

## Analisis Sidik Jari DNA Kalus *In Vitro* Kelapa Sawit Menggunakan Marka *Simple Sequence Repeats* (SSR)

### *DNA Fingerprinting Analysis of Oil Palm In Vitro Calli Using Simple Sequence Repeats (SSR) Markers*

Arfan N. Simamora<sup>1,\*</sup>, Diny Dinarti<sup>2</sup>, Sudarsono Sudarsono<sup>2</sup>, Sri Wening<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Jl. Brigjen Katamso No. 51, Medan 20158, Sumatera Utara, Indonesia

<sup>2</sup> Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB University, Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Jawa Barat, Indonesia

\*E-mail Penulis Korespondensi: [arfan.nazhri@gmail.com](mailto:arfan.nazhri@gmail.com)

---

### ABSTRACT

*Propagating elite oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) planting material through in vitro culture techniques requires more time and advanced technique. Early detection of culture stability would facilitate the process of culture selection and maintenance. This research aimed to analyze the DNA fingerprinting of explants and their calli. Calli consisted of embryogenic and non-embryonic calli, which had been subcultured three times. DNA of explants and calli isolated with DNeasy® Plant mini kit (Qiagen) and Genomic DNA Mini Kit (Plant) (Geneaid). DNA was amplified by SSR-PCR using 16 SSR markers, and can be bulked into two groups to save analysis cost. The result showed that 16 markers produced electropherograms that were identical between the explant and calli. Relatedness coefficient indicated that both compared explant and calli were genetically identical ( $r = 1$ ). The markers used were quite informative with an average PIC number = 0.48 and can be used for DNA fingerprinting analysis of oil palm in vitro culture.*

**Keywords:** calli; DNA fingerprinting; explant; oil palm; SSR markers

### ABSTRAK

Perbanyak bahan tanaman elit kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) melalui teknik kultur *in vitro* merupakan kegiatan yang memakan waktu yang lama dan biaya yang cukup tinggi. Deteksi sejak dini kemurnian kultur yang dihasilkan akan memudahkan proses seleksi dan pemeliharaan kultur kelapa sawit elit. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis sidik jari DNA eksplan dan kalus yang dihasilkannya. Kalus yang digunakan merupakan kalus embriogenik dan non embriogenik yang telah disubkultur sebanyak 3 kali. Sebanyak 16 marka SSR digunakan dalam analisis sidik jari DNA ini dan dapat digabungkan (*bulking*) menjadi 2 kelompok untuk menghemat biaya analisis. Hasil analisis menunjukkan bahwa ke 16 marka menghasilkan elektroferogram yang menunjukkan *true to type* 100% antara eksplan dan kalusnya berdasarkan lokus yang digunakan dan koefisien uji keterkaitan menunjukkan bahwa keduanya identik secara genetik ( $r = 1$ ). Marka yang digunakan cukup informatif dengan nilai PIC = 0,48 dan dapat digunakan untuk analisis sidik jari DNA kultur *in vitro* kelapa sawit.

**Kata kunci :** eksplan; kalus; kelapa sawit; marka SSR; sidik jari DNA

---

### PENDAHULUAN

Mikrosatelit/*simple sequence repeats* (SSR) diperkenalkan oleh Weising *et al.* (1989) sebagai pola fragmen DNA yang polimorfik. Seiring berkembangnya prosedur amplifikasi fragmen DNA yaitu *polymerase chain reaction* (PCR) dengan bantuan enzim dari bakteri *Thermophilus aquaticus* oleh Saiki *et al.* (1988), SSR dan PCR sering digunakan dalam membangun sidik jari DNA banyak tanaman. Pemilihan marka SSR didasarkan pada kemudahan untuk membedakan pola dan ukuran alel antar individu dan dapat menghemat biaya sampai 33% karena penggunaannya dapat digabungkan (*bulking*). *Bulking* marka SSR pada uji kemurnian projeni bisa dilakukan 7–9 marka per analisis fragmen (Faizah *et al.*, 2017). Selain itu, tingkat keakuratan data genotipe dan aplikasi yang cepat (Culley *et al.*, 2013) dan amplifikasi fragmen dalam rentang yang luas serta efisien (Cheng-Xiang *et al.*, 2012) menjadikan teknik ini sering dipakai dalam sidik jari DNA.

Fleksibilitas perolehan sumber DNA dan kestabilan DNA terhadap pengaruh lingkungannya memungkinkan untuk dilakukannya *profiling* DNA pada tahap yang lebih awal. Analisis sidik jari DNA dengan marka molekuler tertentu pada tahap awal perkembangan tanaman akan menguntungkan pemulia terutama pada tanaman-tanaman tahunan yang membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang tinggi seperti kelapa sawit. Marka-marka molekuler yang polimorfik akan sangat efisien dalam mengevaluasi kemurnian projeni maupun varietas yang dihasilkan (Ovesná *et al.*, 2012).

Penggunaan SSR dan SNP melalui teknik pengurutan DNA yang beresolusi tinggi saat ini telah menjadi pendekatan yang umum dalam aplikasi sidik jari DNA. Selain itu, teknik ini juga mendorong perkembangan studi pemetaan DNA tanaman-tanaman yang belum memiliki referensi (Nybom *et al.*, 2014). Studi sidik jari DNA plasma nutfah kelapa sawit (Wening *et al.*, 2013), ketelusuran (Faizah *et al.*, 2016) dan kemurnian (Faizah *et al.*, 2017) projeni pada kelapa sawit telah dilakukan. Seleksi karakter-karakter tertentu serta kajian keragaman genetik pada kelapa sawit juga banyak menggunakan marka SSR seperti seleksi galur dengan gen aktivitas lipase rendah (Angkat *et al.*, 2021), bobot tandan (Yono *et al.*, 2017) dan keragaman genetik berdasarkan komponen hasil (Solin *et al.*, 2014). Perbanyakkan secara *in vitro* bahan tanaman klon kelapa sawit juga telah dilakukan analisis sidik jari DNA-nya pada tahap embrio (Marbun, 2013) dan ramet (Nirwana, 2017). Analisis DNA pada tahap embrio menghasilkan kultur yang *true to type* 100% terhadap sumber eksplannya dan studi ramet menemukan bahwa 15–100% ramet identik dengan sumber eksplannya pada lokus yang dipilih. Kombinasi SSR dan AFLP (*amplified fragment length polymorphism*) juga telah dilakukan untuk mengidentifikasi identitas dan pendugaan perubahan genetik klon kelapa sawit (Wening *et al.*, 2020). Identifikasi kultur pada setiap tahapan perkembangan dan sedini mungkin dapat menjamin kualitas klon yang murni dan mengurangi biaya seleksi dan pemeliharaan kultur.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh sidik jari DNA kalus hasil kultur *in vitro* sehingga dapat dibandingkan dengan sidik jari DNA tanaman sumber eksplannya. Analisis sidik jari DNA antara kalus dan sumber eksplannya diharapkan dapat menjadi alat identifikasi yang kuat dalam memonitoring keseragaman genetik produk hasil kultur *in vitro* tanaman, terutama jika perbanyakkan tanaman dikerjakan dalam skala komersial.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Marihat. Bahan berasal dari potongan daun eksplan tiap genotipe AVROS, La Me, PPKS 540 dan Simalungun serta kalus yang dihasilkan oleh masing-masing genotipe. Kalus yang diambil berasal dari subkultur ke- 3. Ekstraksi DNA eksplan dan kalus menggunakan *DNeasy® Plant mini kit* (Qiagen, Germantown, Maryland, USA) dan *Genomic DNA mini kit (Plant)* (Geneaid, New Taipei City, Taiwan R.O.C.) sesuai protokol metode uji di Laboratorium Biologi Molekuler PPKS. Kuantitas DNA dihitung dengan Qubit dsDNA BR *assay kit* (Invitrogen, Waltham, Massachusetts, USA). Larutan PCR berupa stok DNA, *buffer*, *primer forward*, *primer reverse* dan Taq polymerase (BIOTAQ™, Boline, London, UK) serta *primer universal M13 (-29)* (Applied Biosystem, Waltham, Massachusetts, USA) berlabel fluoresen. Uji kualitas hasil PCR menggunakan gel elektroforesis 1% dengan pewarnaan GelRed (*Biotium*, Fremont, California, USA) dan dibaca di bawah *UV Transluminator*.

### Isolasi DNA

#### Protokol *DNeasy® Plant mini kit*

Material berasal dari potongan eksplan segar atau kalus yang ditimbang sebanyak 50 mg dan ditambahkan buffer ekstraksi AP1 400 µL dan satu *tungsten bead* di dalam *microtube* 2 mL. Sampel lalu digerus menggunakan TissueLyser II (Qiagen) selama 2 x 1,5 menit pada frekuensi 25 Hz. Sampel halus selanjutnya ditambahkan RNase sebanyak 4 µL dan divortex. Sampel diinkubasi di *waterbath* pada suhu 65 °C selama 10 menit. Buffer P3 ditambahkan sebanyak 130 µL lalu dibolak-balik. Sampel disentrifugasi selama 6 menit pada kecepatan 13000 rpm. Supernatan (± 450 µL) kemudian dipindahkan ke *lilac column* untuk disaring dan disentrifugasi kembali selama 2 menit pada 12000 rpm. Hasil saringan dimasukkan ke *tube* 1,5 mL yang baru dan ditambahkan 675 µL buffer AW1. Campuran dimasukkan sebanyak 650 µL ke *white column* lalu disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 8000 rpm. Hasil saringan dibuang dan tambahkan sisa campuran untuk disentrifugasi kembali. Buffer AW2 500 µL ditambahkan lalu proses sentrifugasi diulangi seperti AW1. Ditambahkan buffer AE sebanyak 50 µL. Campuran diinkubasi selama 5 menit lalu disentrifugasi pada 8000 rpm selama 1 menit. Proses diulang sekali lagi. Diperoleh hasil ekstraksi DNA pada *tube* baru. Kuantitas DNA diuji dengan Qubit dsDNA BR *assay kit* (Invitrogen). DNA dengan kuantitas lebih dari 30 ng/µL akan diencerkan 10x sebelum digunakan di larutan SSR-PCR.

### Protokol Genomic DNA mini kit (Plant)

Sampel eksplan atau kalus yang telah dicacah halus ditimbang sebanyak 50 mg lalu dimasukkan ke tube 2 mL yang berisi biji tungsten dan ditambahkan buffer GP1 atau GPX1 sebanyak 400  $\mu$ L serta RNase sebanyak 5  $\mu$ L. Setelah diinkubasi selama 10 menit lalu ditambahkan buffer GP2 sebanyak 100  $\mu$ L kemudian divortex dan diinkubasi lagi selama 3 menit. Campuran kemudian dimasukkan ke tube koleksi yang telah diberi kolom filter untuk kemudian disentrifugasi sebentar dengan kecepatan 1000 rpm. Sebanyak 750  $\mu$ L buffer GP3 ditambahkan lalu divortex. Lalu campuran dimasukkan ke dalam kolom GD yang telah ditempatkan di tube 2 mL. Setelah disentrifugasi selama 2 menit pada kecepatan 14000 rpm cairan di tube 2 mL lalu dibuang. Sisa campuran diperlakukan sama. Buffer W1 sebanyak 400  $\mu$ L lalu ditambahkan ke kolom GD yang ada di tube 2 mL yang baru lalu disentrifugasi lagi. Buffer pencuci sebanyak 600  $\mu$ L kemudian ditambahkan ke kolom GD lalu disentrifugasi selama 3 menit pada 14000 rpm untuk mengeringkan kolom. Buffer elusi kemudian ditambahkan 50  $\mu$ L ke kolom lalu dibiarkan selama 3 menit. Kolom kemudian disentrifugasi kembali selama 30 detik pada kecepatan 14000 rpm. Buffer elusi lalu ditambahkan kembali kemudian didiamkan dan disentrifugasi.

### Amplifikasi DNA dengan PCR

DNA selanjutnya diamplifikasi dengan SSR-PCR menggunakan 16 marka SSR (Billotte *et al.*, 2005) (Tabel 1), dengan protokol yang dikembangkan oleh Wening dan Yenni (2013). Larutan SSR-PCR dibuat dengan mengambil 1  $\mu$ L sampel DNA untuk dicampurkan dengan 1  $\mu$ L  $\text{NH}_4$  10X, 0,3  $\mu$ L  $\text{MgCl}_2$  50 mM, 0,2  $\mu$ L dNTP mix 10 mM, 0,05  $\mu$ L Primer Forward 10  $\mu$ M, 0,2  $\mu$ L M13 10  $\mu$ M, 0,2  $\mu$ L primer Reverse 10  $\mu$ M, 0,05  $\mu$ L Taq 5 U/ $\mu$ L dan ditambahkan ddH<sub>2</sub>O hingga 10  $\mu$ L. Program PCR-SSR yang digunakan adalah 94°C selama 2 menit, 94°C selama 30 detik, 53°C selama 30 detik, 72°C selama 45 detik dan 72°C selama 7 menit dengan siklus 35 kali. Primer universal M13 yang digunakan memiliki label fluoresen dengan warna berbeda (FAM = biru, HEX = hijau dan NED = merah). Sekuen M13 ditambahkan ke setiap ujung 5' masing-masing primer SSR untuk strategi *bulking*. Primer yang memiliki panjang pasang basa yang sama atau mendekati tidak boleh diberi pewarna yang sama. Hasil optimasi menunjukkan bahwa *bulking* yang optimal adalah primer SSR nomor 1 – 9 (*bulking* 1) dan primer SSR nomor 10 – 16 (*bulking* 2) (Faizah dan Wening 2015).

Setelah amplifikasi sebagian sampel diverifikasi dengan gel elektroforesis 1% dengan pewarnaan GelRed (*Biotium*) untuk mengetahui keberhasilan marka mengamplifikasi DNA genom pada kisaran ukuran alel yang telah diketahui. Setelah tahap verifikasi visual, fragmen ampikon selanjutnya dianalisis dengan *capillary sequencer* yang secara komersial disediakan oleh *Macrogen* (Seoul, Korea Selatan).

Tabel 1. Primer yang digunakan untuk amplifikasi DNA eksplan dan kalus yang dihasilkannya pada kultur *in vitro* kelapa sawit (Billotte *et al.*, 2005)

No.	Lokus SSR	Kisaran produk (bp)	Label fluoresen
1	mEgCIR2224	106-131	FAM
2	mEgCIR2347	163-175	FAM
3	mEgCIR3691	193-210	FAM
4	mEgCIR3213	108-116	HEX
5	mEgCIR3311	188-211	HEX
6	mEgCIR0257	288-321	HEX
7	mEgCIR2887	94-178	NED
8	mEgCIR3433	258-269	NED
9	mEgCIR0783	311-334	NED
10	mEgCIR3400	154-172	FAM
11	mEgCIR3775	187-211	FAM
12	mEgCIR3546	288-323	FAM
13	mEgCIR3555	136-159	HEX
14	mEgCIR0782	176-217	HEX
15	mEgCIR2149	113-137	NED
16	mEgCIR0894	163-220	NED

### Analisis Data

Data genotipe berupa alel-alel SSR dibaca dan diskor menggunakan *Gene Marker® Software* versi 2.4.0 (Hulce *et al.*, 2011) (*Soft Genetics* LLC, State College, PA, USA) yang diintegrasikan dengan perangkat *Windows*. Keluaran analisis berupa profil elektroferogram selanjutnya diterjemahkan ke dalam data kuantitatif yang dapat dipindahkan ke *Microsoft Office Excel* (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Data hasil analisis fragmen dilakukan

penyesuaian kembali dengan data fragmen DNA standar PPKS. Data ini kemudian digunakan untuk analisis sidik jari DNA antara kalus dan sumber eksplannya.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Enam belas marka SSR yang digunakan pada penelitian ini dipilih sebagai perwakilan dari masing-masing kromosom kelapa sawit berdasarkan karakter motif dan jumlah ulangan sekuen pada daerah SSR (Wening *et al.*, 2010; Wening 2014). Selain itu, ke-16 marka ini juga telah berhasil membedakan populasi kelapa sawit Afrika (*Elaeis guineensis*) dan kelapa sawit Amerika (*E. oleifera*) dan hibrida antar spesiesnya (Faizah *et al.*, 2016). Analisis kemurnian projeni kelapa sawit juga telah dilakukan dengan menggunakan 13 marka dari marka ini (Faizah *et al.*, 2017) sehingga memungkinkan untuk digunakan pada analisis sidik jari DNA kultur *in vitro*.

Elektroferogram yang dihasilkan dari analisis fragmen DNA menunjukkan bahwa setiap sampel kalus memiliki pola dan ukuran alel yang sama dengan sumber eksplannya (Gambar 1). Hal ini mengindikasikan bahwa kultur yang dihasilkan *true to type*. Pola alel yang ditunjukkan antara eksplan dan kalusnya juga identik dan tidak menunjukkan adanya pola segregasi sehingga bisa disimpulkan bahwa kultur yang dihasilkan tidak mengalami perubahan genetik dan merupakan klon murni. Hasil uji keterkaitan (*relatedness*) (Lynch and Ritland, 1999) juga mengindikasikan bahwa antar sampel eksplan dan kalus yang dihasilkannya identik ( $r = 1$ ) dan sampel yang berlainan menunjukkan tidak adanya keterkaitan ( $r \leq 0$ ) (Tabel 2).

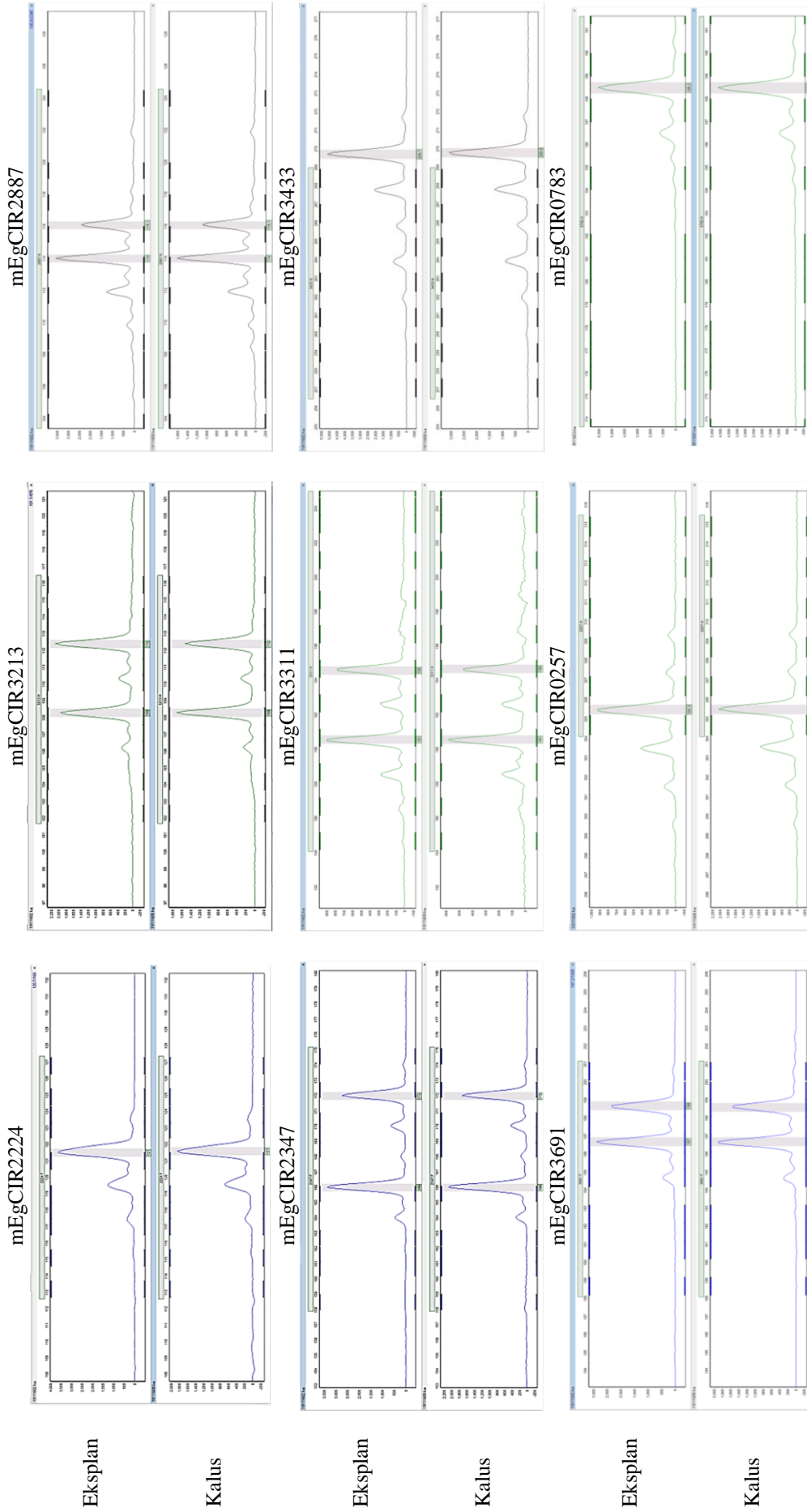
Tabel 2. Hasil perhitungan koefisien keterkaitan (*relatedness*) pada perbandingan beberapa sampel eksplan dan kalus kultur *in vitro* kelapa sawit

Sampel 1	Sampel 2	Koefisien <i>relatedness</i>	Sampel 1	Sampel 2	Koefisien <i>relatedness</i>
1	2	1,000	3	20	-0,061
1	9	1,000	4	20	-0,061
2	9	1,000	3	5	-0,082
3	4	1,000	4	5	-0,082
5	6	1,000	3	6	-0,082
5	10	1,000	4	6	-0,082
5	20	1,000	4	10	-0,082
6	20	1,000	2	3	-0,169
10	20	1,000	9	3	-0,169
7	8	1,000	2	4	-0,169
8	11	1,000	1	3	-0,177
7	12	1,000	1	4	-0,177
11	12	1,000	6	19	-0,244
7	13	1,000	10	19	-0,244
11	13	1,000	6	17	-0,251
12	13	1,000	10	17	-0,251
7	14	1,000	20	8	-0,252
8	14	1,000	5	8	-0,263

Keterangan perbandingan sampel 1 dan sampel 2 pada tabel :

No.	Nomor sampel (sumber eksplan)	Nomor sampel (kalus yang diproduksi)
1	1	2,9
2	3	4
3	5	6,10,20
4	7	8,11,12,13,14

Panjang alel yang teramplifikasi bervariasi antara 100 sampai 300 pasang basa (pb). Jumlah alel yang teramplifikasi dari seluruh lokus sebanyak 57 alel dengan rata-rata 3,56 alel per lokus. Lokus mEgCIR0257 memiliki alel terbanyak, yaitu sejumlah 6 alel. Minimal ada 2 alel pada lokus yang teramplifikasi seperti pada mEgCIR3546. Rata-rata nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) dari primer yang digunakan adalah sebesar 0,48 ( $> 0,44$ ) (Tabel 3), yang mengindikasikan primer cukup informatif (Okoye *et al.*, 2016).



Gambar 1. Contoh profil alel-alel pada lokus SSR dari eksplan dan kalus *in vitro* kelapa sawit genotipe Simalungun yang dihasilkan dari sidik jari DNA

Tabel 3. Kisaran panjang pasang basa (pb) alel-alel dan jumlah alel pada tiap lokus yang digunakan dalam analisis sidik jari DNA eksplan dan kalus *in vitro* kelapa sawit menggunakan marka SSR

No	Lokus	Kisaran alel (pb)	Jumlah alel per lokus	PIC
1	mEgCIR2224	119 – 126	4	0,53
2	mEgCIR2347	162 – 172	4	0,60
3	mEgCIR3691	197 – 210	3	0,37
4	mEgCIR3213	108 – 114	3	0,52
5	mEgCIR3311	191 – 205	4	0,62
6	mEgCIR0257	294 – 313	6	0,76
7	mEgCIR2887	106 – 116	4	0,64
8	mEgCIR3433	262 – 270	4	0,60
9	mEgCIR0783	315 – 329	4	0,56
10	mEgCIR3775	187 – 203	2	0,27
11	mEgCIR3400	159 – 170	3	0,26
12	mEgCIR3546	303 – 305	2	0,26
13	mEgCIR0782	182 – 205	3	0,54
14	mEgCIR3555	139 – 154	3	0,27
15	mEgCIR0894	198 – 209	5	0,42
16	mEgCIR2149	114 – 138	3	0,46
Jumlah alel			57	
Rata-rata			3,56	0,48

Berdasarkan panjang alel dan lokasi amplifikasinya dengan penyertaan primer universal M13 berlabel flouoresen (FAM = Biru; HEX = hijau; NED = kuning), 7 – 9 marka dapat digabungkan (*bulking*) sehingga dapat menghemat biaya analisis sampai 33% (Faizah dan Wening 2015). Pada penelitian ini, dilakukan *bulking* terhadap 9 primer (nomor 1–9, *bulking* 01) dan 7 primer (nomor 10–16) sebagai *bulking* 02 (Tabel 3).

Marka SSR telah digunakan untuk mendeteksi keseragaman genetik antara ramet dengan sumber ortetnya pada kultur jaringan kelapa sawit (Bakoumé et al., 2011; Cahyaningsih et al., 2016; Nirwana et al., 2017. Marbun et al. (2013) menggunakan material embrio kultur jaringan kelapa sawit untuk analisis keseragaman genetik dengan SSR. Wening et al. (2021) menggunakan berbagai jenis kultur dari sumber ortet yang berbeda untuk mendeteksi keseragaman klon sekaligus abnormalitasnya dengan teknik SSR dan AFLP. Marka SSR juga digunakan untuk mengidentifikasi legitimasi hasil penyerbukan untuk produksi benih komersil (Okoye et al., 2021) dan kajian QTLs yang diasosiasikan dengan kemampuan genotipe untuk kalogenesis dan embriogenesis pada kultur jaringan kelapa sawit (Ting et al., 2013).

Perubahan genetik atau abnormalitas pada kultur hasil perbanyakan *in vitro* secara komersial, dapat menyebabkan kerugian. Selain perubahan genetik klon *in vitro*, peluang terjadinya pencampuran (*mix up*) kultur pada proses perbanyakan *in vitro* komersial juga terbuka. Deteksi dini menggunakan analisis sidik jari DNA pada kultur dan manajemen pendataan dan penggunaan ID unik dapat mencegah terjadinya kedua hal tersebut. Variasi somaklonal pada bahan tanaman klon komersial kelapa sawit dapat menyebabkan penurunan hasil yang drastis (Mgbeze and Iserhienrhien, 2014). Variasi somaklonal pada kelapa sawit umumnya adalah buah mantel. Buah yang dihasilkan berasal dari bunga betina dengan stamen primordia rudimenter berkembang menjadi karpel suplementer. Abnormalitas juga terjadi pada bunga jantan dengan perkembangan stamen menjadi struktur karpel (Corley and Tinker, 2015).

Studi terkini menyebutkan bahwa abnormalitas pada klon kelapa sawit disebabkan oleh hipometilasi DNA yang merupakan fenomena epigenetik dan tidak diwariskan (Ong-Abdullah et al., 2015). Analisis sidik jari DNA kultur menggunakan marka SSR lebih ditujukan sebagai deteksi dini terjadinya *mix up* kultur. Selain deteksi dini berbasis genomik, seleksi abnormalitas vegetatif pada planlet hasil kultur *in vitro* juga dibutuhkan demi kualitas klon yang baik (Ernayunita et al., 2019).

## KESIMPULAN

Analisis sidik jari DNA menggunakan marka SSR pada eksplan dan kalus kelapa sawit elit menunjukkan bahwa kalus yang dihasilkan identik 100% dengan sumber eksplannya pada lokus marka yang dipilih. Marka yang digunakan memiliki nilai rata-rata polimorfiknya (PIC) sebesar 0,48 yang berarti cukup informatif. Terdapat 9 marka dengan nilai PIC > 0,5, yaitu mEgCIR2224, mEgCIR2347, mEgCIR3213, mEgCIR3311, mEgCIR0257, mEgCIR2887, mEgCIR3433, mEgCIR0783 dan mEgCIR0782. Marka SSR yang digunakan dapat digabungkan (*bulking*), sehingga bisa dimanfaatkan dan mampu menekan biaya pada analisis sidik jari DNA kultur hasil perbanyakan *in vitro*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah membiayai sebagian dari penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Biologi Molekuler dan Kultur Jaringan PPKS atas bantuannya selama penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Angkat, N. U., L.A.M. Siregar, M. Basyuni, D. Afandi, dan I. Syahputra. 2021. DNA intensity and genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis*) to determine an elite low lipase line. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 22(2): 900-905. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220245>
- Billotte, N., N. Marseillac, A.-M. Risterucci, B. Adon, P. Brottier, F.-C. Baurens, R. Singh, *et al.* 2005. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theoretical and Applied Genetics* 110: 754–765. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1901-8>.
- Bakoumé, C., M. Y. Aziah, T. Praveena, C. K. Teh, Y. Suzaini, M. Hamidah, M. S. Jangi, *et al.* 2011. DNA Sequence-Based Markers for Verification of Ramet-to-Ortet Relationship in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *American Journal of Plant Sciences* 02: 539-548.
- Cheng-Xiang, A., Y. Xian-Mei, S. Guang-Ning, Q. Zhi-Hua, T. Shou-Le, and L. Xu. 2012. Allele frequency analysis of Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) populations using fluorescent simple sequence repeats (SSR) analysis. *African Journal of Biotechnology*, 11(73). <https://doi.org/10.5897/AJB12.039>
- Corley, R.H.V., and P. B. Tinker. 2015. The Oil Palm. Fifth Edition John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK.
- Culley, T. M., T. I. Stamper, R. L. Stokes, J. R. Brzyski, N. A. Hardiman, M. R. Klooster, and B. J. Merritt. 2013. An Efficient Technique for Primer Development and Application that Integrates Fluorescent Labeling and Multiplex PCR. *Applications in Plant Sciences*, 1(10), 1300027. <https://doi.org/10.3732/apps.1300027>
- Ernayunita, H. Rahmadi, Y. Yenni, R.D. Setiowati, and I.Y. Harahap. 2019. Vegetative characterization to identify oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantlet abnormalities. AIP Conference Proceeding 2099 of BioMIC 2018.19 - 20 October 2018, Yogyakarta, Indonesia. p 020004. <https://doi.org/10.1063/1.5098409>.
- Faizah, R., dan S. Wening. 2015. Protokol legitimasi keturunan kelapa sawit di PPKS. Prosiding Pertemuan Teknis Kelapa Sawit. 19 – 20 Mei 2015, Yogyakarta, Indonesia. 644 p.
- Faizah, R., S. Wening, dan A.R. Purba. 2017. Kemurnian keturunan menggunakan marka SSR sebagai sistem kontrol dan seleksi dini kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit* 25: 21–30. <https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v25i1.22>.
- Faizah, R., S. Wening, Y. Yenni, dan Sujadi. 2016. Ketelusuran genetik keturunan kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) menggunakan *simple sequence repeat* (SSR). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit* 24: 103–114. <https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v24i3.14>.
- Hulce, D., X. Li, T. Snyder-Leiby, and C.S. Liu. 2011. GeneMarker® Genotyping Software: Tools to Increase the Statistical Power of DNA Fragment Analysis. *Journal of Biomolecular Techniques : JBT* 22: S35–S36.
- Lynch, M., and K. Ritland. 1999. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics* 152: 1753–1766.
- Marbun, C.L.M., U. Widyastuti, dan N. Toruan-Mathius. 2013. Analisis Embriogenesis Somatik Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada Sistem Perendaman Sesaat. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mgbeze, G., and A. Iserhienrhien. 2014. Somaclonal variation associated with oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clonal propagation: A review. *African Journal of Biotechnology* 13: 989–997. <https://doi.org/10.5897/AJBX12.011>.
- Nirwana, I., N.M.A. Wiendi, dan N. Toruan-Mathius. 2017. Analisis Kestabilan Genetik Ramet Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Hasil Embriogenesis Somatik Menggunakan SSR. Tesis, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nybom, H., K. Weising, and B. Rotter. 2014. DNA fingerprinting in botany: past, present, future. *Investigative Genetics* 5: 1. <https://doi.org/10.1186/2041-2223-5-1>.
- Okoye, M.N., M.I. Uguru, C. Bakoumé, R. Singh, and C.O. Okwuagwu. 2016. Assessment of genetic diversity of NIFOR oil palm main breeding parent genotypes using microsatellite markers. *American Journal of Plant Sciences* 07: 218–237. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.71022>.
- Okoye, M. N., R. Singh, M. I. Uguru, and C. Bakoumé. 2021. Application of microsatellite markers for hybrid verification and genetic analysis of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Nigerian Journal of Biotechnology* 37: 1–12.
- Ong-Abdullah, M., J. M. Ordway, N. Jiang, S.-E. Ooi, S.-Y. Kok, N. Sarpan, N. Azimi, *et al.* 2015. Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. *Nature* 525: 533–537. <https://doi.org/10.1038/nature15365>
- Ovesná, J., K. Poláková, and L. Leišová. 2012. DNA analyses and their applications in plant breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 38: 29–40. <https://doi.org/10.17221/6108-CJGPB>.
- Saiki, R., D. Gelfand, S. Stoffel, S. Scharf, R. Higuchi, G. Horn, K. Mullis, and H. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.2448875>.
- Solin, N.W.N.M., Sobir, and N. Toruan-Mathius .2014. Genetic Diversity of DxP Population Yield Component in Oil Palm's Paternal Half-sib Family based on Microsatellite Markers. *Energy Procedia*, 47, 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.214>
- Tanksley, S. D., N. D. Young, A. H. Paterson, and M. W. Bonierbale. 1989. RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tools for an Old Science. *Nature Biotechnology* 7: 257–264. <https://doi.org/10.1038/nbt0389-257>.

- Ting, N.-C., J. Jansen, J. Nagappan, Z. Ishak, C.-W. Chin, S.-G. Tan, S.-C. Cheah, and R. Singh. 2013. Identification of QTLs Associated with Callogenesis and Embryogenesis in Oil Palm Using Genetic Linkage Maps Improved with SSR Markers E. J. Louis [ed.]. *PLoS ONE* 8: e53076.
- Weising, K., F. Weigand, A. J. Driesel, G. Kahl, H. Zischler, and J. T. Epplen. 1989. Polymorphic simple GATA/GACA repeats in plant genomes. *Nucleic Acids Research* 17: 10128–10128. <https://doi.org/10.1093/nar/17.23.10128>.
- Wening, S., D. R. Pratiwi, E. Nazri, Ernayunita, and H.Y. Rahmadi. 2020. Sidik Jari DNA Material Kultur Jaringan Menggunakan SSR dan AFLP. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 28(2), 59–70. <https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v28i2.109>
- Wening, S., W.U. Ananda, A.E. Croxford, C.S. Ford, W.T.B. Thomas, B.P. Forster, B.G. Okyere, S.P.C. Nelson, *et al.* 2010. Graphical genotyping of oil palm genetic diversity. Proceeding of International Oil Palm Conference : Agriculture. 1 -3 June 2010, Yogyakarta, Indonesia. 745 p.
- Wening, S., R. Faizah, Y. Yenni, dan A.R. Purba. 2013. Aplikasi sidik jari DNA dalam manajemen plasma nutfah kelapa sawit. Prosiding Pertemuan Teknis Kelapa Sawit. 7 – 9 Mei 2013, Jakarta, Indonesia. 501 p.
- Wening, S., dan Y. Yenni. 2013. Prosiding Pertemuan Teknis Kelapa Sawit. 7 – 9 Mei 2013, Jakarta, Indonesia. 501 p.
- Wening, S. 2014. Pemilihan marka SSR: strategi dalam analisis sidik jari DNA di PPKS. *Warta PPKS* 19(2): 56-63.
- Yono, D., Y. Wahyu, Sobir, and N. Toruan-Mathius. 2017. Identifikasi Penanda SSR yang Berasosiasi dengan Bobot Tandan Buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 45(1), 79–85. <https://doi.org/10.24831/jai.v45i1.14014>