

PENELUSURAN GENOTIP TANAMAN KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* JACQ) TOLERAN KEKERINGAN DENGAN *Sodium Dodecyl Sulphate_Polycrilamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE)

Oleh:

Saptaning Ruju Paminto, SP.,MH.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pola pita protein dan protein berat molekul tertentu yang berhubungan dengan hasil TBS yang dapat digunakan dalam proses seleksi genotipe Sawit Kelapa yang toleran terhadap kekeringan. Data dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap. Ada 11 genotipe tanaman Sawit Kelapa yang dibagi menjadi tiga blok (sebagai pengulangan). Setiap blok memiliki 11 plot (genotipe) yang masing-masing berisi dengan 16 tanaman. Untuk hasil observasi TBS, pengulangan adalah periodik pengamatan setiap 3 bulan dengan 4 kali pengulangan. Variabel respon yang diamati adalah fragmen pola jenis protein SDS-PAGE dan hasil kelapa segar (kg petak-1 periode-1). Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: degradasi protein pada Sawit Kelapa daun sebagian besar terjadi dalam kondisi tingkat hujan yang rendah. Induksi protein molekul rendah di 25 kDa pada genotipe 63 (9105113 E) di tingkat hujan yang rendah dapat diklasifikasikan ke dalam heat shock protein (HSP). Hasil TBS genotipe 63 (9105113 E), 52 (9103136 E), dan 24 (9102107 E) lebih tinggi dari genotipe lain. Genotipe 63 (9105113 E) adalah genotipe yang toleran terhadap kekeringan menunjukkan hasil signifikan.

Kata kunci : Kelapa Sawit, Kekeringan, SDS-PAGE

ABSTRACT

This study aimed to get protein bonds pattern and a specific molecular weight protein associated with the results of TBS that can be used in the selection process of coconut palm genotypes that are tolerant to drought. Data were analyzed using a completely randomized design. There are 11 plant genotypes coconut palm which is divided into three blocks (as replication). Each block has 11 plots (genotypes) were each filled with 16 plants. For the observation of TBS, repetition is the periodic observation every 3 months with 4 repetitions. The observed response variable is the type of protein fragment pattern of SDS-PAGE and fresh coconut products (kg plot-1 period-1). Based on the results, it can be concluded as follows: degradation of proteins in Kelapa Sawit leaves mostly occurs in conditions of low rainfall levels. Induction of low molecular protein at 25 kDa on genotype 63 (9,105,113 E) in the low rainfall levels can be classified into a heat shock protein (HSP). Results TBS genotype 63 (9105113 E), 52 (9103136 E), and 24 (9102107 E) is higher than other genotypes. Genotypes 63 (9105113 E) is a drought tolerant genotypes showed a significant result.

Keywords : Coconut Palm, Drought, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Cerahnya prospek komoditi minyak sawit dalam perdagangan minyak nabati dunia telah mendorong pemerintah Indonesia untuk memacu pengembangan areal perkebunan kelapa sawit. Pada tahun 1978 luas areal perkebunan kelapa sawit hanya 250.116 ha, pada tahun 1999 telah menjadi 3.154.078 ha, bahkan terus meningkat menjadi 4.116.646 ha pada tahun 2002 (Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan, 2003).

Seiring dengan bertambahnya luas perkebunan kelapa sawit, total produksi minyak sawit Indonesia meningkat tajam, yaitu dari 1,71 juta ton pada tahun 1988 menjadi 5,38 juta ton pada tahun 1997. Pada tahun 1998, sehubungan dengan terjadinya krisis ekonomi di Indonesia, produksi minyak sawit turun menjadi 5 juta ton, namun pada tahun 1999 produksinya kembali meningkat menjadi 5,66 juta ton. Nilai ekspor minyak sawit tertinggi dicapai pada tahun 1997, yaitu US\$1,4 milyar. Perkembangan tersebut mengakibatkan industri minyak sawit Indonesia menjadi salah satu industri yang tercepat pertumbuhannya di dunia (Casson, 2000).

SAPTANING RUJU PAMINTO

*Penelusuran genotip tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* jacq) toleran kekeringan dengan sodium dodecyl sulphate_polycrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)*

Saat ini Indonesia merupakan produsen minyak sawit mentah (CPO-*crude palm oil*) terbesar kedua di dunia setelah Malaysia dan menargetkan menduduki posisi pertama pada masa mendatang. Dari data prediksi laju peningkatan produksi minyak sawit dunia, tahun 2010 Indonesia akan menjadi penghasil minyak sawit terbesar di dunia dengan produksi sebesar 12.293.000 ton mengalahkan Malaysia dengan produksi sebesar 11.052.000 ton (Kemala dan Wahyudian, 2000).

Salah satu usaha untuk meningkatkan produksi adalah memper-luas areal tanaman. Sesuai dengan kebijakan pemerintah dalam pengembangan areal kelapa sawit ke arah Kawasan Timur Indonesia (Departemen Pertanian, 2002). Perusahaan-perusahaan perkebunan melakukan ekspansi bukan saja menggunakan lahan yang tersedia di pulau Sumatera, tetapi juga di Kalimantan, Papua, dan Sulawesi (Bangun, 2002). Namun, kendala perluasan areal kelapa sawit adalah keterbatasan lahan yang sesuai, sehingga harus menggunakan lahan marginal dengan keterbatasan kesuburan tanah, iklim, dan ketersediaan serta kualitas air, yang menyebabkan tanaman mengalami cekaman kekeringan.

Kekeringan dengan defisit air di atas 250 mm tahun akan mengakibatkan pertumbuhan dan produksi tanaman kelapa sawit terganggu yang berlangsung sampai 2 – 3 tahun ke depan (Lubis, 1992). Sebagai contoh, produksi tandan buah segar di Kebun Bekri (Lampung) menurun akibat kekeringan pada musim kemarau panjang yang terjadi pada tahun 1982. Penurunan tersebut 5 % – 11 % pada tahun 1982, 14 % – 55 % pada tahun 1983, dan 4 % – 30 % pada tahun 1984 (Lubis, 1985a).

Cara yang paling baik untuk mengurangi intensitas cekaman kekeringan adalah dengan irigasi, namun memerlukan biaya yang tinggi di samping sumber air harus tersedia cukup yang juga menjadi kendala pada musim kemarau. Subronto *et al.* (1998) mengemukakan bahwa upaya yang efisien untuk menanggulangi permasalahan tersebut adalah menanam tanaman yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Seleksi awal dapat dilakukan di lapang, yaitu dengan penelusuran tetua-tetua yang mempunyai potensi toleran terhadap cekaman kekeringan.

Usaha perluasan areal dan peremajaan perkebunan kelapa sawit telah meningkatkan

kebutuhan akan bibit. Dari data kajian tahun 2000 – 2009, kebutuhan kecambah kelapa sawit adalah 54.783.780 per tahun (Kemala dan Wahyudian, 2000). Peluang besar itu perlu diantisipasi dengan menyediakan benih berproduksi tinggi dan toleran terhadap pengaruh lingkungan.

Respons tanaman yang mengalami cekaman kekeringan meliputi perubahan pada tingkat seluler dan molekuler seperti perubahan akumulasi senyawa metabolit osmotik terlarut, perubahan metabolisme karbon dan nitrogen sebagai respons biokimia, dan perubahan ekspresi gen sebagai respons molekuler (Muller dan Whitsitt, 1996).

Penelitian perlu dilakukan untuk mencari genotip kelapa sawit yang tahan kekeringan dan berproduksi tinggi dengan melihat pola pita protein melalui analisis *Sodium Dodecyl Sulphate – Polyacrylamide Gel Electro-phoresis* (SDS-PAGE) dan mengukur hasil Tandan Buah Segar (TBS).

Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana respons molekuler tanaman kelapa sawit berupa perubahan ekspresi gen akibat cekaman kekeringan;
2. Genotip kelapa sawit mana saja yang toleran kekeringan dan berproduksi tinggi.

Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud penelitian ini untuk mengkaji respons 11 genotip kelapa sawit pada kondisi curah hujan yang berbeda berupa variabel biomolekuler (protein) dan hasil TBS.

Tujuannya untuk memperoleh pola pita protein dan protein dengan berat molekul tertentu yang berhubungan dengan hasil TBS yang dapat digunakan dalam proses seleksi genotipe kelapa sawit yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian terhadap perkembangan ilmu terletak pada terungkapnya keragaman pola pita protein dan protein dengan bobot molekul tertentu yang berfungsi sebagai penciri biomolekuler tanaman yang mengalami cekaman kekeringan, sehingga dapat digunakan sebagai landasan penelitian selanjutnya dalam

SAPTANING RUJU PAMINTO

upaya seleksi tanaman yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Kerangka Pemikiran

Salah satu upaya meningkatkan peran tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq...) sebagai sumber devisa ialah dengan cara perluasan areal ke kawasan Indonesia Timur yang bertipe iklim relatif kering (tipe iklim C dan D, klasifikasi Oldeman). Pengembangan areal pertanaman kelapa sawit ke kawasan Indonesia Timur akan menghadapi kendala lahan bermasalah, yaitu lahan dengan kelembaban air tanah yang rendah.

Strategi yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah kerugian tersebut adalah mendapatkan bahan tanaman kelapa sawit yang toleran melalui program seleksi. Salah satu kegiatan yang utama dalam program seleksi tersebut adalah mencari variabel fisiologis dan biokimia yang dapat digunakan untuk menyeleksi tanaman kelapa sawit yang toleran terhadap kekeringan.

Pada tanaman kelapa sawit, cekaman kekeringan yang ber-langsung lama dapat menghambat pembukaan pelepah daun muda, daun bagian bawah cepat mengering, merusak hijau daun, tandan buah mengering dan patah pucuk, bahkan tanaman mati jika kondisi ekstrim kering terjadi (Caliman, 1992; Caliman dan Southworth, 1998). Pada fase reproduktif cekaman kekeringan menyebabkan perubahan nisbah kelamin bunga, bunga dan buah muda gugur, dan tandan buah gagal masak (Caliman dan Southworth, 1998) sehingga menurunkan produksi tandan buah segar 10 % – 40 % dan minyak sawit 21 % – 65 % (Siregar *et al.*, 1998; Subronto *et al.*, 2000).

Penurunan kadar protein dan terinduksinya protein dengan bobot molekul tertentu umumnya terjadi pada tanaman yang mengalami cekaman kekeringan (Pelah *et al.*, 1997; Sabehat *et al.*, 1998). Contoh-nya pada tanaman *Geranium* yang dicekam kekeringan ditemukan protein dengan bobot molekul 25 kDa (kilo Dalton) dan tidak ditemukan pada perlakuan yang tidak dicekam kekeringan (Arora *et al.*, 1998).

Penampilan fenotipik dikendalikan secara genetik dan dipengaruhi lingkungan serta interaksi genetik dan lingkungan, sehingga 11 genotip tanaman kelapa sawit akan memberikan respons yang berbeda terhadap waktu

pengamatan dan lokasi yang berbeda yang bergantung satu sama lain, dan dapat dideteksi dengan mengukur variabel respons protein dan hasil TBS.

Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran diturunkan hipotesis sebagai berikut :

1. Adanya perbedaan pola pita protein dan munculnya protein dengan bobot molekul tertentu pada saat tanaman kelapa sawit mengalami cekaman kekeringan;
2. Satu atau lebih genotip tanaman kelapa sawit dapat dikategorikan sebagai genotip toleran terhadap cekaman kekeringan dan berproduksi tinggi.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Data hasil TBS maupun sampel daun untuk analisis biokimia diperoleh dari perkebunan Kandista, Riau, milik P.T. Dami Mas Sejahtera anak perusahaan P.T. SMART Tbk. Analisis biokimia dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler dan Rekayasa Genetika, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor. Data hasil TBS dikumpulkan sejak bulan Februari 2003 sampai dengan bulan Januari 2004, sedangkan analisis biokimia laboratorium dimulai bulan Mei 2003 sampai dengan bulan Maret 2004.

Jumlah curah hujan yang baik untuk pertumbuhan tanaman kelapa sawit tidak kurang dari 2000 mm tahun⁻¹ dengan curah hujan bulanan menyebar merata sepanjang tahun (Hartley, 1988). Berdasarkan data curah hujan di perkebunan Kandista, curah hujan yang lebih dari 2000 mm tahun⁻¹ terjadi hanya 5 kali antara tahun 1993 sampai 2003 (Lampiran 1). Tipe iklim di lokasi tersebut ber-dasarkan sebaran bulan basah menurut klasifikasi Oldeman termasuk zone agroklimat D .

Perkebunan Kandista terletak di ketinggian 36 m d.p.l. dengan jenis tanah Inceptisols (sub grup Oxic Dystropepts), kesuburan tanah rendah, pH masam, drainase baik, tekstur bagian atas lempung berpasir dan bagian bawah lempung liat berpasir. Lengkapnya hasil analisis laborato-rium tanah tertera pada Lampiran 2.

SAPTANING RUJU PAMINTO

Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini ialah 11 genotip tanaman kelapa sawit berumur 10 tahun yang tumbuh di perkebunan Kandista, Riau. Bahan sampel daun untuk analisis biokimia di laboratorium berupa bagian tengah helai daun diambil dari sepasang helai daun tengah dari pelepah daun ke -17.

Bahan kimia yang digunakan ialah asam asetat glasial, asam fosfat, asam perklorat, asam sulfat, buffer kalium fosfat (pH 7,4), etanol, metanol, *folin ciocalteus phenol reagent*, kalium iodida, iodium, merkaptotanol, ninhidrin, natrium karbonat, natrium hidroksida, natrium sitrat, perak nitrat, toluen, tris HCl (pH 8,0), tembaga sulfat, asam sulfosalisilat, α -ketoglutarat, L-ornitin, piridoksal-5-fosfat, prolin, *pyrroline-5-carboxylate* (P5C), *betain anhydrous*, standar *bovine serum albumin* (BSA), 1,2-dikloroetana, tris HCl 0.1 M (pH 7,2), tris HCl 0.5 M (pH 6,8), tris HCl 1.5 M (pH 8,8), akrilamid, metilen-bis-akrilamid, sodium dodesil sulfat (SDS) 10 %, amonium persulfat (APS) 10 %, tertrametiletildiamin (TEMED), bufer elek-troda (pH 8,3 kepekatan 5x), standar protein MW-SDS-200 KIT SIGMA, sampel bufer, asam sitrat 1 %, Formaldehid 37 %, aseton, amonia proanalisis, nitrogen cair, air bebas ion, dan es.

Peralatan laboratorium yang digunakan ialah autoklaf, bulp, cawan Petri, corong penyaring, elektroforesis (Bio Rad Power PAC 3000), gelas ukur, kuvet, lemari es, labu ukur, mortar, neraca analitik, oven, penangas air, pH-meter, pipet ukur (2 mL sampai 10 mL), pipet gondok 50 mL, pipet dan tip Eppendorf (10 μ L, 100 μ L dan 1000 μ L), pompa vakum, Erlenmeyer, stirer, magnet stirer, kuvet, ruang asam, selopan, *sentrifuge high sonic* (Jouan MR 1812), spektrofotometer (*Spectronic 20 Genesys*), tabung reaksi, dan *vortex maxi-mix* (*Thermolyne PAT, type 16700-Mixer*).

Metode Penelitian

Rancangan Percobaan

Data mengenai kelapa sawit dikumpulkan dari lokasi perkebunan Kandista, Riau. Analisis data menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (Gomez dan Gomez, 1984). Tanaman kelapa sawit sebanyak

11 genotip yang telah ada di lapangan ditetapkan sebanyak tiga blok (sebagai ulangan). Setiap blok mencakup 11 plot (genotip) yang masing-masing berisi 16 tanaman. Khusus untuk pengamatan hasil TBS pengulangannya ialah waktu pengamatan secara periodik tiap 3 bulan sekali sebanyak 4 ulangan. Tata letak percobaan dan daftar 11 genotip yang diuji tertera pada lampiran 3

Rancangan Respons

Variabel respons yang diamati ialah :

1. Fragmen pola pita protein SDS-PAGE;
2. Hasil tandan buah segar (kg plot⁻¹ periode⁻¹).

Rancangan Analisis Data

Fragmen yang dihasilkan analisis SDS-PAGE yang tampak sebagai pita-pita protein diterjemahkan menjadi data biner berdasarkan ada atau tidak adanya pita secara bersama pada individu tanaman yang dianalisis. Pita protein dicirikan dengan berat molekul tertentu. Penerjemahan pita-pita protein ke dalam bentuk data biner ialah dengan memberi nilai satu (1) jika pita ada dan nol (0) jika pita tidak ada. Kemudian data biner dimasukkan dalam program komputer *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System for Personal Computer* (NTSYS-PC) versi 2.10 dan dihitung dengan menggunakan koefisien kemiripan Jaccard (Sj), sehingga menghasilkan matriks. Rumus koefisien kemiripan genetik Jaccard (Sj) adalah sebagai berikut :

$$S_j = a/(a+b+c)$$

Keterangan:

- Sj = koefisien kemiripan genetik antar sepasang individu.
 a = jumlah pita protein dengan bobot molekul sama yang dijumpai pada individu 1 dan 2.
 b = jumlah pita protein yang dijumpai pada individu 1 tetapi tidak dijumpai pada individu 2.
 c = jumlah pita protein yang dijumpai pada individu 2 tetapi tidak dijumpai pada individu 1.

Matriks yang diperoleh digunakan sebagai input dalam analisis pengelompokan
 SAPTANING RUJU PAMINTO

(clustering) dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic* (UPGMA), dan hasil pengelompokan ditampilkan dalam bentuk dendogram. Alur kerja penerjemahan pita protein menjadi data biner sehingga menghasilkan dendogram disajikan pada Gambar 1.

Data produktivitas kelapa sawit tiap-tiap genotip berupa hasil TBS dianalisis keragaman rata-ratanya dengan uji lanjut Scott Knott pada taraf probabilitas 5 %.

Pelaksanaan Percobaan

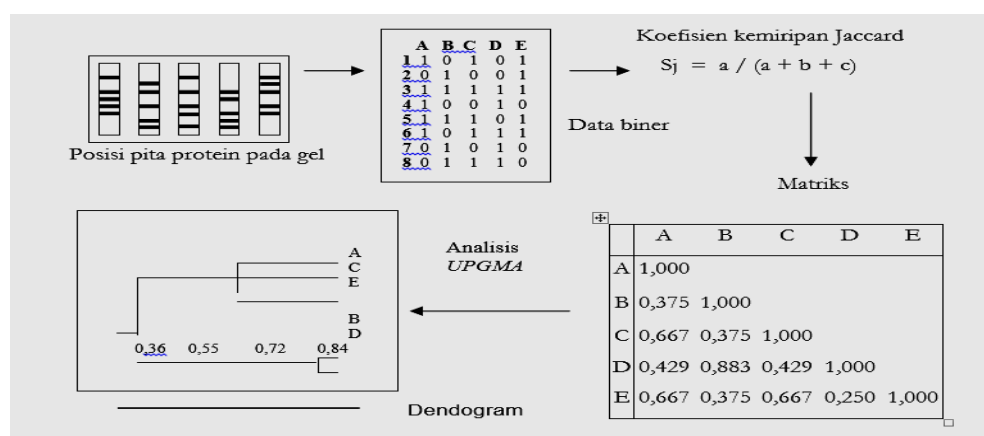
Penetapan Fragmen Pita-pita Protein dengan *Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE)

Sampel daun tanaman kelapa sawit yang diperoleh dari setiap plot percobaan di perkebunan Kandista, Riau, berupa bagian tengah helai daun diambil dari sepasang helai daun tengah dari pelepah daun ke - 17, dikemas dalam wadah khusus dibawa ke laboratorium di

Bogor. Sampel daun yang sampai di laboratorium segera dipreparasi sesuai dengan rencana analisis biokimia molekuler. Penetapan fragmen pita-pita protein dengan SDS-PAGE sampai penentuan bobot molekul protein melalui lima tahapan kerja, yaitu : (a) ekstraksi protein, (b) pemurnian protein, (c) analisis kadar protein, (d) elektroforesis protein, dan (e) penentuan bobot molekul protein.

a. Ekstraksi protein

Daun kelapa sawit dibersihkan dari kotoran-kotoran, dipotong-potong dan dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian digerus sampai halus bersama dengan nitrogen cair. Sebanyak 3 g sampel dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan bufer ekstrak. Tabung yang berisi sampel divortex beberapa menit, disentrifugasi selama 20 menit pada 14000 rpm. Filtratnya ditampung, sedangkan endapannya dibuang.



Gambar 1. Alur Proses pembuatan dendogram

b. Pemurnian protein

Pemurnian protein dilakukan menurut metode Promega (1993). Ke dalam filtrat hasil ekstraksi ditambahkan larutan TCA (*Trichloroacetic Acid*) 20% dengan perbandingan 1:1 (v/v), kemudian larutan divortex beberapa menit, diinkubasi pada 4 °C selama 5 menit, disentrifuse pada 14000 rpm selama 10 menit, kemudian filtratnya dibuang dan pelet yang diperoleh dilarutkan dengan 100 µL larutan bufer ekstrak. Sampel protein daun yang sudah

diperoleh kemudian disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 0 ° C untuk analisis tahap selanjutnya. Pembuatan pereaksi untuk ekstraksi dan pemurnian protein disajikan pada lampiran 4.

c. Analisis kadar protein

Analisis kadar protein dilakukan menurut metode Lowry *et al.* (1951), diawali dengan memasukkan 20 µL sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan berturut-

SAPTANING RUJU PAMINTO

turut sebanyak 1,58 mL akuades, dan 600 μL pereaksi C, campuran dikocok dan didiamkan 10 menit. Selanjutnya ke dalam campuran ditambahkan 200 μL pereaksi D, dikocok dan didiamkan 30 menit. Kandungan protein di dalam larutan sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm.

d. Elektroforesis Protein

Pemisahan molekul protein sampel dilakukan dengan elektroforesis SDS-PAGE menurut prosedur Laemmli (1970). Pembuatan pereaksi SDS-PAGE disajikan pada Lampiran 6.

Tahap pertama ialah pembuatan gel SDS-PAGE dengan menyiapkan cetakan gel berupa dua lembar kaca yang dipisahkan dengan *spacer*. *Separating gel* 12% yang telah dibuat segera dimasukkan ke dalam cetakan gel sampai batas tertentu (± 1 cm di bawah *comb*), kemudian ditambahkan akuades sampai penuh. Gel dibiarkan padat selama 1 jam. Air yang berada di atas *separating gel* dibuang dan gel dikeringkan dengan kertas saring. *Stacking gel* 4% yang telah dibuat sebelumnya dimasukkan ke dalam cetakan yang telah dipasang *comb* dan didiamkan mengeras selama 60 menit. Setelah gel padat, *comb* dilepaskan dengan gerakan vertikal ke atas. Gel yang telah siap digunakan dipasang pada alat elektroforesis.

Sebagai persiapan sebelum *running* elektroforesis, sebanyak 20 μL sampel dipipet dan kedalamnya ditambahkan 20 μL sampel bufer 2x, kemudian campuran dipanaskan pada suhu 95 °C selama 4 menit.

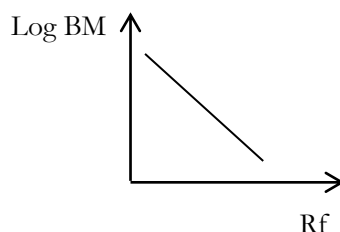
Running elektroforesis diawali dengan menempatkan cetakan gel pada boks elektroforesis, kemudian boks tersebut diisi dengan bufer elektroda 1x. Sampel protein sebanyak 40 μL dimasukkan ke dalam sumur-sumur yang tercetak pada gel. Alat elektroforesis dihubungkan dengan *power supply* yang diset pada 125 volt selama 80 menit.

Tahap akhir ialah pewarnaan gel hasil *running* elektroforesis dengan perak nitrat. Gel dilepas dari cetakkannya dan dimasukkan ke dalam wadah plastik yang berisi larutan fiksasi. Agar fiksasi terjadi secara merata, gel tersebut digoyang selama 15 menit, kemudian dicuci dengan larutan pencuci selama 2 x 30 menit sambil terus digoyang perlahan. Selanjutnya larutan pencuci dibuang dan diganti dengan larutan pewarna sambil digoyang selama 15 menit. Larutan pewarna dibuang dan gel dicuci dengan akuades sambil digoyang selama 5 x 2 menit. Pita protein dalam gel diperjelas dengan cara gel digoyang dalam larutan reifikasi selama 2-3 menit sampai muncul pita-pita protein. Setelah pita-pita muncul dan terlihat jelas, gel direndam dalam larutan fiksasi agar proses pewarnaan berhenti dan akhirnya gel diawetkan dengan selopan.

e. Penentuan Bobot Molekul Protein

Bobot Molekul (BM) protein yang berupa pita-pita pada gel ditentukan dengan cara menghitung R_f (mobilitas relatif) dari pita-pita protein yang tampak, lalu dibuat kurva standar log BM terhadap R_f dari *marker* (standar). Kurva penentuan bobot molekul dapat dilihat pada Gambar 2.

$$R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal (cm)}}{\text{Jarak pergerakan pewarna protein dari awal (cm)}}$$



Gambar 2. Kurva Penentuan Bobot Molekul (BM) Protein

Pelaksanaan Panen Tandan Buah Segar (TBS)

Pemanenan dilakukan jika tandan telah matang yang ditandai dengan adanya buah luar

SAPTANING RUJU PAMINTO

yang lepas dari tandan dan jatuh ke tanah. Data hasil tanaman kelapa sawit diperoleh dari hasil penimbangan TBS pada setiap kali panen selama percobaan berlangsung dari setiap plot percobaan yang berjumlah 16 tanaman.

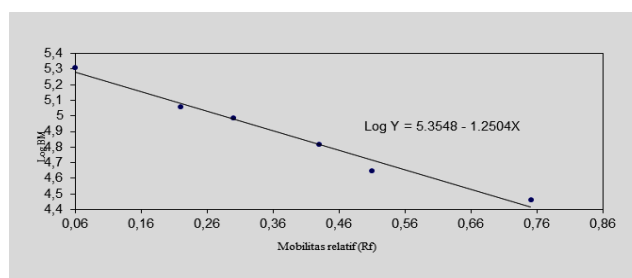
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengelompokan Genotip Berdasarkan Fragmen Pita Protein

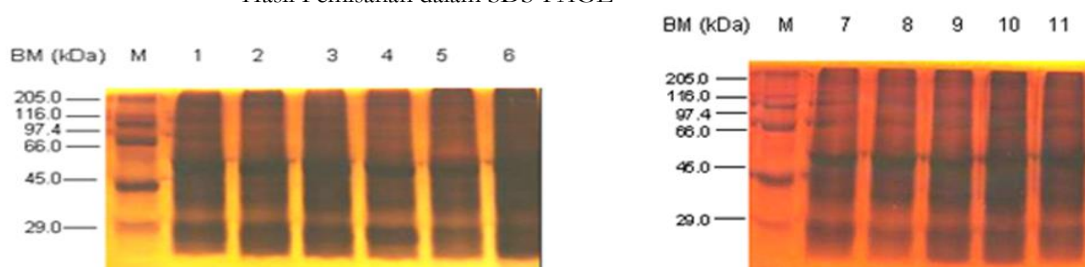
Hasil elektroforesis ekstrak protein daun tanaman kelapa sawit yang dianalisis menunjukkan pola pita protein yang berbeda antar genotip dan waktu pengamatan. Perubahan konsentrasi protein tercermin pada

perubahan tebal-tipisnya pita protein yang ditunjukkan pada elektroforesis seperti terlihat pada Gambar 4 dan 5.

Pengukuran migrasi pita protein pada elektroforegram menghasilkan kurva hubungan antara logaritma bobot molekul (log BM) dengan mobilitas relatif (Rf) protein yang berbentuk linear seperti terlihat pada Gambar 3 dengan persamaan $\text{Log } Y = 5.3548 - 1.2504X$. Nilai bobot molekul (BM) protein sampel daun kelapa sawit yang dianalisis dapat diketahui dengan memasukkan nilai Rf pita protein masing-masing sampel dalam persamaan kurva tersebut (Lampiran 7).



Gambar 3. Kurva Hubungan antara log BM Standar Protein dengan Mobilitas Relatif (Rf) Hasil Pemisahan dalam SDS-PAGE



Gambar 4. Elektroforegram protein SDS-PAGE daun kelapa sawit dalam Kondisi Curah Hujan Rendah

Kondisi Curah Hujan Rendah

Berdasarkan hasil elektroforesis protein tampak bahwa hampir seluruh genotip kelapa sawit menghasilkan pita-pita protein pada kisaran bobot molekul 14 - 131 kDa.

Tanaman kelapa sawit sebagian besar mengalami degradasi protein terutama genotip 16 (9103025 E). Secara umum tidak terjadi degradasi protein pada bobot molekul 14, 33, 54, 90, dan 124 kDa, sedangkan pada bobot molekul 18, 19, 21, 24, 43, dan 135 kDa tidak ditemukan adanya pita protein (Lampiran 16).

Fenomena menarik ialah munculnya pita protein dengan bobot molekul 25 kDa

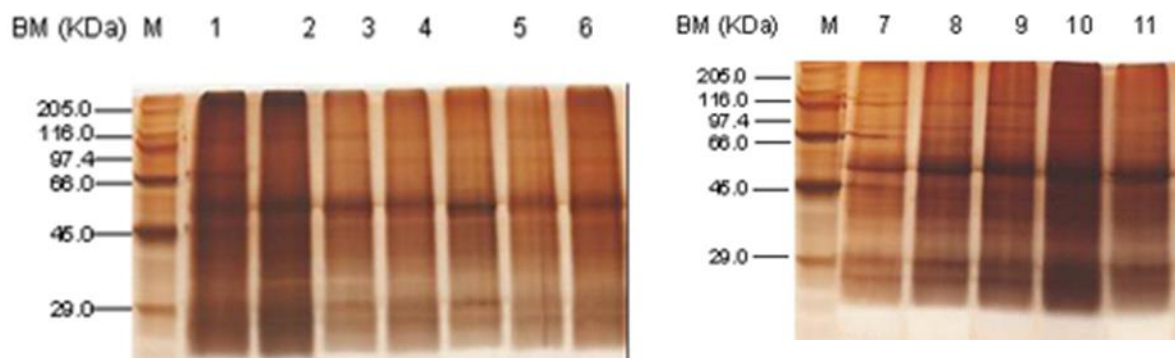
hanya pada genotip 63 (9105113 E). Protein yang terinduksi pada kondisi curah hujan rendah itu dapat digolongkan sebagai *heat shock protein* (HSP) berbobot molekul rendah. Viestra (1993) dan Sabehat *et al.* (1998) mengemukakan bahwa protein yang terinduksi pada kondisi cekaman, terutama cekaman panas dan cekaman kekeringan, dikenal sebagai HSP yang berbobot molekul rendah sampai tinggi. HSP berbobot molekul tinggi berada pada kisaran 60 - 110 kDa, sedangkan yang termasuk HSP berbobot molekul rendah berada pada kisaran 15 - 45 kDa. Nguyen dan Joshi (1992) mengklasifikasikan HSP untuk jenis tanaman

SAPTANING RUJU PAMINTO

Penelusuran genotip tanaman kelapa sawit (Elaeis guineensis jacq) toleran kekeringan dengan sodium dodecyl sulphate polycrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

tinggi, yaitu HSP berbobot molekul tinggi berada pada kisaran 70 – 110 kDa, sedangkan

HSP berbobot molekul rendah berada pada kisaran 15 - 30 kDa.



Gambar 5. Elektroforegram protein SDS-PAGE daun kelapa sawit dalam Kondisi Curah Hujan Tinggi

Keterangan : M = Marker (standar)	6 = genotip 62 (9105148 E)
1 = genotip 16 (9103025 E)	7 = genotip 63 (9105113 E)
2 = genotip 24 (9102107 E)	8 = genotip 83 (9011030 E)
3 = genotip 33 (9110086 E)	9 = genotip 85 (9102053 E)
4 = genotip 51 (9105096 E)	10 = genotip 91 (9104091 E)
5 = genotip 52 (9103136 E)	11 = genotip 93 (9105015 E)

Fenomena tersebut sesuai dengan penelitian Arora *et al.* (1998) pada tanaman *Geranium* yang dicekam kekeringan, tidak saja meningkat-kan akumulasi protein berbobot molekul 26 - 70 kDa, tetapi juga ditemukan protein berbobot molekul 25 kDa yang hanya ada pada tanaman yang dicekam kekeringan dan tidak ditemukan pada perlakuan tidak dicekam, dan protein tersebut menghilang setelah tanaman yang semula dicekam diberi air kembali.

Chakraborty (2002) melaporkan bahwa enam kultivar tanaman teh (TV-18, TV-26, UPASI-3, UPASI-26, T-78 dan HV-39) yang diberi perlakuan cekaman kekeringan selama 4, 8, dan 12 hari, berdasarkan hasil analisis protein dengan SDS-PAGE menunjukkan peningkatan akumulasi protein berbobot molekul sedang (42 - 44 kDa) dan berbobot molekul rendah (14 - 26 kDa). Jika cekaman dilanjutkan lebih dari 12 hari, protein-protein tersebut menghilang pada kultivar T-18 dan HV-39, tetapi tetap ada pada kultivar lainnya. Kultivar yang tetap mengandung protein dengan bobot molekul tersebut termasuk dalam kultivar toleran terhadap cekaman kekeringan terutama kultivar UPASI yang berkorelasi dengan tingginya aktivitas peroksidase, senyawa fenolik, dan kadar air relatif.

HSP berperan dalam adaptasi tanaman menekan pengaruh negatif cekaman, di antaranya sebagai senyawa pelindung kerusakan jaringan (Sabehat *et al.*, 1998). Berdasarkan adanya HSP, genotip 63 (9105113) dapat dikategorikan toleran kekeringan dan produktivitasnya tergolong tinggi, yaitu menghasilkan TBS 1022,83 kg plot⁻¹ periode⁻¹ sebagaimana terlihat pada Tabel 5.

Hubungan genetik 11 genotip kelapa sawit yang diteliti dapat dilihat pada Tabel 2. Kemiripan genetik antar dua genotip berkisar antara 53,33 % sampai 94,74 %. Pasangan genotip 91 (9104091 E) – genotip 85 (9102053 E) menunjukkan kemiripan tertinggi, yaitu 94,74 % sedang-kan pasangan genotip 91 (9104091 E) – genotip 16 (9103025 E) menunjukkan kemiripan terendah, yaitu 53,33 %.

Berdasarkan koefisien kemiripan genetik, 11 genotip kelapa sawit di Kandista terbagi atas dua kelompok pada koefisien kemiripan genetik 0,69 (Gambar 6). Kedua kelompok tersebut terbagi lagi pada nilai koefisien yang dekat, yaitu sekitar 0,718 dan 0,732. Kelompok pertama terdiri atas genotip 16 (9103025), 24 (9102107 E), 33 (9110086 E), 93 (9105015 E), 52 (9103136 E), dan 62 (9105148 E), sedangkan genotip 51 (9105096 E), 63 (9105113 E), 83 (9011030 E), 85 (9104091

SAPTANING RUJU PAMINTO

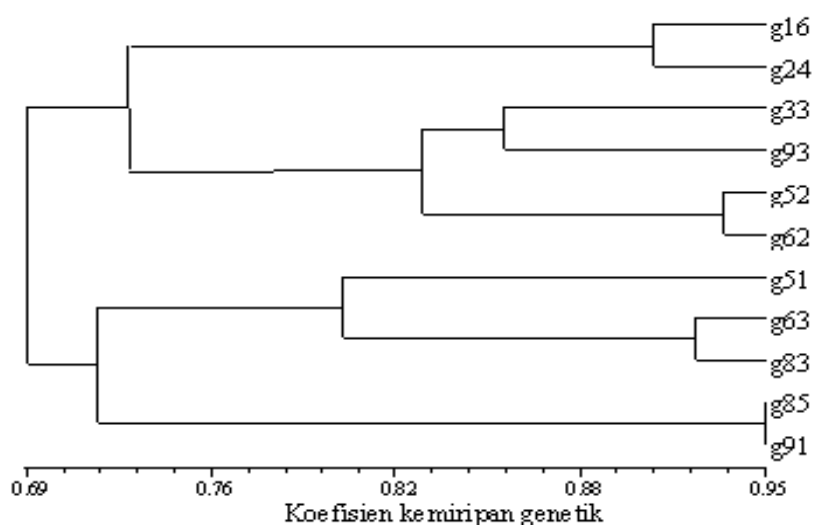
E), dan 91 (9104091 E) termasuk kelompok kedua. Masing-masing kelompok terdiri atas beberapa pasang genotip dan hanya genotip 51

(9105096 E) yang terpisah sendiri pada koefisien kemiripan genetik 0,80.

Tabel 2. Matriks Kemiripan Genetik berdasarkan SDS-PAGE Protein 11 Genotip Kelapa Sawit pada saat Curah Hujan Rendah

Genotip	16	24	33	51	52	62	63	83	85	91	93
16 (9103025 E)	1.0000										
24 (9102107 E)	0.9091	1.0000									
33 (9110086 E)	0.8333	0.7692	1.0000								
51 (9105096 E)	0.7273	0.6667	0.7692	1.0000							
52 (9103136 E)	0.6667	0.6154	0.8571	0.6154	1.0000						
62 (9105148 E)	0.6154	0.7143	0.8000	0.5714	0.9333	1.0000					
63 (9105113 E)	0.6667	0.6154	0.7143	0.7692	0.7143	0.6667	1.0000				
83 (9011030 E)	0.7273	0.6667	0.7692	0.8333	0.7692	0.7143	0.9231	1.0000			
85 (9102053 E)	0.5714	0.6667	0.6250	0.6667	0.7500	0.8235	0.7500	0.8000	1.0000		
91 (9104091 E)	0.5333	0.6250	0.5882	0.6250	0.7059	0.7778	0.7059	0.7500	0.9474	1.0000	
93 (9105015 E)	0.8333	0.7692	0.8571	0.7692	0.8571	0.8000	0.7143	0.7692	0.7500	0.7059	1.0000

Pasangan genotip 91 (9104091 E) dan genotip 85 (9102053 E) yang menunjukkan kemiripan tertinggi (94,74 %) adalah genotip yang berasal dari tetua dura (betina) yang sama, yaitu FF No. 714.604.



Gambar 6. Dendrogram Kemiripan Genetik Berdasarkan Pola Pita Protein SDS-PAGE antar Genotip Kelapa Sawit pada saat Curah Hujan Rendah

Kondisi Curah Hujan Tinggi

Hasil elektroforesis daun kelapa sawit pada umumnya tidak mengalami degradasi protein, kecuali genotip 62 (9105148 E), 63 (9105113 E), 51 (9105096 E), dan 52 (9103136 E) berturut-turut mengalami degradasi sedang hingga rendah. Pada seluruh genotip tidak ada pita protein dengan bobot molekul 19,

28, 29, dan 33 kDa. Bobot molekul 21 dan 24 kDa hanya ada pada genotip 16 (9103025 E) dan 24 (9102107 E), serta bobot molekul 25 kDa hanya ada pada genotip 24 (9102107 E) (Lampiran 6). Protein dengan bobot molekul 21, 24, dan 25 kDa tergolong *heat shock protein* (HSP), tetapi karena pada saat pengamatan curah hujan tinggi, diperkirakan pemunculan HSP disebabkan oleh temperatur tinggi yang

SAPTANING RUJU PAMINTO

perlu dibuktikan lebih lanjut dengan memasukkan faktor temperatur pada penelitian selanjutnya. Menurut Nguyen dan Joshi (1992), pemunculan HSP selain karena pengaruh cekaman kekeringan, lebih banyak ditemukan pada tanaman yang mengalami cekaman panas.

Degradasi protein beragam pada masing-masing genotip. Tidak terdapat pita protein dengan bobot molekul 43 kDa pada genotip 24 (9102107 E), 33 (9110086 E), 51 (9105096 E), dan 52 (9103136 E), bobot molekul 54 kDa pada genotip 62 (9105148 E), 63 (9105113 E), dan 93 (9105015 E), bobot molekul 95 kDa pada genotip 16 (9103025 E), bobot molekul 101 kDa pada genotip 24 (9102107 E), 33 (9110086 E), 62 (9105148 E),

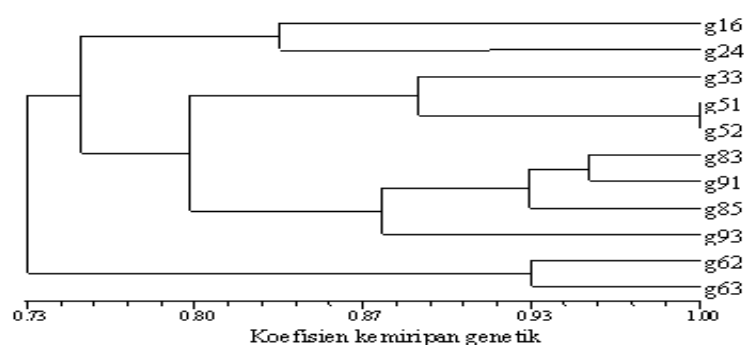
dan 63 (9105113 E), bobot molekul 124 kDa pada genotip 51 (9105096 E) dan 52 (9103136 E), dan bobot molekul 131 kDa pada genotip 62 (9105148 E), dan 63 (9105113 E). Keragaman degra-dasi protein itu berpengaruh pada pengelompokan genotip atas dasar koefisien kemiripan genetik (Tabel 3; Gambar 7). Kemiripan genetik tertinggi (100 %) ditunjukkan oleh pasangan genotip 51 (9105096 E) - 52 (9103136 E) yang diikuti oleh pasangan genotip 83 (9011030 E) - 91 (9104091 E) (95,65 %) dan pasangan genotip 62 (9105148 E) - 63 (9105113 E) (93,33 %). Kemiripan genetik terendah (63,16 %) ditunjukkan oleh pasangan genotip 62 (9105148 E) - genotip 16 (9103025 E).

Tabel 3. Matriks Kemiripan Genetik berdasarkan SDS-PAGE Protein 11 Genotip Kelapa Sawit pada saat Curah Hujan Tinggi

Genotip	16	24	33	51	52	62	63	83	85	91	93
16 (9103025 E)	1.0000										
24 (9102107 E)	0.8333	1.0000									
33 (9110086 E)	0.7619	0.8571	1.0000								
51 (9105096 E)	0.7619	0.7619	0.8889	1.0000							
52 (9103136 E)	0.7619	0.7619	0.8889	1.0000	1.0000						
62 (9105148 E)	0.6316	0.7368	0.8750	0.7500	0.7500	1.0000					
63 (9105113 E)	0.7000	0.7000	0.8235	0.7059	0.7059	0.9333	1.0000				
83 (9011030 E)	0.7826	0.6957	0.8000	0.8000	0.8000	0.6667	0.7368	1.0000			
85 (9102053 E)	0.7826	0.6957	0.8000	0.8000	0.8000	0.6667	0.7368	0.9091	1.0000		
91 (9104091 E)	0.8333	0.7500	0.8571	0.8571	0.8571	0.7368	0.8000	0.9565	0.9565	1.0000	
93 (9105015 E)	0.7273	0.6364	0.7368	0.7368	0.7368	0.7059	0.7778	0.8571	0.8571	0.9091	1.0000

Genotip 51 (9105096 E) dan 52 (9103136 E) berasal dari tetua dura (betina) yang sama yaitu FF No. 711.517 (Liwang, 2001). Produktivitasnya tergolong tinggi, yaitu masing-

masing 912,50 kg plot⁻¹ periode⁻¹ dan 984,00 kg plot⁻¹ periode⁻¹, tidak berbeda nyata dengan genotip 63 (9105113 E).



Gambar 7. Dendrogram Kemiripan Genetik Berdasarkan Pola Pita Protein SDS-PAGE antar Genotip Kelapa pada saat Curah Hujan Tinggi

SAPTANING RUJU PAMINTO

Penelusuran genotip tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* jacq) toleran kekeringan dengan sodium dodecyl sulphate polycrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

Hasil Tandan Buah Segar (TBS)

Hasil TBS genotip 63 (9105113 E), 52 (9103136 E), dan 24 (9102107 E) tidak berbeda di antara sesamanya, namun nyata lebih tinggi dibandingkan dengan hasil TBS genotip lainnya (Tabel 4). Ditinjau dari sisi produktivitas ketiga genotipe tersebut diharapkan dapat menjadi

genotip unggul, namun keberadaan protein berbobot molekul rendah yang tergolong HSP pada genotip 63 (9105113 E) menjadikan genotip ini dapat ditetapkan sebagai genotip harapan yang toleran terhadap cekaman kekeringan dan perproduksi tinggi.

Tabel 4. Hasil TBS 11 Genotip Kelapa Sawit

Genotip	Rata-rata hasil TBS Kg plot ⁻¹ periode ⁻¹
16 (9103025 E)	886.92 a
24 (9102107 E)	966.25 b
33 (9110086 E)	895.08 a
51 (9105096 E)	912.50 a
52 (9103136 E)	984.00 b
62 (9105148 E)	877.83 a
63 (9105113 E)	1022.83 b
83 (9011030 E)	878.17 a
85 (9102053 E)	841.83 a
91 (9104091 E)	814.00 a
93 (9105015 E)	769.33 a

Keterangan :

Angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Scott-Knott pada taraf probabilitas 5 %.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Degradasi protein pada daun tanaman kelapa sawit lebih banyak terjadi pada kondisi curah hujan rendah.
2. Terinduksinya protein berbobot molekul rendah 25 kDa pada genotip 63 (9105113 E) dalam kondisi curah hujan rendah dapat digolongkan sebagai *heat shock protein* (HSP).
3. Hasil TBS genotip 63 (9105113 E), 52 (9103136 E), dan 24 (9102107 E) lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe lainnya.
4. Genotip 63 (9105113 E) adalah genotipe yang toleran terhadap cekaman kekeringan dan berproduksi tinggi.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian disampaikan saran sebagai berikut :

1. Perlu penelitian lebih lanjut dalam kondisi cekaman kekeringan berat dan waktu penelitian yang lebih lama (2-3 tahun)
2. Terinduksinya protein berbobot molekul rendah yang tergolong HSP perlu diteliti lebih lanjut dengan memasukkan pengaruh faktor temperatur.

DAFTAR PUSTAKA

- Arora, R., D. S. Pitchay, and B. C. Bearche. 1998. Water Stress Induced Heat in *Geranium* Leaf Tissues : A Possible Linkage Through Stress Protein. *Physiol. Plant.* 103 : 24 – 34.
- Bangun, D. 2002. Prospects and Challenges of Palm Oil Business in Indonesia. International Oil Palm Conference, Nusa Dua, Bali, July 8-12, 2002.
- Caliman, J.P. 1992. Kelapa Sawit dan Defisit Air : Produksi dan Cara Mengatasinya. Makalah pada Seminar Musim Kering, Bogor, 17-18 Juli 1992.

SAPTANING RUJU PAMINTO

Penelusuran genotip tanaman kelapa sawit (Elaeis guineensis jacq) toleran kekeringan dengan sodium dodecyl sulphate polycrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

- Caliman, J.P., and A. Soutworth. 1998. Effect of Drought and Haze on The Performance of Oil Palm. International Oil Palm Conference, Nusa Dua, Bali, September 23-25, 1998.
- Casson, A. 2000. The Hesistant Boom : Indonesia's Oil Palm Sub-sector in an Era of Economic Crisis and Political Change. CIFOR Occasional Paper No.29. CIFOR, Bogor.
- Departemen Pertanian. 2002. Perkembangan Perkelapa Sawitan (Online). Available at http://www.deptan.go.id/perkebunan/ks_in_do_tahunan.htm (verified 23 Dec. 2004).
- Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan. 2003. Produksi, Luas Areal dan Produktivitas Perkebunan di Indonesia 1998 – 2002 (Online). Available at <http://www.bunnas.com> (verified 20 August 2004).
- Kemala, S., dan Wahyudian. 2000. Peluang Investasi Perbenihan Kelapa Sawit. Pertemuan Koordinasi Produsen dan Konsumen Benih Kelapa Sawit. Jakarta, 22-23 Maret 2000.
- Lubis, A.U. 1985a. Pengaruh Musim Kering Terhadap Produksi Kelapa Sawit. Publikasi Intern PPM – Marihat, Pematang Siantar.
- Lubis, A.U. 1992. Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Indonesia. Pusat Penelitian Perkebunan Marihat – Bandar Kuala, Pematang Siantar.
- Muller, J.E., and M.S. Whitsitt. 1996. Plant Cellular Responses to Water Deficit. Plant Growth Reg. 20 : 119 – 124.
- Pelah, D., W. Wang, A. Altman, O. Shoseyov, and D. Bartels. 1997. Differential Accumulation of Water stress Related Proteins, Sucrose Synthase and Soluble Sugars in *Populus* species that Differ in their Water Stress Response. Physiol. Plant. 99 : 153-159.
- Sabehat, A., D. Weiss, and S. Lurie. 1998. Heat Shock Proteins and Cross Tolerance in Plants. Physiol. Plant. 103 : 437 – 441.
- Siregar, H.H., W. Darmosarkoro, and Z. Poeloengan. 1998. Oil Palm Yield Simulation Using Drought Characteristics. Int. Oil Palm Conf. Nusa Dua, Bali, September 23 – 25, 1998.
- Subronto, N. Toruan-Mathius, dan Dwi Asmono. 1998. Penetapan Penanda Biokimia dan Fisiologi Toleransi Cekaman Kekeringan pada Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Laporan Penelitian. RUT, tahun I.

SAPTANING RUJU PAMINTO

Penelusuran genotip tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* jacq) toleran kekeringan dengan sodium dodecyl sulphate polycrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)