

## **PEMANFAATAN MARKA RAPD UNTUK PENDUGAAN KERAGAAN MOLEKULER KELAPA SAWIT MODERAT TAHAN GANODERMA**

### ***Utilization of RAPD Markers to Assess Molecular Performance of Oil Palm Moderat Tahan Ganoderma***

Lollie Agustina Pancawaraswati Putri<sup>1\*</sup>, Hot Setiado<sup>1</sup>, Eva Sartini Bayu<sup>1</sup>, Frynando<sup>1</sup>, Nicko Reynaldi<sup>1</sup>, Deni Arifiyanto<sup>2</sup>, Indra Syahputra<sup>2</sup>, dan Saptariyanti Anjasari Kusdiarna Puteri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, Universitas Sumatera Utara, Jalan. Prof. A. Sofyan no. 3 Kampus USU Padang Bulan, Medan 20155 Indonesia,; 0819835548

<sup>2</sup>PT. Socfin Indonesia, Jl. KI Yos Sudarso No. 106 Medan 20115, Sumatera Utara, Indonesia

<sup>3</sup>PT. Rajawali Nusantara Indonesia, Gedung RNI, Jl. Denpasar Raya, Kav D III, Kuningan, Jakarta 12950

\*Penulis untuk korespondensi: lollie.agustina@usu.ac.id

#### **ABSTRACT**

The use of moderately ganoderma-resistant plant material is an effort to the sustainability of the palm oil industry in Indonesia. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used to estimate the genetic distance among samples from the 15 populations. This research is conducted by taking individual 15 sample of MTG germplasm two years old. The purpose of this research is to molecular performance analysis of some oil palm MTG variety based on RAPD markers. In this experiment, the DNA profile diversity was assessed using 6 RAPD markers. These preliminary results demonstrated RAPD marker can be used to evaluate molecular performance among oil palm trees of commercial MTG variety.

Keywords : commercial, molecular performance, oil palm, RAPD

#### **ABSTRAK**

Kelapa sawit merupakan tanaman perkebunan yang penting terhadap perekonomian Indonesia. Penggunaan bahan tanaman yang resisten ganoderma merupakan salah satu upaya terhadap kejadian penyakit busuk pangkal batang dan juga menjamin keberlanjutan industri perkelapasawitan di Indonesia. Marka RAPD (*Randomly amplified polymorphic DNA*) telah digunakan untuk menduga jarak genetik antara 15 individu kelapa sawit moderat tahan ganoderma pada umur tanaman 2 tahun. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaan molekuler dari beberapa individu kelapa sawit varietas MTG (Moderat Tahan Gano) berdasarkan marka RAPD. Pendugaan profil keragaman genetik berdasarkan enam marka RAPD. Analisis data menggunakan perangkat lunak DARwin dan GENEAlex. Hasil kajian pendahuluan ini menunjukkan bahwa marka RAPD mampu digunakan untuk mengevaluasi keragaan molekuler diantara bahan tanaman kelapa sawit komersil varietas MTG.

Kata kunci : kelapa sawit, keragaan molekuler, komersil, RAPD

## PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak yang mempunyai nilai ekonomi tinggi dan telah banyak dibudidayakan di daerah tropis. Kelapa sawit merupakan komoditi ekspor andalan dan memberikan kontribusi nyata pada perekonomian Indonesia saat ini dan Indonesia merupakan negara produsen dan eksportir kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) terbesar di dunia.

Lebih dari 40 tahun, Ganoderma diyakini merupakan penyebab permasalahan serius pada negara Malaysia dan Indonesia (Chong *et al.*, 2012). Banyak peneliti menyatakan bahwa Ganoderma merupakan penyakit penting pada tanaman kelapa sawit yang menyebabkan kerugian yang signifikan pada produksi kelapa sawit. Penyakit ini mampu menyerang pada berbagai tahapan perkembangan kelapa sawit, mulai dari stadia perkecambahan hingga stadia dewasa. Gejalanya berlangsung lambat, namun tanaman yang telah terinfeksi akan mengalami kematian. Serangannya selalu berawal dari daerah perakaran (Naher *et al.*, 2011).

Pendekatan bioteknologi dengan fokus pada peningkatan produktivitas, kualitas minyak, resistensi terhadap penyakit dan cekaman abiotik menjadi pilihan yang tepat sebagai modal dasar terbentuknya sistem perkebunan dengan tingkat produktivitas dan efisiensi yang tinggi. Seiring dengan tuntutan konsumen/petani dan industri, yang menaruh perhatian kepada peningkatan produksi maka deteksi dini tanaman terhadap ketahanan penyakit Ganoderma menjadi fokus penelitian.

Pemakaian bahan tanaman yang resisten/tahan terhadap penyakit seperti pemakaian bahan tanaman Varietas MTG (Moderat Tahan Ganoderma) merupakan salah satu upaya meningkatkan produktivitas kebun kelapa sawit. Untuk jangka panjang, penggunaan bahan tanaman yang resisten merupakan peluang besar untuk mengontrol penyakit busuk pangkal batang. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaan molekuler dari beberapa individu kelapa sawit varietas MTG (Moderat Tahan Gano) berdasarkan marka RAPD.

## BAHAN DAN METODE

### Ekstraksi dan Isolasi DNA Genomik

Bahan tanaman yang digunakan adalah kelapa sawit dari varietas komersil MTG (Moderat Tahan Ganoderma) yang berasal dari PT. Socfindo. Ekstraksi dan isolasi DNA genom dilakukan dengan prosedur isolasi DNA genomik diadaptasi dari metode CTAB oleh Orozco-Castilo *et al.* (1994) dengan beberapa modifikasi pada konsentrasi *polyvinilpolypirillidon* (PVPP) dan 2-merkptoetanol (Toruan-Mathius *et al.*, 1997; Asmono *et al.*, 2000). Kuantitas setiap DNA hasil isolasi diukur dengan nanodrop spektrofotometer sedangkan kualitasnya dilihat pada gel elektroforesis 0.8%.

### Amplifikasi DNA

Untuk amplifikasi DNA dilakukan dengan PCR pada total volume 25  $\mu$ L, 2  $\mu$ L ekstrak DNA ditambahkan ke 12.5  $\mu$ L *reaction mix* (Go Green Taq Promega), 9.5  $\mu$ L *nuclease free water* dan 1  $\mu$ L primer acak. Amplifikasi menggunakan 6 primer yang yaitu OPD-20, SB-19, OPM-01, OPO-11, OPD-13 dan OPH-13. Reaksi

PCR dengan menggunakan AB *Biosystem thermocycler* diprogram sebagai berikut: sesudah 2 menit pemanasan pada 94 °C, amplifikasi DNA dilakukan pada 45 siklus dari 1 menit denaturasi pada 94 °C, 1 menit pada 36-37 °C, dan 2 menit *extension* pada 72 °C. Empat puluh lima siklus diakhiri sesudah 4 menit *extension* pada 72 °C dan didinginkan hingga 4 °C. Fragmen DNA dari hasil amplifikasi dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis 1.4% agarose yang diberi pewarnaan ethidium bromida, selama 80 menit dengan voltase 50 V. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV-transiluminator dan didokumentasi dengan UVITEC gel documentation.

### Analisis Data

Setiap pita RAPD dianggap satu lokus, hanya locus yang menunjukkan pita jelas yang digunakan untuk skoring: ada (1) dan kosong (0). Matriks jarak atau ketidaksamaan genetik untuk semua kombinasi pasangan individu dapat dilakukan dengan tipe analisis deskriptif dari keragaman: *Neighbour-Joining Tree* (NJtree) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu. Perhitungan dan analisis deskriptif ini menggunakan software DARwin5.05 (Perrier dan Jacquemoud-Collet, 2009).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keragaan Hasil Primer RAPD

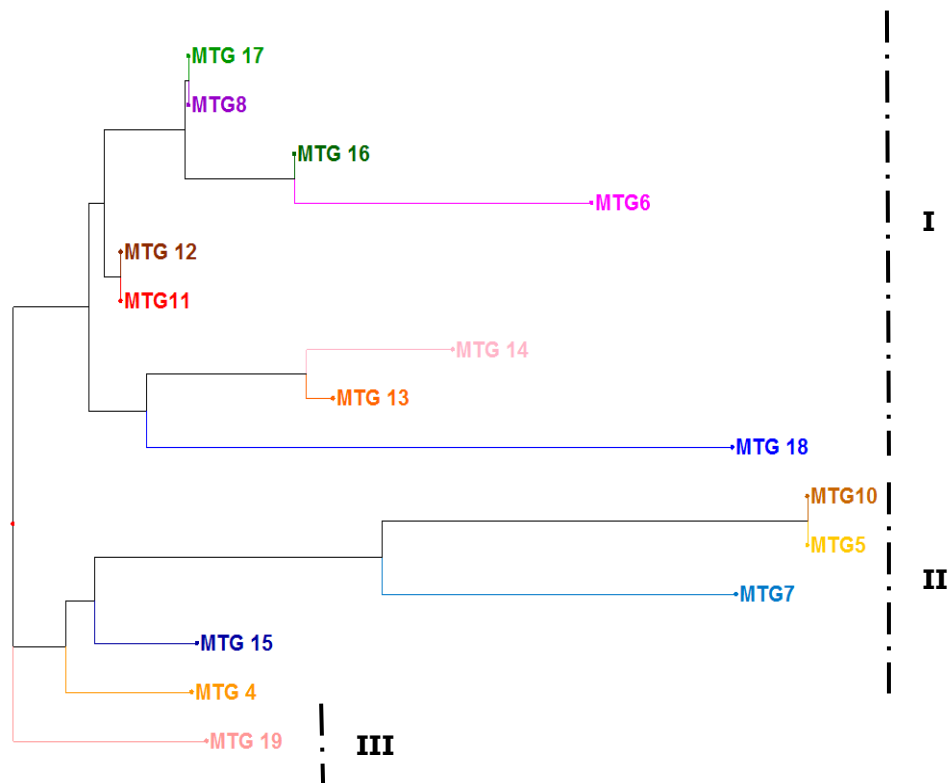
Total pita yang dihasilkan pada 15 individu varietas MTG dan menggunakan 6 primer RAPD sebanyak 33 pita, dengan pita polimorfik berjumlah 23 pita (69.7%) sedangkan pita monomorfik berjumlah 10 pita. Primer yang menghasilkan jumlah pita paling banyak adalah primer SB-19 dan primer OPH-13 yaitu sebanyak 7 pita, sedangkan yang paling sedikit adalah pada primer OPO-11 yaitu sebanyak 2 pita dan rata-rata pita yang dihasilkan 5.5 pita/primer. Semua primer yang digunakan adalah polimorfik (Tabel 1). Hasil pada kajian ini menunjukkan pemakaian 15 individu aksesori kelapa sawit MTG pada 6 primer, menghasilkan 69.7% fragmen polimorfik, lebih rendah dibandingkan dari hasil pada penelitian yang menggunakan dominan marker (RAPD) (Upadhyay *et al.*, 2004; Manimekalai & Nagarajan, 2006a; 2006b). Jumlah ampikon per pita yang dihasilkan dipengaruhi oleh jumlah marker dan ukuran sampel yang dianalisis.

Tabel 1. Hasil PCR pada 15 individu Varietas MTG (Moderat Tahan Ganoderma) dengan 6 marka RAPD

| Primer | Hasil PCR | Monomorfik | Polimorfik | Persentase polimorfisme |
|--------|-----------|------------|------------|-------------------------|
| OPD-20 | 5         | 1          | 4          | 80.00                   |
| SB-19  | 7         | 3          | 4          | 57.14                   |
| OPM-01 | 6         | 1          | 5          | 83.33                   |
| OPO-11 | 2         | 1          | 1          | 50.00                   |
| OPD-13 | 6         | 0          | 6          | 100.00                  |
| OPH 13 | 7         | 4          | 3          | 42.86                   |
| Total  | 33        | 10         | 23         |                         |

### Analisis Klustering

Dari hasil klustering dengan *software* Darwin diperoleh menunjukkan terdapat 3 kelompok utama (Gambar 1). Kelompok I terdiri dari 9 individu kelapa sawit (MTG 6, MTG 8, MTG 11, MTG 12, MTG 13, MTG 14, MTG 16, MTG 17 dan MTG 18); kelompok II terdiri dari 5 individu kelapa sawit (MTG 4, MTG 5, MTG7, MTG 10 dan MTG 15) dan kelompok III terdiri dari 1 individu kelapa sawit (MTG 19). Hal tersebut menunjukkan ada 3 profil dari varietas komersil MTG yang kemungkinan diturunkan dari persilangan yang berbeda atau ada perbedaan karakter ketahanan terhadap ganoderma.



Gambar 1. Klustering pohon filogenetik berdasarkan *Neighbor-Joining tree* dengan enam primer RAPD menggunakan *simple matching distances* dengan DARwin6

### KESIMPULAN

Kesimpulan sementara dari penelitian ini menunjukkan enam marka RAPD (OPD-20, SB-19, OPM-01, OPO-11, OPD-13, dan OPH 13) yang digunakan menghasilkan 33 pita pada 15 individu varietas MTG (komersil) dengan persentase polimorfis 69.7% dan 3 pengelompokan. Primer ini dapat digunakan untuk menduga keragaan genetik dari varietas MTG komersil, kemungkinan dari persilangan/tetua yang berbeda atau karakter ketahanan terhadap ganoderma yang berbeda.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Hibah TALENTA Universitas Sumatera Utara dengan nomor perjanjian Nomor: 34/UN5.2.3.1/PPM/KP-TALENTA USU/2017.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asmono, D., N. Toruan-Mathius, Subronto. 2000. Pemetaan Genom Pengendali Produktivitas Minyak pada Kelapa Sawit. Laporan Riset Unggulan Terpadu (RUT) VII *Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia*.
- Chong, K.P., A. Markus, S. Rossall. 2012. The Susceptibility of different varieties of oil palm seedlings to Ganoderma Boninense infection *Pak. J. Bot* 44(6): 2001-2004.
- Manimekalai, R., P. Nagarajan. 2006a. Interrelationships among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions using RAPD technique. *Genet Resour Crop Evol.* 53:1137-1144.
- Manimekalai, R., P. Nagarajan. 2006b. Assessing genetic relationships among Coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions using inter simple sequence repeat markers. *Sci Hort.* 108:49-56.
- Naher, L., U.K. Yusuf, A. Ismail, S.G. Tan, M.M.A. Mondal. 2013. Ecological status of Ganoderma and basal stem rot disease of oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.) *Australian J Crop Sci.* 7(11):1723-1727.
- Oroczo-Castillo, C., K.J. Chalmers, R. Waugh, W. Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers *Theor. Appl. Genet.* 87: 934-940.
- Perrier X., J.P. Jacquemoud-Colled. 2016. DARwin Software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Toruan-Mathius, N., T. Hutabarat. 1997. Pemanfaatan teknik penanda molekuler dalam usaha meningkatkan produktivitas tanaman perkebunan *Warta Puslit Biotek Perkebunan II* (1):2-9.
- Upadhyay, A., K. Jayadev, R. Manimekalai, V.A. Parthasarathy. 2004. Genetic relationship and diversity in Indian coconut accessions based on RAPD markers *Sci Hort.* 99:353-362.