

# PEMANFAATAN TEKNOLOGI GENOMIKA DAN TRANSFORMASI GENETIK UNTUK MENINGKATKAN PRODUKTIVITAS KELAPA SAWIT

## *The Use of Genomic and Genetic Transformation Technologies for Oil Palm Productivity Improvement*

I MADE TASMA

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian  
*Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development*  
Jalan Tentara Pelajar 3A Bogor 16111- Indonesia  
e-mail: [imade.tasma@gmail.com](mailto:imade.tasma@gmail.com).

### ABSTRAK

Salah satu kendala budidaya kelapa sawit adalah rendahnya produktivitas dengan rata-rata nasional 4 ton minyak/ha/tahun jauh dari potensinya yang dapat mencapai 18,5 ton minyak/ha/tahun. Pemuliaan kelapa sawit secara konvensional sangat lambat dan perlu waktu panjang. Diperlukan 10-12 tahun hanya untuk menyelesaikan satu siklus pemuliaan. Aplikasi teknologi genomika melalui pemuliaan berbantuan marka dan rekayasa genetika mempercepat siklus pemuliaan, mengurangi luas lahan untuk uji daya hasil, dan mempercepat pelepasan varietas unggul kelapa sawit. Tujuan dari tulisan ini untuk mengulas pemanfaatan teknologi genomika dan transformasi genetik untuk perbaikan produktivitas kelapa sawit dan potensi aplikasinya untuk perbaikan produktivitas kelapa sawit di Indonesia. Teknologi genomika telah menghasilkan peta genom acuan dua spesies kelapa sawit (*Elaeis guineensis* dan *Elaeis oleifera*) yang menghasilkan gen *Shell (Sh)* yang mengendalikan heterosis hasil minyak, ditemukan mekanisme terbentuknya buah mantel, dan sebagai fondasi untuk penemuan gen-gen unggul dan pengembangan marka molekuler kapasitas tinggi yang mengakselerasi program pemuliaan kelapa sawit. Pemanfaatan marka gen *Sh* dan kit pendeteksi bibit penghasil buah mantel mempercepat siklus pemuliaan kelapa sawit dan sarana seleksi bibit tenera unggul untuk menjamin peningkatan produktivitas kelapa sawit. Perbanyakkan individu tanaman unggul terpilih dengan teknik kultur *in vitro* menjamin penggunaan bibit yang seragam di lapang. Teknologi rekayasa genetika potensial digunakan untuk perbaikan bahan tanaman kelapa sawit dengan kualitas dan gizi minyak tinggi serta produk kelapa sawit yang dapat digunakan sebagai bioplastik. Resekuensing tiga genotipe kelapa sawit

Indonesia menghasilkan jutaan variasi genom sebagai sumberdaya pemuliaan bernilai tinggi untuk percepatan program pemuliaan kelapa sawit nasional. Teknologi genomika dan rekayasa genetika sangat potensial diaplikasikan di Indonesia mendukung program perbaikan produktivitas dan mutu minyak kelapa sawit nasional.

Kata kunci: Kelapa sawit, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, genomika, marka DNA, transformasi genetik, seleksi berbantuan marka.

### ABSTRACT

One of the main constraints oil palm cultivation in Indonesia is the low productivity with national yield average of 4 ton oil/ha/year much lower than the yield potential of up to 18.5 ton oil/ha/year. Conventional breeding method is a slow process and time consuming. It takes 10-12 years just to complete a breeding cycle. Applying genomic together with DNA transformation methods should expedite oil palm breeding program. The objective of this manuscript was to review the application of genomic and DNA transformation technologies to improve oil palm productivity and its potential use for yield improvement program in Indonesia. Genomic technology has resulted reference genome sequence map of two oil palm species (*E. guineensis* and *E. oleifera*) that resulted the isolation of *Sh* gene controlling oil yield heterosis, discovery of mantled fruit mechanism, and as a foundation for superior gene and trait-associated marker discoveries to accelerate oil palm breeding program. The use of *Sh* gene markers together with mantled fruit detection kit at early stages of plant development accelerates oil palm breeding

cycle and facilitates mantled seedling detection to guarantee productivity improvement. Multiplication of superior individual plants using *in vitro* culture should guaranty plantation high productivity in the field. Genetic engineering technique is potentially applied to improve palm oil quality and nutrition content as well as developing products useful for producing bioplastics. Resequencing studies of three Indonesian oil palm genotypes resulted millions of genomic variations (SNPs and Indels) important for high valued breeding resources to accelerate national oil palm breeding programs. Genomic as well as DNA transformation technologies are potentially applied in Indonesia to support national oil palm productivity and oil quality improvement programs.

Key words: Oil palm, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, genomics, DNA marker, genetic transformation, marker-assisted selection.

## PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman penghasil minyak nabati yang paling produktif di dunia apabila dibandingkan dengan jenis tanaman penghasil minyak nabati lainnya seperti kanola, kelapa, kedelai, dan bunga matahari. Walaupun kelapa sawit hanya ditanam pada areal sekitar 5% dari total areal tanaman penghasil minyak nabati dunia, tetapi kelapa sawit mampu menghasilkan sekitar 33% dari total produksi minyak nabati dunia dan menghasilkan sekitar 45% dari total produksi minyak makan dunia (Singh *et al.*, 2013b; Pootakham *et al.*, 2015).

Produktivitas minyak tanaman kelapa sawit per satuan luas lahan 3-8 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak nabati lainnya. Pada tahun 2012, misalnya sebanyak 56,2 juta ton minyak kelapa sawit dihasilkan oleh lahan hanya seluas 17,24 juta ha. Pada tahun yang sama, pertanaman kanola seluas 36,4 juta ha hanya mampu menghasilkan minyak kanola 23,6 juta ton (Singh *et al.*, 2013b; Barcelos *et al.*, 2015). Dengan demikian kelapa sawit diharapkan mampu memenuhi pertumbuhan permintaan minyak nabati dunia dalam jumlah besar dengan volume permintaan yang diperkirakan mencapai 240 juta ton minyak nabati pada tahun 2050 (Corley, 2009).

Produktivitas kelapa sawit rata-rata dunia saat ini hanya sekitar 3,5 ton minyak/ha/tahun, jauh dari potensinya yang diestimasi dapat mencapai 18,5 ton minyak/ha/tahun dengan mempertimbangkan semua atribut fisiologi optimal (Corley, 1998). Potensi hasil tersebut di atas adalah sekitar dua kali lipat dari produktivitas varietas kelapa sawit terbaik yang tersedia di pasar benih kelapa sawit saat ini. Produktivitas kelapa sawit yang luar biasa tinggi (12-13 ton minyak/ha/tahun) dapat diantisipasi apabila individu-individu tanaman penghasil tinggi tersebut dapat diperbanyak secara masal dengan teknik klonal yang handal tanpa menghasilkan buah abnormal (Sharma dan Tan, 1997; Ting *et al.*, 2013). Namun perbanyak klonal menggunakan metode *somatic embryogenesis* (SE) masih menghadapi kendala lamanya proses untuk menghasilkan bibit klonal kelapa sawit SE dan munculnya buah abnormal (buah mantel) yang merugikan petani pekebun (Ong-Abdullah *et al.*, 2015).

Peta genom rujukan dua spesies kelapa sawit (Singh *et al.*, 2013a; Jin *et al.*, 2016), yaitu spesies asal Afrika (*E. guineensis*) dan kelapa sawit asal Amerika (*E. oleifera*) merupakan modal utama untuk menemukan gen-gen unggul mendukung perbaikan varietas unggul produktivitas tinggi melalui aplikasi pemuliaan berdasarkan *marker-assisted selection* (MAS) menggunakan materi genetik dari aksesori-aksesori kedua spesies kelapa sawit (*E. guineensis* dan *E. oleifera*) serta teknologi rekayasa genetika untuk perbaikan varietas kelapa sawit untuk ketahanan penyakit utama dan kualitas minyak yang lebih sehat dan bernilai gizi tinggi untuk dikonsumsi manusia. Dengan teknologi genomika dan transformasi genetik, ketimpangan daya hasil yang dicapai saat ini (4 ton/ha) dan potensi hasil (18,5 ton/ha) dapat dipersempit (Seng *et al.*, 2011; Jin *et al.*, 2016).

Tujuan dari tulisan ini untuk mengulas status teknologi genomika dan aplikasinya pada pemuliaan kelapa sawit dimulai dari diselesaikannya sekuen genom acuan dua spesies kelapa sawit, penemuan gen penyandi produksi minyak (*Sh*), mekanisme terjadinya buah mantel, pemetaan gen-gen penting, deteksi dan pemanfaatan karakter unggul dari spesies

kerabat liar (*E. oleifera*), teknik regenerasi *in vitro*, dan pemanfaatan teknologi transformasi genetik untuk perbaikan produktivitas dan mutu dan gizi minyak kelapa sawit. Tujuan lainnya adalah untuk menganalisis potensi pemanfaatan teknologi genomika untuk digunakan pada program perbaikan produktivitas pertanaman kelapa sawit di Indonesia.

### TIGA TIPE KELAPA SAWIT

Genus *Elaeis* termasuk famili Arecaceae, merupakan salah satu famili tanaman berbunga (*flowering plants*) tertua di dunia (Purseglove, 1972). Genus *Elaeis* terdiri dari dua spesies yaitu *E. guineensis* yang berasal dari Afrika Barat dan *E. oleifera* yang berasal dari Amerika Tengah dan Amerika Selatan (Zeven, 1965; Meunier dan Boutin, 1975; Cochard *et al.*, 2005). *E. guineensis* tipe tenera mempunyai kandungan minyak tinggi sehingga spesies ini telah lama digunakan dalam industri perkebunan kelapa sawit di dunia. *E. oleifera* dipihak lain memiliki kandungan asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*) lebih tinggi, kaya vitamin A dan vitamin E, tanamannya lebih pendek dan tahan serangan penyakit penting (Cochard *et al.*, 2005; Barcelos *et al.*, 2015). Kedua spesies dapat disilangkan untuk menghasilkan biji fertil (Hardon dan Tan, 1969; Tandon *et al.*, 2001).

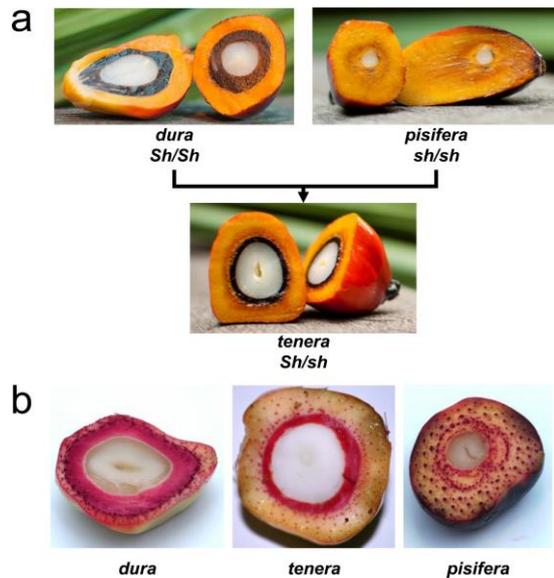
Tanaman kelapa sawit pertama kali dibawa ke Indonesia dari Afrika Barat melalui Mauritius dan Amsterdam pada tahun 1884 (Corley dan Tinker, 2003) ketika empat tanaman kelapa sawit ditanam di Kebun Raya Bogor sebagai tanaman hias. Industri perkebunan kelapa sawit dimulai pada awal abad ke 20 (sekitar 1920) dan walaupun tanaman memiliki siklus pemuliaan yang panjang (10-12 tahun), memerlukan areal luas untuk uji daya hasil, materi genetik dengan produktivitas minyak tinggi (12 ton/ha/tahun) telah berhasil diperoleh dalam waktu < 100 tahun (Corley dan Tinker, 2003).

Buah kelapa sawit termasuk buah pelok (*drupe*) terdiri dari *mesocarp* (mengandung minyak kasar, CPO), *endocarp* (cangkang buah, *shell*), dan *kernel* (biji) (Montoya *et al.*, 2014; Hartley, 1988; Billote *et al.*, 2010). Berdasarkan jenis ketebalan cangkang buahnya, dikenal tiga

tipe kelapa sawit yaitu dura, pisifera, dan tenera dengan kandungan minyak setiap tipe berbeda, tergantung pada ada atau tidak adanya gen penyandi ketebalan cangkang (*Shell gene, Sh*) yang menyandi jenis ketebalan lapisan lignin dari cangkang yang membungkus biji (Purba *et al.*, 2000) (Gambar 1). Tipe kelapa sawit dura memiliki cangkang tebal (2-8 mm) dan mampu menghasilkan minyak sekitar 5,3 ton/ha/tahun. Tipe pisifera, tidak memiliki cangkang, biasanya memiliki bunga betina steril dan tandannya cepat membusuk sebelum memproduksi minyak (Singh *et al.* 2013b; Barcelos *et al.*, 2015). Persilangan antara tipe dura dan pisifera menghasilkan kelapa sawit tipe tenera yang merupakan turunan hibrida F1 dengan cangkang berukuran tipis (0,5-3 mm). Tipe tenera ini memiliki kemampuan menghasilkan minyak lebih tinggi dibanding tipe dura, sekitar 7,4 ton minyak/ha/tahun (Hartley, 1988). Karena keunggulannya tersebut, maka tipe hibrida F1 tenera ini telah lama digunakan sebagai bibit unggul untuk memproduksi minyak kelapa sawit secara komersial oleh berbagai jenis perkebunan kelapa sawit di Asia Tenggara (Rajanaidu *et al.*, 2000; Purba *et al.*, 2000; Seng *et al.*, 2011).

Gen *Sh* diwariskan secara kodominan dimana ketiga genotipe tanaman (homosigot dominan, heterosigot, dan homosigot resesif) dapat dibedakan dengan jelas (Beirnaert dan Vanderweyen, 1941; Singh *et al.*, 2013b). Tipe dura memiliki genotipe homosigot dominan *Sh/Sh* dan tipe pisifera memiliki genotipe homosigot resesif (*sh/sh*). Bunga betina tipe pisifera biasanya steril. Tipe tenera yang merupakan keturunan F1 dari tipe dura dan pisifera, memiliki genotipe heterosigot (*Sh/sh*) (Gambar 1) (Hartley, 1988; Billote *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2013b).

Identifikasi tipe kelapa sawit secara konvensional biasanya dilakukan dengan cara membelah buah kelapa sawit secara melintang (Gambar 1). Pengujian ini baru dapat dilakukan setelah tanaman mulai berproduksi dan menghasilkan tandan buah (Singh *et al.*, 2013b; Ting *et al.*, 2014). Identifikasi dengan cara konvensional ini, tidak dapat dilakukan pada tanaman yang belum menghasilkan, apalagi



Gambar 1. Tiga tipe buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*).

Keterangan:

Panel (a), tipe buah dari genotipe dura (*Sh/Sh*) memiliki cangkang berbahan lignin (*lignified shell*) tebal yang mengelilingi kernel dalam buah kelapa sawit dimana cangkang serupa absen pada genotipe pisifera (*sh/sh*). Hasil persilangan tipe dura dan tipe pisifera menghasilkan genotipe hibrida F1 tenera (*Sh/sh*) yang memiliki ketebalan cangkang tipis/medium. Panel (b), cangkang (lapisan lignin) buah dari tipe dura, tenera, dan pisifera yang diwarnai dengan zat pewarna *phloroglucinol* untuk pewarnaan lignin (warna merah) dari cangkang buah. Sumber: Singh *et al.* (2013b).

tanaman yang masih pada fase pembibitan. Padahal, kepastian jenis bahan tanam (dura, pisifera, atau tenera) yang ditanam petani pekebun sangat menentukan produktivitas kelapa sawit di perkebunan kelapa sawit. Menanam bibit yang bukan tipe tenera (dura dan pisifera) mengakibatkan berkurangnya produksi tandan buah segar (TBS) dan produksi minyak kelapa sawit kasar (*crude palm oil*, CPO) per satuan luas.

Produktivitas pertanaman di kebun menjadi tidak optimal karena pertanaman tidak hanya tipe tenera tetapi bercampur dengan tipe lainnya (dura atau pisifera), yang mengakibatkan tingkat produktivitas TBS bisa mencapai hanya 50%, sedangkan rendemen minyak CPO dapat mencapai maksimal hanya 17-18% tergantung tingkat kontaminasi pertanaman dari tipe non tenera (Singh *et al.*, 2013b). Untuk mengurangi tingkat kerugian petani pekebun sebagai akibat dari kontaminasi bibit bukan tenera, identifikasi tanaman bukan tenera tersebut harus dapat dilakukan pada saat fase bibit (*nursery*). Disinilah kekuatan teknologi genomika yang mengisolasi gen ketebalan cangkang (*Sh*). Identifikasi marka molekuler gen *Sh* tersebut akan membantu deteksi tanaman non tenera pada fase bibit yang menghindari kerugian petani dan menjamin

produktivitas tinggi bibit unggul yang ditanam petani pekebun.

## GENOM, BAHAN TANAM, DAN PEMULIAAN KONVENSIONAL KELAPA SAWIT

### Genom Kelapa Sawit

Kelapa sawit termasuk tanaman diploid yang memiliki 16 kromosom ( $2n=32$ ) dengan ukuran genom 1,8 miliar basa (giga basa, Gb) (Bennett dan Smith, 1991; Singh *et al.*, 2013a). Analisis sekuen genom total *E. guineensis* tipe pisifera dan *E. oleifera* menunjukkan bahwa genom kelapa sawit sangat kaya dengan genom duplikasi (*duplicated regions*) mengindikasikan bahwa kelapa sawit mempunyai riwayat genom tetraploid (*paleo tetraploid*) (Singh *et al.*, 2013a). Sebanyak 57% genom *E. guineensis* merupakan sekuen berulang (*repeated sequences*) dimana 73% dari elemen berulang tersebut absen pada genom *E. oleifera*. Analisis sekuen transkriptom dari 30 jaringan tanaman kelapa sawit menunjukkan bahwa genom kelapa sawit diprediksi mengandung sedikitnya 34.802 gen (Singh *et al.*, 2013a). Namun, analisis sekuen genom total *E. guineensis* tipe dura memprediksi bahwa kelapa

sawit *E. guineensis* tipe dura memiliki 36.015 gen dan 75% gen tersebut mengkode protein yang ada di data base genom berbagai spesies tanaman (Jin *et al.*, 2016).

### Bahan tanam unggul

Bahan tanam kelapa sawit unggul merupakan modal utama untuk mendapatkan produktivitas tinggi. Dengan bahan tanam unggul maka produksi tandan buah segar (TBS) dan produksi minyak jauh lebih tinggi dibandingkan penggunaan bibit asalan. Varietas tenera merupakan bahan tanam yang paling banyak digunakan dalam perkebunan kelapa sawit komersial saat ini (Toruan-Mathius *et al.*, 1997; Purba *et al.*, 2000; Barcelos *et al.*, 2015), sebab hibrida F1 menunjukkan keragaan fenotipe superior melebihi kedua tetuanya. Tipe tenera lebih disukai untuk digunakan sebagai bahan tanam komersial karena mempunyai proporsi kandungan minyak di dalam *mesocarp* buahnya 30% lebih tinggi dibandingkan dengan tipe dura (Setiyo *et al.*, 2001, Fauzi *et al.*, 2012). Beberapa tenera unggul persentase daging buahnya dapat mencapai 90% dan kandungan minyak per tandannya dapat mencapai 28% (Purba *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2013b).

Meskipun target produsen kelapa sawit adalah untuk menanam hanya bibit tenera, tetapi kontaminasi non-tenera dapat terjadi karena beberapa sebab, termasuk diantaranya penggunaan serbuk sari dari tanaman non pisifera tanpa sengaja, penyerbukan sendiri pada bunga tetua betina tipe dura, dan penyerbukan dari bunga tanaman tipe dura yang ada di sekitar kebun persilangan (Corley, 2009). Kontaminasi ini menjadi masalah karena fenotipe buah dari bibit yang ditanam baru dapat diidentifikasi setelah tanaman mulai berproduksi dan menghasilkan buah normal, yaitu pada saat tanaman di lapang sudah berumur sekitar 5-6 tahun. Pada kondisi tanaman sudah mulai menghasilkan, penggantian kontaminasi non tenera sangat sulit dilakukan karena tanaman muda pengganti tidak akan tumbuh normal sebagai akibat tanaman muda tersebut tertutup oleh kanopi dari pertanaman di sekitarnya yang jauh lebih tua dengan perkembangan kanopi yang sudah maksimal. Oleh sebab itu, metode

deteksi bibit yang bukan tipe tenera pada fase pembibitan menjadi sangat penting. Aplikasi teknologi genomika membantu mendesain marka molekuler gen *Sh* yang dapat digunakan untuk identifikasi tanaman non tenera pada fase bibit (Singh *et al.*, 2013b).

### Pemuliaan Kelapa Sawit Konvensional

Kelapa sawit termasuk tanaman tahunan menyerbuk silang dan industri perkebunan kelapa sawit di dunia sampai saat ini umumnya mengaplikasikan metode pemuliaan konvensional yang diadopsi dari metode pemuliaan jagung yang merupakan tanaman semusim menyerbuk silang dengan metode pemuliaannya yang sangat maju. Ada dua jenis metode pemuliaan yang diaplikasikan pada kelapa sawit yaitu metode *modified recurrent selection* (MRS) yang diaplikasikan di Timur Jauh (*Far East*) pertama kali dikembangkan oleh Unilever, dan metode *modified reciprocal recurrent selection scheme* (MRRS) yang diaplikasikan di Afrika Barat dan Indonesia yang pertama kali dikenalkan oleh CIRAD (*Centre de Co-operation Internationale en Recherche Agronomique pour le Development, France*) (Purba *et al.*, 2000; Soh *et al.*, 2003; Soh *et al.*, 2009).

Pada metode MRRS, tetua Dura (D) dan Tenera (T) diidentifikasi melalui keragaan dari uji progeni (*progeny test*) dari turunan silangan D x T. Tetua D dan T yang menunjukkan keragaan terbaik dari hasil uji progeni kemudian diserbuk sendirikan atau diserbuk secara terbuka (*sibbed*) dan D dan pisifera (P) yang dihasilkan digunakan sebagai pasangan tetua unggul untuk dikomersialkan. Untuk mempercepat program pemuliaan, penyerbukan sendiri dan penyerbukan terbuka dibuat bersamaan dengan uji progeni, namun metode ini memerlukan lahan yang sangat luas, sumberdaya pemuliaan dan biaya yang sangat mahal (Soh, 1999).

Pada pemuliaan menggunakan teknik MRS, genotipe tipe dura (D) diseleksi berdasarkan keragaan famili dan keragaan individu tanaman sehingga metode ini juga dikenal dengan metode seleksi berdasarkan famili dan individu tanaman (Rosenquist, 1990) tanpa adanya uji keturunan (*progeny test*) dari tipe D. Tanaman genotipe pisifera (P) dipilih berdasarkan keragaan

persilangan setetua (*sib*) tipe T pada persilangan T x T/P. Genotipe tipe P yang terpilih kemudian disilangkan dengan tipe D terpilih untuk membentuk genotipe tipe hibrida T yang digunakan pada uji keturunan dan T yang menunjukkan keragaan superior (unggul) dianggap bahwa tetua P terpilih dapat digunakan untuk pembentukan benih unggul D x P menggunakan tipe D yang menunjukkan daya gabung umum terbaik dengan tipe P terpilih. Kombinasi persilangan D x P terbaik tersebut kemudian digunakan untuk membuat persilangan untuk pembentukan benih tipe T komersial. Keuntungan dari metode ini, bahwa sistem pemuliaan ini dapat dengan cepat menghasilkan varietas unggul kelapa sawit tipe T walaupun tetua D belum sempat diuji keturunannya (Soh dan Hor, 2000)

Sebagai tanaman tahunan, kelapa sawit mempunyai siklus generasi yang panjang. Buah kelapa sawit menjadi matang setelah berumur 5 bulan sejak dilakukan penyerbukan. Perlu waktu 100-120 hari untuk mengecambahkan benih termasuk 40-60 hari perlakuan panas pada benih (*heat treatment*), diikuti 10-12 bulan menumbuhkannya di pembibitan. Tanaman kemudian baru mulai berbuah pada umur 2-3 tahun setelah penanaman di lapang (Mayes *et al.*, 2008). Pada umur pertanaman di lapang 2-3 tahun ini, tipe buah (*dura*, *pisifera*, atau *tenera*) kemudian baru dapat diidentifikasi dan pengamatan komponen hasil baru dapat dimulai. Secara keseluruhan, dengan demikian akan diperlukan setidaknya 8-10 tahun bahkan umumnya 10-12 tahun untuk menyelesaikan satu siklus pemuliaan (Wong dan Bernardo, 2008), agar data pengamatan materi genetik yang diuji lengkap dan tanaman yang terpilih dapat diperoleh untuk digunakan pada siklus pemuliaan berikutnya.

Rival (2007) melaporkan beberapa kendala utama yang dihadapi oleh pemulia kelapa sawit konvensional pada pemuliaan kelapa sawit secara konvensional, diantaranya adalah panjangnya setiap generasi dan siklus seleksi (10-12 tahun) yang memerlukan areal penelitian yang luas; terbatasnya pengetahuan diversitas genetik dan tingkat heterosigositas dari materi genetik yang diuji; kompleksnya ekspresi fenotipik dari

karakter kuantitatif yang diinginkan menjadi target pemuliaan; dan tidak tersedianya metode untuk menentukan ketiga tipe kelapa sawit (*dura*, *pisifera*, atau *tenera*) sejak dini pertumbuhan tanaman yaitu pada level bibit sebelum bibit tersebut ditanam di lapang.

Konfirmasi tipe kelapa sawit (bentuk buah dan ketebalan cangkang) yang dimiliki pada level bibit menggunakan marka molekuler untuk ketebalan cangkang menjadi sangat penting. Sebagai contoh, hanya 50% tipe *pisifera* diharapkan diperoleh pada persilangan T x P. Jika identitas P dapat diketahui sejak dini pada level bibit, maka hanya tipe P yang akan ditanam di lapang sehingga pemuliaan dan uji individu P akan dapat dilakukan dengan lebih fokus dan akan mendapatkan tipe P unggul lebih cepat dan dengan cara yang jauh lebih efektif dan efisien. Dengan bantuan marka molekuler gen ketebalan cangkang buah (*Sh*) akan menghemat penggunaan sumber daya pemuliaan, karena penggunaannya akan lebih efisien dan efektif sehingga varietas unggul baru akan diperoleh lebih cepat dengan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan pemuliaan metode konvensional.

## SEKUEN GENOM ACUAN UNTUK AKSELERASI PROGRAM PEMULIAAN KELAPA SAWIT

Untuk mengeksplorasi kandungan genetik total dan potensi genetiknya secara utuh diperlukan melakukan pengurutan susunan basa genom total (*whole genome sequencing*) dari genom kelapa sawit. Langkah awal untuk identifikasi urutan basa komprehensif tersebut, diperlukan adanya peta genom acuan (*reference genome sequence*) kelapa sawit seperti telah dilakukan pada spesies tanaman penting lainnya seperti padi (Yu *et al.*, 2002), jagung (Schnable *et al.*, 2009), kedelai (Schmutz *et al.*, 2010), kakao (Argout *et al.*, 2011), kentang (Xu *et al.*, 2011), *date palm* (Al-Dous *et al.*, 2011), dan pisang (D'Hont *et al.*, 2012). Sekuen genom acuan ini menjadi pedoman untuk studi lanjutan dari berbagai individu akses/genotipe anggota spesies maupun spesies yang berkerabat dekat dengan kelapa sawit. Revolusi teknologi sekuensing

DNA dengan teknologi NGS menurunkan biaya sekuensing genom yang memungkinkan menyekuen lebih banyak genom spesies tanaman dengan biaya yang terjangkau (Varsney *et al.*, 2009; Varsney *et al.*, 2012; Tasma 2015b; Tasma 2016a).

Saat ini sekuen genom acuan kelapa sawit dari dua spesies kelapa sawit telah tersedia untuk umum (Singh *et al.*, 2013a; Jin *et al.*, 2016). Ukuran genom kelapa sawit diperkirakan sebesar 1,8 GB dan dari ukuran genom tersebut 1,54 GB sudah selesai disekuen dan urutan basanya telah tertata dengan baik. Sekuen genom acuan ini menggunakan genotipe kelapa sawit *E. guineensis* tipe pisifera AVROS dan spesies kerabat liar kelapa sawit (*E. oleifera*) yang telah dipublikasi dan sekuennya dapat diakses oleh publik (Singh *et al.*, 2013a). Akhir-akhir ini dilaporkan juga sekuen genom *E. guineensis* tipe dura (Jin *et al.*, 2016) yang memperkaya informasi data sekuen genom kelapa sawit secara keseluruhan.

Ketersediaan sekuen genom acuan dari dua spesies kelapa sawit tersebut sangat penting dalam studi genom komparasi (*comparative genomic study*) antara kedua spesies, dimana kedua spesies tersebut dapat disilangkan untuk introgresi karakter penting yang dimiliki *E. oleifera*, namun karakter tersebut tidak dimiliki oleh spesies *E. guineensis*, karena hasil silangan kedua spesies menghasilkan biji fertil (Hardon dan Tan, 1969; Tandon *et al.*, 2001). Spesies *E. oleifera* dilaporkan memiliki beberapa keunggulan fenotipe seperti misalnya batangnya yang pendek (laju pertumbuhan batang yang lambat); tahan terhadap serangan beberapa penyakit penting; komposisi minyaknya yang kaya akan vitamin A dan vitamin E; minyaknya lebih sehat untuk dikonsumsi karena kandungan asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*) yang tinggi (Barcelos *et al.*, 2015). Pengetahuan sekuen acuan *E. oleifera* melalui studi genomika modern, dengan demikian menjadi sangat penting untuk mengetahui potongan-potongan DNA yang mengendalikan karakter-karakter unggul tersebut untuk digunakan pada program pemuliaan untuk memperbaiki kelemahan dari varietas unggul spesies *E. guineensis* yang tersedia saat ini.

Genom kedua spesies juga kaya dengan area duplikasi genom (*genome duplication regions*) yang mengindikasikan bahwa kelapa sawit pada awalnya merupakan tanaman tetraploid (*paleo tetraploid*) dan pada proses evolusinya genom kelapa sawit berubah menjadi tanaman dengan genom diploid. Sekitar 57% sekuen *E. guineensis* adalah sekuen berulang (*repeated elements*), dimana 73% dari element berulang tersebut absen pada genom *E. oleifera* (Singh *et al.*, 2013a) yang menunjukkan bahwa telah terjadi spesiasi tingkat molekuler (*molecular speciation*) yang intensif yang juga kelihatannya berpengaruh terhadap tingkat fertilitas dari benih yang dihasilkan dari persilangan kedua spesies tersebut (Barcelos *et al.*, 2015).

Genom kelapa sawit diprediksi memiliki sedikitnya 34.802 gen berdasarkan analisis data sekuen genom dan data sekuen *transcriptome* dari 30 tipe jaringan tanaman kelapa sawit (Singh *et al.*, 2013a). Untuk mempelajari tingkat metilasi genom kelapa sawit yang terkait dengan studi epigenetika, telah juga disekuen pustaka genom dari *E. guineensis* yang telah difilter kandungan metilnya (*methylated-filter libraries*) (Low *et al.*, 2014). Dari data tersebut telah ditemukan mekanisme terjadinya fenomena buah mantel kelapa sawit yang diakibatkan oleh hilangnya senyawa metil pada retrotransposon Karma pada gen *DEFICIENS* (Ong-Abdullah *et al.*, 2015). Analisis penemuan SNP melalui penjajaran data resekuen genom pada masing-masing spesies diperoleh berturut-turut sebanyak 2,30 dan 2,83 variasi *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) untuk *E. guineensis* dan *E. oleifera* pada setiap 100 basa sekuen.

## GEN TUNGGAL PENGENDALI KANDUNGAN MINYAK PADA BUAH DIISOLASI

Gen mayor tunggal yang dikenal dengan gen ketebalan cangkang (*Shell gene, Sh*) telah diisolasi dari genom kelapa sawit berkat bantuan teknologi sekuensing dan genomika modern serta regulasi gen tersebut mengendalikan daya hasil minyak tanaman kelapa sawit (Singh *et al.*, 2013b). Identifikasi gen pengendali ketebalan cangkang buah kelapa sawit dan mutasinya

memunculkan tipe buah dura, tenera dan pisifera menjelaskan fenomena heterosis gen tunggal pada tanaman kelapa sawit tipe tenera (Singh *et al.*, 2013b). Protein dari gen *Shell* adalah protein faktor transkripsi MADS box tipe II yang memiliki homologi dengan protein Seedstick (STK) pada tanaman model *Arabidopsis thaliana* dan protein OsMADS13 pada tanaman padi. Protein-protein tersebut merupakan anggota jaringan protein faktor transkripsi yang mengendalikan proses diferensiasi bakal biji (*ovule*), biji, dan *endocarp* yang memiliki lignifikasi pada *A. thaliana* serta diferensiasi bakal biji (*ovule*) dan fertilitas pada tanaman padi (Favaro, 2003; Pinyopich, 2003; Dinneny dan Yanofsky, 2005).

Protein MADS-box berfungsi melalui proses heterodimerisasi dengan protein anggota MADS-box keluarga lainnya. Seperti yang diperkirakan dari analisis homologi, protein *Shell* tipe liar (*wild type*) melakukan proses heterodimerisasi atau bergandengan dengan protein Sepallata MADS-box dari tanaman padi yang bernama OsMADS24 dari hasil pembuktian menggunakan analisis *yeast two hybrid system* (Singh *et al.*, 2013b). Alel dari mutan <sup>sh</sup>MPOB ditemukan di antara progeni turunan tenera T128 dari Nigeria yang memiliki perubahan nukleotida "T" menjadi "C" yang berakibat pada perubahan asam amino 'leusin' menjadi 'prolin' pada lokasi penting yaitu lokasi terkonservasi (*conserved region*) dari domain protein MADS-box. Alel mutan <sup>sh</sup>AVROS yang teridentifikasi dari silsilah 50 tahun persilangan yang memisahkan alel pisifera AVROS yang berasal dari Kongo (Afrika) memiliki perubahan nukleotida "A" menjadi "T" yang menyebabkan perubahan asam amino 'lysine' menjadi 'arginin' (Singh *et al.*, 2013b). Kedua mutasi ini terjadi dalam struktur alfa heliks (*alpha helix structure*) dari protein MADS-box. Struktur ini biasa ditemukan pada semua domain MADS-box yang terlibat untuk proses heterodimerisasi dan ikatan untuk DNA.

Kelapa sawit dengan tipe buah dura yang bercangkang tebal adalah homozygot untuk nukleotida tipe liar atau *wild type* ( $Sh^{DeliDura}$ ) pada masing-masing dua posisi varian nukleotida. Heterosigositas baik untuk alel <sup>sh</sup>MPOB atau <sup>sh</sup>AVROS ( $Sh^{DeliDura}/sh^{MPOB}$  atau  $Sh^{DeliDura}/sh^{AVROS}$ ) menghasilkan tipe buah tenera bercangkang

medium atau tipe tenera. Kelapa sawit homozygot untuk masing-masing mutasi atau *heteroallelic* untuk kedua mutasi (heterozygot untuk mutasi <sup>sh</sup>AVROS pada satu kromosom dan mutasi heterozygot <sup>sh</sup>MPOB pada kromosome yang lainnya) menghasilkan tipe buah pisifera yang tidak bercangkang. Kasus dimana tipe pisifera tanpa cangkang yang memiliki kedua alel <sup>sh</sup>AVROS dan <sup>sh</sup>MPOB yang tidak saling melengkapi fungsinya membuktikan identitas dari gen *Shell* (Singh *et al.*, 2013b).

Penemuan pendeteksi gen *Shell* dan gen mutan yang terlibat dalam penentuan tipe bentuk buah memungkinkan pengujian secara molekuler yang lebih akurat dan lebih tepat untuk memprediksi tipe bentuk buah pada fase pembibitan sebelum bibit kelapa sawit ditanam di lapangan. Deteksi ini dapat menentukan tingkat persentase kontaminasi non tenera (dura atau pisifera) di perkebunan sehingga dapat digunakan untuk mengukur dampak ekonomi akibat ketidakhormatan (kontaminasi) bibit tenera oleh bibit non tenera yang ditanam di lapang. Kit untuk deteksi kemurnian bibit tenera secara akurat yang disintesis berdasarkan sekuen gen *Sh* telah dikembangkan berkat tersedianya data sekuen genom rujukan kelapa sawit yang memfasilitasi penemuan dan isolasi gen penting ini. Metode deteksi akurat ini telah ditemukan untuk membantu industri perkebunan kelapa sawit untuk deteksi materi genetik unggul kelapa sawit pada fase awal pertumbuhan tanaman (pada fase pembibitan) yang mencegah penanaman bibit yang bukan tenera unggul. Teknologi genomika modern telah mampu mengisolasi gen vital (*Sh*) yang menentukan tinggi rendahnya hasil minyak suatu genotipe kelapa sawit.

Anggota famili gen Mad-box lainnya selain gen *Sh* yang perlu menjadi perhatian untuk perbaikan bahan tanaman kelapa sawit ke depan antara lain *Agamous-like15* (*Ag15*) yang meregulasi peningkatan keberhasilan embriogenesis somatik pada *Arabidopsis*. Fungsi gen ini adalah mengkatabolisme asam giberelat yang sangat relevan dengan proses embriogenesis somatik dengan target gen-gen yang dipengaruhi ekspresinya adalah *Leafy Cotyledon2*, *Fusca3*, dan *ABA Insensitive3*, yang

proteinnya merupakan regulator kunci pada proses embriogenesis somatik tanaman (Zheng *et al.*, 2009). Gen dengan fungsi mirip dengan *Agl15* yang menstimulasi proses embrio somatik pada tanaman dikenal dengan gen *Baby Boom* (*BBM*) yang diisolasi dari genom *Brassica napus*, dan *Bn-BBM* hanya diekspresikan pada proses embriogenesis dan perkembangan biji (Boutilier *et al.*, 2002). Overekspresi gen ini pada *Brassica napus* dan *Arabidopsis* menginduksi embriogenesis pada kedua tanaman tanpa diperlukan adanya tambahan zat pengatur tumbuh dari luar kultur (Boutilier *et al.*, 2002). Transformasi genetik kedua gen ini (*Agl15* dan *Bn-BBM*) ke genom kelapa sawit unggul diharapkan mampu meningkatkan keberhasilan perbanyakan klonal kelapa sawit melalui teknik embrio somatik yang saat ini tingkat keberhasilan dan efisiensinya masih sangat rendah.

#### REGENERASI *IN VITRO* KELAPA SAWIT UNTUK PERBANYAKAN KLONAL DAN TRANSFORMASI GENETIK GEN UNGGUL

Regenerasi tanaman kelapa sawit secara *in vitro* sangat penting untuk memperbanyak individu tanaman unggul secara klonal. Individu tanaman unggul dengan produktivitas tinggi individu terpilih yang dapat mencapai 12-13 ton minyak/ha/tahun dapat dilakukan secara vegetatif menggunakan teknik *in vitro*. Bahan tanam yang ditanam di lapang menjadi seragam dan merupakan klon dari individu unggul terpilih. Penguasaan metode regenerasi *in vitro* yang handal dan dengan pengulangan metode di laboratorium masih tetap menghasilkan bahan tanaman dengan kualitas dan kuantitas yang sama (*reproducibility* tinggi) juga merupakan prasyarat mendasar agar dapat melaksanakan penelitian transformasi genetik menggunakan teknik rekayasa genetika untuk merakit tanaman transgenik yang memiliki karakter unggul target pemuliaan.

Perbanyakan individu terpilih tanaman kelapa sawit unggul melalui kultur *in vitro* meningkatkan produktivitas tanaman di lapang sekitar 30% lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan benih hibrida komersial D x P

(Wahid *et al.*, 2005). Namun demikian, secara umum perbanyakan tanaman kelapa sawit dengan teknik kultur *in vitro* saat ini masih belum efisien karena memerlukan waktu panjang dan tenaga banyak untuk memproduksi bibit klonal. Hanya sekitar 15% eksplan yang digunakan akan menghasilkan kalus dan hanya 3% kalus akan menghasilkan embrio somatik (Soh *et al.*, 2006). Induksi, pematangan, dan tingkat pengecambahan embrio somatik pada tanaman, termasuk kelapa sawit dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah komposisi media, vitamin, asam amino, dan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin (Asad *et al.*, 2009).

Somatik embriogenesis kelapa sawit sudah berhasil dilakukan oleh cukup banyak peneliti menggunakan metode yang berbeda-beda baik dari segi komposisi media, zat pengatur tumbuh, dan sumber eksplan yang digunakan (Mariska *et al.*, 2012; Marbun *et al.* 2015; Kerdsuwan dan Te-Chato, 2015). Mariska *et al.* (2012) sebagai contoh, menguji berbagai komposisi media kultur untuk menghasilkan embrio somatik menggunakan eksplan *spear* (daun muda yang belum membentuk klorofil) yang diuji pada lingkungan kultur berbeda. Komposisi media terbaik untuk proliferasi kalus embrionik adalah MS diperkaya dengan casein hidrolisat 500 mg/l, sukrosa 30 g/l, arang aktif 3 g/l dan 2,4-D 50 mg/l. Formulasi media optimum untuk pendewasaan tunas adalah MS modifikasi diperkaya dengan BA 0,5 mg/l, kinetin 0,05 mg/l dan arang aktif 3 g/l. Dari penelitian ini telah dihasilkan ratusan struktur embrio somatik kelapa sawit dengan kotiledon dan tunas (Mariska *et al.*, 2012). Marbun *et al.* (2015) melaporkan peningkatan induksi embrio somatik kelapa sawit menggunakan teknik *temporary immersion system* (TIS) menggunakan media dan interval waktu perendaman yang berbeda. Komposisi media terbaik untuk meningkatkan proliferasi kalus embriogenik menggunakan TIS adalah MSD dengan interval waktu perendaman setiap tiga jam selama tiga menit. Kerdsuwan dan Te-Chato (2015) berhasil menginduksi embrio somatik kelapa sawit menggunakan eksplan akar yang ditumbuhkan pada media OPCM yang diperkaya dengan 3% sukrosa, 200 mg/l asam askorbat dan 0,5 mg/l

NAA. Telah diperoleh sebanyak 1,2 embrio somatik dari setiap eksplan akar dengan persentase pembentukan embrio somatik yang dapat mencapai 80%. Keberhasilan perbanyakan *in vitro* kelapa sawit ini merupakan modal dasar dan fondasi sangat penting untuk dapat melakukan penelitian transformasi genetik gen-gen penting dalam rangka perakitan tanaman transgenik kelapa sawit pembawa gen-gen unggul yang menjadi target pemuliaan.

### MEKANISME BUAH MANTEL DIKETAHUI DAN DETEKSI MUTAN MANTEL PADA FASE BIBIT DIKEMBANGKAN

Mekanisme terjadinya abnormalitas buah kelapa sawit (yang lebih dikenal dengan buah mantel) telah diketahui dan telah dilaporkan pada majalah *Nature* 2015 (Ong-Abdullah *et al.*, 2015). Abnormalitas buah merupakan masalah utama perbanyakan tanaman kelapa sawit dengan menggunakan teknik kultur *in vitro* yang dapat menghasilkan variasi somaklonal pada bibit. Celakanya lagi, bahwa abnormalitas dari bibit yang ditanam tersebut baru dapat diketahui setelah tanaman berproduksi yaitu setelah tanaman berumur sekitar 4-6 tahun setelah tanam di lapang. Dengan diketahuinya mekanisme terjadinya buah mantel tersebut, terbuka jalan untuk mengembangkan metode deteksi bahan tanam yang berpotensi menghasilkan buah mantel pada fase awal pertumbuhan tanaman (fase bibit) sehingga bahan tanaman hasil perbanyakan dengan teknik kultur *in vitro* dapat dianalisis pada level bibit tingkat abnormalitasnya dan bibit yang ditanam oleh petani pekebun adalah benar-benar bibit normal yang menghasilkan tanaman kelapa sawit yang berbunga dan berbuah normal di lapang. Metode deteksi dini ini tentu menghemat waktu, biaya, dan meyakinkan petani pekebun bahwa bibit yang mereka tanam adalah bibit unggul yang berbuah normal, yang akan berdampak pada produktivitas per hektar dan berpengaruh juga pada produksi kelapa sawit nasional, pendapatan petani pekebun dan pendapatan negara dari pajak. Dengan diketahuinya bibit yang ditanam unggul (benar-benar tipe tenera normal) dan

dapat berbunga dan berbuah normal, menguntungkan petani pekebun dan juga negara produsen minyak kelapa sawit.

Terjadinya buah mantel karena fenomena epigenetik selama proses perbanyakan bahan tanam dengan teknik *in vitro*. Epigenetik menghasilkan fenotipe berbeda bukan karena perbedaan sekuen pada gen pengendali karakter pembungaan atau buah tetapi karena perbedaan ekspresi gen pengendali karakter tersebut. Ekspresi gen ditentukan salah satunya pada ada tidaknya metilasi pada sekuen gen. Analisis *epigenetic wide association study* (EWAS) dan *bisulfite sequencing* genom kelapa sawit berbuah normal dan yang berbuah mantel menunjukkan bahwa proses epigenetik pada buah mantel kelapa sawit ini terjadi karena hilangnya gugus metil (*hypomethylated*) pada *retrotransposon* yang diberi nama 'karma' berlokasi pada intron (tepatnya pada tempat pemotongan intron, *intron splicing site*) dari sekuen gen pembungaan yang dinamakan dengan gen *DEFISIENS* (Ong-Abdullah *et al.*, 2015). Hilangnya gugus metil pada tempat pemotongan intron (*intron splicing site*) tersebut menyebabkan proses pemotongan intron pada pembentukan *messenger RNA* (mRNA) gen tidak menggunakan normal exon untuk pemotong intron, tetapi sebagai gantinya menggunakan retrotransposon 'karma' dan produk pemotongan intron ini menghasilkan bacaan mRNA gen *DEFISIENS* berbeda dari pada cara pemotongan intron normal dan sebagai akibatnya menghasilkan protein mutan dan fenotipe bunga mantel (Gambar 2c) (Ong-Abdullah *et al.* 2015). Tanaman dengan buah mantel yang memiliki 'karma' dengan tanpa gugus metil pada *splicing site intron* gen *DDEFISIENS* disebut dengan karma jelek (*bad karma*). Dipihak lain, adanya gugus metil pada *intron splicing site* 'karma' yang menghasilkan bunga dan buah normal disebut dengan karma baik (*good karma*) (Gambar 2a).

Mekanisme epigenetik buah mantel diatas menghasilkan metode uji sederhana untuk membedakan tanaman yang mampu menghasilkan buah normal dari tanaman yang berpotensi menghasilkan buah mantel. Uji epigenetik sederhana (*simple epigenetic test*), mirip dengan metode deteksi murah pada orang hamil



Gambar 2. Keragaan buah kelapa sawit normal (gambar paling kiri) dan buah mantel (*mantled fruit*, gambar paling kanan).

Keterangan: Panel A, buah normal; panel B, buah mantel fertil; panel C, buah mantel partenokarpi. Keragaan buah utuh (gambar paling atas), irisan buah longitudinal (gambar tengah), dan irisan buah melintang (gambar paling bawah). Panah warna hitam menunjukkan karpel semu (*pseudocarpels*), dan panah warna putih menunjukkan biji (kernel) buah kelapa sawit. Peneliti genomika telah menemukan mekanisme terjadinya buah mantel yaitu hilangnya unsur metil pada transposon "Karma" yang berlokasi pada gen *DEFICIENS* yang dapat menyebabkan terjadinya buah mantel (*mantled fruit*) karena mekanisme epigenetik (*epigenetic mechanism*). Menggunakan mekanisme epigenetik tersebut, *test kit* sederhana dikembangkan dan bisa digunakan petani pekebun untuk mengidentifikasi bibit tanaman mutan yang potensial menghasilkan buah abnormal pada fase awal pertumbuhan tanaman (pada fase bibit) bahkan tanaman masih pada fase kultur jaringan dan memisahkan tanaman abnormal (dengan buah mantel) dari tipe bibit yang menghasilkan buah normal. Sumber: Ong-Abdullah *et al.* (2015).

untuk mendeteksi panel penyakit pada bayi yang masih dalam kandungan sedang dikembangkan untuk dapat mendeteksi tanaman yang berpotensi menghasilkan buah mantel pada fase bibit dan bahkan pada fase planlet pada perbanyak bibit yang akan meningkatkan

produktivitas kelapa sawit. Dengan metode deteksi ini bibit unggul akan dapat diperbanyak dengan cepat menggunakan teknik kultur *in vitro* (*in vitro culture*) tanpa ada kekhawatiran akan menghasilkan tanaman mantel. Metode deteksi ini dan bibit normal yang terseleksi berdampak pada peningkatan produktivitas kelapa sawit per satuan luas dan peningkatan produktivitas minyak kelapa sawit nasional termasuk juga peningkatan pendapatan petani pekebun dan pendapatan negara dari pajak disamping juga mengurangi luasan lahan yang dipergunakan untuk perluasan perkebunan kelapa sawit.

Dampak penemuan mekanisme buah mantel sebagai hasil pemanfaatan teknologi genomika modern dari sekuen genom rujukan kelapa sawit, teknologi EWAS untuk pemetaan metilasi pada genom total, dan *bisulfite resequencing* genom untuk genotipe dengan buah normal dan genotipe dengan buah mantel telah menghasilkan teknologi yang secara nyata akan meningkatkan produktivitas kelapa sawit per satuan luas yang akan mengurangi pemanfaatan lahan untuk menghasilkan tonase minyak kelapa sawit yang sama.

## PENGEMBANGAN VARIETAS KELAPA SAWIT TIPE IDEAL

Pemanenan buah kelapa sawit yang umumnya dilakukan secara manual biayanya sangat mahal, sulit dilakukan terutama pada tanaman kelapa sawit berumur lanjut yang ketinggiannya bisa mencapai 25-30 m perlu tenaga intensif (Corley dan Tinker, 2003). Perlu sistem mekanisasi untuk memanen buah kelapa sawit dengan batang tinggi, tandan buah jatuh ke tanah ada yang terlepas dari tandan buah sebagai akibat benturan buah dengan tanah disaat buah jatuh dari ketinggian. Diperlukan tenaga kerja tambahan untuk memungut buah yang terlepas pada saat panen.

Alternatif yang lebih menarik adalah merakit varietas unggul dengan batang pendek (laju pertumbuhan batang lambat) yang menjadi tantangan tersendiri bagi pemulia kelapa sawit. Tanaman dengan batang pendek lebih ekonomis dibudidayakan disamping memperpanjang masa produktivitas tanaman kelapa sawit di lapang.

*E. guineensis* yang berasal dari Afrika Barat saat ini banyak dibudidayakan oleh industri perkebunan kelapa sawit di dunia khususnya yang dominan di Asia Tenggara mempunyai laju pertumbuhan batang (*height increment*) cukup cepat, yaitu 45-75 cm/tahun. Laju pertumbuhan batang *E. oleifera* yang berasal dari Amerika Selatan jauh lebih lambat yaitu sekitar 5-10 cm/tahun (Corley dan Tinker, 2003). Hibrida F1 hasil persilangan *E. guineensis* dan *E. oleifera* mempunyai laju pertumbuhan batang medium (*mid-parent height increment*) berkisar 15 – 25 cm/tahun yang menunjukkan kemanfaatan dari introgresi gen batang pendek dari spesies kerabat liar *E. oleifera* ke genom kelapa sawit budidaya *E. guineensis*. Strategi ini memungkinkan industri kelapa sawit di dunia untuk menciptakan berbagai genotipe F1 hasil silangan kedua spesies, salah satunya adalah seri genotipe kelapa sawit berbatang pendek di Malaysia dengan laju pertumbuhan batang 40 cm/tahun dengan potensi hasil 7 ton/ha/tahun (Rajanaidu, 1994; Rajanaidu *et al.*, 2000). Di Kosta Rika juga telah dikembangkan genotipe kelapa sawit berbatang pendek dan toleran temperatur rendah dan kekeringan hasil persilangan antara *E. guineensis* Ekona dan *E. oleifera* Bamenda (Barcelos *et al.*, 2015).

*Quantitative trait loci* (QTL) yang mengendalikan karakter laju pertumbuhan batang sudah dipetakan pada kromosom (linkage group) 5 pada genom kelapa sawit dan QTL tersebut dapat menjelaskan 51% varian fenotipik tinggi batang yang dikategorikan sebagai QTL mayor yang berperan penting dalam menentukan fenotipe tinggi batang (Lee *et al.*, 2015). Analisis lokasi QTL lebih detil pada sekuen genom rujukan menunjukkan bahwa QTL tersebut berada pada kisaran sekuen DNA sepanjang 65,6 kb, pada area sekuen tersebut ditemukan delapan gen, salah satunya adalah gen penyandi *asparagine synthase-related protein* yang diduga sebagai gen pengendali QTL tinggi batang pada progeni tenera pada penelitian ini (Lee *et al.*, 2015).

Satu progeni tanaman hibrida F1 hasil persilangan *E. oleifera* dengan *E. guineensis* yang dilakukan di Kosta Rika menunjukkan fenotipe selain batangnya pendek juga menunjukkan

fenotipe daun yang jauh lebih pendek dibandingkan dengan varietas kelapa sawit *E. guineensis* standar dura x pisifera. Pengembangan hibrida ini lebih lanjut menghasilkan bahan tanam unggul COMPACT yang dijual secara komersial. Laju pertumbuhan batang varietas COMPACT < 40 cm/tahun (Escobar dan Alvarado, 2004). Dibandingkan dengan panjang daun (7-8 m) pada bibit unggul standar dura x pisifera, varietas COMPACT mempunyai panjang daun 6,5 m yang meningkatkan jumlah populasi menjadi 180-200 tanaman/ha dibandingkan dengan 138-143 tanaman pada perkebunan standar menggunakan bibit hibrida F1 dura x pisifera (Corley dan Tinker, 2003; Escobar dan Alvarado, 2004).

Hasil persilangan COMPACT dengan standar *E. guineensis* seperti Deli Dura menghasilkan panjang daun 6,5-6,9 m yang juga masih lebih baik dibandingkan standar varietas kelapa sawit *E. guineensis*. Varietas baru yang mendekati tipe ideal tersebut tentu menguntungkan petani pekebun karena meningkatkan jumlah populasi yang ditanam per hektar yang berimplikasi pada kenaikan produktivitas kelapa sawit/ha dan efisiensi dalam pemanfaatan lahan. Pemanfaatan teknologi genomika modern dan tersedianya sekuen genom rujukan dua varietas kelapa sawit sangat menentukan keberhasilan dan kecepatan identifikasi dan isolasi gen-gen penting ini (gen pengendali batang pendek dan gen pengendali panjang daun yang menentukan masa produktivitas, kemudahan panen, lebar kanopi pertanaman dan jumlah pohon yang bisa ditanam per satuan luas). Marka DNA yang didesain berdasarkan gen-gen penting ini digunakan untuk mempercepat introgresi karakter unggul dan menyeleksinya menggunakan teknik MAS. Teknologi genomika mengakselerasi pemuliaan tanaman tipe ideal dengan produktivitas tinggi ini yang berimplikasi pada perbaikan produktivitas kelapa sawit.

## PENGEMBANGAN VARIETAS DENGAN MUTU MINYAK TINGGI

Delapan puluh persen minyak kelapa sawit dunia digunakan untuk industri makanan dan 20% sisanya digunakan untuk industri *oleochemical* seperti sabun, deterjen, pelarut, bahan pelumas (*lubricant*), bioplastik dan biodiesel (Rosillo-Calle *et al.*, 2009). Akhir-akhir ini dengan berkembangnya industri bahan bakar terbarukan, minyak kelapa sawit bersama-sama dengan minyak nabati lainnya juga dimanfaatkan sebagai bahan bakar substitusi solar (*biodiesel*).

Jenis minyak kelapa sawit dengan kandungan lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*) tinggi lebih disukai untuk digunakan sebagai produk makanan karena lebih sehat, demikian juga untuk tujuan biodiesel minyak kelapa sawit dengan kandungan lemak tak jenuh tinggi juga lebih diminati (Oguma *et al.*, 2012; Barcelos *et al.*, 2015). Minyak kelapa sawit mengandung sekitar 50% asam lemak jenuh (*saturated fatty acid*) yang terdiri dari 40% asam palmitat (C14:0), 5% asam stearat (C18:0) dan sejumlah kecil asam miristat/*miristic acid* (C14:0). Sebagian porsi lainnya adalah asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*) yang terdiri 40% asam oleat (C18:1) dan 10% asam linoleat tak jenuh poli/*polyunsaturated linoleic acid* (C18:2) (Sabanthamurthi *et al.*, 2000; Noh *et al.*, 2002; Prada *et al.*, 2011).

Pada program pemuliaan perbaikan kualitas minyak kelapa sawit, karakter minyak dengan kandungan asam lemak tidak jenuh (*unsaturated fatty acid*) yang tinggi menjadi target pemulia untuk mendapatkan minyak kelapa sawit dengan mutu tinggi. Indeks iodin (*iodine index*) biasanya digunakan untuk mengukur tingkat ketidakjenuhan asam lemak pada genotipe kelapa sawit (Cadena *et al.*, 2013). Minyak dari *E. guineensis* mempunyai nilai iodin (*iodine value*) sekitar 50-60% sedangkan minyak *E. oleifera* memiliki nilai iodin 70-80% (Chavez dan Sterling, 1991). Hibrida F1 hasil silangan *E. guineensis* dan *E.oleifera* menghasilkan minyak dengan nilai iodin 58-71% (Ong *et al.*, 1981). Hasil penelitian Montoya *et al.* (2014) menunjukkan bahwa gen-gen pengendali karakter komposisi minyak ini tidak berpautan dengan komponen hasil biomas

seperti hasil TBS dan persentase minyak pada buah (*mesocarp*). Informasi ini menggembirakan pemulia karena memudahkan pemulia memperbaiki komposisi minyak kelapa sawit untuk meningkatkan kandungan asam lemak tidak jenuh minyak kelapa sawit.

Telah ditemukan beberapa SNP yang berada pada gen kandidat yang berasosiasi dengan QTL karakter biosintesis lemak tak jenuh asam oleat (C18:1), hasil analisis sekuen intensif dari sekuen genom kelapa sawit (Singh *et al.*, 2013a; Montoya *et al.*, 2014). Hal ini memfasilitasi introgresi gen-gen pengendali karakter komposisi minyak kualitas tinggi dari *E. oleifera* ke genom kelapa sawit *E. guineensis* menggunakan teknik MAS atau metode seleksi genom (*genomic selection*). Aplikasi teknologi genomika mempercepat transfer gen unggul kualitas minyak tinggi dari genom *E. oleifera* ke genom *E. guineensis*.

## KEMAJUAN DAN POTENSI APLIKASI TEKNOLOGI REKAYASA GENETIKA PADA TANAMAN KELAPA SAWIT

Teknologi rekayasa genetika dengan semua kelebihanannya dibandingkan teknik pemuliaan konvensional adalah alat untuk menciptakan produk dengan nilai tambah tinggi dari tanaman produk rekayasa genetika (PRG) kelapa sawit. Teknik rekayasa genetika mengatasi masalah rendahnya keragaman sumber gen (*gene pool*) kelapa sawit dengan sejarah cikal bakal varietas yang ada saat ini diawali dari pemanfaatan empat tanaman koleksi Kebun Raya Bogor untuk program pemuliaan kelapa sawit. Pemanfaatan sumber-sumber gen dari luar termasuk lintas genus dan *kingdom* memungkinkan dilakukan dengan teknik transformasi genetik. Namun rekayasa genetika juga memerlukan teknik transformasi dan sistem regenerasi *in vitro* yang handal. Sistem regenerasi tersebut telah tersedia pada kelapa sawit dan dengan modal sistem regenerasi *in vitro* yang cukup handal tersebut, tanaman transgenik kelapa sawit telah berhasil dirakit pada tahun 1996 yang pada mulanya diarahkan untuk karakter mutu minyak tinggi kelapa sawit (Kadir, 2003).

Perakitan varietas kelapa sawit transgenik pada mulanya diarahkan untuk perbaikan mutu minyak dengan komposisi minyak yang lebih sehat dengan kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi menggunakan gen-gen yang berperan penting pada proses biosintesis asam lemak. Untuk meningkatkan komposisi asam oleat (asam lemak tak jenuh) dengan teknik rekayasa genetika dari gen yang menyandi enzim kunci pada biosintesis asam palmitat yaitu *b-ketoacyl-ACP synthase II* (KASII) atau gen penyandi *palmitoyl-ACP thio esterase* (Sambanthamurthi *et al.*, 2009). Aktivitas enzim KASII dilaporkan berkorelasi positif dengan kandungan asam lemak tak jenuh pada seri genotip kelapa sawit PORIM di Malaysia (Sambanthamurthi *et al.*, 2009).

Hasil studi pada tanaman model *A. thaliana* menunjukkan bahwa penurunan tingkat aktivitas enzim KASII sudah mencukupi untuk mengkonversi minyak pada biji Arabidopsis menyerupai karakteristik minyak kelapa sawit (Pidkowich *et al.*, 2007). Penggunaan promoter yang diekspresikan spesifik pada *mesocarp* kelapa sawit (*mesocarp-specific promoter*) dan aplikasi metode *antisense RNA* dari gen KASII dan gen *palmitoyl-ACP thio esterase* diharapkan menghasilkan tanaman transgenik dengan komposisi minyak yang kaya akan asam lemak tak jenuh seperti asam oleat. Teknologi rekayasa genetika, disamping aplikasi teknologi genomika, dengan demikian juga berperan penting dan cukup prospektif untuk menghasilkan bahan tanaman unggul kelapa sawit dengan karakteristik minyak kategori sehat dan berkualitas tinggi untuk tujuan industri karena kandungan asam lemak tak jenuhnya yang tinggi.

Kegiatan rekayasa genetik lainnya adalah penciptaan produk bioplastik dengan mentransformasikan tiga gen dari bakteri yang mengkode enzim *3-ketothiolase (bktB)*, *acetoacetyl-CoA reductase (phaB)* dan *PHB synthase (phaC)* yang terlibat pada biosintesis PHB dari *Acetyl-CoA* pada bakteri ditransformasi ke kalus embriogenik kelapa sawit (Parveez *et al.*, 2008). Untuk menghasilkan *copolymer polyhydroxybutyrate-co-valerate (PHBV)*, gen *threonine dehydratase (tdcB)* dari *Escherichia coli* ditransformasi ke kalus embriogenik kelapa sawit

untuk menghasilkan *propionyl-CoA*, substrat dari *hydroxyvalerate*. Gen-gen ini diekspresikan di bawah kendali promoter Ubiquitin dari jagung. Penelitian ini menghasilkan ratusan planlet transgenik mengandung transgen stabil yang dipelihara pada fasilitas uji terbatas (FUT).

Dengan kontroversi pemanfaatan PRG untuk pangan dan pakan, dalam jangka pendek, pemanfaatan hasil penelitian rekayasa genetika kelapa sawit masih menghadapi tantangan pemasaran global, khususnya untuk ekspor ke negara-negara Uni Eropa (UE) termasuk Inggris yang kebanyakan anggota UE masih belum dapat menerima pangan PRG. PRG kelapa sawit yang dihasilkan sampai saat ini masih pada tahapan penelitian dan belum memasuki tahapan komersialisasi diantaranya karena kontroversi PRG untuk pangan. Dengan demikian, hasil PRG ini ke depan sebaiknya perlu lebih diarahkan untuk produk-produk kelapa sawit bernilai tinggi non pangan seperti misalnya minyak sawit yang diolah untuk tujuan biodiesel dan bukan untuk tujuan produk pangan. PRG yang dihasilkan dengan demikian, sebaiknya lebih diarahkan untuk perakitan produk-produk industri yang non pangan. Ke depan dengan semakin meningkatnya jumlah penduduk dunia, berkurangnya ketersediaan lahan pertanian, meningkatnya cekaman lingkungan, dan berkurangnya ketersediaan air, kecukupan pangan dunia kelihatannya salah satunya akan dicukupi oleh pangan PRG. Dengan semakin ketatnya uji keamanan produk PRG, pangan PRG ke depan kemungkinan akan menjadi salah satu alternatif mengatasi defisit pangan dunia, sehingga penelitian rekayasa genetika menjadi sangat penting untuk dikuasai yang pelaksanaannya mesti dimulai dari saat sekarang ini kalau tidak mau ketinggalan aspek penguasaan teknologinya.

#### RESEKUENSING GENOM TOTAL GENOTIPE KELAPA SAWIT INDONESIA UNTUK AKSELERASI PEMULIAAN KELAPA SAWIT NASIONAL

Tersedianya sekuen genom acuan (*reference genome sequence*) kelapa sawit (Singh *et al.* 2013a; Jin *et al.*, 2016) membuka strategi untuk

meresekuensi berbagai genotipe kelapa sawit menggunakan teknologi *next generation sequencing* (NGS). Sekali suatu peta genetik sekuen genom acuan suatu spesies tanaman tersedia, peneliti genomika dapat melakukan resequensing individu aksesori kedua, ketiga, keempat, kelima, dan seterusnya dari anggota spesies yang sama menggunakan *very low-cost short read technologies* (NGS) seperti HiSeq dari Illumina (Thomson, 2014; Tasma 2014a; Tasma 2015b; Tasma 2016a). Untaian sekuen pendek (100 -150 bp) tidak perlu *diassembly* satu dengan yang lainnya, tetapi dipetakan kembali ke sekuen genom acuan untuk mengidentifikasi perbedaan genetik antara sekuen acuan dan sekuen individu kedua, ketiga, dan seterusnya. Dengan demikian, sejumlah perbedaan dapat didokumentasikan dan perbedaan genetik ini digunakan untuk menjelaskan perbedaan antar genotipe (varietas) dalam suatu spesies, misalnya daya hasil, ketahanan hama dan penyakit, tinggi batang, panjang kanopi, waktu pembungaan, komposisi asam lemak pada minyak, serta toleransi kekeringan (Tasma, 2015a; Tasma 2016a). Penelitian resequensing dapat digunakan dalam *survey* keragaman dalam spesies, penemuan metode genotyping marka SNP kapasitas tinggi untuk percepatan pelabelan gen/QTL unggul dengan populasi persilangan atau populasi plasma nutfah diversitas luas melalui metode *genome wide association studies* (GWAS).

Tersedianya peta genom acuan memungkinkan penelitian resequensing untuk mengerti lebih baik terhadap susunan genom individu koleksi plasma nutfah (Tasma, 2015b; 2016a). Informasi genotipe individu plasma nutfah memfasilitasi percepatan penemuan berbagai variasi genetik untuk mendukung program pemuliaan tanaman yang terarah, lebih cepat dan lebih akurat menggunakan metode pemuliaan paradigma baru yaitu pemuliaan tanaman berbasis data genomika (Tasma 2014a; Tasma 2015a). Hal ini didukung oleh tersedianya peta genetik marka molekuler densitas tinggi kelapa sawit untuk mempercepat pelabelan gen/QTL unggul serta karakterisasi secara akurat koleksi plasma nutfah kelapa sawit (Bilotte *et al.*, 2005; Tasma dan Arumsari, 2013; Tasma, 2014b). Program pemuliaan tanaman ke depan akan lebih berfokus pada komparasi komposisi genom

individu plasma nutfah yang membuka peluang penggunaan kombinasi strategi baru pemetaan genetik dan analisis evolusi untuk penemuan dan pemanfaatan variasi genetik SDG tanaman dengan lebih optimal dan lebih komprehensif untuk menunjang program pemuliaan tanaman yang sinambung dan lestari (Tasma, 2015a; Tasma 2015b). Resequensing berbagai galur unggul (*superior lines*) dan individu aksesori plasma nutfah juga dapat mengidentifikasi keunikan setiap genotipe SDG tanaman. Hal ini akan menjadi identitas dari varietas, galur, maupun individu aksesori sebagai sidik jari dari individu tersebut seperti telah dilaporkan sebelumnya (Tasma, 2015a; Tasma 2016a).

Di Indonesia penelitian resequensing genom kelapa sawit sudah dilakukan di Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang dimulai sejak tahun 2011. Resequensing dilakukan terhadap tiga genotipe kelapa sawit Indonesia yaitu tipe dura, pisifera, dan spesies kerabat liar kelapa sawit *E. oleifera* asal Brasil menggunakan teknologi NGS Hiseq. Penjajaran data resequencing tersebut dengan sekuen genom rujukan kelapa sawit (Singh *et al.*, 2013a) menghasilkan lebih dari 3,34 juta variasi genom yang terdiri dari 3,0322 juta *single nucleotide polymorphism* (SNP) dan 303.109 insersi dan delesi (Indel) (Tasma 2015b; Tasma *et al.* 2015; Tasma *et al.*, 2016b). Dari penjajaran data sekuen tersebut telah diperoleh satu variasi genom pada setiap 197 basa pada genom kelapa sawit (Tabel 1).

Dari 3,34 juta variasi genom yang terdeteksi berdistribusi pada berbagai lokasi pada genom kelapa sawit [di hulu lokasi gen, di hilir, intergenik, dan pada gen (*exon* dan *intron*)]. Namun, kebanyakan varian DNA yang diidentifikasi berada di luar gen (Tabel 2; Tasma *et al.* 2016b). Hanya 55.772 SNP dan Indel (1,25%) yang ditemukan berada pada *protein coding region* (*exon*). Diantara variasi DNA yang ada pada *exon* tersebut, 30.493 SNP menyebabkan mutasi *missense* (mutasi yang merubah komposisi asam amino) dan 824 SNP menyebabkan mutasi *nonsense* (mutasi yang menghasilkan *stop codon*), yang akan mempengaruhi fenotipe tanaman, serta 22.224 SNP merupakan *silent mutation* (mutasi yang tidak mempengaruhi fenotipe).

Tabel 1. Variasi genom yang terdeteksi pada setiap kromosom kelapa sawit hasil analisis penjajaran sekuen genom tiga genotipe kelapa sawit Indonesia (dura, pisifera dan *E. oleifera* asal Brasil) dengan sekuen genom rujukan kelapa sawit *E. guineensis*

Kromosom*	Panjang sekuen (pb)	Jumlah basa berubah (pb)*	Laju perubahan (Change rate)**
Eg_Chr01	68,432,966	325,213	210
Eg_Chr02	65,556,141	347,672	188
Eg_Chr03	60,058,032	300,326	199
Eg_Chr04	57,248,047	291,200	196
Eg_Chr05	51,953,839	282,277	184
Eg_Chr06	44,354,769	200,964	220
Eg_Chr07	43,453,266	211,879	205
Eg_Chr08	40,192,799	198,996	201
Eg_Chr09	38,054,796	182,000	209
Eg_Chr10	31,889,635	147,495	216
Eg_Chr11	30,067,610	157,672	190
Eg_Chr12	28,799,275	169,641	169
Eg_Chr13	27,816,170	147,132	189
Eg_Chr14	24,378,543	139,278	175
Eg_Chr15	24,313,565	125,175	194
Eg_Chr16	21,370,583	108,391	197
Total/Rataan	657,940,036	3,335,311	197

Keterangan: \*Eg = *Elaeis guineensis* Jacq. \*\*Laju perubahan rata-rata = 197, artinya rata-rata ditemukan satu variasi DNA pada setiap 197 basa pada genom kelapa sawit hasil penelitian ini. pb=pasang basa.

Sumber: Tasma *et al.* (2016b).

Variasi pada *exon* ini sangat penting karena dapat berujung pada penemuan dan isolasi gen-gen unggul (Tasma 2015b; Tasma 2016a). Diperlukan studi genomika fungsional (*functional genomics*) untuk menguji fungsi variasi genom tersebut khususnya variasi genom yang merubah susunan asam amino dan *stop codon* yang dapat merubah fenotip tanaman dan pada ujungnya peneliti dapat mengisolasi gen-gen penting bernilai ekonomi tinggi (Tasma 2015a; Tasma 2016b). Marka yang didesain dari gen-gen unggul yang diisolasi dari penelitian ini digunakan untuk percepatan seleksi karakter unggul dengan teknik MAS yang mempercepat program pemuliaan kelapa sawit. Teknologi transformasi genetik dapat juga diaplikasikan pada gen-gen unggul untuk mengintegrasikan

karakter tersebut ke genom varietas unggul kelapa sawit yang belum memiliki karakter unggul tersebut.

Variasi-variasi DNA yang diidentifikasi di atas, dengan demikian merupakan sumber daya pemuliaan yang bernilai sangat tinggi untuk tujuan penemuan gen dan juga untuk pengembangan marka DNA yang mendukung percepatan program pemuliaan kelapa sawit nasional. Jutaan SNP yang telah diidentifikasi pada penelitian ini, setelah diverifikasi dapat digunakan untuk mensintesis sistem *genotyping* kapasitas tinggi (*high throughput genotyping system*) seperti *SNP chip* kelapa sawit densitas tinggi untuk percepatan pelebelan gen/QTL unggul (Tasma 2015b; Tasma 2016a). *SNP chip* ini akan memperkaya *SNP chip* yang sudah ada saat ini yang terdiri dari 4.451 SNP (Ting *et al.*, 2014). *Genotyping* 199 individu F1 populasi persilangan interspesifik *E. guineensis* x *E. Oleifera* dapat diselesaikan hanya dalam waktu tiga bulan dan menghasilkan peta genetik dengan kandungan marka molekuler yang padat dibanding peta genetik kelapa sawit sebelumnya berdasarkan marka AFLP dan SSR (Barcelos *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2009; Billotte *et al.*, 2010; Ting *et al.*, 2013). *SNP chip* tersebut memfasilitasi percepatan pelebelan gen-gen unggul dan aplikasinya pada pemuliaan yang pada akhirnya mempersingkat siklus pemuliaan tanaman kelapa sawit (Yang *et al.*, 2014).

Tabel 2. Lokasi terjadinya perubahan variasi DNA pada genom kelapa sawit yang diperoleh pada penelitian resekuensing tiga genotipe kelapa sawit Indonesia

Tipe perubahan	Jumlah perubahan (bp)	Frekuensi perubahan (%)
<i>Downstream</i>	551,772	12.340
<i>Exon</i>	55,870	1.249
<i>Intergenic</i>	2,782,751	62.232
<i>Intron</i>	492,316	11.010
<i>None</i>	4,234	0.095
<i>Splice_site_acceptor</i>	284	0.006
<i>Splice_site_donor</i>	285	0.006
<i>Upstream</i>	584,063	13.062

Sumber: Tasma *et al.* (2016b)

Teknologi genomika maupun teknologi rekayasa genetika, dengan demikian sangat potensial untuk diaplikasikan di Indonesia untuk akselerasi program pemuliaan kelapa sawit nasional dalam rangka meningkatkan produktivitas kelapa sawit nasional diantaranya dengan memanfaatkan karakter-karakter unggul dari *E. oleifera* untuk diintegrasikan ke varietas unggul *E. guineensis* menggunakan teknik genomika didukung oleh teknologi transformasi genetik.

Diselesaikannya sekuen genom rujukan dua spesies kelapa sawit, merevolusi metode pemuliaan kelapa sawit global. Ditemukannya gen pengendali hasil minyak buah sawit (*Sh*) dan teknik deteksinya mempercepat siklus pemuliaan. Diketuainya mekanisme buah mantel dan kit deteksinya mencegah penggunaan bibit yang berpotensi menghasilkan buah mantel. Kedua karakter bernilai ekonomi tinggi tersebut, berperan penting untuk meningkatkan produktivitas kelapa sawit global. Pengembangan tanaman kelapa sawit tipe ideal meningkatkan populasi tanaman per satuan luas. Semua ini dalam rangka untuk meningkatkan ketahanan pangan dan ketahanan energi nasional serta untuk menjaga kelestarian lingkungan global.

## KESIMPULAN

Teknologi genomika telah menghasilkan peta genom rujukan dua spesies kelapa sawit *E. guineensis* dan *E. oleifera* yang menghasilkan gen *Shell* (*Sh*) yang mengendalikan produktivitas minyak, mekanisme terbentuknya buah mantel, dan sebagai fondasi untuk pengembangan marka molekuler dan penemuan gen-gen unggul untuk akselerasi program pemuliaan kelapa sawit. Resekuensing tiga genotipe kelapa sawit Indonesia telah menghasilkan jutaan variasi SNP dan Indel sebagai sumberdaya pemuliaan bernilai tinggi untuk identifikasi gen dan QTL unggul dan pengembangan marka DNA untuk mempercepat pelabelan gen-gen unggul bernilai ekonomi tinggi. Marka DNA memfasilitasi introgresi karakter unggul dari spesies *E. oleifera* ke genom *E. guineensis* menggunakan teknologi MAS. Pemanfaatan marka DNA gen ketebalan

cangkang mempercepat siklus pemuliaan kelapa sawit dan kit pendeteksi bibit berpotensi menghasilkan buah mantel dan sarana seleksi bibit tenera unggul pada level bibit untuk menjamin peningkatan produktivitas kelapa sawit. Perbanyakkan individu bahan tanaman unggul dengan teknik kultur *in vitro* menjamin penggunaan bibit unggul yang seragam dan peningkatan produktivitas pertanaman kelapa sawit di lapang. Teknologi rekayasa genetika potensial digunakan untuk perbaikan bahan tanaman yang menghasilkan minyak dengan kualitas dan kandungan gizi tinggi serta produk kelapa sawit yang dapat digunakan sebagai bioplastik, sehingga penelitian transformasi gen yang mengendalikan karakter di atas perlu dilakukan. Dengan aplikasi teknologi genomika, produktivitas kelapa sawit meningkat untuk mendekati potensi hasil 18,5 ton minyak/ha/tahun. Teknologi genomika dan rekayasa genetika sangat potensial diaplikasikan di Indonesia untuk memperbaiki produktivitas kelapa sawit nasional disertai mutu minyak yang lebih baik untuk kesehatan manusia dan untuk tujuan industri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dous, E.K., B. George, M.E. Al-Mahmoud, M.Y. Al-Jaber, H. Wang, Y.M. Salameh, E.K. Al-Azwani, S. Chaluvadi, A.C. Pontaroli, J. DeBarry, V. Arondel, J. Ohlrogge, I.J. Saie, K.M. Suliman-Elmeer, J.K. Bennetzen, R.R. Kruegger, and J.A. Malek. 2011. *De novo* genome sequencing and comparative genomics of date palm (*Phoenix dactylifera*). *Nat. Biotechnol.* 29: 521-527.
- Argout, X., J. Salse, J.M. Aury, M.J. Gaultier, G. Droc, J. Gouzy, M. Allegre, C. Chaparro, T. Legavre, S.N. Maximova, *et al.* [68 authors]. 2011. The genome of *Theobroma cacao*. *Nature Genetics* 43: 101-108.
- Asad, S., M. Arshad, S. Mansoor, and Y. Zafar. 2009. Effect of various amino acids on shoot regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 8:1214-1218.

- Barcelos, E., P. Amblard, J. Berthaud, and M. Seguin. 2002. Genetic diversity and relationship in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. *Pesqui. Agropecu. Brasileira* 37: 1105–1114. doi: 10.1590/S0100-204X2002000800008.
- Barcelos, E., S. de A. Rios, R. N. V. Cunha, R. Lopes, S. Y. Motoike, E. Babiychuk, A. Skiryecz and S. Kushnir. 2015. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. *Frontiers Plant Sci.* 6: 1-15.
- Beirnaert, A. and R. Vanderweyen. 1941. Contribution a l'etude genetique et biometrique des varietes d'*Elaeis guineensis* Jacq. Publications de l'institut national pour l'etude agronomique du Congo Belge, *serie scientifique* 27.
- Bennett, M.D. and J.B. Smith. 1991. Nuclear DNA amounts in angiosperm. *Phylosophical Transactions of the Royal Society London B* 334: 309-345.
- Benor, S., M. Zhang, Z. Wang, H. Zhang. 2008. Assessment of genetic variation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) inbred lines using SSR molecular markers. *J. Genet. Genomics* 35:373-379.
- Billotte, N., N. Marseillac, A.M. Risterucci, B. Adon, P. Brotteir, F.C. Baurens, R. Singh, A. Herran, H. Asmady, C. Billot, P. Amblard, T. Durrand-Gasselin, B. Courtois, D. Asmono, S.C. Cheah, W. Rohde, and A. Charrier. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor. Appl. Genet.* 110 (4) : 754–765.
- Billotte, N., M.F. Jourjon, N. Marseillac, A. Berger, A. Flori, H. Asmady, B. Adon, R. Singh, B. Nouy, and F. Potier. 2010. QTL detection by multi-parent linkage mapping in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor. Appl. Genet.* 120: 1673–1687.
- Boutilier, K., R. Offringa, V.K. Sharma, H. Kieft, T. Ouellet, L. Zhang, J. Hattori, C.-M. Liu, A.A.M. van Lammeren, B.L.A. Miki, J.B.M. Custers, and M.M. van Lookeren Campagne. 2002. Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryonic growth. *Plant Cell* 14: 1737–1749.
- Cadena, T., F. Prada, A. Perea, and H.M. Romero. 2013. Lipase activity, meso- carp oil content, and iodine value in oilpalm fruits of *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, and the interspecific hybrid O x G (*E. oleifera* x *E. guineensis*). *J. Sci. Food Agric.* 93: 674–680. doi:10.1002/jsfa.5940.
- Chavez, C., and F. Sterling. 1991. Variation in the total of unsaturated fattyacids in oi extracted from different oil palm germplasm. *ASD Oil Palm Papers* 3: 5–8.
- Cochard, B., P. Amblard, and T. Durand-Gasselin. 2005. Oil palm genetic improvement and sustainable development. *Oleagineux Corps Gras Lipides* 12: 141–147.
- Corley, R.H.V. dan I. H. Law. 1997. The future for oil palm clones. Dalam: Pushparajah, E., editor. *Plantation management for the 21st century*. Incomp. Soc. Planters; Kuala Lumpur. p. 279-289.
- Corley, R.H.V. 1998. "What is the upper limit to oil extraction ratio?", In *Proceedings of International Conference on Oil and Kernel Production in Oil Palm—AGlobal Perspective*, eds N. Rajanaidu, I.E. Henson, and B.S. Jalani (Kuala Lumpur: Palm Oil Research Institute of Malaysia), pp. 256–269.
- Corley, R. H. V. and P.B. Tinker. 2003. In: *The Oil Palm* 4th edn, pp. 1–26. Blackwell Science.
- Corley, R.H.V. 2009. How much palm oil do we need? *Environ. Sci. Policy* 12: 134–139. doi:10.1016/j.envsci.2008.10.011
- D'Hont, A., F. Denoeud, J. MarcAury, *et al.* [62 authors]. 2012. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature* 488: 213-219.
- Dinneny, J. R. and M.F. Yanofsky. 2005. Drawing lines and borders: how the dehiscent fruit of *Arabidopsis* is patterned. *Bioessays* 27: 42–49.

- Escobar, R. and A. Alvarado. 2004. Strategies in production of oil palm compact seeds and clones. *Exp. Agric.* 27: 13–26.
- Fauzi, Y., Y.E. Widyastuti, I. Setyawibawa., dan R.H. Paeru. 2012. Kelapa Sawit: Budidaya, Pemanfaatan Hasil dan Limbah, Analisis Usaha dan Pemasaran. Penebar Swadaya, Jakarta. 234 hal.
- Favaro, R., A. Pinyopich, R. Battaglia, M. Kooiker, L. Borghi, G. Ditta, M.F. Yanofsky, M.M. Kater, and L. Colombo. 2003. MADS-box protein complexes control carpel and ovule development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 15: 2603–2611.
- Fofana, I.J., D. Ofori, M. Poitel, D. Verhaegen. 2009. Diversity and genetic structure of teak (*Tectona grandis* L.f) in its natural range using DNA microsatellite markers. *New Forests* 37:175-195.
- Hardon, J., and G. Tan. 1969. Interspecific hybrids in the genus *Elaeis* I. cross-ability, cytogenetics, and fertility of F1 hybrids of *E. guineensis* X *E. oleifera*. *Euphytica* 18: 372–379. doi: 10.1007/BF00397784.
- Hartley, C.W.S. 1988. The botany of oil palm. In: The oil palm. 3rd edition. pp. 47-94. Longman, London.
- Jin, J., M. Lee1, B. Bai, Y. Sun, J. Qu, Rahmadsyah, Y. Alfiko, C. H. Lim, A. Suwanto, M. Sugiharti, L. Wong, J. Ye, N.-H. Chua, and G. H. Yue. 2016. Draft genome sequence of an elite Dura palm and whole-genome patterns of DNA variation in oil palm. *DNA Research* 23 (4): 1-7. doi: 10.1093/dnares/dsw036.
- Kadir, A.P.G. 2003. Novel products from transgenic oil palm. *AgBiotechNet* 113 (1): 1-9.
- Kerdsuwan, S. and S. Te-Chato. 2015. Direct somatic embryo formation from roots of *in vitro*-seedlings of oil palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.). *Walailak J. Sci. & Tech.* 13(1): 45-53.
- Lee, M., J. H. Xia, Z. Zou, J. Ye, Rahmadsyah, Y. Alfiko, J. Jin, J. V. Lieando, M. I. Purnamasari, C. H. Lim, A. Suwanto, L. Wong, N.-H. Chua, and G. H. Yue. 2015. A consensus linkage map of oil palm and a major QTL for stem height. *Sci.Rep.* 5: 8232. doi: 10.1038/srep08232.
- Low, E.T., R. Rosli, N. Jayanthi, A.H. Mohd-Amin, N. Azizi, K.L. Chan. 2014. Analyses of hypomethylated oil palm gene space. *PLoS ONE* 9: e86728. doi:10.1371/journal.pone.0086728.
- Marbun, C. L. M., N. Toruan-Mathius, Reflini, C. Utomo, and T. Liwang. 2015. Micropropagation of embryogenic callus of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) using Temporary Immersion System. *Procedia Chemistry* 14: 122 – 129.
- Mariska, I., I.M. Tasma, A. Warsun, D. Satyawan, E.G. Lestari, R. Purnamaningsih, R. Yunita, B. Martono, P. Lestari, H. Rijzaani, R. Purba, D. Asmono, Syafaruddin, I. Roostika, dan N. Nova. 2012. Penelitian peningkatan produktivitas kelapa sawit (>15%) dan kadar minyak (>10%) dengan abnormalitas < 2% melalui *molecular breeding*. Laporan Akhir Penelitian APBN Puslitbangbun. 67 hal.
- Mayes, S., F. Hafeez, Z. Price, D. Macdonald, N. Billotte, and J. Roberts. 2008. Molecular research in oil palm, the key oil crop for the future. In: *Genomics of Tropical Crop Plants*, pp. 371-404 (Eds. P. H. Moore and R. Ming) Springer.
- Meunier, J. and D. Boutin. 1975. L'Elaeis melanococca et l'hybride *Elaeis melanococca* x *Elaeis guineensis*. *première* res donne'es. *Oleagineux* 30: 5–8.
- Montoya, C., B. Cochard, A. Flori, D. Cros, R. Lopes, T. Cuellar, S. Espeout, I. Syaputra, P. Villeneuve, M. Pina, E. Ritter, T. Leroy, and N. Billotte. 2014. Genetic architecture of palm oil fatty acid composition in cultivated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) compared to its wild relative *E. oleifera* (H.B.K) Corte's. *PLoS ONE* 9 (5): e95412. doi:10.1371/journal.pone.009541214.
- Noh, A., N. Rajanaidu, A. Kushairi, M.Y. Rafil, and M. A. Din A. 2002. Variability in fatty acid composition, iodine value and carotene content in the MPOB oil palm germplasm collection from Angola. *J. Oil Palm Res.* 14: 18–23.

- Oguma, M., Y.J. Lee, and S. Goto. 2012. An overview of biodiesel in Asian countries and the harmonization of quality standards. *Int. J. Automotive Technology* 13: 33–41. doi:10.1007/s12239
- Ong, S.H., C.C. Chuah, and H.P. Sow. 1981. The co-dominance theory: genetic interpretations of analyses of mesocarp oils from elaein *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, and their hybrids. *J. Am. Oil Chemists Soc.* 58: 1032–1038. doi: 10.1007/BF02679320.
- Ong-Abdullah, M., J. M. Ordway, N. Jiang, O. Siew-Eng, K. Sau-Yee, N. Sarpan, N. Azimi, A. T. Hashim, Z. Ishak, S. K. Rosli, F. A. Malike, N. A. A. Bakar, M. Marjuni, N. Abdullah, Z. Yaakub, M. D. Amiruddin, R. Nookiah, R. Singh<sup>1</sup>, E.T. L. Low, K.L. Chan, N. Azizi, S. W. Smith, B. Bacher, M. A. Budiman, A. V. Brunt, C. Wischmeyer, M. Beil, M. Hogan, N. Lakey, C. C. Lim, X. Arulandoo, C. K. Wong, C. N. Choo, W. C. Wong, Y. Y. Kwan, S. S. R. S. Alwee, R. Sambanthamurthi, and R. A. Martienssen. 2015. Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. *Nature* 525 (7570): 533–537. doi:10.1038/nature15365.
- Parveez, G. K.A., B. Bohari, N.H. Ayub, A.M.M. Yunus, O.A. Rasid, A.T. Hashim, Z. Ishak, M.A.A. Manaf, A.K. Din, G. York, Y.B. Jo and A.J. Sinsky. 2008. Transformation of phb and phbv genes driven by maize ubiquitin promoter into oil palm for the production of biodegradable plastics. *Journal of Oil Palm Research Special Issue on Malaysia-MIT Biotechnology Partnership Programme* 2: 77-86
- Pidkowich, M.S., H.T. Nguyen, I. Heilmann, T. Ischebeck, and J. Shanklin. 2007. Modulating seed b-ketoacyl-acyl carrier protein synthase II level converts the composition of a temperate seed oil to that of a palm-like tropical oil. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 4742–4747. doi:10.1073/pnas.0611141104.
- Pinyopich, A., G.S. Ditta, B. Savidge, S. J. Liljegren, E. Baumann, E. Wisman, and M.F. Yanofsky. 2003. Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development. *Nature* 424: 85–88.
- Pootakham, W., N. Jomchai, P. Ruangareerate, J. R. Shearman, C. Sonthirod, D. Sangsrakru, S. Tragoonrung, and S. Tangphatsornruang. 2015. Genome-wide SNP discovery and identification of QTL associated with agronomic traits in oil palm using genotyping-by-sequencing (GBS). *Genomics* 105: 288–295.
- Prada, F., I.M. Ayala-Diaz, W. Delgado, R. Ruiz-Romero, and H.M. Romero. 2011. Effect of fruit ripening on content and chemical composition of oil from three oil palm cultivars (*Elaeis guineensis* Jacq.) grown in Colombia. *J Agric. Food Chem.* 59: 10136–10142. doi:10.1021/jf201999d.
- Purba, A., J. Noyer, L. Baudouin, X. Perrier, S. Hamon, and P. Lagoda. 2000. A new aspect of genetic diversity of Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) as revealed by isoenzyme and AFLP markers and its consequences for breeding. *Theor. Appl. Genet.* 101: 956–961.
- Purseglove, J. W. 1972. In *Tropical Crops (Monocotyledons)*. Longman, London. pp 416–510.
- Rajanaidu, N. 1994. *PORIM Oil Palm Genebank: Collection, Evaluation, Utilization, and Conservation of Oil Palm Genetic Resources*. Kuala Lumpur: Palm Oil Research Institute of Malaysia.
- Rajanaidu, N., A. Kushairi, M. Rafii, M. Din, I. Maizura, and B. Jalani. 2000. "Oil palm breeding and genetic resources," in *Advances in Oil Palm Research*, eds Y. Basiron, B.S. Jalani, and K.W. Chan (Kuala Lumpur: Malaysian Palm Oil Board). pp.171–227.
- Sambanthamurthi, R., K. Sundram, and Y. Tan. 2000. Chemistry and biochemistry of palm oil. *Prog. Lipid Res.* 39: 507–558.
- Schmutz, J., S.B. Cannon, J. Schlueter, J. Ma, et al. [44 authors]. 2010. Genome sequence of

- the paleopolyploid soybean. *Nature* 463: 178-183.
- Schnable, P.S., D. Ware, R.S. Fulton, J.C. Stein, *et al.* [152 authors]. 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science* 326: 1112-1115.
- Sharma, M., and Y. Tan. 1997. Oil palm breeding programme and the performance of D x P planting materials at United Plantations Berhad. *Planter* 73: 591-610.
- Rival, A. 2007. Oil Palm. In: *Transgenic Crops VI, Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Volume 61, pp. 59\_80 (Eds. E.C. Pua and M.R. Davey) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- Rosenquist, E.A. 1990. An overview of breeding technology and selection in *Elaeis guineensis*. In: *Proceedings of the 1989 International Palm Oil Development Conference – Agriculture*. pp.5\_26. Palm Oil Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Rosillo-Calle, F., L. Pelkmans, and A. Walter. 2009. A global overview of vegetable oils, with reference to biodiesel. IEA Task 40. A Report.
- Sambanthamurthi, R., R. Singh, A.P.G. Kadir, M.O. Abdullah, and A. Kushairi. 2009. "Opportunities for the oil palm via breeding and biotechnology," in *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, eds S.Mohan Jain and P.M. Priyadarshan (NewYork:Springer), pp. 377-421. doi:10.1007/978-0-387-71201-7
- Seng, TY, M.S.S. Hawa, C.W. Chin, N.C. Ting, R. Singh, Q.Z. Faridah, S.G.Tan, S.S.R. Alwee. 2011. Genetic linkage map of a high yielding FELDA Deli x Yangambi oil palm cross. *PLoS ONE* 6 (11): e26593. doi: 10.1371/journal.pone.0026593.
- Setiyo, I.E., Sudarsono, dan D. Asmono. 2001. Pemetaan dan keragaman genetik RAPD pada kelapa sawit Sungai Pancur (Rispa) (Tesis). Institut Pertanian Bogor, Bogor. 56 hlm.
- Singh, R., S.G. Tan, J.M. Panandam, R.A. Rahman, L.C. Ooi, and E.T. Low. 2009. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for fatty acid composition in an interspecific cross of oil palm. *BMC Plant Biol.* 9: 114. doi:10.1186/1471-2229-9-114.
- Singh, R., M. Ong-Abdullah, E.-T. L. Low, M. A. Manaf, R. Rosli, R. Nookiah, L. C.-L. Ooi, S.E. Ooi, K.L. Chan, M.A. Halim, N. Azizi, J. Nagappan, B. Bacher, N. Lakey, S.W. Smith, D. He, M. Hogan, M. A. Budiman, E.K. Lee, R. Desalle, D. Kudrna, J.L. Goicoechea, R.A. Wing, R.K. Wilson, R.S. Fulton, J.M. Ordway, R.A. Martienssen, and R. Sambanthamurthi. 2013a. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New worlds. *Nature* 500: 335-339.
- Singh, R., L. L. Eng-Ti, L. C. L. Ooi, M. Ong-Abdullah, N. C. Ting, J. Nagappan, R. Nookiah, M. D. Amiruddin, R. Rosli, M. A. A. Manaf, K. L. Chan, M. A. Halim, N. Azizi, N. Lakey, S. W. Smith, M. A. Budiman, M. Hogan, B. Bacher, A. V. Brunt, C. Wang, J. M. Ordway, R. Sambanthamurthi, and R. A. Martienssen. 2013b. The oil palm *Shell* gene controls oil yield and encodes a homologue of SEEDSTICK. *Nature* 500: 340-344. doi:10.1038/nature12356.
- Soh, A.C. 1999. Breeding of plants and selection methods in oil palm. In: *Proceeding of the Symposium on the Science of Oil Palm Breeding*, pp.65\_95 (Eds. N. Rajanaidu and B.S. Jalani). Palm Oil Research Institute, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Soh, A.C. and T. Y. Hor. 2000. Combining ability correlations for bunch yield and its component components in outcrossed populations in oil palm. In: *Proceedings of the International Symposium on Oil Palm Genetic Resources and Utilization*. pp. M1\_M14 (Eds. N. Rajanaidu and D. Ariffin) Malaysian Palm Oil Board, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Soh, A.C., C.K. Wong, Y. W. Ho, and C. W. Choong. 2009. Oil Palm. In: *Oil Crops, Handbook of Plant Breeding 4*, Chapter 11, pp. 333-368 (Eds. J. Vollmann and I. Rajcan) Springer Science.
- Soh, A.C., G. Wong, T.Y. Hor, C.C. Tan, and P.S. Chew. 2003. Oil palm genetic

- improvement. In: *Plant Breeding Reviews*, pp. 165\_219 (Eds. J. Janick) John Wiley & Sons, Inc.
- Soh, A.C., G. Wong, and C.C. Tan CC. 2006. Progress and challenges in commercial mass propagation of clonal oil palm. In: Sutarta, editor. *Proceedings International Oil Palm Conference*, Bali. p. 226-240.
- Tandon, R., T.N. Manohara, B.H.M. Nijalingappa, and K.R. Shivanna. 2001. Pollination and pollen-pistil interaction in oil palm, *Elaeis guineensis*. *Ann.Bot.* 87: 831–838. doi:10.1006/anbo.2001.1421.
- Tasma, I.M. 2014a. *Single nucleotide polymorphism* (SNP) sebagai marka DNA masa depan. *Warta Biogen* 10 (3): 7-10.
- Tasma, I.M., H. Rijzaani, D. Satyawan, P. Lestari, D. W. Utami, I. Rosdianti, A. R. Purba, E. Mansyah, A. Sutanto, R. Kirana, Kusmana, A. Anggraeni, M. Pabendon, and Rubiyo. 2015. Next-Gen-Based DNA Marker Development of Several Importance Crop and Animal Species. Manuscript Presented at the 13<sup>th</sup> SABRAO Congress and International Conference, 14-16 September 2015, IPB International Convention Center, Bogor, Indonesia. 8 pp.
- Tasma, I.M., dan S. Arumsari. 2013. Analisis diversitas genetik aksesori kelapa sawit Kamerun berdasarkan marka SSR. *Jurnal Littri* 19(4): 194-202.
- Tasma, I.M. 2014b. Skrining marka SSR dan Analisis filogenetik aksesori kelapa sawit menggunakan marka mikrosatelit. *Buletin Palma* 15 (1): 1-13.
- Tasma, I.M. 2015a. Pemanfaatan teknologi sekuensing genom untuk mempercepat program pemuliaan tanaman. *J. Litbang Pertanian* 34 (4): 159-168.
- Tasma, I.M. 2015b. The use of advanced genomic platforms to accelerate breeding programs of the Indonesian Agency for Agricultural Research and Development *Internat. J. Biosci. Biotechnol.* 2 (2): 43-53.
- Tasma, I.M., D. Satyawan, H. Rijzaani, I. Rosdianti, P. Lestari, and Rubiyo. 2016a. Genomic variation of five Indonesian cacao (*Theobroma cacao* L.) varieties based on analysis using next generation sequencing. *Indonesian J. of Agric. Sci.* (Accepted).
- Tasma, I.M., H. Rijzaani, A. R. Purba, and D. Satyawan. 2016b. Characterization of genomic variation on three Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) genotypes using next generation sequencing. Manuscript in preparation.
- Tasma, I.M. 2016a. Resekuensing genom, metode baru karakterisasi variasi SDG tanaman secara komprehensif mendukung akselerasi program pemuliaan tanaman. *Warta Biogen* 12 (1): 2-6.
- Tasma, I.M. 2016b. Pemanfaatan teknologi DNA untuk akselerasi program pemuliaan ketahanan tanaman kakao terhadap hama dan penyakit utama. *J. Litbang Pert.* 35 (Accepted).
- Thomson, M.K. 2014. High throughput SNP genotyping to accelerate plant breeding. *Plant Breed. Biotech.* 2 (3): 195-212.
- Ting, N.-C., J. Jansen, J. Nagappan, Z. Ishak, C.-W. Chin, S.-G. Tan, S.-C. Cheah, R. Singh. 2013. Identification of QTLs associated with callogenesis and embryogenesis in oil palm using genetic linkage maps improved with SSR markers. *PLoS ONE* 8(1): e53076. doi:10.1371/journal.pone.0053076.
- Ting, N.C. , J. Jansen, S. Mayes, F. Massawe, R. Sambanthamurthi, L. C.-L. Ooi, C.W. Chin, X. Arulandoo, T.-Y. Seng, S. S. R. S. Alwee, M. Ithnin and R. Singh. 2014. High density SNP and SSR-based genetic maps of two independent oil palm hybrids. *BMC Genomics* 15: 309-320.
- Toruan-Mathius, N., T. Hutabarat, U. Djulaicha, A.R. Purba, and T. Hutomo. 1997. Identification of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Dura, Pisifera, and Tenera by RAPD markers. *Proc. IBC.* 97: 237 – 248.
- Varshney, R.K., S.N. Nayak, G.D. May, and J.A. Jackson. 2009. Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends in Biotechnology* 9: 522-530.

- Varshney, R.K., W. Chen, Y. Li, A.K. Bharti, R.K. Saxena, J.A. Schlueter, M.T.A. Donoghue, S. Azam, G. Fan, A.M. Whaley, D. Andrew *et al.* [31 authors]. 2012. Draft genome sequence of pigeonpea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers. *Nature Biotechnology* 30: 83-89. doi:10.1038/nbt.2022.
- Wahid, M.B., S.N.A. Abdullah, and I.E. Henson. 2005. Oil palm-achievements and potential. *Plant Prod. Sci.* 8:288–292.
- Wong, C.K., and R. Bernardo. 2008. Genome wide selection in oil palm: increasing selection gain per unit time and cost with small populations. *Theor. Appl. Genet.* 116: 815–824. doi:10.1007/s00122-008-0715-5.
- Xu, X., S. Pan, S. Cheng, B. Zhang, *et al.* [94 authors]. 2011. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature* 475: 189-195.
- Yang, W., Z. Guo, C. Huang, L. Duan, G. Chen, and N. Jiang. 2014. Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in oil palm. *Nat. Commun.* 5: 5087. doi:10.1038/ncomms6087.
- Yu J, Hu S, Wang J, Wong GK, *et al.* [85 authors]. 2002. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science* 296: 79-92.
- Zeven. 1965. On the origin of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *J. Niger. Inst. Oil Palm Res.* 4: 218.
- Zheng, Y., N. Ren, H. Wang, A. J. Stromberg, and S. E. Perry. 2009. Global identification of targets of the Arabidopsis MADS domain protein AGAMOUS-Like15. *Plant Cell* 21: 2563–2577.