

KERAGAMAN GENETIK TIGA POPULASI KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) TIPE PISIFERA BERDASARKAN MARKA RAPD
(Genetic diversity three populations of palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq.) of pisifera type using RAPD markers)

Heru Prayogi¹, Mohammad Basyuni², Lollie A. P. Putri³

¹Mahasiswa Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Jl. Tridarma Ujung No. 1 Kampus USU Medan 20155

(Penulis Korespondensi, Email:heruerk@yahoo.com)

²Staf Pengajar Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

³Staf Pengajar Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

ABSTRACT

Palm oil producing oil is one of the famous of oil palm plantations as a source of producer non-petroleum oil for Indonesian foreign exchange. Superior varieties of palm oil produced by various research institutions that is tenera originated crossly from dura x pisifera (DxP). Pisifera has an important function in the production of seed of oil palm. Pisifera population is very important to be managed and developed. A RAPD is a method to identify a number of large polymorphism DNA in the genome quickly, efficiently and suitable for the study of genetic diversity. The purpose of this research is to analyze genetic diversity on pisifera type of palm oil by three population namely Yangambi origin, LaMe origin and LaMe silang lanjut in Bangun Bandar seed productions PT Socfin Indonesia analyzed by RAPD markers. Eighteen sample for each pisifera population of Yangambi origin, LaMe origin and LaMe silang lanjut showed moderate level of genetic diversity which is shown the average value of 0.24 with the highest was 0,28 and the lowest value was 0.21. The percentage of highest polymorphic on the primer 15 and primer 19 of LaMe origin which reached 100%. The Polymorphic information content (PIC) highest on the primer 11 was on Yangambi origin and primer 10 was laMe silang lanjut of 0.49, while to the lowest PIC on primer 21 of LaMe origin was 0.01.

Key words: Palm oil, Elaeis guineensis Jacq., RAPD, genetic diversity

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa sawit disebut juga dengan *Elaeis guineensis* Jacq. *Elaeis* berasal dari kata *Elaion* yang dalam bahasa Yunani berarti minyak. *Guineensis* berasal dari kata *Guinea* yaitu Pantai Barat Afrika dan *Jacq* singkatan dari *Jacquin* seorang Botanist dari Amerika. Varietas *Elaeis guineensis* Jacq. cukup beragam dan biasanya diklasifikasikan atas tipe buah, bentuk luar, tebal cangkang, warna buah dan lain-lain. Perluasan lahan kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq.) di Indonesia selalu meningkat setiap tahunnya, bahkan perusahaan perkebunan negara yaitu PT. Perkebunan Nusantara berencana untuk mengembangkan sekitar 1,8 juta hektar perkebunan kelapa sawit di kawasan perbatasan Indonesia dan Malaysia. Dengan demikian diperlukan bibit dalam jumlah yang sangat banyak. Perbanyakkan secara generatif akan menghasilkan tanaman yang beragam karena kelapa sawit merupakan tanaman yang menyerbuk silang. Dengan demikian harus dilakukan perbanyakkan secara vegetatif (Badan litbang pertanian, 2013).

Tingkat produksi yang dicapai pertamanya ditentukan oleh potensi genetik varietas,

faktor lingkungan dan pengelolaan. Varietas unggul kelapa sawit yang dihasilkan oleh berbagai lembaga riset adalah tenerayang merupakan hibrida dura x pisifera (DxP), yaitu bunga jantan (pollen) dari jenis pisifera dikawinkan padabunga betina dari jenis dura. Jadi, benih yang membawah sifat gabungan kedua jenis sawit tersebut adalah biji dari dura. Benih biji hibrida dengan yang bukan hibrida tidak bisa dibedakan baik dalam hal ukuran, bentuk dan warnanya sehingga membuka peluang pemalsuan. Begitupula dengan bibitnya, tidak dapat dibedakan secara kasat mata. Selain menjual benih dura, para pemalsu benih juga menjual biji dari tenera yang dipanen dari kebun produksi. Kekeliruan memilih benih baru disadari ketika tanaman sudah memasuki fase berproduksi. Jika biji palsu berasal dari dura, maka seluruh tanaman adalah dura, tetapi kalau berasal dari biji tenera, maka sebagian akan kembali ke induk dura, sebagian kembali ke induk pisifera, dan sisanya seperti tenera sehingga kerugian yang ditimbulkan sangat besar. Untuk meminimalisir kesalahan, usahakan membeli benih kelapa sawit hanya dari produsen resmi yang bersertifikat melalui prosedur resmi yang ditetapkan oleh produsen bersangkutan (Syakir, 2010).

Pisifera memiliki fungsi yang penting dan nilai ekonomis yang tinggi dalam produksi benih kelapa sawit. Dalam industri perbenihan kelapa sawit, konservasi yang baik pada serbuk sari pisifera akan dapat menunjang program penyerbukan buatan yang berkelanjutan dalam produksi benih dan pemuliaan yang terus berkembang. Oleh karena itu populasi pisifera merupakan salah satu faktor penting untuk dikelola dan dikembangkan (Raganata, 2006).

Dewasa ini penelitian dengan menggunakan metode marka molekuler berkembang sangat pesat, salah satu metode itu adalah dengan menggunakan penanda Random amplified polymorphism DNA (RAPD). Metode RAPD merupakan metode untuk mengidentifikasi sejumlah besar polimorfisme DNA padagenom dengan cepat dan efisien. Tipe polimorfisme ini membuat RAPD cocok untuk studi keanekaragaman genetik, hubungan kekerabatan, peta genetik, sidik jari DNA. Sidik jari DNA banyak digunakan untuk kasus paternity dan forensik. Metode RAPD menggunakan oligonukleotida pendek (biasanya 10 bp) sebagai primer yang akan berikatan dengan bagian (sites) komplemennya (Aggereini, 2008).

Oleh karena itu diperlukan studi keragaman genetik tipe pisifera berdasarkan marka RAPD. Metode RAPD digunakan untuk mendeteksi polimorfisme DNA yang digunakan sebagai genetik marker dan menentukan hubungan kekerabatan pada bermacam-macam tanaman. Metode RAPD merupakan penanda molekuler berbasis PCR. PCR adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara in vitro.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2014 sampai dengan bulan Desember 2014. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium DNA, Pusat Seleksi Bangun Bandar PT. SOCFINDO, Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar, aluminium foil, pastle, mikropipet, rak tube, waterbath, stirer, sentrifuge labogene ls522512090060, kulkas, freezer, komputer, nanospec nanolytik aw1203004, timbangan elektrik, erlenmeyer, microwave, cetakan agarose, bak elektroforesis, PCR sensoquest 1122290162, Spin, UV Transilluminator dan geldoc UVP P/N 95-0422-02.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelapa sawit muda dari tiga origin pisifera yaitu: Yangambi origin, LaMe origin, LaMe silang lanjut masing-masing 18 tanaman untuk tiap origin, air, polyvinyl-polypropyrolidone, nitrogen cair, buffer ekstraksi castillo, β -merkuptoethanol, tube axygen 2 ml, tube biologix 1,5 ml, tube biologix 0,2 ml, chloroform : isoamil alkohol, isopropanol, buffer TE, CH_3COONa 3 M pH 5.2, ethanol absolute, ethanol 70%, RNA-se, larutan TBE 0,5x, gel agarose vivantis, gelred, es, nuclease free water, loading buffer, GoTaq green master mix dan primer RAPD.

Primer RAPD yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak lima primer urutan basa dari masing-masing primer dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nama primer RAPD

Primer	Urutan Basa
P6	TACCACCCCG
P10	GGACCCAACC
P11	GTCGCCGTCA
P15	TTGGCACGGG
P19	AGCGCCATTG
P21	GGGGTGACGA

Metode Penelitian

A. Pengambilan sampel

Semua alat disiapkan seperti pisau dan plastik sampel, lalu sampel daun muda di lapangan dari masing-masing 1 helai per tanaman untuk 18 tanaman per populasi. Daun dibersihkan dengan air bersih kemudian dibuang tulang daunnya dan daun dipotong kecil-kecil. Dimasukkan potongan daun ke aluminium foil lalu simpan ke dalam kulkas.

B. Isolasi DNA

Daun kelapa sawit muda yang sudah dicuci dan bersih ditambahkan ke dalam mortar dingin sebanyak 0,1 gr. Kemudian ditambahkan \pm 0,1 gr Polyvinyl-Polypyrrolidone dan nitrogen cair, gerus hingga halus. Serbuk halus yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam tube 1,5 ml yang berisi 1 ml buffer Castillo yang telah dipanaskan dan diberi 2 μ l β -merkuptoethanol 1%. Campuran tersebut kemudian dikocok menggunakan stirer, lalu dipanaskan selama 30 menit pada suhu 65°C di waterbath. Larutan dibiarkan dingin pada suhu kamar lalu, ditambahkan chloroform : isoamil alkohol 1 Volume. Larutan tersebut disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 11.000 rpm.

Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tube 2 ml yang baru. Kemudian ditambahkan 1 volume Chloroform : Isoamil

alkohol, Tube tersebut dikocok bolak balik, kemudian tube tersebut disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 11.000 rpm, cairan bagian atas didalam tube kemudian dipipet dan dimasukkan kedalam tube baru kemudian ditambahkan isopropanol dingin sebanyak 1 volume. Dikocok perlahan hingga homogen kemudian simpan dalam kulkas 1 - 4 jam, kemudian disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 11.000 rpm. Cairan dan pellet DNA dibuang dandikeringkan dengan cara membalikkan tabung.

Pellet DNA dilarutkan dalam 0,1 ml buffer TE, kemudian ditambahkan CH3COONa 3 M pH 5.2 sebanyak 1/10 volume dan ethanol absolute sebanyak 2,5 volume. Larutan tersebut dikocok hingga homogen dan disimpan dalam freezer selama 30 menit atau semalam. Kemudian larutan tersebut disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, Cairan tersebut kemudian dibuang dan pellet DNA diambil kemudian dicuci dengan ethanol 70% lalu dikeringkan. Pellet DNA yang sudah kering dilarutkan dalam 50 µl buffer TE atau nuclease free water, Ditambahkan RNA-se 25 µl, kemudian simpan dalam freezer. Kualitas DNA kemudian diuji dengan elektroforesis gel agarose 2% dan konsentrasinya diukur dengan nanospec pada panjang gelombang 230, 260 dan 280 nm.

C. Pengukuran konsentrasi DNA

Sebanyak 1 µl larutan diukur menggunakan nanospec, kemudian sebagai blanko digunakan nuclease free water. Absorban diukur pada panjang gelombang 230, 260 dan 280 nm. Kemurnian DNA ditentukan dari nilai perbandingan A260/A280.

D. Gel agarose 1%

Agarose ditimbang sebanyak 2 gr lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml. Tambahkan TBE 0,5x sampai 200 ml, kemudian panaskan menggunakan microwave. Angkat dan biarkan sampai suhu turun, siapkan cetakan gel elektroforesis. Tambahkan gelred 2% atau 4 µ, kocok hingga homogen, lalu tuang larutan agarose ke cetakan, tunggu hingga padat ± 30 menit.

E. Running gel elektroforesis

Bak elektroforesis disiapkan dandiisi dengan TBE 0,5x sebanyak 300 ml. Kemudian cetakan gel yang sudah kering dimasukkan ke dalam bak, cetakan gel dipastikan terendam dalam buffer. kemudian loading buffer disiapkan dalam parafilm dan dicampurkan dengan sampel. Dimasukkan sampel ke dalam sumur-sumur elektroforesis lalu dijalankan alat elektroforesis

dengan menghubungkannya dengan power supply dengan suhu 80oC selama 270 menit.

F. Reaksi PCR primer dengan RAPD.

Semua reagen PCR disiapkan di atas es dan dibuat campuran primer RAPD dengan konsentrasi Go Taq mix 2,5 µl, primer 1 µl, DNA 3 µl, aquades atau nukleus free water 3,5 µl yang dimasukkan dalam tube 0,2 ml. Kemudian dijalankan reaksi pada mesin PCR dengan program :

Tabel 2. Program mesin PCR(Sathis dan Mohankumar 2006).

Step	Suhu (°C)	Waktu	Jumlah siklus
Pre	95	4 menit	1
Denaturasi			
Denaturasi	95	45 detik	
Annealing	35	45 detik	40
Ekstensi	72	1 menit	
Ekstensi	72	7 menit	1
Akhir			
Cooling	4	Unlimited	

G. Penanda RAPD

Gel agarose disiapkan dengan konsentrasi 2%, kemudiandicetak dan dimasukkan ke dalam bak elektroforesis, loading buffer kemudian disiapkan dalam parafilm. Loading buffer dan sampel kemudian dimasukkan ke dalam sumur-sumur elektroforesis. Alat elektroforesis dijalankan dengan menghubungkannya dengan power supply dan ditunggu 4 - 5 jam. Gel agarose kemudian dikeluarkan dari bak elektroforesis kemudian hasil running elektroforesis difoto menggunakan Geldoc.

Penentuan Skoring Marka RAPD

Untuk menentukan keragaman genetik, produk PCR – RAPD diskoring berdasarkan muncul tidaknya pita DNA. Pita yang muncul pada gel diasumsikan sebagai alel RAPD. Keragaman alel RAPD ditentukan dari perbedaan migrasi alel pada gel dari masing-masing individu sampel. Berdasarkan ada atau tidaknya pita, profil pita diterjemahkan kedalam data biner. Pita yang muncul diberi kode 1 (ada) dan 0 (tidak ada).

Menurut Roldan-Ruiz (2000) nilai PIC (Polymorphic Information Content) beberapa marker dihitung dengan menggunakan rumus :

$$PIC_i = 2f_i (1-f_i)$$

Dengan:

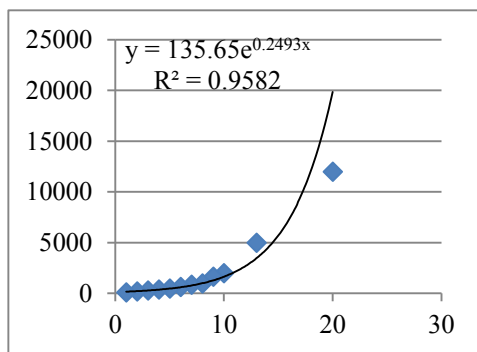
PIC_i = Polymorphic Information Content pada marker

f_i = frekuensi pita primer yang muncul

1-fi = frekuensi pita primer yang tidak muncul

Penentuan Ukuran Pasangan Basa

Ukuran fragmen basa (pasangan basa = bp) produk PCR ditentukan dengan log jarak menggunakan program regresi linier. Fragmen DNA standar (DNA ladder) digunakan sebagai absis (x) dan log jarak migrasi sebagai ordinat (y). Dari persamaan ini ditentukan ukuran pasangan basa dari fragmen produk PCR berdasarkan log jarak dari fragmen tersebut. Untuk selanjutnya perhitungan dan analisis keragaman genetik penelitian ini menggunakan software GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse 2012).

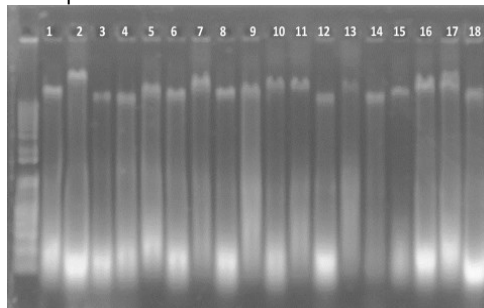


Gambar 1. Kurva standar primer RAPD

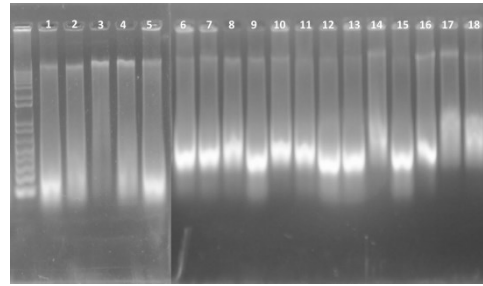
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Profil Pita Hasil Isolasi DNA Tanaman Kelapa Sawit Tipe Pisifera

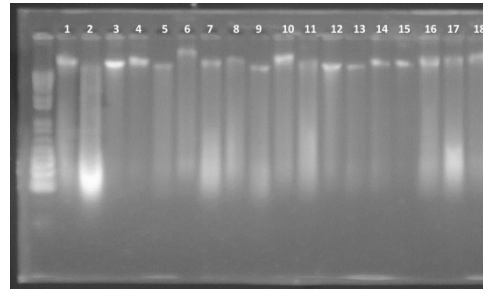
Hasil dari proses isolasi DNA tanaman kelapa sawit yang dilakukan kemudian diuji kualitasnya menggunakan gel agarose. Harahap (2014) menyatakan uji kualitatif terhadap sampel DNA dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 0,8%. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kualitas DNA yang diperoleh. Dari uji kualitatif DNA tanaman kelapa sawit diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Gambar 2-4.



Gambar 2. Uji kualitas 18 DNA kelapa sawit tipe pisifera origin Yangambi



Gambar 3. Uji kualitas 18 DNA kelapa sawit tipe pisifera origin LaMe.



Gambar 4. Uji kualitas 18 DNA kelapa sawit tipe pisifera origin LaMe silang lanjut

Uji kualitas DNA tanaman kelapa sawit Yangambi origin tipe pisifera (Gambar 2) menunjukkan 18 sampel DNA memiliki pita yang relatif terang pada sampel nomor 1 sampai 18 kecuali pada nomor 13 yang kurang terang. Uji kualitas DNA kelapa sawit LaMe origin tipe pisifera (Gambar 3) menunjukkan pita yang terang untuk sampel nomor 1, 2, 3, 4, 5, 14, 16, 17 dan sisanya menunjukkan pita yang tipis dan kurang terang. Uji kualitas DNA kelapa sawit LaMe silang lanjut tipe pisifera (Gambar 4) menunjukkan pita yang terang untuk sampel nomor 1, 3, 4, 10, 12, 16 dan sisanya menunjukkan pita yang kurang terang. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi cetakan DNA (Poerba, 2008).

Dari gambar 2-4 dapat dilihat bahwa pita dari DNA memiliki karakter yang beragam, Prana dan Hartati (2003) menyatakan walaupun karakter yang dihasilkan melalui penggunaan primer RAPD bisa sangat banyak, namun dalam menentukan jenis primer (sekuen primer) dan kondisi PCR yang sesuai (dapat annealing) untuk menghasilkan produk amplifikasi yang maksimum perlu dilakukan penelitian tersendiri. Tobing (2014) juga menyatakan pita yang muncul memiliki ukuran basa dan intensitas yang bervariasi. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian DNA dan konsentrasi DNA dalam reaksi. Kriteria primer yang dapat digunakan untuk analisis RAPD

adalah primer yang dapat menghasilkan pita-pita polimorfik, pita-pita yang dihasilkan jelas dan mudah dibaca (Hartati, 2007). DNA yang diisolasi dari tanaman seringkali terkontaminasi oleh polisakarida dan metabolit sekunder.

Teknik yang digunakan dalam percobaan kali ini adalah kombinasi penambahan antioksidan polivinilpolipirolidon (PVPP) dan mercaptoethanol pada buffer ekstraksinya (Syafaruddin, 2011). Pada teknik RAPD tingkat kemurnian DNA tidak perlu terlalu tinggi dengan kata lain teknik ini toleran terhadap tingkat kemurnian DNA. Keuntungan lain metode RAPD adalah kuantitas DNA yang dibutuhkan hanya sedikit (Latief, 2014), dengan kuantitas DNA yang sedikit ini, segmen DNA nantinya dapat diamplifikasi sampai jutaan kali dalam beberapa jam, hal ini dijelaskan oleh Handoyo dan Ari (2000) yang menyatakan bahwa Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam waktu beberapa jam.

Nilai kemurnian dari sampel Yangambi origin (Tabel 3) menunjukkan nilai terendah 1,33 dan nilai tertinggi 1,74 dengan rata-rata 1,58, sementara nilai konsentrasi tertinggi adalah 1480 ng/μl dan terendah 450 ng/μl dengan rata-rata 963,05 ng/μl. Nilai kemurnian dari sampel LaMe origin (Tabel 4) menunjukkan nilai terendah 1,55 dan nilai tertinggi 1,77 dengan rata-rata 1,66, sementara nilai konsentrasi tertinggi adalah 1330 ng/μl dan terendah 310 ng/μl dengan rata-rata 619,16 ng/μl. Nilai kemurnian dari sampel LaMe silang lanjut (Tabel 5) menunjukkan nilai terendah 1,21 dan nilai tertinggi 1,77 dengan rata-rata 1,55, sementara nilai konsentrasi tertinggi adalah 1620 ng/μl dan terendah 390 ng/μl dengan rata-rata 1004,44 ng/μl.

Nilai kemurnian yang didapat untuk analisis molekuler dipengaruhi oleh metode yang digunakan, hal ini berkaitan dengan Pharmawati (2009) yang menyatakan analisis molekuler tumbuhan tergantung pada jumlah dan kemurnian sampel DNA serta kondisi optimum reaksi. Oleh karena itu diperlukan metode yang tepat dalam ekstraksi DNA dan reaksi molekuler seperti PCR. PCR adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*.

Analisis Profil Pita Hasil Amplifikasi PCR Tanaman Kelapa Sawit Tipe Pisifera

Pada Tabel 6 diketahui bahwa tingkat keragaman tertinggi terdapat pada populasi Yangambi origin dengan rata-rata sebesar 0,28, sedangkan keragaman terendah terdapat pada populasi LaMe silang lanjut dengan rata-rata 0,21 dengan rata-rata total 0,24. Menurut Olivia (2012)

dominant marker seperti RAPD hanya dapat memproduksi dua alel pada masing-masing lokus. Maka dari itu nilai H maksimum adalah 0,5. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan nilai keragaman rata-rata adalah 0,24. Nilai keragaman ini nantinya akan digunakan untuk menyusun strategi pemuliaan sesuai pernyataan dari Langga (2012) yang menyatakan bahwa Keragaman genetik merupakan faktor yang sangat berpengaruh dalam menyusun strategi pemuliaan pohon. Karakter genetik suatu jenis pohon baik yang terdapat dalam satu tempat tumbuh maupun yang berbeda provenansinya, hal ini disebabkan karena perbedaan genetik.

Tabel 6. Keragaman genetik sawit tipe pisifera

Locus	N	Na	Ne	I	H	Uh	PoP (%)
(a)							
Yangambi origin							
P6	18	1,85	1,60	0,52	0,35	0,37	92,31
P10	18	0,89	1,24	0,21	0,14	0,15	44,44
P11	18	1,50	1,42	0,38	0,25	0,26	75,00
P15	18	1,33	1,47	0,39	0,26	0,28	66,67
P19	18	1,47	1,52	0,43	0,29	0,31	73,33
P21	18	1,88	1,75	0,57	0,40	0,42	93,75
Rata-rata					0,28		74,25
(b) LaMe origin							
P6	18	0,92	1,13	0,15	0,09	0,10	46,15
P10	18	1,56	1,52	0,45	0,31	0,32	77,78
P11	18	1,62	1,60	0,48	0,33	0,35	81,25
P15	18	2,00	1,54	0,52	0,34	0,36	100,00
P19	18	2,00	1,30	0,37	0,22	0,23	100,00
P21	18	0,25	1,01	0,03	0,01	0,01	12,50
Rata-rata					0,22		69,61
(c) LaMe silang lanjut							
P6	18	0,15	1,07	0,05	0,04	0,04	7,69
P10	18	1,44	1,55	0,45	0,31	0,33	72,22
P11	18	1,50	1,54	0,45	0,31	0,32	75,00
P15	18	1,00	1,38	0,29	0,20	0,22	50,00
P19	18	0,67	1,30	0,22	0,16	0,17	33,33
P21	18	1,25	1,42	0,36	0,25	0,26	62,50
Rata-rata					0,21		50,12

(ket. Na= jumlah alel yang berbeda, Ne= jumlah alel efektif, I= index Shannon, H= keragaman dan

Uh= keragaman tidak bias, PoP= persentase polimorfik)

Rata-rata nilai persentase polimorfik tertinggi terdapat pada populasi Yangambi origin sebesar 74,25%, hal ini menunjukkan bahwa tingkat persentase polimorfik berpengaruh pada tingkat keragaman genetik, sesuai pernyataan dari Hartati (2007) yang menyatakan bahwa jumlah pita DNA polimorfik dalam analisis keragaman genetik menentukan tingkat keragaman dalam suatu populasi, sehingga banyaknya pita DNA yang polimorfis akan menggambarkan keadaan suatu genom dan memperkecil bias yang disebabkan oleh tidak terwakilinya bagian-bagian genom. Penanda molekuler yang digunakan dapat menunjukkan perubahan yang terjadi pada material genetik.

Pada hasil elektroforesis DNA kelapa sawit tipe pisifera menggunakan primer 06 menunjukkan pola pita yang berbeda antara Yangambi origin (Gambar 5), LaMe origin (Gambar 6) dan LaMe silang lanjut (Gambar 7) dengan total pita yang dihasilkan sebanyak 13 dengan ukuran pita berkisar antara 300 bp - 3000 bp. Persentase pita polimorfik sebesar 92,31% untuk Yangambi origin, 46,15% untuk LaMe origin dan 7,69% untuk LaMe silang lanjut. Nilai PIC primer ini (Tabel 6) sebesar 0,41 untuk Yangambi origin, 0,10 untuk LaMe origin dan 0,08 untuk LaMe silang lanjut.

Pada hasil elektroforesis DNA kelapa sawit tipe pisifera menggunakan primer 10 menunjukkan pola pita yang berbeda antara Yangambi origin (Gambar 8), LaMe origin (Gambar 9) dan LaMe silang lanjut (Gambar 10) dengan total pita yang dihasilkan sebanyak 18 dengan ukuran pita berkisar antara 220 bp - 4000 bp. Persentase pita polimorfik sebesar 44,44% untuk Yangambi origin, 77,78% untuk LaMe origin dan 72,22% untuk LaMe silang lanjut. Nilai PIC primer ini (Tabel 6) sebesar 0,38 untuk Yangambi origin, 0,34 untuk LaMe origin dan 0,49 untuk LaMe silang lanjut.

Pada hasil elektroforesis DNA kelapa sawit tipe pisifera menggunakan primer 11 menunjukkan pola pita yang berbeda antara Yangambi origin (Gambar 11), LaMe origin (Gambar 12) dan LaMe silang lanjut (Gambar 13) dengan total pita yang dihasilkan sebanyak 16 dengan ukuran pita berkisar antara 170 bp - 3500 bp. Persentase pita polimorfik sebesar 75% untuk Yangambi origin, 81,25% untuk LaMe origin dan 75% untuk LaMe silang lanjut. Nilai PIC primer ini (Tabel 6) sebesar 0,49 untuk Yangambi origin, 0,39 untuk LaMe origin dan 0,48 untuk LaMe silang lanjut.

Pada hasil elektroforesis DNA kelapa sawit tipe pisifera menggunakan primer 15 menunjukkan pola pita yang berbeda antara Yangambi origin (Gambar 14), LaMe origin (Gambar 15) dan LaMe silang lanjut (Gambar 16) dengan total pita yang dihasilkan sebanyak 12 dengan ukuran pita berkisar antara 200 bp - 3000 bp. Persentase pita polimorfik sebesar 66,67% untuk Yangambi origin, 100% untuk LaMe origin dan 50% untuk LaMe silang lanjut. Nilai PIC primer ini (Tabel 6) sebesar 0,44 untuk Yangambi origin, 0,36 untuk LaMe origin dan 0,34 untuk LaMe silang lanjut.

Pada hasil elektroforesis DNA kelapa sawit tipe pisifera menggunakan primer 19 menunjukkan pola pita yang berbeda antara Yangambi origin (Gambar 17), LaMe origin (Gambar 18) dan LaMe silang lanjut (Gambar 19) dengan total pita yang dihasilkan sebanyak 15 dengan ukuran pita berkisar antara 150 bp - 4000 bp. Persentase pita polimorfik sebesar 73,33% untuk Yangambi origin, 100% untuk LaMe origin dan 33,33% untuk LaMe silang lanjut. Nilai PIC primer ini (Tabel 6) sebesar 0,37 untuk Yangambi origin, 0,23 untuk LaMe origin dan 0,24 untuk LaMe silang lanjut.

Pada hasil elektroforesis DNA kelapa sawit tipe pisifera menggunakan primer 21 menunjukkan pola pita yang berbeda antara Yangambi origin (Gambar 20), LaMe origin (Gambar 21) dan LaMe silang lanjut (Gambar 22) dengan total pita yang dihasilkan sebanyak 16 dengan ukuran pita berkisar antara 200 bp - 4000 bp. Persentase pita polimorfik sebesar 93,75% untuk Yangambi origin, 12,50% untuk LaMe origin dan 62,50% untuk LaMe silang lanjut. Nilai PIC primer ini (Tabel 6) sebesar 0,47 untuk Yangambi origin, 0,01 untuk LaMe origin dan 0,39 untuk LaMe silang lanjut.

Ukuran pita tertinggi (Tabel 7) terdapat pada primer 10, 19 dan 21 sebesar 4000 bp untuk masing-masing populasi sedangkan untuk ukuran pita terkecil terdapat pada primer 19 sebesar 150 bp untuk masing-masing populasi. Frekuensi pola pita tertinggi terdapat pada primer 11 Yangambi origin sebesar 0,531 dan terendah terdapat pada primer 21 LaMe origin sebesar 0,006.

Tabel 7. Lokus, ukuran pita, frekuensi pola pita, persentase pita polimorfik dan polymorphic information content (PIC) DNA

No	Lokus	Ukuran Pita (bp)	Frekuensi Pola Pita	Persentase Pita Polimorfik	PIC
				(%)	
(a)	Yangambi origin				

1	P6	300-3000	0,30	92,31	0,41
2	P10	220-4000	0,26	44,44	0,38
3	P11	170-3500	0,53	75,00	0,49
4	P15	200-3000	0,33	66,67	0,44
5	P19	150-4000	0,25	73,33	0,37
6	P21	200-4000	0,39	93,75	0,47
(b) LaMe origin					
7	P6	300-3000	0,05	46,15	0,10
8	P10	220-4000	0,22	77,78	0,34
9	P11	170-3500	0,27	81,25	0,39
10	P15	200-3000	0,24	100,00	0,36
11	P19	150-4000	0,13	100,00	0,23
12	P21	200-4000	0,01	12,50	0,01
(c) LaMe silang lanjut					
13	P6	300-3000	0,05	7,69	0,08
14	P10	220-4000	0,44	72,22	0,49
15	P11	170-3500	0,41	75,00	0,48
16	P15	200-3000	0,22	50,00	0,34
17	P19	150-4000	0,14	33,33	0,24
18	P21	200-4000	0,27	62,50	0,39
Total			4,53	1163,92	6,01
Rata-rata			0,25	64,66	0,33

Persentase pita polimorfik tertinggi (Tabel 7) terdapat pada primer 15 dan primer 19 LaMe origin yang mencapai 100%, sedangkan persentase terendah terdapat pada primer 06 LaMe silang lanjut dengan nilai 7,69%. Nilai PIC tertinggi terdapat pada primer 11 Yangambi origin dan primer 10 LaMe silang lanjut sebesar 0,49, sedangkan untuk nilai PIC terendah terdapat pada primer 21 LaMe origin sebesar 0,01. Tasma (2013) menyatakan nilai PIC dan jumlah alel per lokus sangat bergantung dari keragaman aksesi plasma nutfah yang diuji. Gusmiaty (2012) menyatakan bahwa keberhasilan amplifikasi DNA genom menggunakan teknik RAPD sangat ditentukan oleh urutan basa primer yang digunakan serta kualitasnya atau kandungan primer dalam setiap reaksi.

Persentase nilai polimorfik yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa metode RAPD cocok untuk studi tentang keragaman genetik sesuai pernyataan Anggereini (2008) yang menyatakan bahwa Metode RAPD merupakan metode untuk mengidentifikasi sejumlah besar polimorfisme DNA padagenom dengan cepat dan efisien. Tipe

polimorfisme inimembuat RAPD cocok untuk studi keanekaragaman genetik, hubungan kekerabatan, peta genetik, sidik jari DNA.

Prana dan Hartati (2003) menyatakan untuk tujuan analisis keragaman, hal penting lainnya adalah pemilihan primer yang dapat menampilkan polimorfisme pita-pita DNA diantara individu yang diuji. Kualitas pita DNA yang tajam juga penting untuk memudahkan interpretasi dan keakuratan data. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kualitas pita DNA produk amplifikasi PCR dalam analisis RAPD adalah konsentrasi MgCl₂, konsentrasi DNA, konsentrasi enzim polimerase, primer dan suhu siklus PCR terutama suhu annealing. Langga (2012) menyatakan bahwa keragaman genetik dapat diamati dengan pengamatan karakter genetik, sifat yang diamati adalah DNA yang sulit dipengaruhi lingkungan. Yusuf (2010) menyatakan bahwa variasi genetik dilihat dari perbedaan jumlah fragmen, ukuran fragmen dan jumlah pita polimorfik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari 18 sampel untuk setiap populasi Yangambi origin, Lame origin dan Lame silang lanjut sawit tipe pisifera dapat diketahui tingkat keragaman genetik yang sedang dengan nilai rata-rata 0,24 dengan nilai tertinggi 0,28 dan nilai terendah 0,21. Persentase pita polimorfik tertinggi terdapat pada primer 15 dan primer 19 Lame origin yang mencapai nilai 100%. Nilai PIC tertinggi terdapat pada primer 11 Yangambi origin dan primer 10 Lame sl sebesar 0,49, sedangkan untuk nilai PIC terendah terdapat pada primer 21 Lame origin sebesar 0,01. Rekomendasi primer untuk tiga populasi ini adalah primer 11 dilihat dari nilai PIC yaitu 0,49, 0,39, dan 0,48 dengan rata-rata 0,45.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menambah keragaman genetik tanaman kelapa sawit tipe pisifera dengan menggunakan primer yang berbeda atau dengan marka kodominan.

DAFTAR PUSTAKA

Aggereini, E. 2008. Random amplified polymorphic DNA (RAPD), suatu metode analisis DNA dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi. *Biospecies*, 1 (2): 73 - 76.

- Badan litbang pertanian. 2013. Inovasi Kultur Jaringan Kelapa Sawit. Sinartani Edisi 23-29 Januari 2013 No.3491 Tahun XLIII.
- Handoyo, D dan A. Rudiretna. 2000. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR), *Unitas*, 9 (1):17 - 29.
- Harahap, A. S. 2014. Keragaman genetik aren asal Sulawesi tenggara berdasarkan marka Random Amplified Polymorphic DNA. Tesis. USU. Tidak dipublikasikan.
- Hartati, D. 2007. Pendugaan keragaman genetik di dalam dan antar provenan pulai (*Alstonia scholaris*(L.) R. Br.) menggunakan marka RAPD. *Jurnal pemuliaan tanaman hutan*, 1(2): 1-9.
- Langga, I. F., M. Restu, T. Kuswinanti. 2012. Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi DNA tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J. Sains & Teknologi*, 12 (3): 265 - 276.
- Latief, W. dan Amien, S. 2014. Studi awal pemanfaatan marka molekuler RAPD untuk penentuan kebenaran tiga kultivar nilam. *Bionatura*, 16: 109 - 113.
- Olivia, R. D. dan Siregar, U. J. 2012. Keragaman genetik populasi sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) pada hutan rakyat di Jawa berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal silvikultur tropika*, 3(2): 130 – 136.
- Peakall R. and Smouse P. E. (2012) GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – anupdate. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Pharmawati, M. 2009. Optimalisasi ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp. (*Proteaceae*). *Jurnal Biologi*, 13(1): 12 - 16.
- Poerba, Y.S dan Martanti, D. 2008. Keragaman genetik berdasarkan marka Random Amplified Polymorphic DNA pada *Amorphophallus muelleri* Blume di Jawa. *Jurnal biodiversitas*, 9 (4): 245-249.
- Prana, T. K. dan Hartati, N. S. 2003. Identifikasi Sidik Jari DNA Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan Teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Skringing Primer dan Optimalisasi Kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia*, 5(2): 107-112.
- Raganata, A. P. 2006. Kajian pengelolaan serbuk sari kelapa sawit (*Elaeis guinnensis* jacq.) Pisifera. Thesis. IPB. Tidak dipublikasikan.
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van, B. E. and Depicker, A. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.) *Mol. Breed*, 6: 125-134.
- Sathish, D. K and C. Mohankumar. 2007. RAPD markers for identifying oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) parental varieties (dura & pisifera) and the hybrid tenera. *Indian Journal of Biotechnology*, 6: 354 - 358.
- Syafaruddin. 2011. Optimasi teknik isolasi dan purifikasi DNA yang efisien dan efektif pada kemiri sunan (*Reutalis trisperma* (Blanco) Airy Shaw). *Jurnal Littri*, 17(1): 11 - 17.
- Syakir, M. 2010. Budidaya kelapa Sawit. Aska media. Bogor.
- Tobing, D. H. Y. L. 2014. Analisis RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) populasi manggis (*Garcinia mangostana* L.) di Sumatera utara. Tesis. USU. Tidak dipublikasikan.
- Yusuf, Z. K. 2010. Polymerase chain reaction (PCR). *Saintek*, 5 (6)