

Analisis Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Gen Laccase-24 (EgLCC24) dalam Ketahanan Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) terhadap *Ganoderma boninense*

(Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Analysis of the Laccase-24 (EgLCC24) Gene in the Resistance of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) to Ganoderma boninense)

Syarul Nugroho*, Hernawan Yuli Rahmadi, Muhamad Syukur¹, Widodo¹, Willy Bayuardi Suwarno¹, Sri Wening, Rokhana Faizah, Retno Diah Setiowati, dan Heri Adriwan Siregar.

Abstrak Serangan *Ganoderma boninense* dan penyebarannya yang cepat di perkebunan kelapa sawit telah menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan. Penggunaan bahan tanaman tahan *Ganoderma* dapat menjadi solusi, tetapi segregasi alel yang terjadi menyebabkan tidak semua progeni DxP yang diperoleh memiliki sifat ketahanan terhadap *Ganoderma*. Peran marka molekuler diperlukan untuk membantu seleksi awal progeni DxP yang tahan *Ganoderma* di pembibitan. Penelitian ini bertujuan mencari marka SNP tertarget dari gen *Laccase-24* (EgLCC24), yang sebelumnya diduga berperan dalam ketahanan kelapa sawit terhadap *Ganoderma*. Penelitian ini menggunakan tiga populasi DxP kelapa sawit, yaitu populasi A, B, dan C. Penapisan *Ganoderma* di pembibitan dilakukan pada ketiga populasi ini untuk meperoleh sampel progeni dengan fenotipe tahan dan fenotipe rentan, yang kemudian dianalisis lebih lanjut. Metode yang digunakan mencakup analisis SNP hingga pemanfaatan primer SNAP untuk pengembangan marka. Perbedaan SNP yang diperoleh dari penelitian ini menyebabkan perubahan asam amino, namun tidak sampai menyebabkan stop kodon. Hasil validasi menggunakan primer SNAP pada gen *Laccase-24* menunjukkan bahwa progeni DxP populasi A, B, dan C

relatif memiliki karakteristik alel moderat tahan *Ganoderma*.

Kata kunci: *Ganoderma*, marka DNA, primer SNAP, progeni DxP tahan dan rentan

Abstract *Ganoderma boninense attack and its rapid spread in oil palm plantations have caused significant economic losses. The use of *Ganoderma* resistant plant materials can be a solution, but the allelic segregation that occurs causes not all DxP progeny obtained have the nature of resistance to *Ganoderma*. The role of molecular markers is needed to assist initial selection of *Ganoderma* resistant DxP progenies in nurseries. This study aims to identify targeted SNP markers from the *Laccase-24* gene (EgLCC24), which is thought to play a role in oil palm resistance to *Ganoderma*. Three oil palm DxP populations were used in this study, namely populations A, B, and C. *Ganoderma* screening in nurseries was carried out on these three populations to obtain progeny samples with resistant and susceptible phenotypes, which were then further analyzed. The methods used include SNP analysis and the use of SNAP primers for marker development. The SNP differences obtained from this study led to amino acid changes, but did not cause stop codons. The validation results using SNAP primers on the *Laccase-24* gene showed that DxP progeny from populations A, B, and C relatively have moderate allele characteristics of *Ganoderma* resistance.*

Keywords: DNA markers, *Ganoderma*, resistant and susceptible DxP progeny, SNAP primer

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

Syarul Nugroho*(✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan 20158 Indonesia
Email: synugroho@outlook.com

¹IPB University, Jl. Raya Dramaga, Bogor, 16680, Indonesia

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) telah dibudidayakan secara komersial di Sumatera, Indonesia sejak tahun 1911 di bawah pemerintahan Belanda (Corley & Thinker, 2016). Kondisi lingkungan dan iklim yang mendukung pertumbuhan kelapa sawit, serta permintaan pasar yang terus meningkat, membuat perkebunan kelapa sawit di Indonesia berkembang pesat dari tahun ke tahun. Hingga saat ini, Indonesia telah menjadi eksportir minyak sawit terbesar di pasar global selama dua dekade terakhir (Edwards, 2019; Tandra & Suroso, 2022). Meskipun demikian, perkebunan kelapa sawit tidak sepenuhnya berjalan mulus, serangan *Ganoderma* menjadi permasalahan serius yang dapat menurunkan produktivitas kelapa sawit. Berdasarkan penelitian Kamu *et al.* (2021), kerugian ekonomi akibat serangan *Ganoderma* diperkirakan dapat mencapai 68,73%.

Ganoderma menyerang bagian pangkal batang atau bagian tengah tanaman kelapa sawit sehingga menyebabkan pembusukan. Penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang disebabkan oleh *Ganoderma* pertama kali dilaporkan pada tahun 1930 di perkebunan Malaysia (Thompson, 1931). Serangan *Ganoderma* tidak hanya terjadi di Indonesia dan Malaysia, tetapi juga dilaporkan terjadi di beberapa negara di Afrika serta di Kolombia (Castillo *et al.*, 2022). Penyebarannya sangat cepat, bisa terjadi melalui kontak langsung antara miselium dengan akar yang sehat, serta melalui basidiospora yang tersebar di udara (Merciere *et al.*, 2017). Berdasarkan survei yang dilakukan oleh Wijayanti *et al.* (2024) di area perkebunan kelapa sawit di Sumatra Utara Bagian Barat seluas 15.567,82 ha, *Ganoderma* ditemukan menyerang sekitar 31,81% dari luas area survei tersebut.

Pendekatan kultur teknis, pengendalian kimia, dan pengendalian biologis telah dilakukan, tetapi hingga saat ini belum ada metode tersebut yang terbukti efektif dalam mengobati penyakit BPB (Rupaedah *et al.*, 2024). Penggunaan bahan tanaman tahan *Ganoderma* menjadi salah satu solusi dalam mengendalikan penyakit ini. Perakitan bahan tanaman DxP kelapa sawit tahan dapat dilakukan dengan menyilangkan antara tetua pohon Dura (D) tahan dengan tetua pohon Pisifera (P) tahan (Corley & Thinker, 2016). Penggunaan bahan tanaman tahan *Ganoderma* menjadi salah satu solusi dalam

pengendalian penyakit BPB. Perakitan bahan tanaman DxP kelapa sawit tahan dapat dilakukan dengan menyilangkan antara tetua pohon Dura (D) tahan dengan tetua pohon Pisifera (P) tahan (Corley & Thinker, 2016). Namun, persilangan yang dilakukan memiliki permasalahan, dimana gen yang mewariskan sifat ketahanan (R gene) akan mengalami segregasi alel (Gururani *et al.*, 2012). Segregasi yang terjadi, seperti pada pewarisan Mendel (Debener, 2017), mengakibatkan tidak semua progeni DxP yang dihasilkan memiliki sifat ketahanan terhadap *Ganoderma*. Beberapa progeni DxP masih berpotensi memiliki sifat rentan terhadap *Ganoderma*.

Pencarian marka perlu dilakukan sebagai langkah seleksi awal untuk mendapatkan DxP yang tahan *Ganoderma*. Seleksi berbantuan marka (*marker assisted selection/MAS*) dapat membantu memastikan bahwa semua bibit yang ditanam di perkebunan komersial akan memiliki sifat ketahanan terhadap *Ganoderma* (Afandi *et al.*, 2018). Marka dapat berupa marka di level fenotipe hingga genotipe. Secara konvensional, tanaman diseleksi berdasarkan karakteristik fenotipe yang dapat diamati. Marka di level fenotipe antara kelapa sawit tahan dan rentan terhadap *Ganoderma* dapat diamati dari gejala yang muncul. Perbedaan fenotipe antara progeni DxP tahan dan rentan setelah 60 hari diberi perlakuan infeksi *Ganoderma* pada fase pembibitan, dapat dilihat pada Gambar 1.

Sebelum menuju ke level marka genotipe, terdapat marka di level metabolomik dan transkriptomik untuk membedakan antara kelapa sawit tahan dan rentan terhadap *Ganoderma* (Pancoro *et al.*, 2022; Faizah *et al.*, 2022b). Namun, kedua jenis marka tersebut memerlukan serangkaian proses yang panjang untuk diaplikasikan. Solusinya adalah menggunakan marka di level genotipe atau marka molekuler berbasis DNA. Marka molekuler yang diperoleh dapat digunakan untuk membedakan antara progeni DxP tahan dan rentan di pembibitan.

Marka di level genotipe hingga fenotipe saling terintegrasi, dimana DNA akan mengalami transkripsi menjadi RNA; RNA kemudian mengalami translasi menjadi protein/metabolit; protein tersebut kemudian diekspresikan menjadi fenotipe (Das *et al.*, 2015). Salah satu jenis marka molekuler yang sering digunakan dalam pemuliaan tanaman saat ini adalah marka SNP (*single nucleotide polymorphism*). Marka

SNP berupa perubahan pasangan basa tunggal yang terjadi di lokasi tertentu dalam genom (Tsykun *et al.*, 2017). Marka SNP yang berkorelasi dengan sifat yang ditargetkan dapat diperoleh melalui studi transkriptomik atau ekspresi gen (Wade *et al.*, 2022). Sebelumnya Faizah *et al.* (2022b) telah melakukan

studi ekspresi gen pada bibit kelapa sawit yang diinfeksi dengan *G. boninense*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekspresi gen *Laccase-24* (EgLCC24) secara signifikan relatif lebih tinggi pada sampel yang tahan dibandingkan sampel yang rentan.



Gambar 1. Progeni DxP tahan (kiri) dan rentan (kanan) setelah diinfeksi Ganoderma di pembibitan

Figure 1. Resistant (left) and susceptible (right) DxP progeny after being infected with Ganoderma in the nursery

Gen *Laccase-24* memiliki peran dalam lignifikasi, sehingga kandungan lignin meningkat pada kelapa sawit tahan ketika terserang oleh *Ganoderma* (Faizah *et al.*, 2022b). Peningkatan kandungan lignin juga dilaporkan meningkatkan ketahanan terhadap penyakit dengan menghambat invasi patogen pada berbagai jenis tanaman, termasuk kanola (Wang *et al.*, 2023), jagung (Yang *et al.* 2017) dan gandum (Ma *et al.*, 2017). Oleh karena itu, gen *Laccase-24* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai marka ketahanan kelapa sawit terhadap *Ganoderma*. Dalam penelitian ini, dilakukan analisis polimorfisme perbedaan SNP pada gen *Laccase-24* berdasarkan primer SNAP antara kelapa sawit tahan dan rentan sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat marka berbasis DNA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini berlangsung dari bulan April 2023 hingga September 2023. Penelitian dilakukan di Kebun Pembibitan dan Lab. Biologi Molekuler Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Unit Marihat,

Sumatera Utara. Kebun Pembibitan digunakan untuk memperoleh progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan terhadap *Ganoderma*. Lab. Biologi Molekuler digunakan untuk analisis terkait molekuler seperti PCR dan analisis SNP.

Bahan Tanaman

Tiga populasi DxP kelapa sawit dengan *origin* genetik berbeda, yaitu populasi A, B, dan C, digunakan dalam penelitian ini. Setiap populasi terdiri dari 100 bibit yang diinfeksi dengan *Ganoderma* (pengujian progeni) dan 20 bibit kontrol negatif yang tidak diinfeksi. Setelah 6 bulan pengujian, progeni DxP yang menunjukkan fenotipe tahan atau rentan terhadap *Ganoderma* akibat proses segregasi akan diidentifikasi menggunakan kriteria skoring pada Tabel 1. Dari hasil uji progeni, sebanyak 99 tanaman dari ketiga populasi, yang terdiri dari 45 progeni DxP dengan fenotipe tahan (skor 0), 45 progeni DxP dengan fenotipe rentan (skor 4), dan 9 progeni DxP kontrol, dipilih untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan PCR.

Tabel 1. Skoring bibit kelapa sawit terinfeksi *Ganoderma* berdasarkan pengamatan pada akar dan batang tanaman setelah pembongkaran (standar skoring di PPKS).

Table 1. Scoring of oil palm seedlings infected with Ganoderma based on observations of the roots and stems of the plants after dismantling (scoring standard in IOPRI).

Skor	Uraian
0	Tidak ada gejala nekrotik pada perakaran dan pangkal batang
1	Terdapat nekrotik pada perakaran tetapi belum ada pada pangkal batang
2	Terdapat nekrotik pada perakaran, nekrotik mulai terjadi pada bagian pangkal batang < 5%
3	Terdapat nekrotik pada perakaran, nekrotik pada bagian pangkal batang 5% - 25%.
4	Terdapat nekrotik pada perakaran, nekrotik pada bagian pangkal batang > 25%, muncul tubuh buah Ganoderma pada pangkal batang, nekrotik hingga mati

Analisis SNP

Sekuens nukleotida dan asam amino dari kelapa sawit tahan dan rentan diperoleh dari database NCBI (*national center for biotechnology information*) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sekuens tersebut

didapat dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Faizah (2022a) dengan nomor aksesi gen seperti dalam Tabel 2. Selanjutnya, sekuens kelapa sawit tahan dan rentan dilakukan *multiple sequence alignment* (MSA) menggunakan software ClustalX2 untuk menganalisis perbedaan SNP.

Tabel 2. Nomor aksesi kelapa sawit DxP tahan dan rentan *Ganoderma* dari database NCBI

Table 2. Ganoderma resistant and susceptible DxP oil palm accession numbers from the NCBI database

No. Aksesi	Nama Gen	Panjang (bp)	Keterangan
OP963484	<i>Elaeis guineensis isolate 6FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	772	Rentan
OP963485	<i>Elaeis guineensis isolate 74P1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	529	Tahan
OP963486	<i>Elaeis guineensis isolate 58P1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	529	Tahan
OP963488	<i>Elaeis guineensis isolate 61FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	784	Tahan
OP963490	<i>Elaeis guineensis isolate 57FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	772	Tahan
OP963492	<i>Elaeis guineensis isolate 56FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	772	Tahan
OP963494	<i>Elaeis guineensis isolate 55FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	772	Rentan
OP963495	<i>Elaeis guineensis isolate 53FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	560	Rentan

(continued)

No. Aksesi	Nama Gen	Panjang (bp)	Keterangan
OP963496	<i>Elaeis guineensis isolate 32FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	772	Rentan
OP963498	<i>Elaeis guineensis isolate 11FP1 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	771	Rentan
OP963500	<i>Elaeis guineensis isolate 58FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	362	Tahan
OP963501	<i>Elaeis guineensis isolate 56FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	348	Tahan
OP963502	<i>Elaeis guineensis isolate 32FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	374	Rentan
OP963503	<i>Elaeis guineensis isolate 6FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	386	Rentan
OP963504	<i>Elaeis guineensis isolate 74FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	452	Tahan
OP963505	<i>Elaeis guineensis isolate 61FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	375	Tahan
OP963506	<i>Elaeis guineensis isolate 57FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	374	Tahan
OP963507	<i>Elaeis guineensis isolate 55FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	405	Rentan
OP963508	<i>Elaeis guineensis isolate 53FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	397	Rentan
OP963509	<i>Elaeis guineensis isolate 11FP2 laccase (Lcc-24) gene, partial cds</i>	402	Rentan

Desain Primer SNAP

Perbedaan SNP antara kelapa sawit tahan dan rentan dapat dideteksi menggunakan PCR dengan mendesain primer SNAP (*single nucleotide amplified polymorphism*). Primer SNAP didesain menggunakan aplikasi WebSNAPER (<https://pga.mgh.harvard.edu/cgi-bin/snap3/websnaper3.cgi>). Penelitian ini menggunakan 4 jenis primer SNAP yang telah didesain oleh peneliti sebelumnya (Faizah, 2022a),

seperti terlihat dalam Tabel 3. Sekuens primer dianalisis dan didesain menggunakan Primer3Plus (<https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>). Selain itu, primer EgLCC24 juga didesain untuk mengamplifikasi daerah non-SNP pada gen *Laccase-24*, sehingga pita DNA dapat terdeteksi pada sampel kelapa sawit tahan maupun rentan. Primer EgLCC24 mengamplifikasi sekuen sepanjang 377 bp, dengan sekuen primer forward 5'-GACGACGGCAGTGAAT AGGT-3' dan reverse 5'-GGGTGGTGGAAGGGTAGTTT-3'.

Tabel 3. Primer SNAP yang didesain berdasarkan perbedaan SNP gen *Laccase-24*

Table 3. SNAP primers designed based on SNP differences in the *Laccase-24* gene

Nama Primer	Sekuens Forward (5'-3')	Sekuens Reverse (5'-3')	Ukuran produk PCR (bp)
SNAP1_Ref	GTGATACTTGAAAGGTTCACG TCATCAATGAAT	CTCGGTGGTTCGAGGAGTGGG	350
SNAP1_Alt	CGGTGATACTTGAAAGGTTCA CGTCATCAATATAC	CTCGGTGGTTCGAGGAGTGGG	350
SNAP3_Ref	GGACACTCCTTCACAGTCGT CCCG	TCCCCTGGCCTGATCAGACTGGT	340
SNAP3_Alt	GGACACTCCTTCACAGTCGT CCCC	TCCCCTGGCCTGATCAGACTGGT	340

Analisis PCR

Sekitar 100 mg sampel daun diambil dari tanaman DxP tahan, rentan, dan kontrol untuk ekstraksi DNA genom menggunakan DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen). Sampel terlebih dahulu dihancurkan menggunakan TissueLyser sebelum dilakukan amplifikasi menggunakan PCR. Denaturasi awal dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti oleh 35 siklus denaturasi pada 95°C selama 30 detik, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 55°C selama 30 detik, dan perpanjangan basa (*elongation*) pada suhu 72°C selama 40 detik. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap akhir perpanjangan basa (*final extension*) pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil PCR dielektroforesis menggunakan gel agarosa 2% selama 30 menit dengan tegangan 100 V. Gel direndam dalam GelRed dan divisualisasi menggunakan transluminator sinar UV.

Analisis Situs Restriksi

Perbedaan SNP antara kelapa sawit tahan dan rentan dapat dianalisis situs restrikinya untuk pengembangan sebagai marka RFLP (*restriction fragment length polymorphism*). RFLP adalah jenis polimorfisme yang dihasilkan dari variasi sekuen DNA yang dikenali oleh enzim restriksi. Situs restriksi dapat dianalisis secara *in silico* menggunakan aplikasi Webcutter (<https://heimanlab.com/cut2.html>) (Alba, 2000).

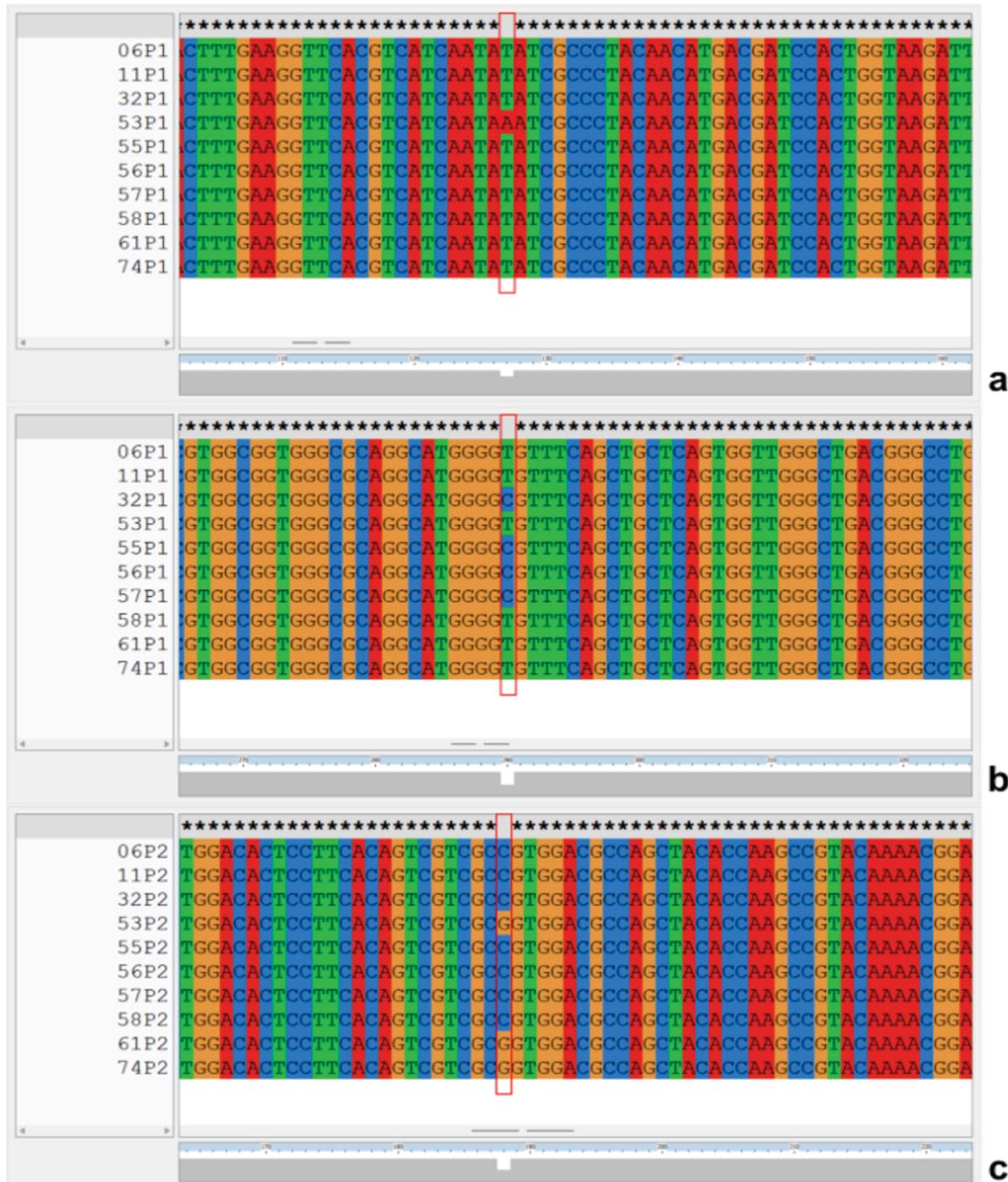
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis SNP Sekuens Gen *Laccase-24*

Analisis perbedaan SNP dilakukan dengan melakukan penyelarasan beberapa sekuen (MSA) antara DxP tahan dan rentan terhadap *Ganoderma*, seperti pada Gambar 2 (DNA) dan Gambar 3 (protein). Sekuen DxP tahan dan rentan diperoleh dari database NCBI. Perbedaan SNP mengakibatkan perubahan pasangan basa tunggal dalam gen, yang juga dikenal sebagai substitusi pasangan basa. Perbedaan SNP yang terjadi dapat mempengaruhi jenis asam amino yang diekspresikan, yang terkadang mengakibatkan perubahan fungsi protein. Hasil analisis perbedaan SNP pada level DNA dan protein dapat dilihat dalam Tabel 4.

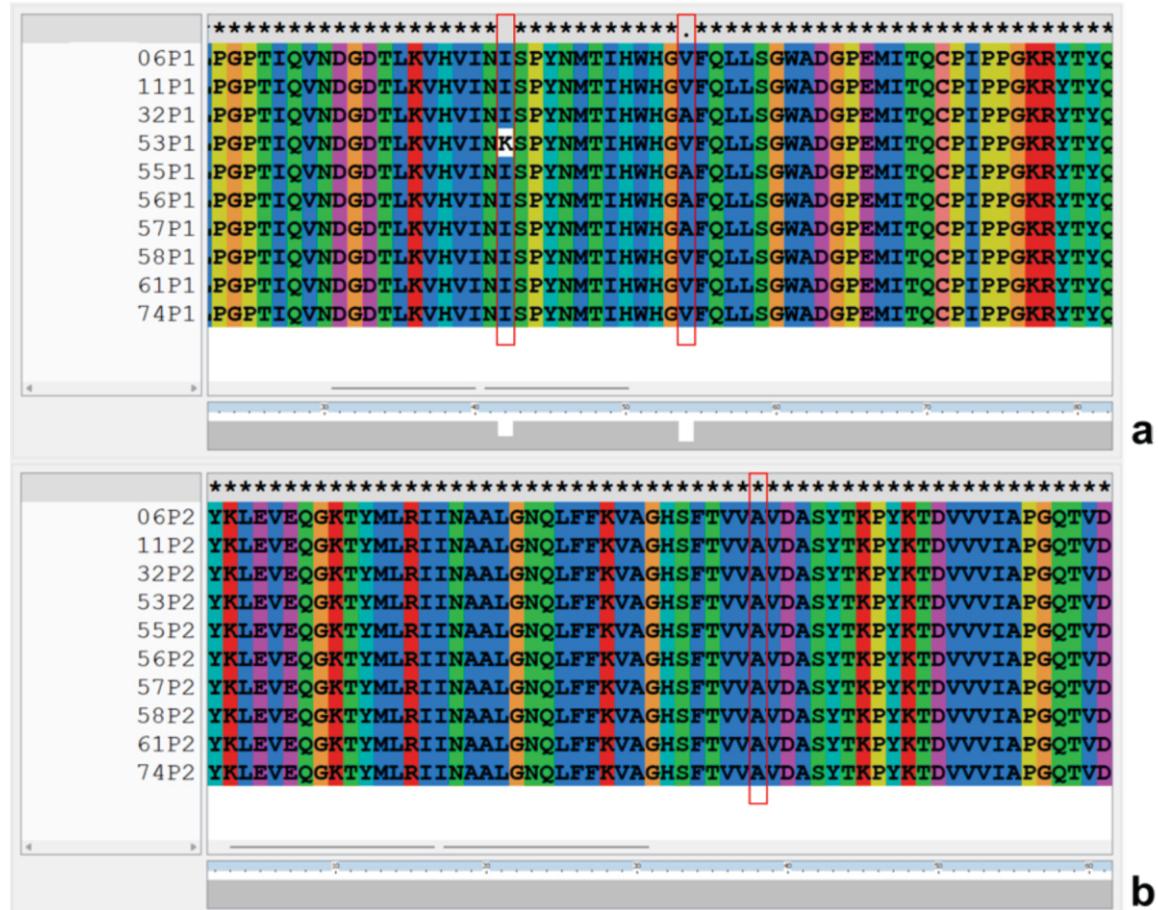
Dari hasil MSA gen *Laccase-24* pada sekuen kelapa sawit tahan dan rentan, diperoleh tiga region SNP, yaitu SNP1 yang terdeteksi pada basa 334, SNP2 yang terdeteksi pada basa 370, dan SNP3 yang terdeteksi pada basa 854. Namun, SNP yang terdeteksi tidak cukup conserved di antara sekuen kelapa sawit tahan dan rentan. Hal ini mengindikasikan bahwa SNP tersebut belum cukup kuat untuk dijadikan kandidat marka.

Meskipun demikian, terdapat perubahan basa nukleotida pada SNP antara sekuen kelapa sawit tahan dan rentan. SNP1 mengalami perubahan basa dari A menjadi T, SNP2 dari T menjadi C, dan SNP3 dari G menjadi C.



Gambar 2. Hasil MSA sekuen nukleotida gen *Laccase-24* pada kelapa sawit tahan dan rentan *Ganoderma*. SNP1 (a), SNP2 (b), dan SNP3 (c).

Figure 2. Figure 2. MSA results of the nucleotide sequence of the *Laccase-24* gene in *Ganoderma* resistant and susceptible oil palms. SNP1 (a), SNP2 (b), and SNP3 (c).



Gambar 3. Hasil MSA sekuens protein gen *Laccase-24* pada kelapa sawit tahan dan rentan *Ganoderma*. SNP1 (a), SNP2 (b), dan SNP3 (c).

Figure 3. MSA results of the protein sequence of the Laccase-24 gene in Ganoderma resistant and susceptible oil palms. SNP1 (a), SNP2 (b), and SNP3 (c).

Tabel 4. Hasil analisis situs SNP pada sekuensi DxP tahan dan rentan *Ganoderma*

Table 4. Results of SNP site analysis on Ganoderma resistant and susceptible DxP sequences

Posisi SNP	Nama SNP	Variasi SNP	Perubahan Asam Amino		Tipe perubahan asam amino
334	SNP1	[A/T]	AAA/ lisin (K)	→ ATA/ isoleusin (I)	Non-synonymous
370	SNP2	[T/C]	GTG/ valin (V)	→ GCG/ alanin (A)	Non-synonymous
854	SNP3	[G/C]	GCG/ alanin (A)	→ GCC/ alanin (A)	Synonymous

Perubahan pada SNP3 termasuk dalam tipe SNP *non-synonymous* (sSNP), sehingga tidak menyebabkan perubahan asam amino. Pada SNP3, meskipun terjadi perubahan basa nukleotida, asam amino yang diekspresikan tetap alanin. Sementara itu, perubahan

pada SNP1 dan SNP2 termasuk dalam tipe *non-synonymous* (nsSNP), yang dapat mengubah asam amino. Pada SNP1, dari asam amino lisin menjadi isoleusin, dan pada SNP 2, dari asam amino valin menjadi alanin. Perubahan SNP *non-synonymous*

dapat dibagi menjadi dua tipe, yaitu missense yang menghasilkan perubahan asam amino, dan *nonsense* yang menghasilkan perubahan asam amino menjadi terpotong, lebih panjang, atau stop kodon (Petrosino *et al.* 2021). Namun, dalam penelitian ini, perubahan SNP *non-synonymous* tidak sampai menyebabkan munculnya stop kodon.

Perubahan asam amino *missense* diduga dapat menyebabkan perbedaan fenotipe yang diekspresikan. Hal ini disebabkan oleh kesalahan substitusi asam amino selama sintesis protein, yang dapat menghasilkan protein abnormal yang pada gilirannya menyebabkan mutasi fenotipik (Korsa & Feyissa, 2022). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa SNP 1 dan SNP2 dari gen *Laccase-24* mengalami perubahan asam amino *missense*. Namun, hingga saat ini, belum ditemukan publikasi mengenai perubahan jenis asam amino spesifik yang dapat menjelaskan sifat ketahanan gen EgLCC24 terhadap *Ganoderma*.

Stop kodon akibat perubahan asam amino *nonsense* dapat menyebabkan asam amino berikutnya tidak dapat ditranslasi. Jika stop kodon muncul pada ujung suatu gen, maka sintesis protein akan terhenti. Namun, jika stop kodon terjadi pada posisi tidak normal, dapat mengakibatkan protein terpotong dan tidak berfungsi (Embree *et al.*, 2022). Berdasarkan Dabrowski *et al.* (2018) penghentian prematur stop kodon memiliki efek yang lebih parah pada fungsi gen dibandingkan perubahan asam amino.

Pada penelitian ini, tidak ditemukan perubahan asam amino *nonsense* yang menyebabkan stop kodon. Meskipun demikian, beberapa publikasi menunjukkan bahwa stop kodon dapat mempengaruhi ketahanan tanaman terhadap penyakit. Sebagai contoh, hilangnya kodon kodon secara prematur pada gen *OsWAK91* menyebabkan ketahanan terhadap penyakit hawar pelepas pada tanaman padi (Al-Bader *et al.*, 2023). Di sisi lain, stop kodon yang memotong produk gen *atDND1* justru dapat meningkatkan ketahanan *Arabidopsis* terhadap penyakit (Clough *et al.*, 2000).

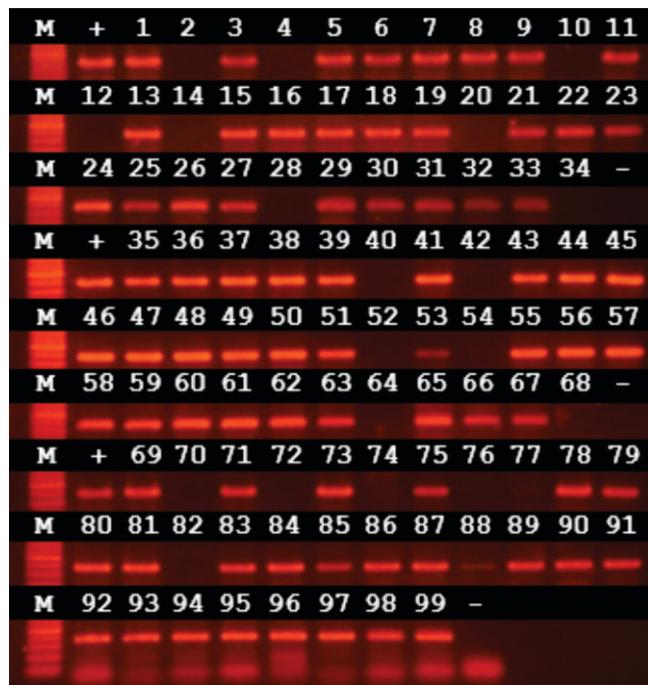
Validasi Marka SNAP pada DxP Tahan dan Rentan *Ganoderma* di Pembibitan

Sebanyak 90 tanaman hasil uji progeni di

pembibitan dipilih untuk diambil DNAnya. Hasil ekstraksi DNA divalidasi menggunakan primer EgLCC24 untuk mengetahui keberhasilan ekstraksi DNA (Gambar 4). Primer EgLCC24 dapat mendeteksi keberadaan gen *Laccase-24* pada progeni DxP yang memiliki fenotipe tahan ataupun rentan terhadap *Ganoderma*, dengan ukuran produk PCR berkisar 377 bp. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada semua progeni DxP tahan (nomor ganjil) terdeteksi pita DNA pada ketiga populasi. Sedangkan pada progeni DxP rentan (nomor genap), beberapa sampel tidak terdeteksi. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa sampel DxP fenotipe rentan, ekstraksi DNA tidak berhasil dilakukan, kemungkinan karena beberapa tanaman DxP rentan sudah mengalami *browning* dan nekrosis akibat infeksi *Ganoderma*. Jaringan daun yang mati diduga menjadi penyebab degradasi DNA sehingga tidak berhasil diekstraksi. Berdasarkan Saraswathi & Mullainathan (2020), daun segar dan muda menjadi pilihan utama untuk mendapatkan DNA berkualitas baik karena daun tua mungkin mengandung lebih tinggi polisakarida dan polifenol, yang dapat mempengaruhi kemurnian DNA. Sejalan dengan hasil tersebut, semua progeni DxP kontrol tanpa perlakuan infeksi *Ganoderma* (nomor 91 – 99) menunjukkan terdeteksi adanya pita DNA. Hal ini disebabkan karena progeni DxP kontrol merupakan tanaman yang sehat dan segar sehingga ekstraksi DNA berhasil dilakukan.

Sampel progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan terhadap *Ganoderma* yang positif mengamplifikasi gen *Laccase-24*, beberapa dipilih untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan primer SNAP seperti pada Gambar 6. Primer SNAP digunakan untuk mendeteksi keberadaan SNP antara progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan menggunakan PCR. Primer SNAP dikembangkan berdasarkan *mismatch* dari tiga nukleotida pada ujung 3' pada situs SNP suatu gen (Drenkard *et al.*, 2000). Ketidakcocokan pada ujung 3' dari situs SNP bersifat spesifik menghasilkan amplifikasi relatif pada suatu gen. Primer SNAP akan mendeteksi ada tidaknya pita DNA antara sekvens progeni DxP tahan dan rentan pada kelapa sawit.

Pendekatan SNAP telah berhasil digunakan sebagai marka deteksi penyakit pada beberapa tanaman seperti pisang (Sutanto *et al.*, 2013), kakao (Tarigan *et al.*, 2021), dan kedelai (Jang & Lee, 2021). Hasil desain primer SNAP akan menghasilkan primer *reference allele* (Ref) dan primer *alternative allele* (Alt). Sebelum

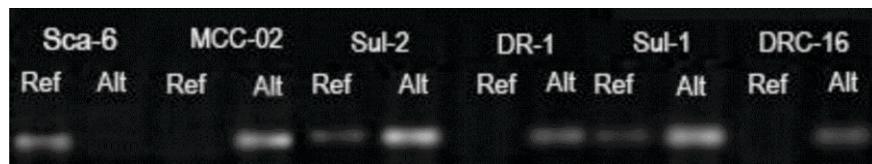


Gambar 4. Hasil validasi primer EgLCC24 pada progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan *Ganoderma*. Nomor ganjil = progeni tahan. Nomor genap = progeni rentan. M = DNA ladder 100 bp. + = kontrol positif (sampel positif). - = kontrol negatif (air). 1, 3, 5, 19, 21, 23, 37, 39, 41, 55, 57, 59, 73, 75, 77 = populasi A tahan. 2, 4, 6, 20, 22, 24, 38, 40, 42, 56, 58, 60, 74, 76, 78 = populasi A rentan. 7, 9, 11, 25, 27, 29, 43, 45, 47, 61, 63, 65, 79, 81, 83 = populasi B tahan. 8, 10, 12, 26, 28, 30, 44, 46, 48, 62, 64, 66, 80, 82, 84 = populasi B rentan. 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89 = populasi C tahan. 14, 16, 18, 32, 34, 36, 50, 52, 54, 68, 70, 72, 86, 88, 90 = populasi C rentan. 91 – 99 = progeni DxP kontrol.

Figure 4. Validation results of EgLCC24 primers on DxP progeny with *Ganoderma* resistant and susceptible phenotypes. Odd number = resistant progeny. Even number = susceptible progeny. M = DNA ladder 100 bp. + = positive control (positive sample). - = negative control (water). 1, 3, 5, 19, 21, 23, 37, 39, 41, 55, 57, 59, 73, 75, 77 = population A resistant. 2, 4, 6, 20, 22, 24, 38, 40, 42, 56, 58, 60, 74, 76, 78 = population A susceptible. 7, 9, 11, 25, 27, 29, 43, 45, 47, 61, 63, 65, 79, 81, 83 = population B resistant. 8, 10, 12, 26, 28, 30, 44, 46, 48, 62, 64, 66, 80, 82, 84 = population B susceptible. 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89 = population C resistant. 14, 16, 18, 32, 34, 36, 50, 52, 54, 68, 70, 72, 86, 88, 90 = population C susceptible. 91 – 99 = control DxP progeny.

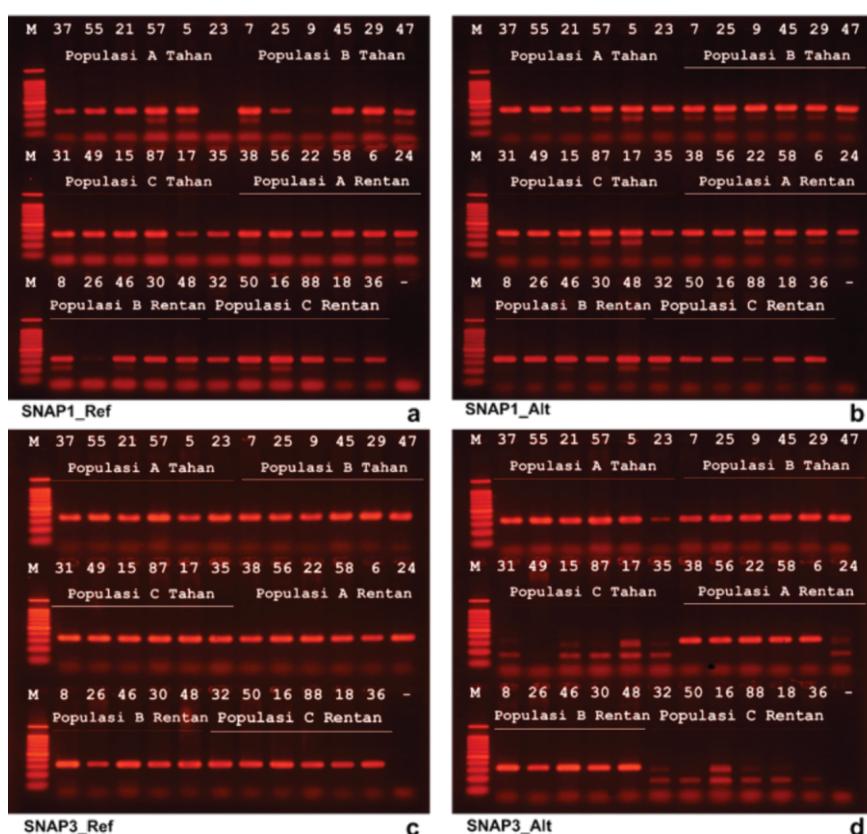
menuju hasil validasi menggunakan primer SNAP pada penelitian ini, hasil penelitian Tarigan *et al.* (2021) menunjukkan bahwa primer SNAP Ref dan SNAP Alt mampu membedakan alel tanaman untuk ketahanan kakao terhadap penyakit busuk buah, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5. Apabila pita DNA hanya terdeteksi pada primer SNAP Ref saja, maka menunjukkan alel tahan. Apabila pita DNA hanya terdeteksi pada primer SNAP Alt saja, maka menunjukkan alel rentan. Apabila terdeteksi pita DNA pada primer SNAP Ref dan SNAP Alt, maka menunjukkan alel moderat tahan.

Hasil validasi menggunakan primer SNAP pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada SNAP1_Ref dan SNPA1_Alt, pita DNA relatif terdeteksi pada progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan di ketiga populasi. Hasil serupa juga ditunjukkan ketika menggunakan primer SNAP3_Ref dan SNPA3_Alt. Merujuk pada publikasi Tarigan *et al.* (2021), meskipun hasil uji progeni DxP menunjukkan fenotipe tahan maupun rentan *Ganoderma* di pembibitan, namun secara molekuler dengan pendekatan SNAP, ketiga progeni DxP populasi A, B, dan C relatif memiliki karakteristik alel moderat tahan *Ganoderma*.



Gambar 5. Visualisasi primer SNAP Ref dan Alt pada enam klon kakao. Hanya primer Ref yang diamplifikasi pada klon Sca-6 (alel tahan); primer Ref dan Alt diamplifikasi pada klon Sul-2 dan Sul-1 (alel moderat tahan); dan hanya primer Alt yang diamplifikasi pada klon DR-1, MCC-02, dan DRC-16 (alel rentan) (Tarigan et al., 2021).

Figure 5. Visualization of SNAP Ref and Alt primers on six cocoa clones. Only the Ref primer amplified in the Sca-6 clone (resistant allele); primers Ref and Alt were amplified on clones Sul-2 and Sul-1 (moderate resistant allele); and only the Alt primer amplified on clones DR-1, MCC-02, and DRC-16 (susceptible allele) (Tarigan et al., 2021).



Gambar 6. Hasil analisis SNP pada progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan *Ganoderma*. Primer SNAP1_Ref (a), primer SNAP1_Alt (b), primer SNAP3_Ref (c), dan primer SNAP3_Alt (d).

Figure 6. Results of SNP analysis on DxP progeny with Ganoderma resistant and susceptible phenotypes. Primer SNAP1_Ref(a), primer SNAP1_Alt(b), primer SNAP3_Ref(c), and primer SNAP3_Alt(d).

Pada progeni DxP populasi C, primer SNAP3_Ref mendeteksi pita DNA pada progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan, namun primer SNAP3_Alt mendeteksi pita DNA dimer baik pada progeni DxP tahan maupun rentan. Dimer merupakan suatu tanda adanya kesalahan pada saat amplifikasi yang ditandai

dengan terbentuknya pita DNA di bawah panjang marker yang dipakai (Setiyawan et al., 2014). Hasil primer SNAP3_Alt pada progeni DxP populasi C juga mengindikasikan adanya fenomena *genotype dependent*. Hal ini karena dimer ditemukan hanya pada populasi C, sesuai dengan temuan bahwa kelapa

sawit memiliki variasi *genotype dependent* yang tinggi pada setiap individu berdasarkan origin genetik (Yue *et al.* 2021).

Primer SNAP dapat digunakan sebagai marka untuk membedakan antara progeni tahan dan rentan terhadap *Ganoderma* apabila tidak ada pita DNA terdeteksi pada salah satu sifat tahan atau rentan. Sedangkan pada penelitian ini, pita DNA terdeteksi secara relatif pada seluruh progeni DxP dengan fenotipe tahan dan rentan dari ketiga populasi tersebut. Sehingga primer SNAP pada penelitian ini belum cukup kuat digunakan sebagai marka untuk membedakan antara progeni DxP tahan dan rentan. Hal ini disebabkan karena pada tahap awal MSA, SNP yang terdeteksi tidak cukup *conserved* antara sampel tahan dan rentan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun gen *Laccase-24* pada level ekspresi gen menunjukkan polimorfisme, namun pada level molekuler ternyata belum tentu mengalami polimorfisme. Hal ini mungkin disebabkan karena daerah polimorfisme tidak berada di region DNA yang dilakukan sekuensi (bisa terletak di daerah *up-stream* atau *down-stream* dari gen *Laccase-24*). Perbedaan ekspresi gen juga

dipengaruhi oleh elemen transkripsional seperti *enhancer* dan *repressor* (Shlyueva *et al.*, 2014). Apabila hal ini terjadi, sekuens DNA akan tetap sama sehingga pencarian polimorfisme perlu dilakukan di region elemen regulatornya. Secara alami, polimorfisme karena mutasi pada suatu gen pada individu kemunculannya jarang terjadi, kurang dari 1% dalam suatu populasi (Karki *et al.*, 2015).

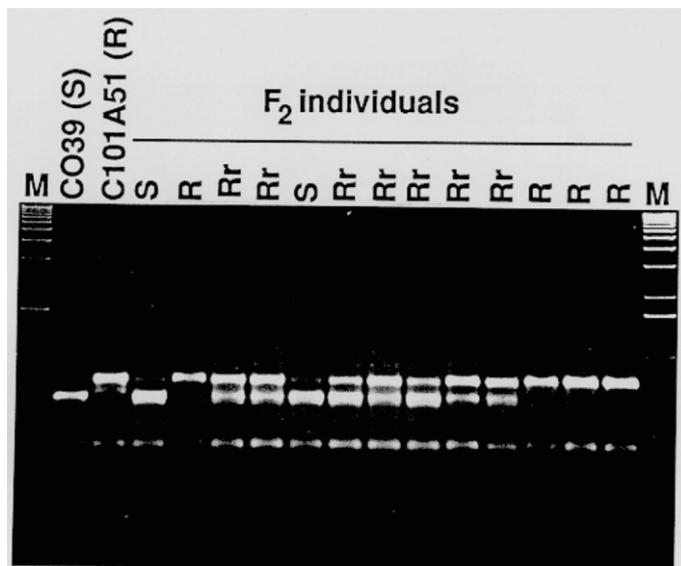
Analisis Situs Restriksi untuk Pengembangan Marka RFLP

Enzim restriksi merupakan protein yang dapat mengenali sekuens pendek dan unik, serta hanya memotong DNA di situs tertentu yang dikenal sebagai target atau situs restriksi (Zerbini *et al.*, 2014). Perbedaan SNP dari gen *Laccase-24* yang ditemukan pada sekuens kelapa sawit tahan dan rentan mungkin dapat mengkodekan situs restriksi yang berbeda. Enzim restriksi tertentu dapat memotong sekuens yang dikenali, sehingga mempengaruhi jumlah dan panjang fragmen yang dihasilkan. Hasil analisis situs restriksi pada penelitian ini secara *in silico* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Analisis situs restriksi antara sekuens rentan 53P1 (atas) dan tahan 57P1 (bawah); pada SNP1 (a), SNP2 (b), dan SNP3 (c).

Figure 7. Restriction site analysis between 53P1 susceptible (top) and 57P1 resistant (bottom) sequences; on SNP1 (a), SNP2 (b), and SNP3 (c).



Gambar 8. Visualisasi elektroforegram hasil digesti enzim restriksi HaeIII dari perbedaan SNP pada gen utama ketahanan terhadap blast, Pi-2(t). Mengacu pada pola pita DNA dari tetua CO39 (S, rentan) dan C101A51 (R, tahan), maka genotipe masing-masing individu F2 diberi label S, R, atau Rr (Hittalmani *et al.*, 1995).

Figure 8. Electrophorogram visualization of HaeIII restriction enzyme digestion results from SNP differences in the main blast resistance gene, *Pi-2(t)*. Referring to the DNA banding pattern of the parents CO39 (S, susceptible) and C101A51 (R, resistant), the genotype of each F2 individual is labeled S, R, or Rr (Hittalmani et al., 1995).

Hasil analisis situs restriksi menunjukkan bahwa SNP1 dan SNP3 antara sekuen 53P1 dan 57P1 tidak dikenali oleh enzim restriksi. Berbeda dengan SNP2 pada sekuen 57P1 dikenali oleh enzim restriksi *Dsal* dan *BstDSI*, sedangkan pada sekuen 53P1 tidak dikenali oleh enzim restriksi. Penelitian ini hanya mencapai tahap analisis situs restriksi secara *in silico* dan belum melanjutkan ke tahap *in vitro*. Hittalmani *et al.*, (1995) menggunakan enzim restriksi *Haelli* untuk membedakan antara padi yang tahan dan rentan terhadap penyakit *blast* berdasarkan perbedaan SNP pada gen Pi-2(t) (gen utama resistensi terhadap *blast*). Dengan menggunakan metode PCR, hasil digesti dari enzim restriksi *Haelli* tersebut divisualisasikan menggunakan gel elektroforesis seperti pada Gambar 8. Kedepannya, SNP2 mungkin dapat dikembangkan sebagai kandidat marka RFLP untuk membedakan DxP tahan dan rentan terhadap Ganoderma.

KESIMPULAN

Perbedaan SNP yang diperoleh dari penelitian ini menyebabkan perubahan asam amino namun tidak sampai menyebabkan stop kodon. Hasil validasi

menggunakan primer SNAP pada gen *Laccase-24* menunjukkan bahwa ketiga progeni DxP populasi A, B, dan C relatif memiliki karakteristik alel moderat tahan terhadap *Ganoderma*. Analisis restriksi pada situs gen *Laccase-24* memiliki potensi untuk pengembangan marka ketahanan terhadap *Ganoderma*. Kedepannya, diperlukan sekuisensi pada daerah elemen regulator dari gen *EgLCC24* untuk mengetahui apakah terdapat polimorfisme, sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat marka ketahanan kelapa sawit terhadap *G. boninense*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, D., Basyuni, M., Putri, L. A. P., Chalil, D., Wati, R., Siregar, E. B. M., and Syahputra, I. (2018). Molecular performances of oil palm (*Elaeis guineensis*) tahance to *Ganoderma* sp., *Journal of Physics: Conference Series*, 1116, 052001. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1116/5/052001>

Alba, M. (2000). Finding restriction sites . *Genome Biol* 1, reports2048. <https://doi.org/10.1186/gb-2000-1-2-reports2048>

- Al-Bader, N., Meier, A., Geniza, M., Gongora, Y. S., Oard, J., and Jaiswal, P. (2023). Loss of a Premature Stop Codon in the Rice Wall-Associated Kinase 91 (WAK91) Gene Is a Candidate for Improving Leaf Sheath Blight Disease Resistance, *Genes*, 14(9), 1673. <https://doi.org/10.3390/genes14091673>
- Castillo, S. Y., Rodríguez, M. C., González, L. F., Zúñiga, L. F., Mestizo, Y. A., Medina, H. C., Montoya, C., Morales, A., Romero, H. M., and Sarria, G. A. (2022). Ganoderma zonatum Is the Causal Agent of Basal Stem Rot in Oil Palm in Colombia, *Journal of Fungi*, 8(3), 230. <https://doi.org/10.3390/jof8030230>
- Clough, S. J., Fengler, K. A., Yu, I., Lippok, B., Smith, R. K., and Bent, A. F. (2000). The Arabidopsis dnd1 "defense, no death" gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(16), 9323–9328. <https://doi.org/10.1073/pnas.150005697>
- Corley, R.H.V., and Tinker, P.B. (2016). *The Oil Palm*. Wiley - Blackwell, Hoboken. <https://doi.org/10.1002/9781118953297>
- Dabrowski, M., Bukowy-Bierylo, Z., and Zietkiewicz, E. (2018). Advances in therapeutic use of a drug-stimulated translational readthrough of premature termination codons, *Molecular Medicine*, 24(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0024-7>
- Das, P., Nutan, K. K., Singla-Pareek, S. L., and Pareek, A. (2015). Understanding salinity responses and adopting 'omics-based' approaches to generate salinity tolerant cultivars of rice, *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00712>
- Debener, T. (2017). Inheritance of Characteristics in Reference Module in Life Sciences, Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.05047-0>
- Drenkard, E., Richter, B. G., Rozen, S., Stutius, L. M., Angell, N. A., Mindrinos, M., Cho, R. J., Oefner, P. J., Davis, R. W., and Ausubel, F. M. (2000). A Simple Procedure for the Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms Facilitates Map-Based Cloning in Arabidopsis, *Plant Physiology*, 124(4), 1483–1492. <https://doi.org/10.1104/pp.124.4.1483>
- Edwards, R. B. (2019). *Export agriculture and rural poverty: evidence from Indonesian palm oil*. Dartmouth College: Hanover, Germany.
- Embree, C. M., Abu-Alhasan, R., and Singh, G. (2022). Features and factors that dictate if terminating ribosomes cause or counteract nonsense-mediated mRNA decay, *Journal of Biological Chemistry*, 298(11), 102592. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102592>
- Faizah, R. (2022a). Analisis Fisiologi dan Molekuler untuk Pengembangan Marka DNA pada Ketahanan Penyakit Busuk Pangkal Batang Kelapa Sawit. Disertasi, Sekolah Pascasarjana. Bogor: IPB University.
- Faizah, R., Putranto, R. A., Raharti, V. R., Supena, N., Sukma, D., Budiani, A., Wening, S., and Sudarsono, S. (2022b). Defense response changes in roots of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings after internal symptoms of *Ganoderma boninense* Pat. infection, *BMC Plant Biology*, 22(1), 139. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03493-0>
- Gururani, M. A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C. P., Nookaraju, A., Pandey, S. K., and Park, S. W. (2012). Plant disease resistance genes: Current status and future directions, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 78, 51–65. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.01.002>
- Hittalmani, S., Foolad, M. R., Mew, T., Rodriguez, R. L., and Huang, N. (1995). Development of a PCR-based marker to identify rice blast resistance gene, Pi-2(t), in a segregating population, *Theoretical and Applied Genetics*, 91(1), 9–14. <https://doi.org/10.1007/BF00220852>
- Jang, Y. E., and Lee, S. (2021). Gene-Based Allele Specific Marker for Resistance to *Phytophthora sojae* in Soybean (*Glycine max* L.), *Plant Breeding and Biotechnology*, 9(2), 164–169. <https://doi.org/10.9787/PBB.2021.9.2.164>
- Kamu, A., Khim, P. C., Abu, S. I., Gabda, D., and Chong, M. Ho. (2020). Estimating the yield loss of oil palm due to *Ganoderma* basal stem rot

- disease by using Bayesian Model Averaging. *Journal of Oil Palm Research.* <https://doi.org/10.21894/jopr.2020.0061>
- Karki, R., Pandya, D., Elston, R. C., and Ferlini, C. (2015): Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics, *BMC Medical Genomics*, 8(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s12920-015-0115-z>
- Korsa, F., and Feyissa, T. (2022). Effects of Functional Single Nucleotide Polymorphisms on Plant Phenotypes, *Archives of Crop Science*, 5(2). <https://doi.org/10.36959/718/619>
- Ma, Q.-H., Zhu, H.-H., and Han, J.-Q. (2017): Wheat ROP proteins modulate defense response through lignin metabolism, *Plant Science*, 262, 32 – 38 . <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.04.017>
- Merciere, M., Boulard, R., Carasco-Lacombe, C., Klopp, C., Lee, Y.-P., Tan, J.-S., Syed Alwee, S. S. R., Zaremski, A., De Franqueville, H., Breton, F., and Camus-Kulandaivelu, L. (2017). About *Ganoderma boninense* in oil palm plantations of Sumatra and peninsular Malaysia: Ancient population expansion, extensive gene flow and large scale dispersion ability, *Fungal Biology*, 121(6 – 7), 529 – 540 . <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.01.001>
- Pancoro, A., Karima, E., Apriyanto, A., and Effendi, Y. (2022). 1H NMR metabolomics analysis of oil palm stem tissue infected by *Ganoderma boninense* based on field severity Indices, *Scientific Reports*, 12(1), 21087 . <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25450-5>
- Petrosino, M., Novak, L., Pasquo, A., Chiaraluce, R., Turina, P., Capriotti, E., and Consalvi, V. (2021). Analysis and Interpretation of the Impact of Missense Variants in Cancer, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5416 . <https://doi.org/10.3390/ijms22115416>
- Rupaedah, B., Eko Prasetyo, A., Hidayat, F., Asiani, N., Wahid, A., Nurlaila, and Lutfia, A. (2024). Evaluation of microbial biocontrol agents for *Ganoderma boninense* management in oil palm nurseries, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 23(3), 236–244.
- <https://doi.org/10.1016/j.issas.2023.12.001>
- Saraswathi, U., and Mullainathan, L. (2020). Extraction of high-quality genomic DNA and identification of different DNA barcoding markers for chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Buletin Agroteknologi*, 1 (1), 7 . <https://doi.org/10.32663/ba.v1i1.1194>
- Setiyawan, S. A., Budiharjo, A., and Kusumaningrum, H. P. (2014). Seleksi Primer LCO – HCO, Primer bird-f1 – HCO Dan Primer bch – bcl Untuk Amplifikasi Gen COI DNA Mitokondria Itik Magelang (*Anas javanica*), *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 16 (2), 83 . <https://doi.org/10.14710/bioma.16.2.83-89>
- Shlyueva, D., Stampfel, G., and Stark, A. (2014): Transcriptional enhancers: from properties to genome-wide predictions, *Nature Reviews Genetics*, 15 (4), 272 – 286 . <https://doi.org/10.1038/nrg3682>
- Sutanto, A., Hermanto, C., Sukma, D., dan Sudarsono. (2013). Pengembangan Marka SNAP Berbasis Resistance Gene Analogue Pada Tanaman Pisang (*Musa spp.*) (Development of SNAP Marker Based On Resistance Gene Analogue Genomic Sequences in Banana (*Musa spp.*)), 23(4).
- Tandra, H., and Suroso, A. I. (2023). The determinant, efficiency, and potential of Indonesian palm oil downstream export to the global market, *Cogent Economics & Finance*, 11(1), 2189671. <https://doi.org/10.1080/23322039.2023.2189671>
- Tarigan, R., Maharjaya, A., and Izzah, N. K. (2021). SNAP markers derived from Catalase1 gene sequence used for black pod disease resistance in cacao (*Theobroma cacao* L.). *SABRAO J Breed Genet.* 53(3).510–526.
- Thompson, A. (1931). Stem-rot of the oil palm in Malaya. *Bulletin Department of Agriculture, Straits Settlements and F.M.S., Science Series* 6.
- Tsykun, T., Rellstab, C., Dutech, C., Sipos, G., and Prospero, S. (2017). Comparative assessment of SSR and SNP markers for inferring the population genetic structure of the common fungus *Armillaria cepistipes*, *Heredity*, 119(5),

- 371–380. <https://doi.org/10.1038/hdy.2017.48>
- Wade, A. R., Duruflé, H., Sanchez, L., and Segura, V. (2022). eQTLs are key players in the integration of genomic and transcriptomic data for phenotype prediction, *BMC Genomics*, 23(1), 476. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08690-7>
- Wang, D., Lu, Q., Jin, S., Fan, X., and Ling, H. (2023). Pectin, Lignin and Disease Resistance in *Brassica napus* L.: An Update, *Horticulturae*, 9 (1), 112. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010112>
- Wijayanti, E., Eko Prasetyo, A., Priwiratama, H., Ahmad Perdana Rozziansha, T., Dewantara Eris, D., Sri Mulyatni, A., Fadia Lubis, A., & Putri Rambe, S. (2024). KEJADIAN PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG PADA TANAMAN KELAPA SAWIT MENJELANG TANAM ULANG DI SUMATRA UTARA BAGIAN BARAT. *WARTA Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 29(1), 45-60.
- <https://doi.org/10.22302/iopri.war.warta.v29i1.136>
- Yang, Q., He, Y., Kabahuma, M., Chaya, T., Kelly, A., Borrego, E., Bian, Y., El Kasmi, F., Yang, L., Teixeira, P., Kolkman, J., Nelson, R., Kolomiets, M., L Dangl, J., Wisser, R., Caplan, J., Li, X., Lauter, N., and Balint-Kurti, P. (2017): A gene encoding maize caffeoyl-CoA O-methyltransferase confers quantitative resistance to multiple pathogens, *Nature Genetics*, 49 (9), 1364–1372. <https://doi.org/10.1038/ng.3919>
- Yue, G. H., Ye, B. Q., and Lee, M. (2021). Molecular approaches for improving oil palm for oil, *Mol Breeding*, 41 (3):22 <https://doi.org/10.1007/s11032-021-01218-z>
- Zerbini, F. M., Silva, F. N. da, Urquiza, G. P. C., and Basso, M. F. (2014). Transgenic Plants, 179–199 in *Biotechnology and Plant Breeding*, Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418672-9.00008-8>