

Deteksi Kestabilan Genetik Ramet Kelapa Sawit Hasil Kultur *In Vitro* Menggunakan SSR

Detection of Genetic Stability in Ramet of Oil Palm Derived from In Vitro Culture by SSR

Yuni Fitri Cahyaningsih^{1*}, Ni Made Armini Wiendi², dan Nurita Toruan-Mathius³

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

³Lab. Genomic and Transcriptomic, Plant Production & Biotechnology Division
PT SMART Tbk. Sinarmas Land Plaza, Menara II
Jl Thamrin No 51, Kavling 22, Jakarta Pusat-10350, Indonesia

Diterima 16 September 2015/Disetujui 29 Januari 2016

ABSTRACT

Commercial production of oil palm ramet requires the guarantee of high genetic stability. The objectives of this research were to determine 1) genetic diversity of ortet as source of explant, and 2) genetic stability of ramet derived from ortet propagated through tissue culture. Genetic stability analysis was done using ramet from five Tenera ($D \times P$) oil palm ortets. As many as 20 ramets were randomly chosen from each ortet. A total of 100 ramets were used for genetic stability analysis. Genetic similarity analysis was analyzed using NTSyspc version 2.1 software with method Similarity for Qualitative Data and Unweighted Pair Group Method Aritmatic (UPGMA). The results indicated 20 SSR primer pairs were polymorphic and could form 44 alleles. As many as 80% of ramets from IS 3 ortet showed genetic similarity ranged from 97-100% to the ortet. All ramets derived from IS 10, IS 20 and IS 40 ortet had 90-100% of genetic similarity to its respective ortet. Futhermore, 95% of ramets from IS 39 ortet had 97-100% of genetic similarity to the ortet.

Keywords: *Elaeis guineensis* Jacq., genetic similarity, tissue culture

ABSTRAK

Produksi ramet kelapa sawit komersial memerlukan jaminan kestabilan genetik yang tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menetapkan 1) keragaman genetik ortet yang digunakan sebagai sumber eksplan dan 2) kestabilan genetik ramet hasil perbanyakan ortet melalui kultur jaringan. Analisis kestabilan genetik dilakukan pada ramet dari lima ortet kelapa sawit Tenera ($D \times P$). Sebanyak 20 ramet dipilih secara acak dari setiap ortet. Total 100 ramet yang digunakan untuk analisis kestabilan genetik. Analisis kemiripan genetik dilakukan menggunakan perangkat lunak NTSyspc versi 2.1 dengan metode Similarity for Qualitative Data and Unweighted Pair Group Method with Aritmatic (UPGMA). Hasil analisis menunjukkan 20 pasang primer SSR yang digunakan bersifat polimorfik dan menghasilkan 44 alel. Sebanyak 80% ramet dari ortet IS 3 menunjukkan kemiripan genetik sekitar 97-100% terhadap ortetnya. Seluruh ramet dari ortet IS 10, IS 20, dan IS 40 menunjukkan kemiripan genetik 90-100% terhadap ortetnya masing-masing. Sebanyak 95% ramet dari Ortet IS 39 menunjukkan kemiripan genetik 97-100% terhadap ortetnya.

Kata kunci: *Elaeis guineensis* Jacq., kemiripan genetik, kultur jaringan

PENDAHULUAN

Produksi ramet (tanaman klonal) kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dilakukan dengan teknik kultur jaringan melalui embriogenesis somatik (Corley dan Tinker, 2003). Teknik ini telah banyak digunakan untuk penyediaan bahan tanaman klonal dalam skala komersil namun memiliki kelemahan yaitu adanya variasi somaklonal (Corley dan Tinker, 2003). Variasi somaklonal dapat digunakan untuk

menghasilkan tanaman superior, namun demikian menjadi masalah dalam industri kultur jaringan karena adanya ramet yang *off-types* (Eeuwens *et al.*, 2002).

Variasi somaklonal adalah modifikasi genetik atau fenotipe karena berbagai faktor yang menyebabkan variasi pada tanaman hasil perbanyakan kultur jaringan (Mgbezel dan Iserhienrhien, 2014). Variasi somaklonal pada kelapa sawit pertama kali ditemukan pada tahun 1986 berupa bunga jantan mandul dan benang sari pada bunga betina berkembang menjadi karpel tambahan yang disebut buah mantel (Corley dan Tinker, 2003). Fenotipe buah mantel terjadi sekitar 5% pada tanaman kelapa sawit hasil kultur

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: yunifitri.cc@gmail.com

jaringan (Jaligot *et al.*, 2011). Variasi somaklonal pada kelapa sawit baru dapat diketahui pada saat tanaman memasuki fase generatif karena tanaman kelapa sawit hasil kultur jaringan memiliki fenotipe seragam (Corley dan Tinker, 2003). Variasi somaklonal perlu dideteksi lebih awal dengan mendeteksi kestabilan genetik ramet, dengan genetik yang stabil diharapkan dapat mengurangi variasi somaklonal dan ramet yang dihasilkan bersifat *true-to-type* (Rival dan Parveez, 2005).

Kestabilan genetik kelapa sawit dapat dideteksi dengan menggunakan marka molekuler mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeats* (SSR) (Zulhermana, 2009; Bakoumé *et al.*, 2011; Artutiningsih, 2012). SSR juga sudah banyak digunakan untuk mendeteksi kestabilan genetik pada berbagai tanaman seperti *Quercus suber* (Lopes *et al.*, 2006), *Pinus pinaster* (Marum *et al.*, 2009), anggur (Prado *et al.*, 2010), *Samanea saman* (Kasthuriangan *et al.*, 2013) dan lain-lain. Selain untuk mendeteksi kestabilan genetik, SSR juga telah digunakan untuk analisis keragaman genetik kelapa sawit (Putri *et al.*, 2009; Ajambang *et al.*, 2012; Arias *et al.*, 2012). Menurut Singh *et al.* (2007) SSR dapat digunakan untuk identifikasi kemurnian klon, memonitor keseragaman klon dan mendeteksi tercampurnya kultur.

SSR atau mikrosatelit adalah sekuens sederhana yang berulang secara tandem dari 2-8 unit DNA yang terdapat diseluruh genom (Choudhary dan Trivedi, 2010). Billotte *et al.* (2005) berhasil mengembangkan motif SSR kelapa sawit yang mampu menunjukkan hubungan genetik populasi genus *Elaeis* sesuai dengan daerah asal dan dapat digunakan pada spesies *Elaeis oleifera*. Tujuan penelitian ini adalah untuk menetapkan keragaman genetik ortet (tanaman kelapa sawit sumber eksplan) yang digunakan sebagai sumber eksplan dan kestabilan genetik ramet hasil perbanyakan ortet melalui kultur jaringan menggunakan marka SSR.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Transcriptomic and Genomic Plant Production and Biotechnology, PT SMART Tbk, Bogor pada bulan Februari 2013 sampai dengan Januari 2014. Sampel daun tanaman diambil dari kebun produksi PT SMART Tbk, Riau.

Bahan tanaman yang digunakan untuk analisis kestabilan genetik berupa sampel daun tanaman kelapa sawit Tenera (D×P) yang terdiri dari lima populasi. Setiap satu populasi terdiri dari satu ortet dan 20 rametnya yang dipilih secara acak dan berumur seragam di kebun. Ortet yang digunakan antara lain ortet IS 3, IS 10, IS 20, IS 39, dan IS 40. Total seluruh bahan tanaman yang digunakan sebanyak 105 tanaman (5 ortet×20 ramet/ortet+5 ortet).

DNA genom diekstraksi dari daun muda tanaman. Ekstraksi dilakukan mengikuti metode kit GenElute dari Sigma. Kualitas DNA hasil ekstraksi diuji dengan elektroforesis horizontal menggunakan gel agarosa 0.8% dan kuantifikasinya menggunakan NanoDrop 2000 spektrofotometer.

Primer yang digunakan terdiri atas 16 pasang primer yang telah teruji polimorfisnya, ditambah 4 pasang

primer dari 26 pasang primer yang diuji polimorfisnya menggunakan 5 sampel ortet sehingga total seluruh primer yang digunakan berjumlah 20 pasang primer. Seluruh primer SSR yang digunakan berasal dari Billote *et al.* (2005). Volume untuk satu kali reaksi amplifikasi DNA sebanyak 15 µL, yang terdiri atas buffer, dNTP, ddH₂O, taqPolimerase, primer mikrosatelit, dan DNA genom. Proses amplifikasi PCR dilakukan mengikuti metode Billote *et al.* (2005) menggunakan mesin *Applied Biosystem PCR Thermal Cycler Veriti 96 well*. Hasil amplifikasi DNA diuji dengan elektroforesis horizontal menggunakan gel agarosa 1%. Hasil amplifikasi DNA selanjutnya difraksinasi menggunakan *Polyacrylamide Gel* (PAGE) dengan konsentrasi urea akrilamid 6%. Fraksinasi di dalam gel dilakukan selama 1 jam 40 menit. Metode pewarnaan mengikuti metode Benbouza *et al.* (2006).

Data yang diperoleh berupa pita-pita hasil fraksinasi amplifikasi DNA menggunakan primer tertentu. Setiap primer mempresentasikan lokus tertentu dan pita yang diperoleh merupakan suatu alel tertentu. Satu pita dihitung sebagai satu alel. Pita-pita yang diperoleh diterjemahkan menjadi data sesuai dengan perangkat lunak yang digunakan. Kemiripan genetik dianalisis menggunakan perangkat lunak NTSyspc 2.1 (Rohlf, 2000) dibuat dalam bentuk matriks dengan *similarity for qualitative data* (SIMQUAL), kemudian dilakukan klustering dengan sub program SAHN menggunakan metode *unweighted pair group method with arithmetic mean* (UPGMA). Hasil yang diperoleh berupa dendrogram (pohon filogenetik) yang menunjukkan urutan perubahan yang terjadi pada kelompok. Nilai *polymorphism information content* (PIC) dan jumlah alel diperoleh menggunakan perangkat lunak *PowerMarker* (Liu dan Muse, 2005). Jumlah total alel, rata-rata jumlah alel, dan rata-rata nilai PIC dihitung menggunakan seluruh populasi sedangkan jumlah alel dan nilai PIC dihitung untuk setiap populasi. Nilai PIC dihitung mengikuti rumus dari Nagy *et al.* (2012), $PIC = 1 - \sum_{i=1}^L P_i^2 - \sum_{i=1}^{L-1} \sum_{j=i+1}^L 2P_i^2 P_j^2$.

Nilai L adalah jumlah alel pada satu populasi dari satu lokus, P_i dan P_j adalah frekuensi alel i dan j pada satu populasi dari satu lokus. Perubahan alel pada ramet diasumsikan sebagai alel yang mengalami perubahan selama proses perbanyakan secara *in vitro*. Ramet dinyatakan memiliki kestabilan genetik tinggi jika kemiripan genetik sama atau lebih dari 90% dengan ortetnya (Artutiningsih, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi dan Seleksi Primer

Hasil analisis menunjukkan bahwa 20 pasang primer SSR yang digunakan bersifat polimorfis. Sebanyak 20 pasang primer SSR yang digunakan untuk menganalisis keragaman genetik seluruh ortet dan ramet menghasilkan total alel sebanyak 44 alel. Nilai PIC rata-rata diperoleh sebesar 0.38.

Nilai rata-rata PIC yang diperoleh menunjukkan bahwa 20 pasang primer SSR yang digunakan cukup informatif untuk mendeteksi kestabilan genetik. Menurut

Botstein *et al.* (1980) nilai PIC > 0.5 menunjukkan bahwa marka yang digunakan sangat informatif, 0.5 > PIC > 0.25 cukup informatif dan PIC < 0.25 tidak informatif. Nilai PIC berkisar antara 0 dan 1. Semakin mendekati 1 maka semakin informatif marka tersebut yang berarti semakin efektif untuk membedakan antar individu.

Nilai PIC terbesar adalah 0.52 diperoleh dari primer mEgCIR2569 pada populasi IS 39. Jumlah alel terbanyak juga diperoleh dari primer mEgCIR2569 pada populasi ortet IS 39 (Tabel 1). Menurut DeVicente dan Fulton (2003) besar dan kecilnya nilai PIC ditentukan oleh frekuensi kemunculan alel. Pada populasi hasil perbanyakkan kultur jaringan, ramet akan memiliki alel yang sama dengan ortetnya kecuali ramet tersebut mengalami variasi somaklonal atau berasal dari ortet berbeda karena kesalahan saat pemberian label. Kedua hal ini dapat menyebabkan ramet memiliki alel yang berbeda dari ortetnya (Gambar 1).

Keragaman Genetik Ortet Sumber Eksplan

Hasil analisis berdasarkan 20 pasang primer SSR menggunakan perangkat lunak NTSys menunjukkan bahwa koefisien kemiripan genetik antar ortet yang digunakan berkisar antara 0.79-0.93 dan terbagi menjadi dua group pada koefisien kemiripan genetik 0.79. Ortet Group I terpisah menjadi dua sub group pada jarak genetik sekitar

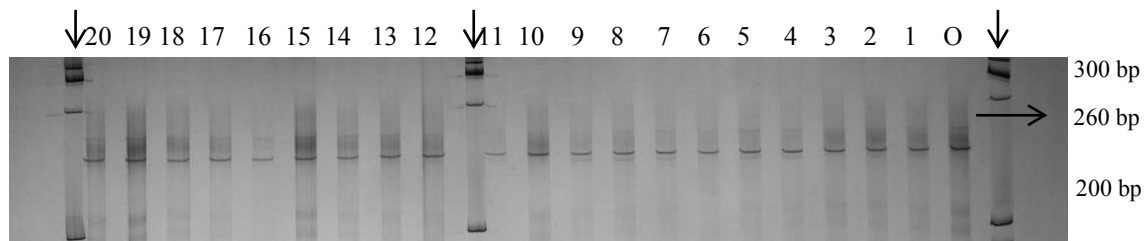
0.88. Sub group I adalah ortet IS 10 IS 20, dan IS 40, dengan Sub group II adalah ortet IS 3. Group II terdiri atas ortet IS 39 (Gambar 2).

Hasil analisis keragaman genetik pada Gambar 2, menunjukkan bahwa ortet IS 10 dan ortet IS 20 memiliki kemiripan genetik yang paling tinggi sebesar 96% namun ortet tersebut tidak berasal dari persilangan tetua yang sama. Hal ini bisa terjadi karena tetua betina dan jantan yang digunakan dalam persilangan berasal dari pohon tetua terpilih yang telah mengalami proses seleksi. Proses seleksi dan pemuliaan yang telah dilakukan beberapa kali dapat menyebabkan kehilangan keragaman genetik pada kelapa sawit (Arias *et al.*, 2012). Selain itu kelapa sawit di Asia Tenggara memiliki keragaman genetik rendah karena hanya berasal dari beberapa pohon yang diintroduksi kemudian dijadikan sebagai sumber tetua (Thongthawee *et al.*, 2010). Dari lima ortet yang diuji, empat ortet berasal dari tetua jantan yang sama Pisifera 742.316 yaitu ortet IS 3, IS 10, IS 39, dan IS 40. Ortet IS 40 dan IS 39 berasal dari persilangan tetua yang sama namun memiliki kemiripan genetik yang lebih kecil dari pada IS 10 dan IS 20 (Gambar 2; Tabel 2). Hal ini dapat disebabkan karena tetua jantan dan betina yang digunakan dalam persilangan memiliki genetik yang tidak homozigot. Tanaman yang berasal dari persilangan tetua betina dan jantan akan membawa setengah genetik dari induk betina dan setengah genetik dari induk jantan. Pada saat

Tabel 1. Jumlah alel dan nilai *Polymorphism Information Content* setiap primer untuk setiap ortet

| Primer | IS 3 | | IS 10 | | IS 20 | | IS 39 | | IS 40 | |
|------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
| | Jml alel | Nilai PIC | Jml alel | Nilai PIC | Jml alel | Nilai PIC | Jml alel | Nilai PIC | Jml alel | Nilai PIC |
| mEgCIR0059 | 2 | 0.37 | 1 | 0.00 | 1 | 0.00 | 1 | 0.00 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR3869 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR2387 | 2 | 0.12 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.05 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR2414 | 2 | 0.37 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 | 2 | 0.37 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR3639 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.05 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR2518 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR0192 | 0 | 1.00 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR3399 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.37 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR3555 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR3569 | 1 | 0.00 | 1 | 0.00 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR3519 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.05 | 2 | 0.37 |
| mEgCIR0878 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR3711 | 2 | 0.12 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR3808 | 2 | 0.36 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR0521 | 2 | 0.37 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 3 | 0.41 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR2893 | 2 | 0.37 | 2 | 0.38 | 3 | 0.41 | 3 | 0.41 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR3886 | 1 | 0.00 | 1 | 0.00 | 2 | 0.38 | 2 | 0.37 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR2224 | 2 | 0.37 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 1 | 0.00 |
| mEgCIR2569 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 4 | 0.52 | 2 | 0.38 |
| mEgCIR3683 | 0 | 1.00 | 2 | 0.38 | 2 | 0.38 | 2 | 0.37 | 1 | 0.00 |

Keterangan: nilai PIC 0: primer menghasilkan 1 alel; nilai PIC 1: primer tidak menghasilkan alel

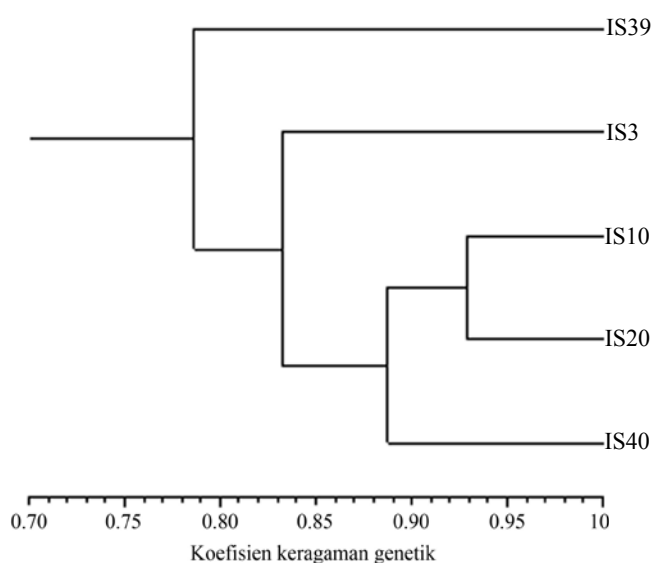


Gambar 1. Fraksinasi hasil amplifikasi DNA ortet IS 40 dan 20 tanaman klonalnya menggunakan primer mEgCIR3869. (↓) DNA marker (ladder), (1-20) tanaman klonal, (O) ortet

Tabel 2. Kode ortet (Tenera), nomor tetua persilangan (DxP) dan kode dan jumlah ramet yang digunakan dalam penelitian

| Ortet (Tenera) | Tetua D×P | Jumlah Ortet | Kode ramet (Tenera) | Jumlah ramet |
|----------------|-----------------|--------------|-----------------------------|--------------|
| IS 3 | 702.414×742.316 | 1 | Klon1 sampai dengan Klon 20 | 20 |
| IS 10 | 614.711×742.316 | 1 | Klon1 sampai dengan Klon 20 | 20 |
| IS 20 | 702.518×742.207 | 1 | Klon1 sampai dengan Klon 20 | 20 |
| IS 39 | 703.802×742.316 | 1 | Klon1 sampai dengan Klon 20 | 20 |
| IS 40 | 703.802×742.316 | 1 | Klon1 sampai dengan Klon 20 | 20 |
| Total | | 5 | | 100 |

pembentukan sel gamet, setiap pasangan gen bersegregasi sama rata ke dalam sel-sel gamet, sehingga setiap sel gamet membawa hanya satu dari setiap pasang gen dan pada saat pembentukan zigot sel gamet dari setiap tetua bergabung untuk membentuk sel pertama dari zuriat baru yang terjadi secara acak, tanpa ditentukan oleh gen yang dibawanya (Hartana, 1992). Adanya segregasi pada saat pembentukan sel gamet dari tetua yang memiliki genetik tidak homozigot dan penggabungan sel gamet yang terjadi secara acak saat pembentukan zuriat baru menyebabkan terjadinya variasi genetik pada zuriat-zuriat baru yang dihasilkan, walaupun berasal dari tetua yang sama.



Gambar 2. Dendrogram kemiripan genetik lima ortet kelapa sawit berdasarkan 20 pasang primer SSR

Kestabilan Genetik Ortet dan Ramet yang Dihasilkan

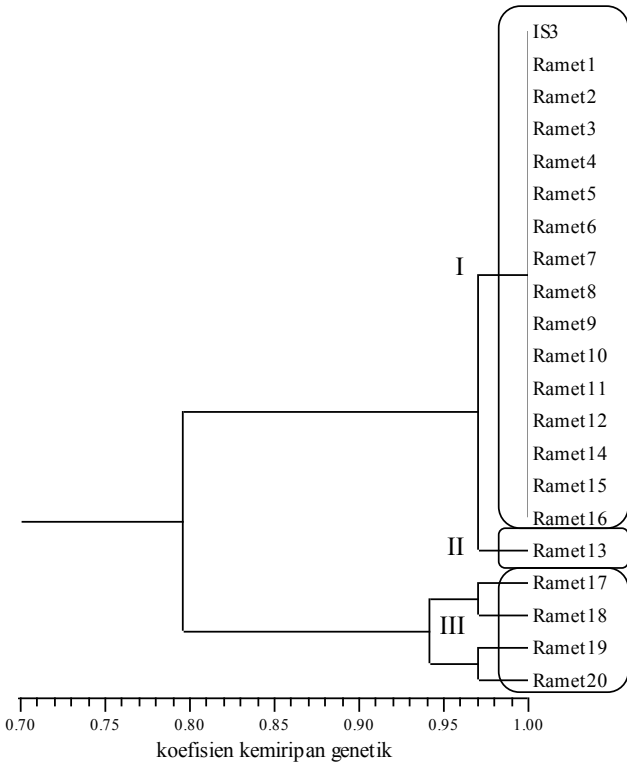
Hasil analisis kestabilan genetik lima ortet dan 20 rametnya masing-masing berdasarkan 20 pasang primer SSR menggunakan perangkat lunak NTSys menunjukkan bahwa ortet IS 10, IS 20 memiliki 19 (95%) ramet pada tingkat kemiripan genetik 100% dengan ortetnya masing-masing. Ortet IS 40 memiliki 17 (85%) dan ortet IS 3 memiliki 15 (75%) ramet pada tingkat kemiripan genetik 100% dengan ortetnya masing-masing, sedangkan ortet IS 39 memiliki 9 (45%) ramet pada tingkat kemiripan genetik 100%.

Seluruh ortet dan ramet yang dianalisis menghasilkan persentase ramet yang berbeda-beda pada tingkat kemiripan genetik 100% terhadap ortetnya masing-masing. Hal ini dapat disebabkan karena ortet yang digunakan memiliki genetik yang berbeda. Ortet yang digunakan sebagai sumber eksplan memiliki genetik yang berbeda dengan variasi genetik antara 7-21%. Perbedaan genetik merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kemampuan ortet untuk menghasilkan ramet dengan kemiripan genetik yang tinggi. Ortet dengan genetik yang berbeda memberikan respon yang berbeda pada kondisi kultur *in vitro* yang seragam. Tanaman kelapa sawit dengan genotipe yang berbeda memiliki kemampuan yang berbeda untuk menghasilkan kalus embriogenik, diferensiasi hingga regenerasi embrio somatik (Silva *et al.*, 2012). Keragaman genetik dari progeni yang diperbanyak melalui kultur *in vitro* dapat mempengaruhi variasi somaklonal yang terjadi (Evans *et al.*, 2003).

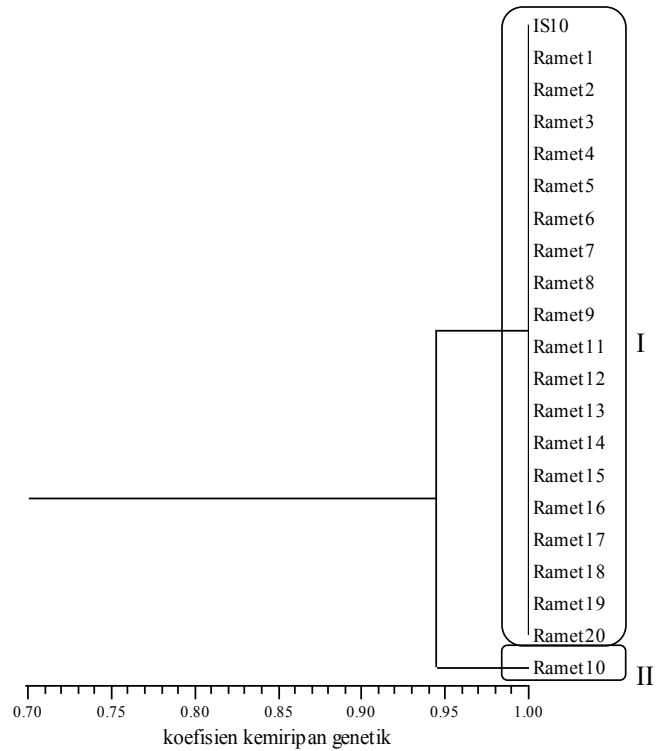
Ortet IS 3 memiliki koefisien kemiripan genetik 0.80-1.00, dan terbagi menjadi tiga group (Gambar 3). Group I terdiri dari ortet dan 15 ramet, group II terdiri dari 1 ramet (ramet 13) dan group III terdiri dari 4 ramet. Ortet IS 10 dan IS 20 sama-sama memiliki koefisien kemiripan genetik

0.94-1.00 dan terbagi menjadi dua group pada koefisien kemiripan genetik 0.94. Group I terdiri dari ortet dan 19 tanaman. Group II terdiri dari ramet 10 pada ortet IS 10 (Gambar 4) dan ramet 4 pada ortet IS 20 (Gambar 5). Ortet

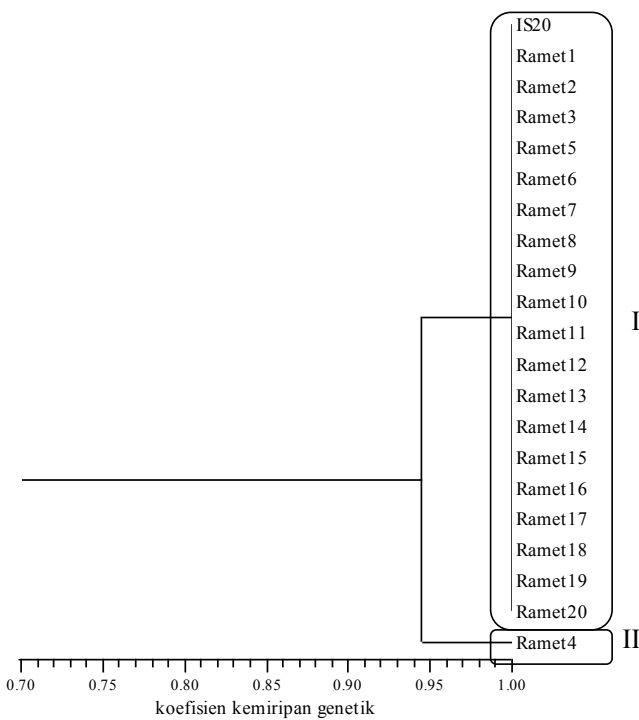
IS 39 memiliki koefisien kemiripan genetik 0.84-1.00 dan terbagi menjadi 3 group. Group I terdiri dari ortet dan 9 ramet, group II terdiri dari 10 ramet dan group III terdiri dari 1 ramet (Gambar 6). Ortet IS 40 memiliki koefisien



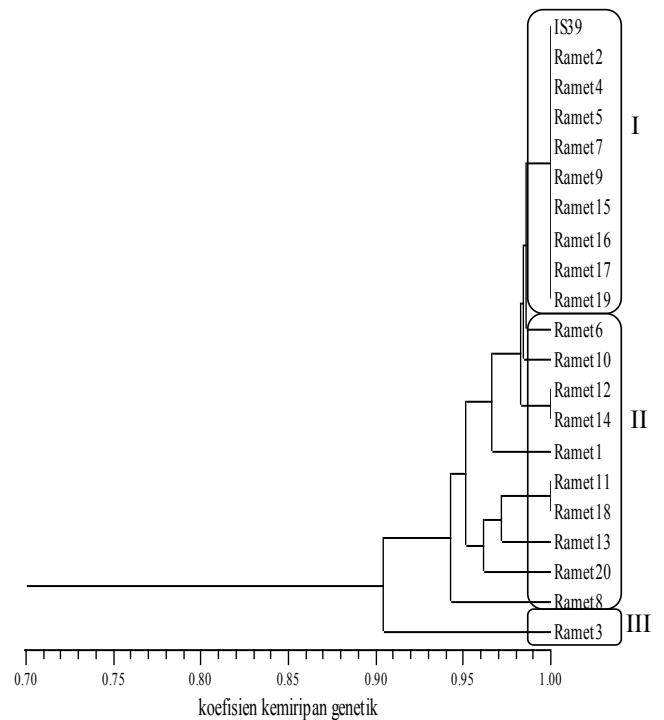
Gambar 3. Dendrogram jarak genetik kelapa sawit ortet IS 3 dan 20 rametnya berdasarkan 20 pasang primer SSR



Gambar 4. Dendrogram jarak genetik kelapa sawit ortet IS 10 dan 20 rametnya berdasarkan 20 pasang primer SSR



Gambar 5. Dendrogram jarak genetik kelapa sawit ortet IS 20 dan 20 rametnya berdasarkan 20 pasang primer SSR

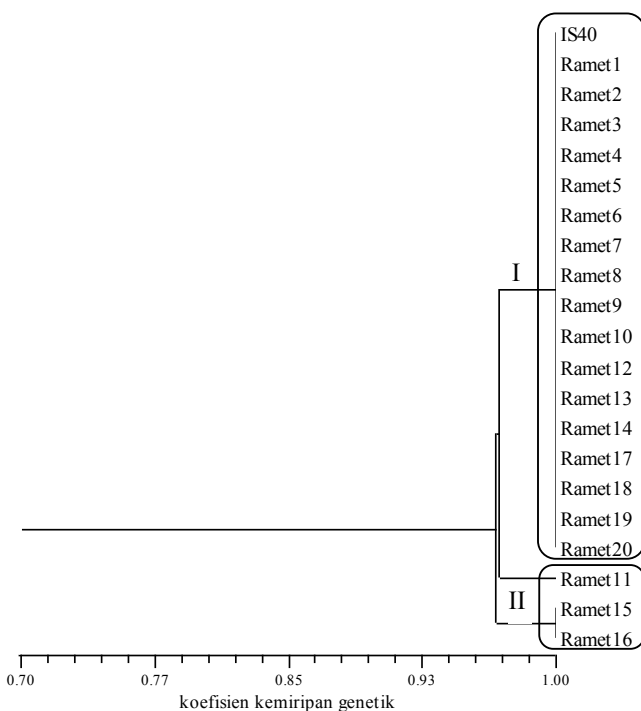


Gambar 6. Dendrogram jarak genetik kelapa sawit ortet IS 39 dan 20 rametnya berdasarkan 20 pasang primer SSR

kemiripan genetik 0.97-1.00 dan terbagi menjadi dua grup pada koefisien kemiripan genetik 0.96. Group I terdiri dari ortet dan 17 ramet, group II terdiri dari tiga ramet (Gambar 7).

Berdasarkan hasil analisis kemiripan genetik dari 20 pasang primer SSR terhadap lima ortet dan rametnya masing-masing menunjukkan bahwa terdapat 5%-55% ramet yang berbeda dengan ortetnya masing-masing. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan genetik antara ramet dengan ortetnya masing-masing. Proses kultur jaringan pada kelapa sawit yang dilakukan melalui fase kalus menjadi salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya variasi antara ramet dan ortetnya. Menurut Morcillo *et al.* (2006) salah satu penyebab variasi somaklonal pada tanaman kelapa sawit adalah metode perbanyakan yang dilakukan melalui fase kalus pada proses kultur jaringan. Kalus merupakan sekumpulan sel yang tidak terorganisir, terdiri atas sel-sel parenkim berdinding tipis yang berkembang dari hasil proliferasi sel-sel jaringan induk (Ikeuchi *et al.*, 2013; Yuwono, 2008). Kalus adalah sel-sel yang aktif membelah. Pembelahan sel yang sangat cepat dapat menyebabkan kesalahan pada saat replikasi DNA yang selanjutnya menimbulkan keragaman. Kesalahan pada proses replikasi berupa *slipped strand* DNA yang menyebabkan perpanjangan atau pengurangan basa DNA pada SSR (Rao *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil analisis 20 pasang primer SSS pada seluruh ortet dan ramet yang diuji menunjukkan bahwa, ortet IS 3 memiliki ramet dengan perbedaan genetik terbesar (Tabel 3). Dari 18 lokus yang menghasilkan alel, ada 8 lokus yang menghasilkan alel berbeda dimiliki oleh ramet 18. Selain karena proses perbanyakan yang dilakukan melalui fase kalus, perbedaan genetik yang terdapat pada ramet ini dapat disebabkan oleh



Gambar 7. Dendrogram jarak genetik kelapa sawit ortet IS 40 dan 20 rametnya berdasarkan 20 pasang primer SSR

kesalahan pemberian label pada saat perbanyakan dilakukan. Menurut Singh *et al.* (2007) perbedaan genetik yang terlalu besar antara ramet dengan ortetnya dapat disebabkan karena tercampurnya kultur pada saat proses perbanyakan oleh operator akibat banyaknya kultur yang ditangani.

KESIMPULAN

Seluruh primer yang digunakan bersifat polimorfis dan menghasilkan 44 alel. Setiap primer menghasilkan 1-4 alel. Jumlah alel terbanyak diperoleh dari primer mEgCIR2569 pada IS 39. Ortet kelapa sawit yang digunakan sebagai sumber eksplan memiliki kemiripan genetik antara 79-93%. Ortet IS 10 dan IS 20 memiliki paling banyak ramet pada kemiripan genetik 100%, sedangkan ortet IS 39 memiliki paling sedikit ramet pada kemiripan genetik 100%. Ortet IS 10, IS 20, memiliki 95% ramet dengan kemiripan genetik 100%. Ortet IS 39 memiliki memiliki 45% ramet dengan kemiripan genetik 100%.

DAFTAR PUSTAKA

Ajambang, W., Sudarsono, D. Asmono, N. Toruan-Mathius. 2012. Microsatellite markers reveal Cameroon's wild oil palm population as a possible solution to broaden the genetic base in the Indonesia-Malaysia oil palm breeding programs. *Af. J. Biotechnol.* 11:13244-13249.

Arias, D., C. Montoya, L. Rey, H. Romero. 2012. Genetic similarity among commercial oil palm material based on microsatellite markers. *Agron. Colomb.* 30:188-195.

Artutiningsih, W. 2012. Analisis kestabilan genetik ortet kelapa sawit dan klon-klon turunannya dengan menggunakan penanda mikrosatelit. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Bakoumé, C., M.Y. Aziah, T. Praveena, C.K. Teh, Y. Suzaini, M. Hamidah, M.S. Jangi, M.N. Basiran, H. Khairudin, K. Harikrishna. 2011. DNA sequence-based markers for verification of ramet-to-ortet relationship in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Am. J. Plant, Sci.* 2:539-548.

Benbouza, H., J.M. Jacquemin, J.P. Baudoin, G. Mergeai. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap, and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrilamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10:77-81.

Billotte, N., N. Marseillac, A.M. Resterucci, B. Adon, P. Brottier, F.C. Baurens, R. Singh, A. Herrán, H. Asmady, C. Billot, P. Amblard, T. Gasselín, B. Courtois, D. Asmono, S.C. Ceah, W. Rodhe, E. Ritter, A. Charrier. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor. Appl. Genet.* 110:754-765.

- Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331.
- Choudhary, O.P., S. Trivedi. 2010. Microsatellite or Simple Sequence Repeat (SSR) instability depends on repeat characteristics during replication and repair. *J. Cell. Mol. Biol.* 8:21-34.
- Corley, R.H.V., P.B. Tinker. 2003. *The Oil Palm* 4th ed. Blackwell Science Ltd. Oxford, UK.
- DeVicente, C. T. Fulton. 2003. *Molecular Marker Learning Modules, Vol 1*. IPGRI. New York, US.
- Eeuwens, C.J., S. Lord, C.R. Donough, V. Rao, G. Vallejo, S. Nelson. 2002. Effects of tissue culture condition during embryoid multiplication on the incidence of "mantled" flowering in clonally propagated oil palm. *Plant Cell. Tiss. Org.* 70:311-323.
- Evans, D.E., JOD. Coleman, A. Kearns. 2003. *Plant Cell Culture*. Bios Scientific Publishers. London, UK.
- Hartana, A. 1992. *Genetika Tumbuhan*. PAU-IPB. Bogor, ID.
- Ikeuchi, M., K. Sugimoto, A. Iwase. 2013. Plant callus: Mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell.* 25:3159-3173.
- Jaligot, E., S. Adler, É. Debladis, T. Beulé, F. Richaud, P. Ilbert, E.J. Finnegan, A. Rival. 2011. Epigenetic imbalance and the floral developmental abnormality of the *in vitro* regenerated oil palm *Elaeis guineensis*. *Ann. Bot.* 108:1-10.
- Kasthuriengan, S., L. Xie, C.H. Li, Y.K. Fong, Y. Hong. 2013. In vitro propagation and assessment of genetic stability of micropropagated *Samanea saman* (rain tree) using microsatellite markers. *Acta Physiol. Plant* 35:2467-2474.
- Liu, K., S.V. Muse. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21:2128-2129.
- Lopes, T., G. Pinto, J. Loureiro, A. Costa, C. Santos. 2006. Determination of genetic stability in long-term somatic embryogenic cultures and derived plantlets of cork oak using microsatellite markers. *Tree Physiol.* 26:145-1152.
- Marum, L., M. Rocheta, J. Maroco, M.M. Oliveira, C. Miguel. 2009. Analysis of genetic stability at SSR loci during somatic embryogenesis in maritime pine (*Pinus pinaster*). *Plant Cell. Rep.* 28:673-682.
- Mgbezel, G.C., A. Iserhienrhien. 2014. Somaclonal variation associated with oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clonal propagation. *Af. J. Biotechnol.* 13:989-997.
- Morcillo, F., C. Gagneur, H. Adam, F. Richaud, R. Singh, S.C. Cheah, A. Rival, Y. Duval, J.W. Tregear. 2006. Somaclonal variation in micropropagated oil palm. Characterization of two novel genes with enhanced expression in epigenetically abnormal cell lines and in response to auxin. *Tree Physiol.* 26:585-594.
- Nagy, S., P. Poczai, I. Cernak, A.M. Gorji, G. Hegedus, J. Taller. 2012. PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochem Genet.* 50:670-672.
- Prado, M.J., E. Rodriguez, L. Rey, M.V. Gonzalez, C. Santos, M. Rey. 2010. Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis-regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers. *Plant Cell. Tiss. Org.* 103:49-59.
- Putri, L.A.P., Sudarsono, H. Aswidinnoor, D. Asmono. 2009. Keragaan genetik dan pendugaan heritabilitas pada komponen hasil dan kandungan β -karoten progeni kelapa sawit. *J. Agron. Indonesia* 37:145-151.
- Rao, S.R., S. Trivedi, D. Emmanuel, K. Merita, M. Hynniewta. 2010. DNA repetitive sequences-type, distribution and function. *J. Cell. Mol. Biol.* 8:1-11.
- Rival, A., G.K.A. Parveez. 2005. *Elaeis guineensis* oil palm. p.113-143. In R.E. Litz (Ed.). *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1 User Guide. Applied Biostatistics, Inc., Publ. Setauket, New York, USA.
- Silva, R.C., Z.G. Luis, J.E.S. Pereira. 2012. Differential responses to somatic embryogenesis of different genotype of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 111:59-67.

- Singh, R., J. Nagappan, T. Soon-Guan, J.M. Panandam, S.C. Cheah. 2007. Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones. *Asia-Pac. J. Mol. Biol.* 15:121-131.
- Thongthawee, S., P. Tittinutchanon, H. Volkaert. 2010. Microsatellite for parentage analysis in a oil palm breeding population. *Thai. J. Genet.* 3:172-181.
- Yuwono, T. 2008. *Bioteknologi Pertanian*. UGM Pr. Yogyakarta, ID.
- Zulhermana. 2009. Keragaman Genetik Intra dan Inter populasi Kelapa Sawit (*Elaeis guinensis* Jacq.) Pisifera Asal Nigeria Berdasarkan Marka *Simple Sequence Repeat* (SSR). Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.