

# JURNAL BUDIDAYA PERTANIAN

Volume 6, Nomor 2, Desember 2010

Deteksi Perubahan Genetik Pada Kelapa Sawit ( <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.) Abnormal Dengan Teknik RAPD H. HETHARIE .....	45
Prediksi Debit Aliran Permukaan dan Pengendaliannya pada DAS Wai Ila, Desa Amahusu, Kecamatan Nusaniwe, Kota Ambon Ch. SILAHOORY .....	51
Identifikasi Tanaman Sukun ( <i>Artocarpus communis</i> Forst) di Pulau Ambon H. REHATTA dan H. KESAULYA .....	58
Perbanyak Ubi Jalar Secara <i>In Vitro</i> dengan Menggunakan Media Yang Murah J. K. J. LAISINA .....	63
Karakteristik Morfologi dan Klasifikasi Tanah di Lokasi Sariputih, Kecamatan Wahai, Seram Utara R. G. RISAMASU .....	68
Analisis Daya Saing Ekspor Kopra Indonesia di Pasar Dunia M. TURUKAY .....	72
Pengaruh Mikro Relief dan Kondisi Air Tanah Terhadap Morfologi Tanah Pada Lahan Sagu Desa Tawiri, Kecamatan Teluk Ambon, Kota Ambon F. PUTURUHU .....	78
Keragaan dan Potensi Hasil Beberapa Varietas Padi pada Lahan Sawah Bukaak Baru di Seram Utara, Maluku Tengah M. P. SIRAPPA dan A. J. RIEUWPASSA .....	84

## DETEKSI PERUBAHAN GENETIK PADA KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) ABNORMAL DENGAN TEKNIK RAPD

### *Detection of Genetics Change in Abnormal Oil Palm (Elaeis guineensis Jacq.) with RAPD Technique*

Helen Hetharie

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura  
Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka – Ambon 97233

#### ABSTRACT

Hetharie, H. 2010. Detection of Genetics Change in Abnormal Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) with RAPD Technique. Jurnal Budidaya Pertanian 6: 45-50.

Leaf tissues of oil palm from tissue culture have been proven to undergo DNA hypomethylation, while its flower tissues undergo hypermethylation. Changes in the genomic DNA methylation may result in changes of gene expression and genome instability. The objectives of this research were to detect the changes in the genomic DNA sequences among oil palm regenerants from the same clone, and to obtain unique bands as indicators for normal and abnormal plants. Plant materials were taken from plants of the clone MK 152 with normal fruits, heavily abnormal fruits (AbB), and severely abnormal fruits (AS2) collected from BPPT, Ciampea Bogor. Detection of genetic changes was conducted with RAPD (Random Amplified polymorphic DNA) technique using 10 random primers. The result of this study showed that changes in the DNA sequence in abnormal plants were detected with five primers. Three primers, i.e. OPC-08, OPC-09 and SC10-19 were able to distinguish between normal and abnormal plants with unique bands from each primer. OPC-08 primer was able to distinguish plants with normal and abnormal flowers by a single unique band of 800-1000 bp present in normal plant. The two other primers showed unique bands in normal plant; however they also showed other unique bands which varied between AbB and AS2 regenerants. Genetic changes occurred among regenerants originated from the same clone.

*Key words:* Oil palm, abnormal flower, DNA sequence, DNA methylation, RAPD.

#### PENDAHULUAN

Kebutuhan benih kelapa sawit meningkat setiap tahun tetapi tidak seimbang dengan ketersediaan benih. Alternatif penyediaan bibit unggul dilakukan melalui perbanyakan kultur jaringan yang diperkirakan dapat menjawab kebutuhan benih sawit saat ini. Namun Corley *et al.* (1986) mengungkapkan proporsi kelapa sawit yang berasal dari embrio somatik hasil kultur jaringan memperlihatkan fenotip varian somaklonal mantel. Stamen pada bunga jantan dan *staminode* (stamen rudimenter) pada bunga betina berubah menjadi struktur seperti karpel (Tregear *et al.* 2002; Adam *et al.*, 2005; Hetharie *et al.*, 2007), oleh Hartley (1977) disebut sebagai bunga mantel.

Penggunaan hormon 2,4D dan sub kultur yang berulang selama menginduksi kalus dari jaringan daun kelapa sawit diduga sebagai penyebab gangguan kontrol seluler. Menurut Phillips *et al.* (1994) lingkungan kultur jaringan dapat menyebabkan gangguan kontrol seluler yang berperan terhadap sejumlah perubahan genomik yang ada pada tanaman kultur jaringan. Menurut Leroy *et al.* (2000) perubahan kromosom dapat terjadi dengan frekuensi yang tinggi pada tahap awal kalus atau kultur sel cair sebagai penyebab abnormalitas.

Rival *et al.* (1997) mengungkapkan buah mantel pada kelapa sawit tidak berhubungan dengan variasi dalam jumlah DNA nuklear, dan tidak ada perubahan dalam sekuens DNA pada jaringan abnormal yang dideteksi dengan teknik RAPD (Rival *et al.*, 1998). Hasil penelitian Kubis *et al.* (2003) menunjukkan bahwa bunga mantel bukan karena pengaturan transposon tetapi berhubungan dengan perubahan pola metilasi (Kubis *et al.*, 2003). Beberapa peneliti membuktikan terjadi hipometilasi pada tanaman regeneran kelapa sawit berbunga mantel (Jaligot *et al.*, 2000; Jaligot *et al.*, 2002; Kubis *et al.*, 2003).

Hasil penelitian Hetharie (2008) menggunakan jaringan daun, bunga dan buah mantel menunjukkan adanya perubahan metilasi pada jaringan daun dan bunga tetapi diduga tidak berkaitan langsung dengan abnormalitas bunga (mantul). Hipometilasi merupakan suatu penurunan tingkat metilasi pada sitosin yang dapat berdampak berkurangnya kondensasi suatu kromatin. Menurut Costello *et al.* (2001) hipometilasi pada domain kromosom spesifik berkaitan dengan ketidakstabilan kromosom yang dapat menyebabkan kehilangan atau penambahan fragmen kromosom (mutasi). Diduga perubahan metilasi DNA genom dapat berakibat pada

perubahan sekuens DNA kelapa sawit sebagai penyebab abnormal.

Perbedaan-perbedaan hasil di atas membuka peluang untuk melakukan pendeteksian lebih terarah untuk mendeteksi perubahan sekuens DNA pada tanaman hasil kultur jaringan tersebut. Penelitian ini lebih terfokus pada satu klon dengan beberapa tingkat keabnormalan pada bunga dan buah. Salah satu teknik molekuler yang dapat mendeteksi perbedaan pada struktur gen maupun kromosom adalah RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Analisis RAPD digunakan secara luas untuk pemetaan genetik, studi taksonomi dan filogenetik beberapa organisme. Gaafar & Saker (2006) mengatakan bahwa teknik RAPD efektif dengan memperlihatkan pola pita yang spesifik pada genotip strawberry hasil perbanyakan mikro sehingga dapat digunakan untuk identifikasi kultivar.

Penelitian bertujuan mendeteksi perubahan sekuens DNA pada tingkat genom antara regenerasi dengan tingkat abnormal berbeda, serta mendapatkan pita unik sebagai petunjuk tanaman berbunga normal dan abnormal. Diharapkan hasil penelitian ini memberikan informasi tentang perubahan morfologi bunga (bunga mantel) dengan perubahan genetik melalui pita-pita DNA unik pada regenerasi kelapa sawit hasil perbanyakan bibit dari kultur jaringan.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan Tanaman dan Isolasi DNA

Penelitian dilaksanakan di SEAMEO BIOTROP Bogor. Bahan tanaman kelapa sawit merupakan koleksi Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) di Ciampea-Bogor. Satu klon yang digunakan dalam penelitian ini yaitu klon MK 152 karena mempunyai beberapa tanaman dengan tingkat abnormal berbeda yaitu tanaman berbuah normal (Nml), berbuah abnormal berat (AbB) dan berbuah abnormal sangat berat 2 (AbSB2). Bahan tanaman yang digunakan adalah bunga, buah dan daun. Isolasi DNA dari ketiga jaringan tanaman berdasarkan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1990) yang dimodifikasi. Pemurnian DNA dari kontaminan RNA dengan enzim RNase  $1\mu\text{g}\ \mu\text{l}^{-1}$  dibiarkan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama dua jam.

### Amplifikasi DNA dengan Teknik RAPD Berdasarkan PCR

Sampel DNA dengan konsentrasi  $5\ \text{ng}\ \mu\text{l}^{-1}$  (DNA dilarutkan dengan ddH<sub>2</sub>O steril) digunakan dalam reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Tabung yang berisi bahan-bahan untuk reaksi PCR (Tabel 1) dimasukkan ke mesin *thermal cycler* atau PCR (GeneAmp PCR System 9700 versi 3.08). Amplifikasi sebanyak 45 siklus dengan tahapan PCR sebagai berikut  $94^{\circ}\text{C}$  1 menit kondisi awal, denaturasi  $94^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit, penempelan primer

$36^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit, sintesis DNA  $72^{\circ}\text{C}$  selama 2 menit, sintesis tambahan  $72^{\circ}\text{C}$  selama 4 menit dan akhir dari seluruh siklus dikondisikan pada suhu tetap  $4^{\circ}\text{C}$ . Hasil PCR dielektroforesis pada 1,2% gel agarose (AppliChem) tegangan listrik 70 volt, arus 100 ampere selama 90 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan pada *gel logic 2000 Imaging System UV* dengan *software* kodak ID 2.6. Amplifikasi DNA dengan teknik RAPD menggunakan 10 primer acak (Tabel 2) yang sebagian besar diacu dari Yuniastuti (2004) karena dapat mengamplifikasi DNA kelapa sawit.

Tabel 1. Bahan-bahan untuk satu kali reaksi PCR

No	Komponen PCR	Volume	Konsentrasi Akhir
1.	DNA ( $5\ \text{ng}\ \mu\text{l}^{-1}$ )	3,0 $\mu\text{l}$	15 ng
2.	Primer ( $10\ \text{pmol}\ \mu\text{l}^{-1}$ )	1,0 $\mu\text{l}$	10 pmol
3.	dNTP (25 mM)	0,2 $\mu\text{l}$	5 mM
4.	Bufer + MgCl ( $10 \times$ kuat)	2,5 $\mu\text{l}$	$1 \times$
5.	<i>Tag Polymerase</i> (5 U $\mu\text{l}^{-1}$ )	0,2 $\mu\text{l}$	1 U
6.	ddH <sub>2</sub> O steril	18,1 $\mu\text{l}$	

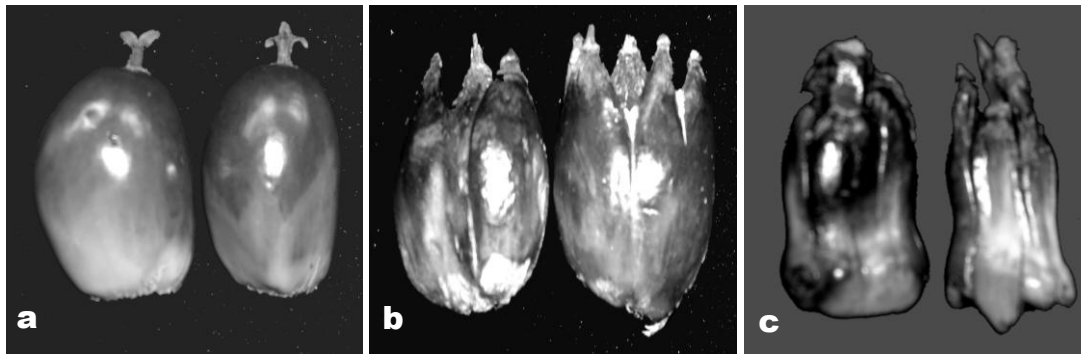
Tabel 2. Beberapa Primer untuk Teknik RAPD

Nomor	Nama Primer	Sekuens Primer 5'————— 3'
1.	SC10-19	CGTCCGTCAG
2.	SC10-76	CGCAGACTTG
3.	SC10-83	AATGACGGGG
4.	OPB-05	TGCGCCCTTC
5.	OPC-01	TTCGAGCCAG
6.	OPC-08	TGGACCGGTG
7.	OPC-09	CTCACCGTCC
8.	OPD-15	CATCCGTGCT
9.	AE-11	AAGACCGGGA
10.	W-15	ACACCGGAAC

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pola Pita DNA Monomorfik Antara Regenerasi pada Klon yang Sama

Hasil penelitian pada regenerasi kelapa sawit dari hasil kultur jaringan menunjukkan adanya abnormalitas bunga melalui feminisasi organ seks jantan yang terdapat pada bunga jantan maupun bunga betina (Hetharie *et al.* 2007). Tiga regenerasi yang digunakan dari klon MK 152 menunjukkan keragaman morfologi pada bunga melalui struktur karpel pada bunga jantan maupun penambahan karpel pada bunga betina. Aktualisasi abnormalitas untuk menentukan tingkat abnormal dilakukan pada buah. Tiga regenerasi tersebut adalah tanaman berbuah normal (N), abnormal berat (AB) dan abnormal sangat berat 2 (SB2) (Gambar 1).



Gambar 1. Penampilan morfologi buah mantel kelapa sawit hasil perkembangan abnormal dari fase bunga. a) normal (N), b) Abnormal berat (AB), dan c) abnormal sangat berat 2 (AS2) (Hetharie, 2007).

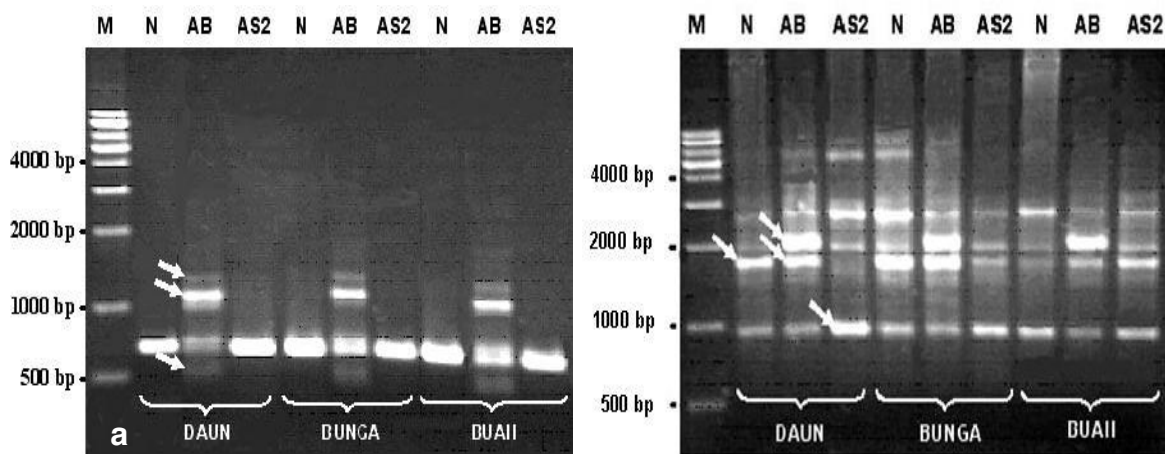
Hasil penelitian dengan teknik RAPD memperlihatkan keragaman sekuens DNA pada tingkat genom diantara regeneran pada primer tertentu. Sepuluh primer yang digunakan dapat mengamplifikasi DNA tanaman kelapa sawit yang menunjukkan komplementasi sekuens primer dengan ketiga regeneran. Suatu primer dapat mengamplifikasi suatu sekuens DNA berarti sekuens primer tersebut komplemen dengan sekuens dari DNA tanaman, dan akan terjadi sebaliknya jika tidak ada komplementasi. Lima primer memperlihatkan pola pita monomorfik (SC10-76, SC10-83, OPB-05, OPC-01, dan AE-11) sedangkan lima primer lain memperlihatkan pola pita polimorfik (OPD-15, W-15, OPC-08, OPC-09, dan SC10-19).

Pita monomorfik yang diperlihatkan oleh lima primer menunjukkan bahwa sekuens DNA genom yang komplemen dengan primer tidak mengalami perubahan pada ketiga regeneran yang digunakan. Sekitar 35 pita DNA diamplifikasi oleh lima primer dengan ukuran berbeda, menyebar antara > 4000 sampai 500 bp (gambar tidak ditampilkan), mengindikasikan primer menempel secara random pada DNA genom namun sekuens penempelan primer atau sekuens DNA genom

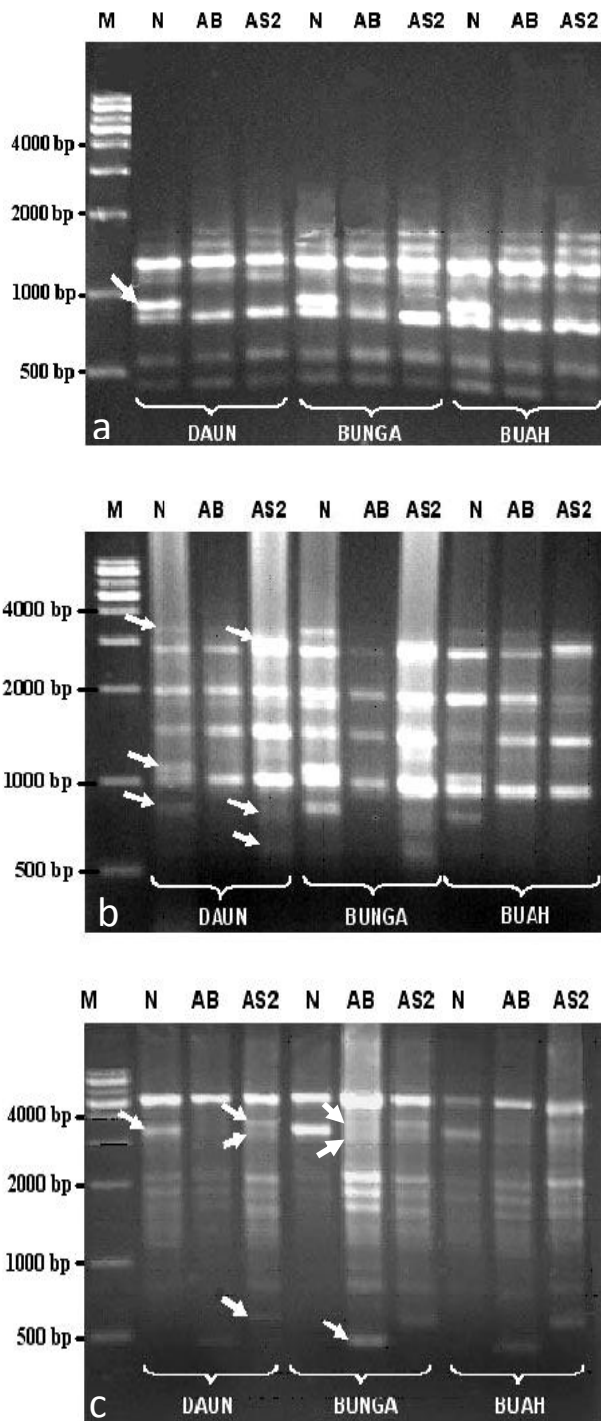
tidak berubah. Pola pita tersebut konsisten pada DNA dari jaringan daun, bunga maupun buah.

#### Pola Pita Polimorfik Antara Regeneran Pada Klon yang Sama

Lima primer dari sepuluh primer yang digunakan dalam penelitian ini dapat menunjukkan pola pita polimorfik antara regeneran pada klon yang sama yaitu primer OPD-15, W-15, OPC-08, OPC-09, dan SC10-19. Dua primer yaitu OPD-15 dan W-15 menunjukkan adanya keragaman pita DNA diantara ketiga regeneran namun belum memperlihatkan pita sebagai petunjuk untuk membedakan regeneran normal dengan kedua regeneran abnormal (Gambar 2). Keragaman ditunjukkan melalui ada dan tidaknya pita-pita DNA (Gambar 2a), serta ketebalan pita pada ukuran tertentu (Gambar 2b). Ketebalan pita tersebut memberi pendugaan bahwa adanya pita-pita DNA dengan ukuran jumlah pasang basa (*base pair* atau bp) yang tidak berbeda jauh. Keragaman pita mengindikasikan bahwa telah terjadi perubahan genetik pada tingkat genom dari ketiga regeneran.



Gambar 2. Pola pita polimorfik pada tiga regeneran klon MK 152 hasil amplifikasi dengan: a) primer OPD-15 dan b) W-15. M (DNA marker), N (normal), AB (abnormal berat), SB2 (abnormal sangat berat 2)



Gambar 3. Pola pita polimorfik pada tiga regeneran klon MK 152 hasil amplifikasi dengan (a) primer OPC-08, (b) OPC-09, dan (c) SC10-19. M (DNA marker), N (normal), AB (abnormal berat), SB2 (abnormal sangat berat 2)

Tiga primer yang lain yaitu OPC-08, OPC-09 dan SC10-19 berpotensi membedakan tanaman normal dengan abnormal. Primer OPC-08 mampu menghasilkan masing - masing tujuh pita dari tiga regeneran, ditambah satu pita unik pada regeneran normal namun tidak

ditemukan pada regeneran abnormal. Satu pita unik tersebut berada pada posisi antara 800-1000 bp (Gambar 3a). Adanya satu pita unik pada regeneran normal dengan primer OPC-08 sebagai pendugaan ada perubahan sekuens pada regeneran berbuah abnormal berat (AB) dan abnormal sangat berat (SB2). Perubahan sekuens DNA genom tersebut menyebabkan primer OPC-08 tidak komplemen dengan utas cetakan untuk mengamplifikasi ukuran pita yang sama dengan regeneran normal. Diperlihatkan juga bahwa pola pita pada DNA jaringan daun konsisten sama dengan pola pita DNA dari jaringan bunga dan buah. Hal ini membuktikan bahwa pola pita yang ditampilkan konsisten dan *reproducible* pada tiga sampel DNA.

Primer OPC-09 mampu menghasilkan masing-masing enam sampai sembilan pita pada regeneran normal, AB dan SB2 yang menyebar dari ukuran 500 – 4000 bp. Terdapat tiga pita unik pada regeneran normal berukuran secara berurutan  $\pm 900$  bp,  $\pm 1100$  bp dan  $\pm 3400$  bp, dan pita ini tidak terdapat pada regeneran AB dan SB2 (Gambar 3b). Regeneran SB2 mempunyai juga tiga pita unik yang ukurannya berbeda dengan regeneran normal secara berurutan  $\pm 600$  kb,  $\pm 800$  kb,  $\pm 3300$  kb.

Primer SC10-19 menghasilkan delapan sampai sebelas pita yang menyebar dari ukuran 400-6000 bp pada ketiga regeneran yang diuji (Gambar 3c). Secara umum terdapat lima pita sebagai petunjuk untuk membedakan tanaman normal dan abnormal, namun hanya tiga pita yang menunjukkan keunikan pada tiap regeneran. Satu pita pada regeneran normal pada kisaran 3000-4000 bp, satu pita pada regeneran SB2 pada ukuran 500-700 bp, dan satu pita DNA pada AB berukuran  $\pm 500$  bp. Dua pita unik yang lain ditemukan hanya pada kedua regeneran abnormal (AB dan SB2) berukuran antara 3000-4000 bp.

Hasil yang diperlihatkan oleh ketiga primer ini menunjukkan bahwa terjadi perubahan genetik melalui perubahan sekuens DNA genom kelapa sawit. Apabila dibuat asumsi bahwa tanaman normal tidak mengalami perubahan sekuens DNA maka ketiga primer (OPC-08, OPC-09 dan SC10-19) memperlihatkan beberapa pita unik yang dapat dipakai sebagai petunjuk untuk tanaman normal. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua regeneran lain yaitu tanaman abnormal (AB dan SB2) telah mengalami perubahan sekuens DNA sehingga ketiga primer tidak dapat mengamplifikasi pita yang sama pada tanaman normal. Ketiga primer tersebut dapat dikatakan sebagai primer harapan untuk membedakan tanaman normal dan abnormal namun perlu ditindaklanjuti pada klon-klon lain untuk membuktikan konsistensi keberadaan pita-pita unik pembeda tersebut.

Ketiga regeneran yang dideteksi pada penelitian ini meskipun berasal dari klon yang sama namun diduga akibat proses selama dalam kultur jaringan telah terjadi perubahan sekuens DNA yang ditunjukkan oleh pola pita DNA yang berbeda. Menurut Phillips *et al.* (1994) lingkungan kultur jaringan menyebabkan gangguan kontrol seluler yang berperan terhadap sejumlah perubahan genomik yang ada pada regeneran kultur jaringan. Menurut Leroy *et al.* (2000) perubahan

kromosom dapat terjadi dengan frekuensi yang tinggi pada tahap awal kalus atau kultur sel cair sebagai penyebab abnormalitas. Replikasi sekuens heterokromatin tidak lengkap pada saat pembelahan sel berperan untuk jembatan anafase dan selanjutnya pematangan kromosom (Kaeppler *et al.*, 2000).

Pita-pita DNA unik pada tanaman normal yang teramplifikasi oleh primer OPC-08, OPC-09 dan SC10-19 dapat digunakan sebagai informasi awal untuk pendeteksian pada klon-klon yang lain. Jika pita-pita DNA genom tersebut konsisten ada pada tanaman berbuah normal tetapi tidak pada tanaman berbuah abnormal maka pita-pita unik tersebut dapat digunakan sebagai pita pembeda antara tanaman normal dan abnormal untuk pendeteksian pada tingkat planlet di kultur jaringan.

Secara umum diperlihatkan banyak pita DNA yang berbeda yaitu terdapat pita pada tanaman normal tetapi tidak pada tanaman abnormal, atau sebaliknya. Keragaman pola pita DNA pada tingkat DNA genom akan menunjuk pada keragaman fenotipik apabila gen-gen yang berhubungan dengan fenotipik tersebut mengalami perubahan sekuens DNA (mutasi). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya perubahan sekuens DNA secara acak pada regenerasi-regenerasi kelapa sawit pada tingkat genom, namun untuk membuktikan keterkaitan antara pita-pita DNA tersebut dengan perubahan morfologi pada organ bunga kelapa sawit perlu dilakukan pendeteksian pada tingkat gen. Primordia seks jantan berubah menjadi struktur seperti karpel merupakan perubahan morfologi yang diperlihatkan oleh tanaman kelapa sawit hasil kultur jaringan. Dengan demikian perlu pelacakan pita DNA spesifik yang berkaitan dengan organ bunga khususnya pada kasus bunga mantel pada kelapa sawit sehingga diketahui perubahan sekuens DNA yang terjadi berhubungan atau tidak dengan gen-gen yang meregulasi organ bunga tersebut.

## KESIMPULAN

Adanya perubahan sekuens DNA yang diamplifikasi oleh primer OPC-08, OPC-09, OPC-15, SC10-19, dan W15 menunjukkan bahwa adanya perubahan genetik antara tanaman regenerasi dari klon MK 152. Tiga primer yaitu OPC-08, OPC-09 dan SC10-19 mampu membedakan tanaman normal dan abnormal dengan pita-pita unik yang berbeda pada tiap primer. Primer OPC-08 menunjukkan hanya satu pita unik berukuran 800-1000 bp pada tanaman normal, dan tidak terdapat pada dua regenerasi abnormal. Primer OPC-09 menghasilkan tiga pita unik pada tanaman normal. Primer SC10-19 menghasilkan satu pita unik pada tanaman normal meskipun diperoleh juga pita-pita unik pada regenerasi abnormal. Primer OPC-08 sangat berpotensi digunakan untuk melacak tanaman normal dan abnormal namun perlu diuji lebih lanjut pada klon-klon yang lain.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Data dalam penelitian ini adalah sebagian dari penelitian Disertasi di bawah bimbingan Prof. Dr.Ir. G.A. Wattimena, M.Sc., Prof. Dr. Ir. Maggy Thenawijaya, Dr. Ir. Hajrial Aswidinnoor, M.Sc., dan Dr. Ir. Nurita Toruan-Mathius, M.S.. Pada kesempatan ini, kami sampai ucapan terima kasih yang tulus kepada bapak dan ibu pembimbing yang memberikan kontribusi ilmiah bagi penulisan Disertasi, yang sebagian diangkat dalam tulisan pada jurnal ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, H., S. Jouannic, J. Escoute, Y. Duval, J-L. Verdeil & J.W. Tregear. 2005. Reproductive developmental complexity in the African oil palm (*Elaeis guineensis*, Arecaceae). *Am. J. Bot.* 92: 1836-1852.
- Corley, R.H.V., C.H. Lee, L.H. Law & C.Y. Wong. 1986. Abnormal flower development in oil palm clones. *Planter* 62: 233-240.
- Costello, J.F. & C. Plass. 2001. Methylation matters. *J. Med. Genet.* 38: 285-303.
- Doyle, J.J. & J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Gaafar, R.M. & M.M. Saker. 2006. Monitoring of cultivars identity and genetic stability in strawberry varieties growing in Egypt. *World J. Agric. Sci.* 2: 29-36.
- Hartley, C.W.S. 1977. The Oil Palm. Second Edition. Longman London. 706 hlm.
- Hetharie, H., G.A. Wattimena, M. Thenawijaya S, H. Aswidinnoor, N. Toruan-Mathius & G. Ginting. 2007. Karakterisasi morfologi bunga dan buah abnormal kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Hasil Kultur Jaringan. *Bul. Agron.* 35: 50-57.
- Hetharie, H. 2008. Abnormalitas Bunga dan Buah Pada Klon Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Berdasarkan Analisis Morfologi, Biokimia dan DNA Genom. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor-Bogor. 157 p.
- Jaligot, E., A. Rival, T. Beule & D.S. Verdeil. 2000. Somaclonal variation in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq): the DNA methylation hypothesis. *Plant Cell Reports* 7: 684-690.
- Jaligot E., T. Beulé & A. Rival. 2002. Methylation-sensitive RFLP : characterization of two oil palm markers showing somaclonal variation-associated polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1263 - 1269.
- Kaeppler, S.M., H.F. Kaeppler & Y. Rhee. 2000. Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. *Plant Mol. Biol.* 43: 179-188.
- Kubis, S.E., A.M.M.F. Castilho, A.V. Vershinin, & S.J. Heslop-Harrison. 2003. Retroelements, transposons and methylation status in the genome of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) and the relationship to somaclonal variation. *Plant Mol. Biol.* 52: 69-79.

- Leroy, X. J., K. Leon & M. Branchard. 2000. BIP-ISSR and Somaclonal variation: a new molecular technique for a important in vitro phenomenon. *Plant Biotechnology Molecular and Genetics*. Universidad Catolica de Valparaiso-Chile.
- Phillips, R.L., S.M. Kaepler & P. Olhoft. 1994. Genetic instability of plant tissue cultures : Breakdown of normal controls. Review. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 5222-5226
- Rival, A., L. Bertrand, T. Beulé, M.C. Combes, P. Trouslot & P. Lashermes. 1998. Suitability of RAPD analysis for the detection of somaclonal variants in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Plant Breed.* 117: 73-76.
- Rival, A., T. Beulé, P. Barre, S. Hamon, Y. Duval & M. Noirot. 1997. Comparative flow cytometric estimation of nuclear DNA content in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) tissue cultures and seed-derived plants. *Plant Cell Reports* 16: 884-887.
- Tregear, J.W., F. Morcillo, F. Richaud, A. Berger, R. Singh, S.C. Cheah, C. Hartmann, A. Rival & Y. Duval. 2002. Characterization of a defensin gene expressed in oil palm inflorescences: induction during tissue culture and possible association with epigenetic somaclonal variation events. *J. Exp. Bot.* 53: 1387-1396.
- Yuniastuti, E. 2004. Analisis Klon-Klon Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Hasil Kultur Jaringan Yang Berbuah Normal dan Abnormal Dengan SDS-PAGE Protein, RAPD dan AFLP. [Disertasi]. Universitas Padjadjaran. Bandung. 158 hlm.