

## KETELUSURAN GENETIK Keturunan Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Menggunakan Simple Sequence Repeat (SSR)

### GENETIC TRACEABILITY OF OIL PALM PROGENIES (*Elaeis guineensis* JACQ.) USING SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)

Rokhana Faizah, Sri Wening, Yurna Yenni, dan Sujadi

**Abstrak** Status ketelusuran keturunan menjadi hal yang sangat penting pada program pemuliaan kelapa sawit, terutama untuk mendapatkan individu maupun populasi keturunan yang sesuai dengan kedua tetuanya. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis ketelusuran genetik keturunan didasarkan pada pola dan ukuran alel kedua tetuanya menggunakan marka *Simple Sequence Repeat* (SSR). Sebanyak 90 pohon dari 6 populasi hasil persilangan di kebun percobaan AD02S dan AD03S Kebun Adolina serta MA22S Kebun Marihat PT. Perkebunan Nusantara IV digunakan dalam penelitian ini. Contoh daun dan polen digunakan untuk mendapatkan DNA genomik. DNA genomik tersebut diamplifikasi menggunakan metode multipleks 8 marka SSR dengan mengikutkan label fluorosen 6-FAM, HEX, dan NED. Analisis fragmen dan perolehan data genotipe dilakukan menggunakan bantuan program Gene Marker® versi 2.4.0 Soft Genetics® LLC. Analisis ketelusuran genetik dilakukan dengan mengindahkan sebaran segregasi alel keturunan berdasarkan Hukum Mendel. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 4 individu dari 3 keturunan dengan nomor serbuk N, P, dan S yang segregasi alel-alelnya tidak sesuai dengan pola dan ukuran kedua tetuanya. Individu tersebut antara lain dengan nomor pohon-baris 22-30 di AD02S; 29-27 di MA22S; 9-22 dan 9-28 di AD02S.

*Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit*

Rokhana Faizah (✉)  
Pusat Penelitian Kelapa Sawit  
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia  
Email: nana\_rfz@yahoo.com

Sebanyak 4 keturunan lainnya menunjukkan kesesuaian segregasi genotipe dengan kedua tetuanya yaitu nomor serbuk M, Q, R, dan O.

**Kata kunci:** Ketelusuran genetik, keturunan, SSR, kelapa sawit.

**Abstract** Progenies traceability status becomes an important activity in the oil palm breeding program, especially to obtain propriety of individual and progenies population with their parents. This study is concerned to analyze genetic traceability based on pattern and allele size of their parent using Simple Sequence Repeat (SSR) markers. There were 90 palms from 7 progenies populations in the AD02S, AD03S Adolina and MA22S Marihat Estate PT. Perkebunan Nusantara IV used in this research. Leaf and pollen samples were used to get genomic DNA. Then, DNA genomic was amplified using multiplexing method of 8 SSR markers and fluorescence labels of 6-FAM, HEX, and NED. Fragment analysis and extracted genotype data was obtained using Gene Marker® versi 2.4.0 Soft Genetics® LLC program. Genetic traceability analysis was based on allele segregation pattern of Mendelian Law. The results described inappropriate alleles 4 individuals from 3 progenies (N, P, and S). Those individuals were palm-row of 22-30 in the AD02S; 29-27 in the MA22S; 9-22 and 9-28 in the AD02S. Other 4 progenies showed an appropriate segregation of genotype with their parents, which are crosses number of M, Q, R, and O.

**Keywords:** genetic traceability, progeny, SSR, oil palm.

## PENDAHULUAN

Analisis ketelusuran genetik digunakan untuk mendapatkan informasi segregasi keturunan sesuai dengan Hukum Mendel. Segregasi keturunan dapat dilakukan dengan 2 pendekatan, yaitu berdasarkan ketebalan cangkang buah dan sekuen DNA (Corley, 2005). Segregasi ketebalan cangkang dilakukan di lapangan dan informasi yang diperoleh sangat dipengaruhi faktor lingkungan. Selain itu, kendala yang dihadapi adalah sulit diketahui adanya kontaminasi tipe buah dura, tenera, atau pisifera dari pohon yang lain (Corley dan Tinker, 2016). Untuk melengkapi informasi pada pendekatan pertama, maka pendekatan berdasarkan sekuen DNA perlu dilakukan.

Ketelusuran genetik keturunan memanfaatkan data genotipe dengan segregasi sekuen DNA didasarkan pada pola dan ukuran alel kedua tetuanya. Keunggulan segregasi berbasis sekuen DNA adalah tidak dipengaruhi faktor lingkungan dan efektif digunakan untuk membantu keabsahan keturunan program pemuliaan. Salah satu teknik berbasis sekuen DNA yang digunakan untuk analisis ketelusuran genetik keturunan adalah *Simple Sequence Repeat* (SSR). Teknik SSR diketahui memiliki banyak kelebihan, yaitu dapat diandalkan, cepat (Wu *et al.*, 2010), berlimpah (*abundance*), kodominan (Singh *et al.*, 2007), serta tingkat heterozigositas dan polimorfisme yang tinggi (Arias *et al.*, 2013).

Marka SSR telah banyak dimanfaatkan untuk analisis ketelusuran genetik keturunan pada kelapa sawit (Durrand-Gasselin *et al.*, 2009; Abdullah *et al.*, 2009; Araya *et al.*, 2009). Pada tanaman lain, SSR juga digunakan pada padi hibrida (Kumar *et al.*, 2012) dan jagung hibrida (Hipi *et al.*, 2013). Dari penelitian tersebut, keturunan yang tidak sesuai Hukum Mendel dapat dibuktikan dengan segregasi keturunan alel yang tidak sesuai dengan informasi kedua tetuanya. Berdasarkan kesepakatan bersama di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) bahwa ketelusuran genetik keturunan pada program pemuliaan (*breeding population*) bersifat populasi, artinya apabila ada satu individu dalam populasi keturunan yang tidak sesuai dengan informasi kedua tetuanya, maka populasi tersebut tidak diteruskan sebagai populasi program pemuliaan. Namun, apabila keturunan tersebut adalah

calon pohon induk komersil, ketelusuran genetik bersifat individu.

Marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) merupakan marka yang efektif dan relatif ideal untuk analisis berbasis sekuen DNA. Marka SSR telah dimanfaatkan pada kelapa sawit untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan populasi spesies *Elaeis* (Moretzsohn *et al.*, 2002; Barcelos *et al.*, 2002). Penerapan teknik SSR juga banyak digunakan pada sorgum (Billot *et al.*, 2012), kedelai (Tanya *et al.*, 2001), kastanye (Ai *et al.*, 2012), teh (Devarumath *et al.*, 2002), dan kapas (Ahmed *et al.*, 2013). Dari keunggulan marka SSR yang telah disebutkan tersebut, diharapkan dapat diperoleh informasi status ketelusuran genetik keturunan pada 7 populasi di kebun percobaan AD02S, AD03S, dan MA22S.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Sebanyak 90 pohon dari 7 keturunan kelapa sawit digunakan dalam penelitian ini, terdiri dari 5 keturunan tenera dan 2 keturunan dura yang merupakan hasil penyerbukan sendiri (Tabel 1). Jumlah sampel yang berbeda-beda bertujuan untuk mengetahui efektifitas analisis dan disebabkan juga karena ketersediaan pohon uji yang terbatas. Bahan tanaman tersebut ditanam pada nomor percobaan AD02S dan AD03S Kebun Adolina, serta MA22S Kebun Marihat PT. Perkebunan Nusantara IV, Sumatera Utara.

### Metode

Analisis ketelusuran genetik keturunan mengikuti protokol yang diuraikan Faizah dan Wening (2015). Pengambilan sampel dilakukan pada daun yang memiliki jaringan yang lunak atau polen untuk pohon tetua yang telah mati. Ekstraksi DNA mengikuti prosedur isolasi DNA *96 samples kit* dan *Plant Mini Kit* (Qiagen katalog nomor 69104). Selanjutnya, DNA genomik yang telah diperoleh digunakan untuk analisis PCR-SSR. Pada analisis ini diikuti label fluorosen 6-FAM, HEX, dan NED dengan 8 macam primer SSR (Billotte *et al.*, 2005; Tabel 2) dengan suhu penempelan primer 52°C. Hasil amplifikasi DNA diperoleh dari jasa analisis fragmen 1<sup>st</sup> BASE Malaysia.

Tabel 1. Sembilan puluh individu tanaman yang digunakan untuk analisis ketelusuran genetik kelapa sawit.

Table 1. Ninety individual palms used to genetic traceability of oil palm progenies.

No.	Kode Tetua	Tipe	Kode No. Serbuk	Kebun	Jumlah Pohon
1	T1	TxT/P	M	AD02S	6
2	T2	TxT/P	N	AD02S	4
3	T3	TxT/P	O	AD02S	2
4	T4	TxT/P	P	MA22S	26
5	T5	TxT/P	Q	AD02S	6
6	D1	DxD	R	AD03S	20
7	D2	DxD	S	AD02S	26
Jumlah	6			-	90

Tabel 2. Delapan marka SSR yang digunakan untuk analisis ketelusuran genetik keturunan kelapa sawit.

Table 2. Eight of SSR marker used for genetic traceability of oil palm progenies.

No.	Primer	No. alel SSR	Motif berulang	5'-3' Forward primer	5'-3' Reverse primer	Label fluorosen
1	mEgCIR0894	7	(GA) <sub>18</sub>	TGCTTCTTGTCTTGATACA	CCACGTCTACGAAATGATAA	FAM
2	mEgCIR2887	8	(GA) <sub>16</sub>	CTACGGACTCACACCTATAT	ATGGTTCATCAATGAGATC	FAM
3	mEgCIR3400	11	(GA) <sub>16</sub>	CAATTCCAGCGTCACTATAG	AGTGGCAGTGGAAAAACAGT	HEX
4	mEgCIR0257	1	(GA) <sub>17</sub>	GCAGCTAGTCACCTGAAC	GACGAGACTGGAAAGATG	NED
5	mEgCIR3775	4	(GA) <sub>18</sub>	TCTTGATATAAAAGGTCAGGAGAA	CGTTCCTTTTTCCATAGAT	HEX
6	mEgCIR3691	5	(GA) <sub>14</sub>	GCATCATTGGACTATCATACC	TTGTGAACCAGGGAAGTATC	NED
7	mEgCIR3433	15	(GA) <sub>17</sub>	GGTTCAATGGCATAACAT	GTTCAAGGTGCAGGTTAA	FAM
8	mEgCIR0783	6	(GA) <sub>15</sub>	GAATGTGGCTGTAATGCTGAGTG	AAGCCGCATGGACAAGTCTAGTAA	HEX

Sumber: Billotte *et al.* (2005).

### Analisis Data

Data genotipe berupa alel-alel SSR dibaca dan diskor menggunakan bantuan program Gene Marker® versi 2.4.0 Soft Genetics® LLC yang diintegrasikan dengan perangkat *Windows*. Profil elektroferogram diterjemahkan menjadi data kuantitatif yang dapat dipindahkan ke program Microsoft Office Excel. Penyesuaian data kuantitatif hasil fragmen analisis dilakukan kembali dengan ukuran fragmen standar DNA PPKS. Selanjutnya data genotipe yang telah distandarasi digunakan

untuk analisis ketelusuran genetik keturunan. Salah satu keunggulan standarisasi adalah dapat dimanfaatkan untuk tujuan analisis lain karena data genotipe yang diperoleh bersifat tetap pada marka dan individu yang sama.

Analisis ketelusuran genetik dilakukan dengan mengamati kesesuaian alel-alel genotipe tetua dan keturunannya, dengan mengindahkan Hukum Segregasi Mendel. Data genotipe projeni yang tidak sesuai Hukum Segregasi Mendel menunjukkan keturunan tersebut bukan dari kedua tetuanya,

sedangkan yang sesuai merupakan populasi yang sesuai pada sejumlah marka yang digunakan. Verifikasi individu yang tidak sesuai dengan kedua tetuanya dianalisis sama seperti yang diuraikan di atas, yaitu sejak pengambilan sampel hingga analisis data.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Segregasi Berdasarkan Sekuen DNA

Marka SSR yang digunakan pada penelitian ini diperoleh berdasarkan posisi marka dalam genom kelapa sawit, karakterisasi pada motif dan jumlah ulangan sekuen DNA pada daerah SSR (Wening, 2014). Marka ini digunakan untuk menganalisis tingkat polimorfisme 7 nomor serbuk (Tabel 1 dan 2). Marka tersebut menunjukkan alel polimorfik pada tetua dan keturunannya.

Berdasarkan ukuran alel yang teramplifikasi, jumlah alel cukup bervariasi, yaitu berkisar antara 2 (mEgCIR3433) hingga 6 (mEgCIR0257 dan mEgCIR0783) dengan rerata 4 alel per lokus (Tabel 3). Kisaran alel pada 1 set marka berkisar antara 105-328 bp yang bermanfaat untuk memudahkan kegiatan teknis analisis fragmen DNA dan penggabungan beberapa primer SSR. Beberapa marka yang digunakan pada penelitian ini telah digunakan pada kelapa sawit, misal marka

mEgCIR0894 yang berasosiasi dengan penyakit *Ganoderma* (Hama-Ali *et al.*, 2014) dan diketahui untuk mengetahui kekerabatan genetik pada 22 populasi pisifera (Putri *et al.*, 2010). Marka lain mEgCIR3775 yang digunakan pada penelitian ini, juga dimanfaatkan untuk menguji keturunan 12 keturunan 13.386 T (tenera) x 26.1074 D (Deli dura) (Ihase *et al.*, 2014).

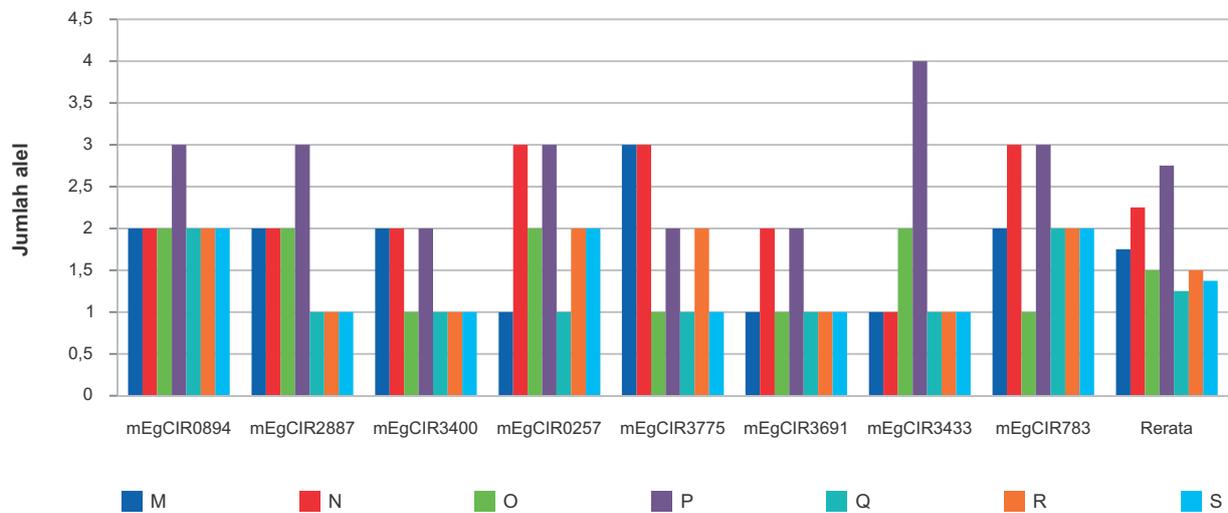
Pada tanaman hasil penyerbukan sendiri, seleksi yang terus-menerus menyebabkan terjadinya fiksasi alel pada keturunannya. Demikian juga generasi hasil penyerbukan sendiri pada dura dan pisifera kelapa sawit yang dapat menyebabkan jumlah alel yang teramplifikasi menjadi lebih rendah bila dibandingkan hasil penyerbukan silang. Berdasarkan jumlah alel per keturunan, nomor serbuk P menunjukkan jumlah alel tertinggi 2,75 alel per lokus, diikuti M dengan 2,25 alel per lokus. Masing-masing marka SSR mengamplifikasi alel 1 hingga 4 dengan rerata 1,76 alel per lokus. Walaupun polimorfisme cukup rendah, terdapat peluang untuk mendapatkan alel yang berbeda antar individu.

Sebanyak 8 marka SSR yang digunakan pada penelitian ini mampu mengamplifikasi alel-alel keturunan yang menunjukkan segregasi tidak sesuai Hukum Mendel (Gambar 2). Berdasarkan elektroperegram pada tetua dan keturunannya menunjukkan ukuran alel yang berbeda. Pada tetua, marka mEgCIR0257 mengamplifikasi ukuran alel

Tabel 3. Ukuran alel per lokus pada 90 individu keturunan kelapa sawit.

Table 3. Size of allele in each loci in the 90 individuals of oil palm progenies.

No.	Nama primer	Kisaran alel (bp)	Macam ukuran alel	Jumlah alel per lokus
1	mEgCIR0894	199-219	199, 203, 207, 219	5
2	mEgCIR2887	105-117	105, 107, 117	3
3	mEgCIR3400	154-159	154, 155, 159	3
4	mEgCIR0257	289-312	289, 298, 300, 308, 310, 312	6
5	mEgCIR3775	187-203	187, 189, 193, 203	4
6	mEgCIR3691	196-211	196, 198, 209, 211	4
7	mEgCIR3433	260-262	260, 262	2
8	mEgCIR0783	314-332	312, 314, 322, 324, 328, 332	6
Jumlah alel				32
Rerata alel				4



Gambar 1. Jumlah alel per keturunan kelapa sawit pada 8 marka SSR.

Figure 1. Number of allele each oil palm progenies in eight SSR markers.

311 bp (*basepair*), sama dengan keturunan dengan individu 3, namun individu 1 dan 2 mengamplifikasi ukuran alel 309 bp dan tidak mengikuti hukum Mendel. Perbedaan ukuran 2 bp tersebut menunjukkan bahwa terdapat alel lain yang bukan berasal dari kedua tetuanya.

Jumlah pohon contoh yang digunakan pada analisis ini berbeda-beda, namun hasil analisis fragmen yang diperoleh tidak selamanya bergantung pada jumlah individu keturunan yang diuji. Terdapat kemungkinan bahwa semakin banyak individu yang diuji, analisis ketidaktelusuran genetik semakin besar. Hal ini diperkuat Thongthawee (2010) bahwa semakin banyak individu yang tidak sesuai dengan tetuanya, nilai probabilitas ketelusuran genetik semakin tinggi. Sulit diduga berapa jumlah individu yang dapat digunakan sebagai pohon contoh, karena pada analisis ini lebih ditekankan pada pola dan sebaran alel antara tetua dengan keturunannya, bukan pola alel antar individu. Berdasarkan analisis yang telah dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, paling sedikit 5 individu sudah cukup mewakili untuk satu populasi keturunan, kecuali apabila terdapat keterbatasan jumlah individu.

Selain berdasarkan jumlah pohon contoh yang dijabarkan di atas, satu set marka dapat

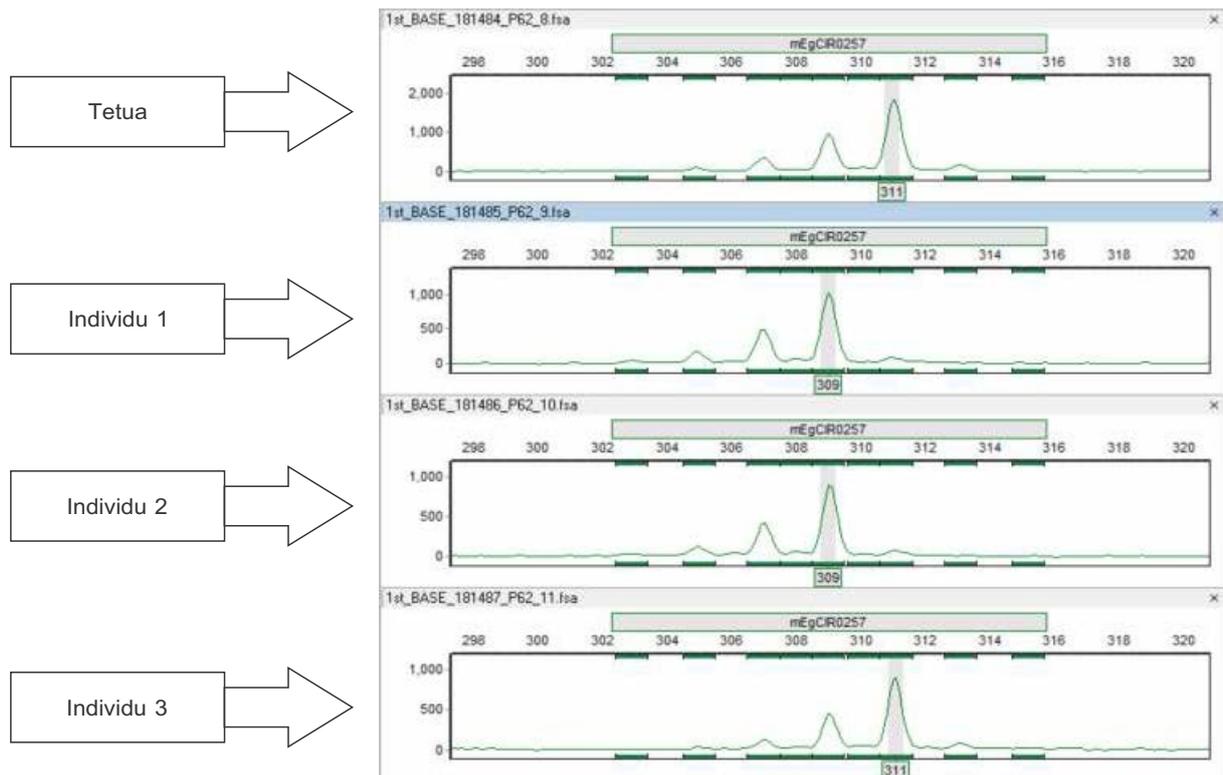
memberikan gambaran mengenai hasil analisis ketelusuran genetik apabila sekumpulan marka tersebut mampu mengamplifikasi alel dengan polimorfisme yang tinggi, memiliki kisaran alel yang beragam antara 100 hingga 450 bp, dan marka yang mampu mengamplifikasi alel yang homozigot sangat membantu dalam proses analisis dan konsistensi data genotipe pada saat verifikasi di lapangan. Sedangkan satu set marka SSR yang dapat digunakan sebagai marka standar apabila 1 set tersebut memenuhi ketentuan yaitu marka yang digunakan diperoleh dari sekuen DNA kelapa sawit, telah digunakan pada perwakilan populasi koleksi plasma nutfah, dan tidak adanya perubahan ukuran alel pada individu yang sama (konsisten) yang disebabkan oleh marka. Demikian juga saat verifikasi, alel yang teramplifikasi tidak menunjukkan alel yang berbeda. Marka SSR ini telah diterapkan pada koleksi plasma nutfah kelapa sawit PPKS (Wening *et al.*, 2013), sehingga marka SSR dan kisaran alel yang teramplifikasi dapat digunakan sebagai acuan baku pada saat analisis ketelusuran genetik keturunan di PPKS. Berdasarkan pada asumsi-asumsi tersebut, maka pemilihan marka mampu memperkecil bias yang disebabkan oleh jumlah marka yang digunakan.

Beberapa penelitian baik pada kelapa sawit maupun tanaman lainnya telah menggunakan 1 set marka SSR untuk menganalisis ketelusuran genetik hasil persilangan maupun benih hibrida. Pada kelapa sawit, Araya *et al.* (2009) menganalisis 20 klon menggunakan 17 marka SSR, berbeda dengan Norziha *et al.* (2009) yang menggunakan 9 marka SSR untuk 16 keturunan dengan masing-masing 20 individu per keturunan. Durrand-Gasselini *et al.* (2009) menyarankan untuk analisis ketelusuran genetik keturunan kelapa sawit dapat digunakan 12 marka SSR, karena secara statistik sejumlah marka tersebut lebih mudah diterapkan. Pada tanaman lain, metode analisis ketelusuran genetik dilakukan dengan memilih 30 dari 400 benih yang dipilih secara acak dan 5 marka SSR sudah dapat membedakan tetua dan padi hibridanya (Kumar *et*

*al.*, 2012). Hipi *et al.* (2013) juga menyebutkan 3 dari 5 marka SSR yang digunakan pada 20 individu benih dan 40 individu tanaman di lapangan efektif digunakan untuk membedakan 2 hibrida jagung secara genotipe. Dari beberapa penelitian tersebut, keabsahan hasil analisis ketelusuran genetik keturunan dapat dibuktikan dengan memastikan alel keturunan sesuai Hukum Mendel, karena analisis tersebut merupakan nilai probabilitas dan sulit dibuktikan (Corley, 2005).

### Analisis Ketelusuran Genetik Keturunan

Berdasarkan analisis ketelusuran genetik keturunan, terdapat 4 dari 90 pohon dengan kisaran 1,19 hingga 4,76% individu yang menunjukkan tidak sesuai dengan Hukum Mendel (Tabel 4).



Gambar 2. Profil elektroferogram hasil PCR-SSR menggunakan marka mEgCIR0257 yang menunjukkan individu 1 dan 2 tidak sesuai hukum Mendel.

Figure 2. Electropherogram profile of PCR-SSR amplicon using mEgCIR0257 marker shown that 1 and 2 individu were not appropriate with Mendelian Law.

Ketidaksesuaian tersebut berdasarkan adanya alel yang berbeda dengan tetuanya dan segregasi alel keturunan yang tidak sesuai dengan tetuanya. Dari alel yang tidak sesuai tersebut, marka mEgCIR0257 mengamplifikasi 4 individu yang berasal pada keturunan N (1 individu), P (1 individu), dan S (2 individu). Dua individu pada nomor baris-pohon 22-30 nomor serbuk N dan 29-27 nomor serbuk P menunjukkan adanya ukuran alel yang berbeda pada 8 marka yang digunakan, sedangkan 2 individu lainnya, 9-22 dan 9-29 pada S menunjukkan alel yang segregasinya berbeda pada marka mEgCIR0257.

Corley dan Tinker (2016) menyebutkan analisis ketelusuran genetik merupakan nilai probabilitas dan sulit dibuktikan. Untuk memudahkan dalam seleksi pohon yang diteruskan dalam kegiatan selanjutnya, kesepakatan bersama di PPKS menyebutkan bahwa terdapat perbedaan dalam analisis ketelusuran genetik keturunan antara populasi koleksi atau sumber genetik pada program pemuliaan dan calon pohon induk varietas. Pada material genetik program pemuliaan, analisis ketelusuran genetik keturunan ditentukan berdasarkan populasi. Hal ini karena populasi yang tertelusur merupakan calon tetua persilangan yang diteruskan ke program pemuliaan selanjutnya. Selain itu juga, populasi tersebut merupakan hasil seleksi pada karakter-karakter terpilih program pemuliaan, sedangkan untuk tujuan pemilihan calon pohon induk komersil, analisis ketelusuran genetik berdasarkan per individu karena pohon tersebut yang digunakan sebagai tetua persilangan untuk menghasilkan benih komersil.

Adanya fenomena individu yang berbeda dengan informasi kedua tetuanya telah diketahui sejak adanya aplikasi molekuler pada populasi kelapa sawit. Integrasi marka molekuler mulai diaplikasikan pada 1900an untuk analisis ketelusuran genetik pada keturunan kelapa sawit (Corley, 2005). Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telah diketahui adanya individu yang segregasi alelnya tidak sesuai dengan Hukum Mendel. Menurut Liu *et al.* (2007), beberapa hal yang menyebabkan individu yang tidak sesuai dengan segregasi Mendel karena adanya alel heterozigot lain (*residual amounts heterozygosity*) yang diketahui. Kedua, sifat dari kelapa sawit yang menyerbuk

silang. Tetua yang dilakukan penyerbukan sendiri kemungkinan secara genetik tidak sama, artinya masih adanya satu atau dua lokus *non-heterozigous* pada keturunannya. Menurut Thongthawee *et al.* (2010), individu yang tidak sesuai Hukum Mendel juga disebabkan karena adanya mutasi pada 1 atau 2 lokus tertentu pada daerah SSR-nya.

Terdapat perbedaan tingkat keakuratan dan metode perhitungan pada data genotipe dan fenotipe untuk mengetahui tingkat kontaminasi polinasi di lapangan. Pengawasan ketelusuran genetik keturunan pada data genotipe harus mengikuti hukum Mendel karena data yang diperoleh adalah genotipe. Genotipe yang tidak sesuai dengan Hukum Mendel tidak dapat dihitung tingkat kontaminasinya, sehingga tingkat kontaminasi polinasi pada benih DxP tidak dapat disamakan untuk kontaminasi alel berdasarkan data molekuler. Perbedaan kedua adalah apabila tetua menunjukkan homozigot (AA) dan heterozigot (Aa) dan keturunan yang dihasilkan adalah heterozigot, maka tidak dapat diketahui nilai alel kontaminasi pada keturunan tersebut karena seharusnya terdapat keturunan yang homozigot juga.

Konsensus tingkat kesesuaian genetik keturunan yang mengacu pada tetuanya belum tentu bahwa data genotipe menggunakan perwakilan lokus pada tiap kromosom kelapa sawit adalah benar secara keseluruhan. Kebenaran tingkat kesesuaian genetik mengacu pada alel-alel yang diketahui menggunakan perwakilan lokus tersebut, artinya bahwa lokus lain tidak dapat diduga pada kromosom yang lain. Status ketelusuran genetik keturunan merupakan nilai probabilitas dan sulit dibuktikan (Corley dan Tinker, 2016), namun dengan semakin banyak marka yang digunakan, maka nilai probabilitas keturunan tersebut dapat ditingkatkan. Walaupun demikian, secara genetik apabila terdapat minimal satu individu keturunan yang tidak sesuai dengan tetuanya maka telah menunjukkan ketidaksesuaian telusur pada keturunan tersebut.

Indikasi adanya ketidaktelusuran genetik pada kelapa sawit telah diketahui sejak 1941 oleh Bearneart dan Vanderweyen (*dalam* Corley, 2005) dengan tidak disebutkan segregasi tipe buah pada sebagian besar publikasinya. Indikasi tersebut diulas oleh Corley (2005) yang menyebutkan bahwa

Tabel 4. Nomor individu tanaman yang menyimpang dari Hukum Mendel menggunakan 8 marka SSR.

Table 4. Individual palm number which outside with Mendelian using 8 SSR markers.

No.	Kode No. serbuk	mEgCIR0894	mEgCIR2887	mEgCIR3400	mEgCIR0257	mEgCIR3775	mEgCIR3691	mEgCIR3433	mEgCIR0783
1.	M	√	√	√	√	√	√	√	√
2.	N	22-30	22-30	√	22-30	22-30	22-30	√	22-30
3.	O	√	√	√	√	√	√	√	√
4.	P	29-27	29-27	29-27	29-27	29-27	29-27	29-27	29-27
5.	Q	√	√	√	√	√	√	√	√
6.	R	√	√	√	√	√	√	√	√
7.	S	√	√	√	9-22; 9-28	√	√	√	√
Jumlah		2	2	1	4	2	2	1	2
Persentase (%)		2,38	2,38	1,19	4,76	2,38	2,38	1,19	2,38

Keterangan: = segregasi sesuai Hukum Mendel; angka= nomor pohon-nomor baris individu di lapangan yang segregasinya tidak sesuai Hukum Mend

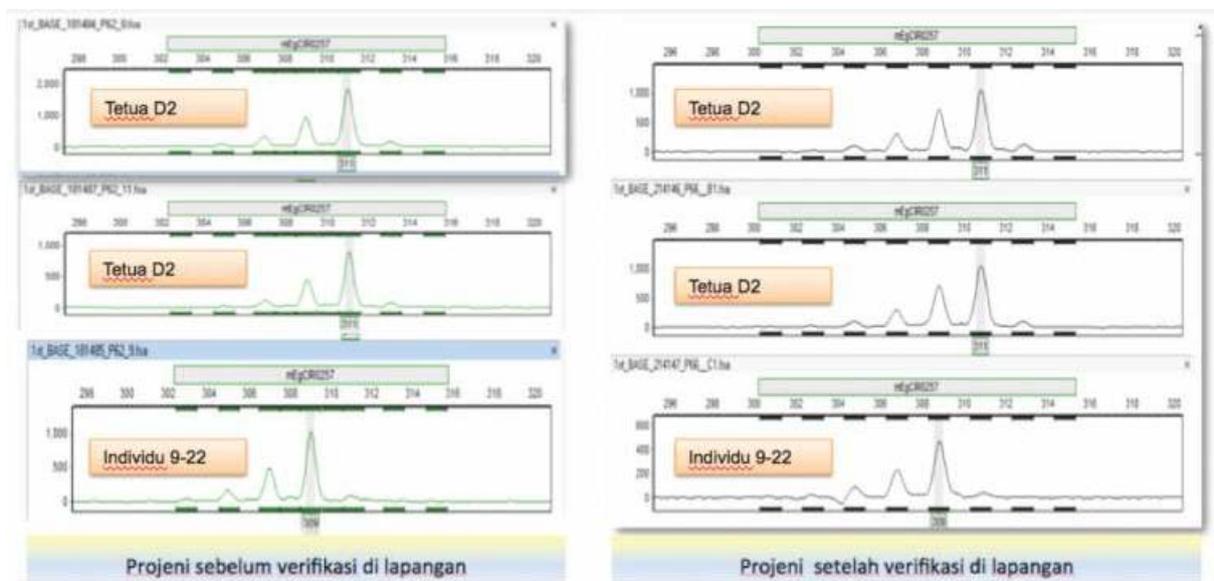
program pemuliaan SP540T, tenera dan pisifera di Malaysia, Kamerun, dan Binga, tidak tertelusur secara genetik dan adanya kontaminasi persilangan berdasarkan segregasi tipe buah. Dugaan tersebut diperkuat dengan beberapa penelitian ketelusuran genetik menggunakan marka molekuler yang menyebutkan adanya segregasi keturunan yang tidak sesuai Hukum Mendel (Thongthawee *et al.*, 2010).

### Verifikasi Individu Tidak Sesuai Hukum Mendel

Verifikasi pohon di lapangan pada individu 22-30 dengan nomor serbuk N menunjukkan bahwa sampel yang diambil berasal dari pohon yang dimaksud. Pada saat pengambilan tanaman contoh pertama, kondisi pohon masih sehat dan normal secara fisik. Namun, pada saat beberapa bulan diambil lagi untuk diverifikasi, kondisi pohon tersebut terinfeksi boron berat dan serangan *Oryctes* sp. Berdasarkan hasil analisis ketelusuran genetik, alel-alel pada individu tersebut menunjukkan ukuran alel-alel yang berbeda dengan individu-individu lain pada

keturunan yang sama. Cukup sulit untuk mengetahui dugaan penyebab adanya perbedaan secara genetik pada individu 22-30 dengan individu lainnya pada keturunan yang sama dan hubungannya dengan gejala boron berat maupun serangan *Oryctes* sp. Namun demikian, dari verifikasi pada penelitian ini juga membuktikan bahwa marka SSR efektif dan efisien untuk mengetahui perubahan posisi dan ukuran alel.

Menurut Thongthawee *et al.* (2010), beberapa penelitian ketelusuran genetik keturunan tidak selamanya mendapatkan keturunan yang sesuai dengan informasi kedua tetuanya. Mengontrol persilangan bukan hal yang mudah dan banyak faktor yang mempengaruhinya. Selain faktor alamiah, beberapa hal yang dapat menyebabkan ketidaksesuaian informasi alel tetua dengan keturunannya adalah adanya kontaminasi polen (Kumar *et al.* 2012) dan pengawasan persilangan, seperti pemilihan polen yang tidak sesuai dengan yang ditentukan, serta perbedaan pada identitas sampel, atau pohon di lapangan (Corley, 2005).



Gambar 3. Profil elektroferogram hasil verifikasi pohon di lapangan yang menunjukkan individu tidak sesuai dengan informasi alel kedua tetuanya.

Figure 3. Electropherogram profile of verifying result of palm in the field showed individu inappropriate with information alleles of parents.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan terdapat 4 dari 90 individu yang segregasi alel-alelnya tidak sesuai dengan informasi kedua tetuanya. Individu tersebut adalah dengan nomor pohon-baris 22-30 di AD02S; 29-27 di MA22S; 9-22 dan 9-28 di AD02S. Sebanyak 3 keturunan menunjukkan ketelusuran genetik keturunan yang sesuai dengan kedua tetuanya yaitu nomor serbuk M, Q, dan R. Hasil analisis ketelusuran genetik dapat membantu seleksi keturunan dalam program persilangan pada pemuliaan kelapa sawit, terutama untuk pemilihan individu calon pohon induk komersil maupun untuk memilih populasi pemuliaan yang diteruskan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N., M.Y. Rafii, I. Maizura, and A. Mohd Din. 2009. Genetic diversity among oil palm parental genotypes revealed by microsatellite polymorphism and its relationship to progeny performance. Proceeding the International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB). ISOPB Seminar, 4-5 November 2009. Kuala Lumpur City Center.
- Ahmed, M.M., H. Guo, C. Huang, X. Zhang, and Z. Lin. 2013. Selection of core SSR markers for fingerprinting upland cotton cultivars and hybrids. Australian Journal of Crop Science 7(12): 1912-1920.
- Ai, C.X., X.M. Yu, G.N. Shen, Z.H. Qin, S.L. Tian, and L. Xu. 2012. Allele frequency analysis of Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) population using fluorescent simple sequence repeats (SSR) analysis. African Journal of Biotechnology 11(73): 13767-13774.
- Araya, E., A. Alvarado, and R. Escobar. 2009. Use of DNA markers for fingerprinting compact clones and determining the genetic relationship between *Elaeis oleifera* germplasm origins. Proceeding the International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB). ISOPB Seminar, 4-5 November 2009. Kuala Lumpur City Center.
- Arias, D., C. Montoya, and H. Romero. 2013. Molecular characterization of oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. Materials from Cameroon. Plant Genetic Resources 11 (2): 140-148.
- Barcelos, E., P. Amblard, J. Berthaud, and M. Seguin. 2002. Genetic diversity in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. Pesq. agropec. bras., Brasília 37 (8): 1105-1114.
- Billot, C., R. Rivallan, M.N. Sall, D. Fonceka, M. Deu, J.C. Glaszmann, J.L. Noyer, J.F. Rami, A.M. Risterucci, P. Wincker, P. Ramu, and C.T. Hash. 2012. A reference microsatellite kit to assess for genetic diversity of Shorgum bicolor (Poaceae). American Journal of Botany: e245-e250.
- Billotte, N., N. Marseillac, A.M. Risterucci, B. Adon, P. Brottier, F. C. Baurens, R. Singh, A. Herran, H. Asmady, C. Billot, P. Amblard, T. Durand-Gasselín, B. Courtois, D. Asmono, S. C. Cheah, W. Rohde, E. Ritter, and A. Charrier. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theoretical and Applied Genetics 110: 754-765.
- Corley, R.H.V. 2005. Illegitimacy in oil plant breeding—a review. Journal of Oil Palm Research 17: 64-69.
- Corley, R.H.V. and P.B. Tinker. 2016. The Oil Palm, Fourth edition. Blackwell Science Ltd. Hal 133-199.
- Devarumath, R.M., S. Nandy, V. Rani, S. Marimuthu, N. Muraleedharan, and S.N. Raina. 2002. RAPD, ISSR, and RFLP fingerprints as useful markers genetic integrity of micropropagated plants of three diploid and triploid elite tea clones representing *Camellia sinensis* (China type) and *C. assamica* spp. *assamica* (Assam-India type). Plant Cell Rep 21: 166-173. DOI 10.1007/s00299-002-0496-2.
- Durrand-Gasselín, T., N. Billotte, V. Pomies, G. Mastin, F. Potier, P. Amblard, A. Flori, and F. Cochard. 2009. ID checking by microsatellite type

- markers (SSR) during the oil palm variety selection and production processes. Proceeding the International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB). ISOPB Seminar, 4-5 November 2009. Kuala Lumpur City Center.
- Faizah, R. dan S. Wening. 2015. Protokol analisis legitimasi kelapa sawit di PPKS. Prosiding Pertemuan Teknis Kelapa Sawit. Jakarta, 17-21 April 2015.
- Hama-Ali, E.O., J.M. Panandam, S.G. Tan, S.S.R.S. Alwee, T.J. Sheong, H.C. Ling, P. Namasivayam, and H.B. Peng. 2014. Association between basal stem rot disease and simple sequence repeat markers in oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq. *Euphytica*.202 (2): 199-206.
- Hipi, A., M. Surahman, S. Ilyas, and Giyanto. 2013. Seed genetic purity assessment of maize hybrid using microsatellite markers (SSR). *International Journal of Applied Science and Technology* 3 (5): 66-71.
- Ihase, L.O., R. Horn, G.O. Anoliefo, C.R. Eke, C.O. Okwuagwu, and Asemota. 2014. Assessment of an oil palm population from Nigerian Institute for Oil Palm Research (NIFOR) for simple sequence repeat (SSR) marker application. *African Journals of Biotechnology*. 13 (14): 1529-1540.
- Kumar, M.R.C., K. Vishwanath, N. Shivakumar, R.S. Prasad, B.N. Radha, dan Ramegowda. 2012. Utilization of SSR markers for seed purity testing in popular rice hybrids (*Oryza sativa* L.). *Annals of Plant Sciences* 1 (1):1-5.
- Liu, L., G. Liu, and Y. Gong. 2007. Evaluation of genetic purity of F1 hybrid seeds in cabbage with RAPD, ISSR, SRAP, and SSR markers. *HortScience* 42 (3): 724-727.
- Moretzsohn, M.C., M.A. Ferreira, Z.P.S. Amaral, P.J.A. Coelho, D. Grattapaglia, and M.E. Ferreira. 2002. Genetic diversity of Brazilian oil palm (*Elaeis oleifera* HBK) germplasm collected in Amazon Forest. *Euphytica* 124:35-45.
- Norziha, A., M.Y. Rafii, I. Maizura, and A. Mohd Din. 2009. Genetic diversity among oil palm parental genotypes revealed by microsatellite polymorphism and its relationship to progeny performance. Proceeding the International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB). ISOPB Seminar, 4-5 November 2009. Kuala Lumpur City Center.
- Putri, L.A.P., R. Rivallan, Zulhermana, Y. Puspitaningrum, Sudarsono, X. Perrier, D. Asmono, and N. Billotte. 2010. Allelic diversity of 22 Sampoerna Agro's oil palm pisifera based on microsatellite markers. Prosiding of International Oil Palm Conference (IOPC), Jogjakarta 1-3 Juni 2010.
- Singh, R., J. Nagappan, S.G. Tan, J.M. Panandam, and S-C. Cheah. 2007. Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and finger printing of tissue culture clones. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* 15 (3): 121-131.
- Tanya, P., P. Srinives, T. Toojinda, A. Vanavichit, B-K Ha, J-S. Bae, J-K Moon, and S-H Lee. 2001. Evaluation of genetic diversity among soybean genotypes using SSR and SNP. *Korean J. Crop. Sci.*46 (4): 334-340.
- Thongthawee, S., P. Tittinutchanon, and H. Volkaert. 2010. Microsatellite for parentage analysis in oil palm breeding population. *Thai Journal of Genetics* 3(2): 172-181.
- Wening, S. 2014. Pemilihan marka SSR: strategi dalam analisis sidik jari DNA di PPKS. *Warta* 19 (2): 56-63.
- Wening, S., R. Faizah, Y. Yenni, and A.R. Purba. 2013. Aplikasi sidik jari DNA dalam manajemen plasma nutfah kelapa sawit. *Pertemuan Teknis Kelapa Sawit*. Jakarta, 6-8 April 2013.
- Wu, M., X. Jia, L. Tian, and B. Lv. 2010. Rapid and reliable purity identification of F1 hybrids of maize (*Zea mays* L.) using SSR markers. *Plant Breeding* 4 (3): 381-384.

