil content greater than 26 %. Cluster analysis indicated

¹ Mahasiswa Pasca Sarjana Bidang Agronomi, USU - Sumatera Utara

that families within Binga population fitted into five group at genetic similarity value 36%.

Key words: *Oil palm, genetic diversity, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*

PENDAHULUAN

Kelapa sawit sebagai salah satu sumber minyak nabati utama memiliki nilai ekonomi yang sangat tinggi. Hal tersebut terkait dengan keunggulan kelapa sawit dibandingkan dengan sumber minyak nabati lainnya dalam hal produktivitas per satuan luas. Keunggulan tersebut tidak terlepas dari keberadaan benih kelapa sawit unggul yang didukung oleh ketersediaan keragaman genetik plasma nutfah, maupun informasi genetiknya serta program pemuliaan kelapa sawit yang terarah dan berkesinambungan. Program pemuliaan dalam rangka perbaikan genetik akan sangat tergantung pada sumber keragaman genetik yang dimiliki (1). Menyadari keterbatasan sumberdaya genetik yang sempit pada kelapa sawit, Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) melakukan introduksi plasma nutfah kelapa sawit yang berasal dari Binga, Zaire, pada tahun 1987. Hingga saat ini informasi mengenai karakteristik morfologi agronomi dan keragaman genetik yang dimiliki oleh plasma nutfah ini masih sangat minim. Untuk itu telah dilakukan penelitian terhadap karakteristik morfologi dan agronomi, serta analisis keragaman genetik plasma nutfah origin Binga berbasis informasi DNA. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang diperlukan bagi peningkatan daya guna plasma nutfah di masa yang akan datang.

BAHAN DAN METODE

Analisis RAPD

Analisis RAPD dilakukan pada 24 individu yang berasal dari 12 famili pada populasi Binga. Seleksi dan pengambilan sampel daun kelapa sawit populasi Binga dilakukan di Kebun Percobaan PPKS, Aek Pancur, Sumatera Utara. Analisis *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) pada populasi Binga dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai penelitian Marihat, Pusat Penelitian Kelapa Sawit.

Sebanyak 21 primer digunakan dalam analisis RAPD yaitu OPR-11, OPG-01, OPG-05, OPD-03, OPD-05, OPD-15, OPH-02, OPH-09, OPM-04, OPM-16, OPM-20, OPN-03, OPN-10, OPN-12, OPN-20, OPO-06, OPO-11, OPO-13, OPO-16, OPO-19, dan OPO-20. Penyiapan sampel analisis berupa daun tombak yang dikumpulkan dari pohon terpilih yang mewakili populasi plasma nutfah *E. guineensis*. Pengambilan sampel daun dan pre-treatment daun kelapa sawit dengan memasukkan sampel daun pada larutan buffer ekstrak dengan penambahan merkaptioethanol 2%. Sebanyak 0.3 g daun digerus sampai halus di dalam mortar dengan penambahan nitrogen cair. Selanjutnya dari serbuk halus tersebut, DNA diekstrak dengan menggunakan buffer ekstrak yang telah dipanaskan. Campuran dikocok selama 5 menit lalu

diinkubasi selama 30 menit pada suhu 65°C (2, 8, 9).

Kemurnian dan konsentrasi DNA ditetapkan dengan dua cara, yaitu menggunakan spektrofotometer UV dan elektroforesis agarose. Larutan DNA contoh dipipet sebanyak 50 µl, kemudian diencerkan dengan aquades menjadi 3 ml. Absorban diukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Pembacaan absorbansi = 1 berarti konsentrasi DNA adalah 50 g/ml dan dianggap sebagai factor konversi. Tingkat kemurnian DNA yang diukur dengan spektrofotometer UV dan ditetapkan berdasarkan nilai perbandingan A260 dengan A280 yaitu sekitar 1.8-2.0. Disamping itu, juga dilakukan penetapan konsentrasi DNA contoh dengan elektroforesis agarose. Sebagai standar digunakan DNA yang telah diketahui konsentrasinya. Kualitas DNA diuji dengan menggunakan enzim restriksi *EcoRI*, dan diikuti elektroforesis dengan 0.8% (b/v) agarose. Elektroforesis dilakukan pada kondisi voltase konstan (50V) selama 80 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transiluminator (312 nm) dan didokumentasikan dengan menggunakan film Polaroid 667.

Analisis keragaman genetik

Pita hasil analisis RAPD yang polimorfik digunakan untuk menganalisis kemiripan genetik antar individu dalam populasi (4,6). Data bina berbentuk matriks antara individu tanaman kelapa sawit yang diperoleh

dari analisis RAPD digunakan untuk menghitung nilai kemiripan genetik antara individu tanaman berdasarkan koefisien Dice (7). Analisis gerombol (*cluster*) menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA). Seluruh analisis data dibantu program NTSys versi 2.10.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Genetik Populasi Origin Binga

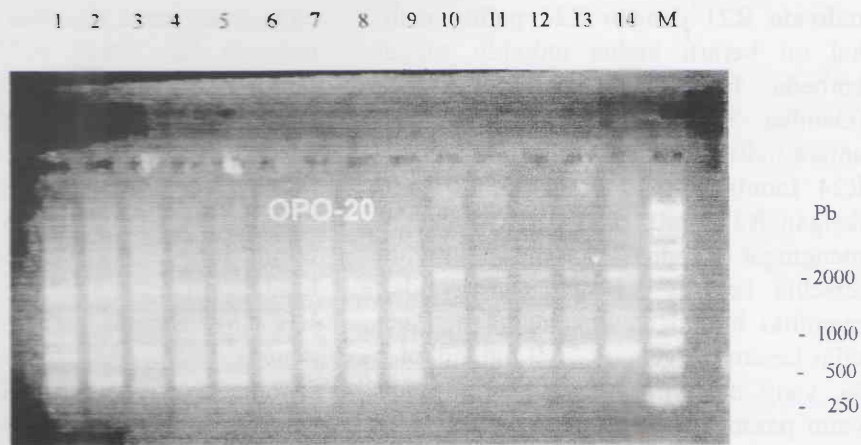
Primer yang digunakan untuk analisis RAPD merupakan hasil penapisan 163 primer yang sebelumnya telah diuji, meskipun terjadi sedikit perbedaan tingkat polimorfisme yang dihasilkan dengan penelitian ini (3). Berdasarkan hasil pengujian tersebut, dipilih 21 primer untuk digunakan dalam penelitian ini. Pengamatan terhadap profil pita RAPD menunjukkan bahwa semua primer mampu mengamplifikasi DNA 24 individu kelapa sawit pada populasi Binga, dengan jumlah pita DNA hasil amplifikasi setiap primer berkisar 1 – 6 atau rerata menghasilkan 3 pita setiap primer. Pita DNA hasil amplifikasi yang diperoleh berukuran antara 200 – 2250 Pb (Tabel 1; Gambar 1). Perbedaan profil pita DNA, baik jumlah maupun ukuran pita, sangat berperan dalam menentukan tingkat diversitas populasi kelapa sawit. Semakin banyak pita DNA yang polimorfik akan lebih menggambarkan genom tanaman.

Tabel 1. Jenis primer dan jumlah pita polimorfisme hasil amplifikasi DNA pada populasi Binga

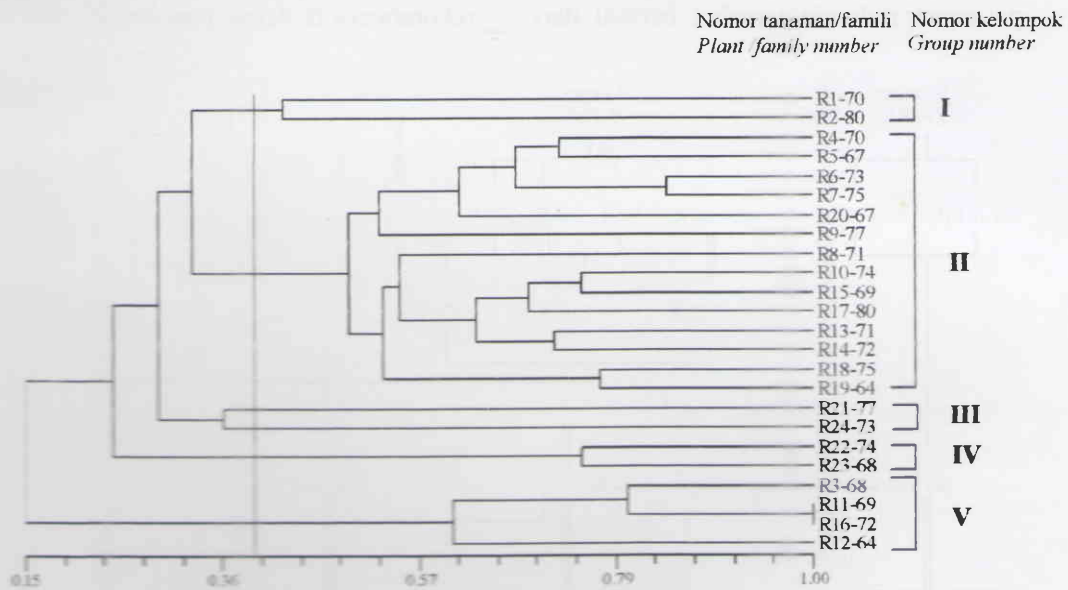
No.	Primer	Susunan Oligonukleotida	Total pita	Pita Polimorfisme
1	OPD-03	GTCGCCGTCA	4	1
2	OPD-05	TGAGCGGACA	4	1
3	OPD-15	CATCCGTGCT	3	1
4	OPH-02	TCGGACGTGA	1	1
5	OPH-09	TGTAGCTGGG	5	3
6	OPM-04	GGCGGTTGTC	4	2
7	OPM-16	GTAACCAGCC	4	2
8	OPM-20	AGGTCTTGGG	4	2
9	OPR-11	GTAGCCGTCT	3	1
10	OPN-03	GGTACTCCCC	2	1
11	OPN-10	ACAACGGGG	2	1
12	OPN-13	AGCTGCACTC	5	1
13	OPN-20	GGTGCTCCGT	3	1
14	OPO-01	GGCACGTAAG	2	1
15	OPO-06	TCGGCGGTTC	6	1
16	OPO-13	GTCAGAGTCC	4	1
17	OPO-16	TCGGCGGTTC	2	1
18	OPO-19	GGTGACGTT	3	1
19	OPO-20	ACACACGCTG	5	1
20	OPJ-01	CCCGGCATAA	1	1
21	OPJ-05	CTCCATGGGG	3	1
Total			70	26

Dendogram (Gambar 2) merupakan pengelompokan berdasarkan UPGMA sehingga dapat dicari hubungan kekerabatan antara tanaman yang satu dengan lainnya berdasarkan jarak genetik terkecil. Berdasarkan dendogram, populasi Binga diketahui memiliki kesamaan genetik antara 36.4 hingga 100% (Gambar 2). Nilai kesamaan genetik yang rendah diperlihatkan oleh kelompok III dan kelompok I yaitu antara pasangan individu R21 famili

1677 dengan R24 famili 1673 (36.4%) dan individu R1 famili 1670 dengan individu R2 famili 1680 (42.8%). Sedangkan nilai tertinggi (100%) ditunjukkan oleh pasangan individu R11 famili 1669 dengan R16 famili 1672 yang merupakan sub kelompok dari kelompok V. Matrik kesamaan genetik dihitung berdasarkan jarak genetik antara tanaman yang satu dengan tanaman lainnya (5) disajikan pada Lampiran 1. Nilai 36.4 % berarti jarak genetik antara



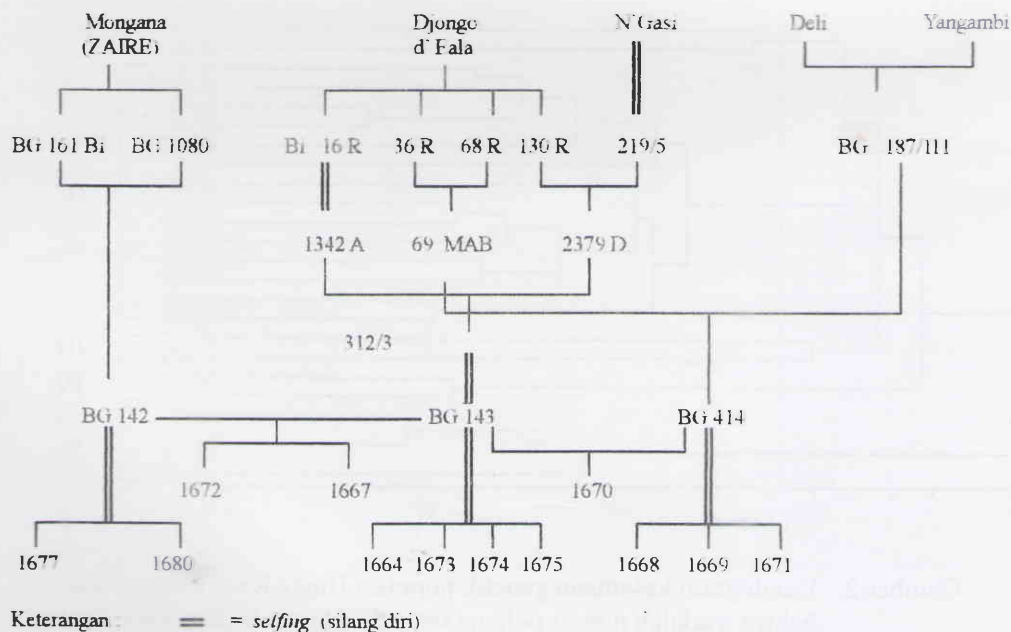
Gambar 1. Profil pita DNA 14 individu kelapa sawit populasi Binga hasil amplifikasi dengan menggunakan primer OPO-20 (sebagai ilustrasi). M.1 Kb DNA Ladder



Gambar 2. Dendrogram kesamaan genetik populasi Binga Rx-y menunjukkan bahwa x adalah nomor pohon (sampel) dan y adalah nomor famili

individu R21 dengan R24 paling jauh, hal ini berarti kedua individu sangat berbeda. Bila dilihat dari silsilahnya (Gambar 3), jarak genetik yang jauh antara individu R21 famili 1677 dengan R24 famili 1673 dan R1 famili 1670 dengan R2 famili 1680 dapat dipahami mengingat kedua pasang individu tersebut berasal dari tetua yang tidak memiliki hubungan kekeluargaan. Pada nilai kesamaan genetik 76.9 hingga 84.2 %, yang diwakili 3 pasangan individu yaitu pasangan individu R6 famili 1673 dengan R7 famili 1675 (84.2%), R18 famili 1675 dengan R19 famili 1664 (76.9%), dan R3 famili 1668 dengan R11 famili 1669 (80%), individu yang berpasangan memiliki jarak genetik yang dekat. Berdasarkan silsilahnya, antar pasangan individu tersebut berasal dari

tetua yang sama (Gambar 3). Pasangan individu R6 famili 1673 dengan R7 famili 1675 dan R18 famili 1675 dengan R19 famili 1664 merupakan keturunan dari hasil persilangan sendiri (*selfing*) famili BG 143. Sedangkan pasangan individu R3 famili 1668 dengan R11 famili 1669 merupakan keturunan dari hasil persilangan sendiri (*selfing*) famili BG 414. Namun pada nilai kesamaan genetik 49% (kelompok II) terdapat fenomena yang cukup unik yaitu hampir seluruh famili yang diwakili oleh 1 hingga 2 individu, kecuali famili 1668, mampu membentuk satu kelompok besar. Diduga hal tersebut disebabkan karena faktor masih dininya seleksi yang dilakukan terhadap populasi tersebut dan juga akibat adanya pengaruh persilangan rekombinasi di dalam populasi Binga.



Gambar 3. Silsilah (*Pedigree*) Populasi Binga

KESIMPULAN

Beberapa famili origin Binga memiliki potensi yang cukup baik untuk dikembangkan. Famili 1673 memiliki keunggulan dalam karakter laju pertumbuhan yang lambat, sedangkan famili 1670 memiliki keunggulan dalam hal rerata bobot tandan yang tinggi, jumlah tandan yang banyak dan kandungan inti yang cukup tinggi diatas 10 %. Famili 1677 dan 1680 memiliki karakter kandungan mesokarp per buah, minyak per mesokarp, dan minyak per tandan yang cukup baik. Sedangkan famili BG 1669 dan BG 1670 memiliki keunggulan dalam hal karakter bobot tandan dan jumlah tandan yang tinggi.

Ditinjau dari keragaman genetiknya, populasi Binga memiliki perbedaan genetik yang cukup tinggi. Dendogram pada nilai kesamaan genetik 36% menghasilkan lima kelompok. Nilai kesamaan genetik yang rendah diperhatikan oleh kelompok III dan kelompok I yaitu antara pasangan individu R21 famili 1677 dengan R24 famili 1673 (36.4%) dan individu R1 famili 1670 dengan individu R2 famili 1680 (42.8%). Sedangkan nilai tertinggi (100%) ditunjukkan oleh pasangan individu R11 famili 1669 dengan R16 famili 1672. Pada nilai kesamaan genetik 76.9 hingga 84.2 %, individu yang berada dalam satu kelompok berasal dari tetua yang sama. Sedangkan pada nilai kesamaan genetik 49%, seluruh famili yang diwakili oleh 1 hingga 2 individu, kecuali famili 1668, mampu membentuk satu kelompok besar.

DAFTAR PUSTAKA

1. ASMONO D., A.R. PURBA and K. PAMIN. 1998. Current Assessment of IOPRI Oil Palm Improvement After The Second Generation of Reciprocal Recurrent Selection. 1998 International Oil Palm Conf. Nusa Dua Bali. Pp.564-572.
2. 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 Testcross. Konsep dan hasil Pendahuluan Simposium Plasma Nutfah dan Pemuliaan. Bogor 22-23 Agustus 2000.
3. ASMONO, D., N. TORUAN-MATHIUS, SUBRANTO, D.P. KOMALANING-TYAS dan SUBARJO. 2002. Pemetaan Genom Pengendali Produktivitas Minyak pada Kelapa Sawit. Laporan Riset Unggulan Terpadu VII Bidang Bioteknologi. Kementerian Riset dan Teknologi. RI. Lembaga Ilmu pengetahuan Indonesia. 12.
4. CLARK, A.G. and C.M.S. LANIGAN. 1993. Prospecting for Estimating Nucleotide Divergens with RAPDs. *Molec Biol Evol* 10:1096-1111.
5. DUNN, G. and B.S. EVERITT. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. Cambridge Univ. Press. Cambridge. 152 p.
6. NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. 522 p.
7. NEI, M. and WHILL. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases. *Proc. Natl Acad Sci. USA* 76:5269-5273.
8. OROZCO-CASTILLO, K.J., CHALMERS, R. WAUGH and W. POWELL. 1994. Detection of Genetic Diversity and Selective Gene Introgression in Coffee using RAPD Markers. *Theor Appl Genet* 87: 934-940.
9. TORUAN-MATHIUS, N., T. HUTABARAT and T. SUNDARI. 1996. Pengaruh Pengemasan dan Penyimpanan Terhadap DNA daun Tanaman Perkebunan untuk Analisis RAPD. *Menara Perkebunan* 64: 3-12.

30

KESIMPULAN

Beberapa famili origin Binga memiliki potensi yang cukup baik untuk dikembangkan. Famili 1673 memiliki keunggulan dalam karakter laju pertumbuhan yang lambat, sedangkan famili 1670 memiliki keunggulan dalam hal rerata bobot tandan yang tinggi, jumlah tandan yang banyak dan kandungan inti yang cukup tinggi diatas 10 %. Famili 1677 dan 1680 memiliki karakter kandungan mesokarp per buah, minyak per mesokarp, dan minyak per tandan yang cukup baik. Sedangkan famili BG 1669 dan BG 1670 memiliki keunggulan dalam hal karakter bobot tandan dan jumlah tandan yang tinggi.

Ditinjau dari keragaman genetiknya, populasi Binga memiliki perbedaan genetik yang cukup tinggi. Dendrogram pada nilai kesamaan genetik 36% menghasilkan lima kelompok. Nilai kesamaan genetik yang rendah diperhatikan oleh kelompok III dan kelompok I yaitu antara pasangan individu R21 famili 1677 dengan R24 famili 1673 (36.4%) dan individu R1 famili 1670 dengan individu R2 famili 1680 (42.8%). Sedangkan nilai tertinggi (100%) ditunjukkan oleh pasangan individu R11 famili 1669 dengan R16 famili 1672. Pada nilai kesamaan genetik 76.9 hingga 84.2 %, individu yang berada dalam satu kelompok berasal dari tetua yang sama. Sedangkan pada nilai kesamaan genetik 49%, seluruh famili yang diwakili oleh 1 hingga 2 individu, kecuali famili 1668, mampu membentuk satu kelompok besar.

DAFTAR PUSTAKA

1. ASMONO D., A.R. PURBA and K. PAMIN. 1998. Current Assessment of IOPRI Oil Palm Improvement After The Second Generation of Reciprocal Recurrent Selection. 1998 International Oil Palm Conf. Nusa Dua Bali. Pp 564-572.
2. ASMONO D., N. TORUAN-MATHIUS, IE SETIYO dan E. SUPRIYANTO. 2000. Pemetaan Pautan Genetik Pada Kelapa sawit Dengan menggunakan Marka RAPD dan Strategi Pseudo Testcross. Konsep dan hasil Pendahuluan Simposium Plasma Nutfah dan Pemuliaan. Bogor 22-23 Agustus 2000.
3. ASMONO, D., N. TORUAN-MATHIUS, SUBRANTO, D.P. KOMALANING-TYAS dan SUBARJO. 2002. Pemetaan Genom Pengendali Produktivitas Minyak pada Kelapa Sawit. Laporan Riset Unggulan Terpadu VII Bidang Bioteknologi. Kementerian Riset dan Teknologi. RI. Lembaga Ilmu pengetahuan Indonesia. 12.
4. CLARK, A.G. and C.M.S. LANIGAN. 1993. Prospecting for Estimating Nucleotide Divergens with RAPDs. *Molec Biol Evol* 10:1096-1111.
5. DUNN, G. and B.S. EVERITT. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. Cambridge Univ. Press. Cambridge. 152 p.
6. NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. 522 p.
7. NEI, M. and W.H. LI. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Term of Restriction Endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:5269-5273.
8. OROZCO-CASTILLO, K.J., CHALMERS, R. WAUGH and W. POWELL. 1994. Detection of Genetic Diversity and Selective Gene Introgression in Coffee using RAPD Markers. *Theor. Appl. Genet.* 87: 934-940.
9. TORUAN-MATHIUS, N., T. HUTABARAT and T. SUNDARI. 1996. Pengaruh Pengemasan dan Penyimpanan Terhadap DNA daun Tanaman Perkebunan untuk Analisis RAPD. *Menara Perkebunan* 64. 3-12.