

PEMBERIAN PELATIHAN ISOLASI DNA TANAMAN KELAPA SAWIT DAN APLIKASI METODE ANALISIS SSR (*SIMPLE SEQUENCE REPEAT*) DI PT SOCFINDO, MEDAN SUMATERA UTARA

^{1*}Sogandi, ²Rabima

^{1,2}Program Studi Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.

*Sogandi@uta45jakarta.ac.id

Abstrak

PT. Socfin Indonesia sebagai perusahaan perkebunan kelapa sawit dan karet yang telah berdiri 100 tahun menyadari pentingnya usaha pemuliaan dan seleksi kelapa sawit. Secara umum, ada beberapa pendekatan yang diadopsi untuk pemuliaan kelapa sawit. Diantaranya adalah *Reciprocal Recurrent Selection* (RRS) dan *Family and Individual Selection* (FIS) namun teknik ini memerlukan waktu yang lama. Untuk membantu memotong siklus pemuliaan yang panjang, metode seleksi berbasis DNA digunakan untuk meningkatkan efisiensi dan presisi dalam studi gen. Salah satunya adalah menggunakan marka SSR (*Simple Sequence Repeat*). Untuk melakukan teknik SSR ini diperlukan keterampilan dalam mengisolasi DNA dan menerapkannya dalam analisis secara SSR. Oleh karena itulah kegiatan pelatihan yang meruapakan bentuk pengabdian kepada masyarakat ini bertujuan untuk membantu dan mendampingi para teknisi dalam melakukan isolasi DNA tanaman kelapa sawit menggunakan Kit ekstraksi serta melakukan amplifikasi pada salah satu primer untuk analisis SSR. Kegiatan yang dilakukan adalah pemberian materi mengenai molekular biologi, prinsip isolasi DNA, prinsip PCR, prinsip teknik SSR, pemberian pelatihan teknik untuk mengisolasi DNA dari sample daun kelapa sawit, teknik mengamplifikasi dengan PCR dan analisis SSR. Kegiatan berjalan dengan baik dan mendapat respon yang tinggi dari peserta selama pelatihan. Hasil kegiatan ini juga menunjukkan bahwa peserta pelatihan dapat mengaplikasikan teknik isolasi DNA tanaman menggunakan Kit ekstraksi dengan baik dan dapat melakukan amplifikasi salah satu primer SSR menggunakan Kit PCR yang diberikan dengan baik.

Kata kunci: Isolasi DNA, Kelapa sawit, Pelatihan

Abstract

PT. Socfin Indonesia as a palm oil and rubber plantation company has been established for 100 years realizes the importance of oil palm breeding and selection efforts. In general, there are several approaches adopted for oil palm breeding. Among them are Reciprocal Recurrent Selection (RRS) and Family and Individual Selection (FIS), but this technique takes a long time. To help cut the long breeding cycle, DNA-based selection methods are used to increase efficiency and precision in gene studies. One of them SSR markers (Simple Sequence Repeat). This SSR technique requires skills in isolated DNA and applied in SSR analysis. Therefore this training activity was conducted to engagement of community and assistance technicians in conducting DNA isolation of oil palm plants using extraction kits and amplifying one of the primers for SSR analysis. The activities carried out were the introduce of basic molecular biology, basic of the principle of DNA isolation, the principle of PCR technique, the principles of SSR analysis, coach of DNA isolation from leaf samples of oil palm, amplifying techniques by PCR and SSR analysis. The activity went well and received a high response from participants during the training. The results of this activity also showed that the trainees could be applied the plant DNA isolation technique using extraction kits well and could be amplified one of the SSR primers using a well-supplied PCR Kit.

Keywords: DNA Isolation, Palm oil, Training

1. PENDAHULUAN

PT. Socfin Indonesia sebagai perusahaan perkebunan kelapa sawit dan karet yang telah berdiri 100 tahun menyadari pentingnya usaha yang berkelanjutan dalam mengembangkan bisnisnya. Konsep berkelanjutan (*sustainability*) menjadi landasan dalam beroperasinya usaha perkebunan kelapa sawit dan karet.

Produk yang dihasilkan dan dipasarkan secara komersial oleh PT. Socfin Indonesia terdiri atas tiga bagian, yaitu (1) Benih dan bibit Kelapa Sawit, (2) Minyak Kelapa Sawit dan

Turunannya (3) Karet. Ketiga produk tersebut memiliki kualitas yang teruji dan terbukti, selalu mengandalkan kualitas, serta tidak kalah bersaing dengan produk yang lain yang ada di pasar.

Pemuliaan dan seleksi kelapa sawit berkaitan erat dengan pengembangan dura Deli berdasarkan empat pohon kelapa sawit yang diintroduksi di Bogor tahun 1848. Kelapa sawit memiliki siklus pemuliaan yang panjang, sekitar 10 tahun, seperti: satu tahun untuk polinasi, dua hingga tiga bulan untuk persiapan dan germinasi benih, tiga tahun di lapangan sebelum panen dan empat hingga enam tahun untuk evaluasi panen. Jika ditambahkan dengan uji progeni, waktu yang dibutuhkan mendekati 20 tahun untuk mengembangkan progeni yang telah teruji. Pemuliaan kelapa sawit memiliki beberapa tujuan utama: (1) meningkatkan hasil minyak, (2) tanaman yang pendek, (3) peningkatan kualitas minyak, (4) ketahanan terhadap penyakit, (5) sifat-sifat fisiologis (indeks tandan, jumlah bobot kering dan *bunch dry matter*), (6) eksploitasi interaksi genotipe dan lingkungan (Rajanaidu *et al.* 2000).

Secara umum, ada beberapa pendekatan yang diadopsi untuk pemuliaan kelapa sawit. Pendekatan yang umum digunakan adalah *Reciprocal Recurrent Selection* (RRS) dan *Family and Individual Selection* (FIS). RRS bertujuan untuk mengembangkan kelompok pisifera dan dura secara terpisah dan saling melengkapi untuk sifat tertentu dimana vigor hibrida dieksploitasi ketika disilangkan. Uji lanjut dilakukan pada progeni sebelum pengembangan selanjutnya untuk memperoleh nilai pemuliaan. FIS digunakan untuk mengidentifikasi famili terbaik dan kemudian tetua terbaik dari generasi berikutnya dipilih menggunakan nilai fenotipik (Price *et al.* 2007).

Untuk membantu memotong siklus pemuliaan yang panjang, metode seleksi berbasis DNA digunakan untuk meningkatkan efisiensi dan presisi dalam studi gen (Collard dan Mackill 2008). Seleksi berbasis DNA lebih dapat diandalkan daripada seleksi konvensional yang berbasis fenotif, karena fenotif dipengaruhi oleh lingkungan dan genotipe. Penggunaan marka berbasis DNA dalam pemuliaan disebut *Marker-Assisted Selection* (MAS). MAS dapat dilakukan pada tahap awal tanaman (*plantlet*) sehingga berpotensi mengurangi jumlah individu yang diuji dan juga mereduksi biaya. Persyaratan untuk prosedur kalsik MAS adalah marka DNA dan analisis pautan yang akan mengidentifikasi marka terpaut dengan gen-gen yang mengendalikan karakter-karakter yang diamati. Kualitas dan jumlah marka menentukan kesuksesan MAS. Kualitas marka berhubungan dengan karakteristik markanya, biaya dan efisiensi proses *genotyping*. Jumlah marka mempengaruhi reliabilitas keterpautan antara marka dan gen. Dengan kata lain, seleksi marka dalam jumlah besar memiliki potensi untuk identifikasi pautan yang dekat dan dapat dipercaya antara marka dan gen yang diinginkan (Ben-Ari dan Luvi, 2012).

Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*) pada kelapa sawit pertama kali dikembangkan oleh Billote *et al.* (2001) dengan menskrining pustaka SSR yang kaya dengan sekuense (GA)_n, (GT)_n dan (CCG)_n hingga karakterisasi akhir 21 lokus SSR. Estimasi kisaran ukuran alel dan heterozigositas yang diharapkan di *E. guineensis* dan spesies yang berkerabat dekat dengan *E. olifer*. Analisis data multivarian menunjukkan kemampuan marka SSR secara efisien mengungkapkan struktur keragaman genetic genus *Elaeis* sesuai dengan asal geografis dan hubungan genetiknya berdasarkan studi molekuler sebelumnya. Tingginya tingkat variabilitas alelik mengindikasikan bahwa SSR *E. guineensis* merupakan alat yang kuat untuk studi genetic genus *Elaeis*, termasuk identifikasi varietas dan pemetaan genetic intra atau inter

spesifik. Selain hal tersebut penggunaan SSR telah secara luas digunakan untuk meneliti tanaman kelapa sawit (Putri, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Biollette *et al.* (2005) menunjukkan bahwa marka SSR merupakan marka yang dapat digunakan untuk melihat adanya linkage-groups pada tanaman kelapa sawit. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Zaki *et al.* (2010) menunjukkan hasil bahwa marka SSR merupakan marka molekuler yang dapat dimanfaatkan untuk mempelajari struktur populasi dan konservasi pada populasi *E. oleifera*. Ajambang *et al.* (2012) juga menunjukkan penggunaan marka SSR sangat tepat untuk mengungkap keragaman genetic dan distribusi genetic tanaman kelapa sawit asal Kamerun.

2. RUMUSAN MASALAH

Permasalahan yang dihadapi oleh para teknisi yang bekerja di laboratorium molekuler PT Socfindo adalah, kurangnya keahlian dalam mengisolasi DNA tanaman sawit menggunakan Kit ekstraksi terutama dari Kit Bioline dan Geneaid. Selain itu juga, selama ini Kit PCR yang digunakan kadang-kadang tidak bisa mengamplifikasi gen target yang diinginkan. Oleh karena itulah tujuan dari kegiatan pelatihan yang merupakan bentuk pengabdian kepada masyarakat ini adalah untuk membantu dan mendampingi para teknisi dalam melakukan isolasi DNA tanaman kelapa sawit menggunakan Kit ekstraksi serta melakukan amplifikasi pada salah satu primer untuk analisis SSR.

3. METODE PELAKSANAAN KEGIATAN

Kegiatan yang dilakukan adalah pemberian materi mengenai molekular biologi, prinsip isolasi DNA, prinsip PCR dan prinsip teknik SSR. Selain itu juga dilakukan pemberian pelatihan untuk mengisolasi DNA dari sample daun kelapa sawit, amplifikasi dengan PCR dan analisis SSR. Kegiatan pengabdian masyarakat dilaksanakan pada tanggal 10 dan 11 Desember 2018 bekerjasama dengan PT Genetika Science Indonesia sebagai distributor Kit ekstraksi DNA dan bertempat di PT Socfindo Indonesia unit *Socfindo Seed Production and Laboratories* (SSPL) gedung Kultur Jaringan dan DNA. Kegiatan di hari pertama dimulai pada pukul 13.00 sampai dengan 16.00 WIB dan pada hari kedua kegiatan dimulai dari pukul 08.00 sampai dengan 16.00 WIB.

3.1 Isolasi DNA tanaman

DNA dari daun kelapa sawit diekstraksi dengan menggunakan dua jenis Kit ekstraksi DNA Plant, yaitu dengan Geneaid GP100 dan Bioline DNA plant isolation Kit. Sehingga didapatkan 10 sample DNA yang kemudian diujikan menggunakan teknik SSR.

3.2 Uji Kualitas dan Kuantitas DNA

Gel agarose 0.8% dibuat dengan mencampurkan 0.28 g agarose dengan 35 mL larutan buffer TAE, kemudian dipanaskan sampai larut dengan menggunakan microwave dan didinginkan pada suhu kamar sampai tidak terlalu panas. Selanjutnya ditambahkan florosafe 1 μ l dan dituangkan ke dalam cetakan gel elektroforesis yang telah dipasang sisir (cetakan sumur) sampai gel memadat. Gel yang sudah padat dipindahkan ke dalam tangki elektroforesis. Sampel yang akan dielektroforesiskan dicampurkan dengan *loading dye* dengan perbandingan 1:5 (DNA : *loading dye*). Setelah dicampur dan dimasukkan ke dalam

sumuran gel agarose dengan menggunakan pipet mikro. Setelah semua sampel selesai dimasukkan maka alat elektroforesis dihubungkan ke *power supply* menggunakan tegangan listrik 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis diamati menggunakan lampu UV dalam transiluminator dan didokumentasikan dengan *gel documentation*.

Pengujian kuantitas DNA dilakukan dengan metode spectrometer pada panjang gelombang (λ) 260 dan 280 nm dengan menggunakan stok DNA hasil isolasi. DNA mempunyai kemurnian tinggi jika rasio nilai absorpsi pada panjang gelombang 260nm dan 280nm berkisar antara 1.8 – 2.0 (Sambrook *et al.* 1989).

3.3 Amplifikasi PCR Marka Mikrosatelit SSR

Hasil amplifikasi DNA dilakukan dengan elektroforesis agarose gel. Tahap pengujian dilakukan dengan cara menyiapkan gel plate, spacer dan sisir dicuci menggunakan air dan etanol teknis, kemudian dirangkai. Gel agarose yang telah memadat dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis dan ditambahkan buffer TAE 1X. Setelah siap, produk PCR sebanyak 4 μ l dicampurkan dengan *loading dye* sebanyak 1 μ l, campuran tersebut dimasukkan ke dalam sumur gel dan disertakan dengan DNA marker 50bp sebanyak 3 μ l sebagai pembanding pada sumur pertama, untuk melihat panjang DNA. Elektroforesis dijalankan dengan 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis diamati dan didokumentasikan dengan UV transiluminator.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kegiatan pendampingan dan pelatihan ini dilaksanakan dalam rangka melaksanakan Tri Dharma Perguruan Tinggi, yaitu bidang pengabdian kepada masyarakat. Kegiatan ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai cara mengisolasi DNA dari tanaman dan meningkatkan kemampuan dan keterampilan teknis di Laboratorium kultur jaringan dan DNA PT Socfindo Indonesia dalam melakukan isolasi DNA tanaman kelapa sawit menggunakan beberapa Kit ekstraksi dan juga beberapa enzim Taq *polymerase* yang digunakan dalam proses PCR nya.terutama untuk diterapkan dalam analisis secara SSR.

Kegiatan ini diawali dengan pembukaan dan dilanjutkan dengan pemberian materi tentang teori DNA, RNA proses PCR dan pengenalan bagaimana cara menggunakan Kit ekstraksi dari Bioline dan Geneaid untuk mendapatkan hasil isolasi DNA yang baik sehingga dapat dilanjutkan ke tahap analisis SSR.

Pelatihan diawali dengan penjelasan bagaimana cara atau tahapan-tahapan dalam menggunakan Bioline Isolate II Plant Mini Kit kemudian dilanjutkan dengan tutorial penggunaan Geneaid Genomic DNA Mini Kit Plant dan seterusnya 5 sampel tanaman sawit yang sudah dikeringkan diekstraksi menggunakan 2 Kit ekstraksi DNA yang berbeda yaitu Kit dari Bioline dan Geneaid. Semua tahapan ekstraksi mengikuti instruksi berdasarkan protokol dari masing-masing Kit. Hasil ekstraksi DNA dari 5 sample tanaman sawit menggunakan dua Kit yang berbeda didapatkan hasil ekstraksi menggunakan Kit Geneaid memiliki konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil ekstraksi menggunakan Kit Bioline.

DNA hasil ekstraksi dari Kit Geneaid dan Bioline kemudian diukur secara kualitatif menggunakan teknik elektroforesis pada agarose gel 1%. Hasil elektroforesis seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa tidak terlihat adanya pita maupun smear

pada DNA hasil ekstraksi menggunakan Kit Bioline. Sedangkan pada DNA hasil ekstraksi menggunakan Kit Geneaid terlihat adanya smear pada 5 sampel DNA hasil ekstraksinya. DNA hasil ekstraksi kemudian disimpan pada freezer $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk digunakan selanjutnya esok hari dalam analisis secara SSR.

Hari kedua dimulai dari pukul 08.00 dengan menyiapkan reaksi untuk proses PCR menggunakan 3 Kit PCR yang berbeda yaitu: BIOTAQTM DNA Polymerase, MyTaqTM HS Red DNA Polymerase, dan MyTaqTM HS Red Mix. Lima sample gDNA yang sudah diperoleh pada hari sebelumnya kemudian digunakan sebagai template untuk diamplifikasi menggunakan primer mEGCIR_3543 dan target aplikon sekitar 200 pasang basa. Dari tiga Kit PCR yang diujikan, hanya Kit PCR BIOTAQTM DNA Polymerase yang dapat menghasilkan band / pita pada sample gDNA hasil ekstraksi dari Kit Bioline, Geneaid dan Macherey Nagel. Hal ini menunjukkan bahwa enzim yang ada pada Kit PCR BIOTAQTM DNA Polymerase memiliki kemampuan yang lebih kuat atau lebih tinggi dalam mengamplifikasi gen target dari primer mEGCIR_3543.

Dokumentasi Kegiatan:



Kegiatan ini diakhiri dengan sesi diskusi dan tanya jawab dimana respon peserta sangat antusias mendapatkan pengetahuan dan keterampilan tentang cara mengisolasi DNA tanaman sawit dan proses analisis PCR dengan teknik SSR, hal ini terlihat dari berbagai pertanyaan yang muncul dari peserta.

5. KESIMPULAN

Kegiatan pengabdian masyarakat dengan judul “Isolasi DNA tanaman Kelapa Sawit dan Aplikasi Metode Analisis SSR (*Simple Sequence Repeat*)” telah selesai dilaksanakan di PT Socfindo Indonesia unit *Socfindo Seed Production and Laboratories* (SSPL) Medan, Sumatera Utara. Kegiatan berjalan dengan baik dan mendapat respon yang tinggi dari peserta pelatihan. Peserta pelatihan dapat mengaplikasikan teknik isolasi DNA tanaman dengan Kit ekstraksi dan dapat melakukan amplifikasi PCR menggunakan Kit PCR yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajambang W, Sudarsono, Asmono D, and Toruan N. 2012. Microsatellite markers reveal Cameroon's wild oil population as possible solution to broaden the genetic base in the Indonesia-Malaysia oil palm breeding programs. *African Journal of Biotechnology*. 11 (69):13244-13249.
- Ben-Ari G and Lavi U. 2012. Marker-assisted selection in plant breeding. Di dalam: Altman A, Smith RH, Hasegawa PM, Moser BC, editor. *Plant Biotechnology and Agriculture Prospects for the 21st Century*. London (GB): Elsevier. 63-184.
- Billotte N, Marseillac N, Risterucci AM, Adon B, Brottier P, Baurens FC, Singh R, Herran A, Asmady H, and Billotte C. 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elais guineensis* Jacq.). *Theor Appl Genet*. 110:754-765.
- Collard CYB and Mackill DJ. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*. v363:557-572. doi:10.1098/rstb.2007.2170.
- Putri LAP, Rivallan R, Zulhermana, Puspitaningrum Y, Sudarsono, Perrier, Z., Asmono D, and Billotte N. 2010. Allelic diversity of 22 Sampoerna Agro's oil palm pisifera based on microsatellite. Internasional Oil Palm Conference (IOPC). Yogyakarta, 1-3 Juni 2010: 1-9.
- Price Z, Mayes S, Billotte N, Hafeez F, Dumortier F and MacDonal D. 2007. Oil Palm. Di dalam: Kole C, editor. *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Volume 6. Berlin (DE): Springer-Verlag: 94-108.
- Rajanaidu N, Kushairi A, Rafii M, Mohd DA, Maizura I and Jalani BS. 2000. Oil Palm Breeding and Genetic Resources. Di dalam: Basiron Y, Jalani BS, Chan KW, editor. *Advances in Oil Palm Research*. Volume 1. Selangor (MY): MPOB: 171-237.
- Sambrook J and Russell DW. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Eds. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.

- Varshney A, Mohapatra T and Sharma RP. 2004. Molecular mapping and marker assisted selection of traits for crop improvement. Di dalam: Srivastava PS, Narula A, Srivastava S. *Plant biotechnology and molecular markers*. New Delhi (IN): *Anamaya Publishers*: 289 – 330.
- Zaki NM, Ismail I, Rosli R, Ngoot C and Singh R. 2010. Development and characterization of *Elaeis oleifera* microsatellite markers. *Sains Malaysia*. 39(6): 909-912.